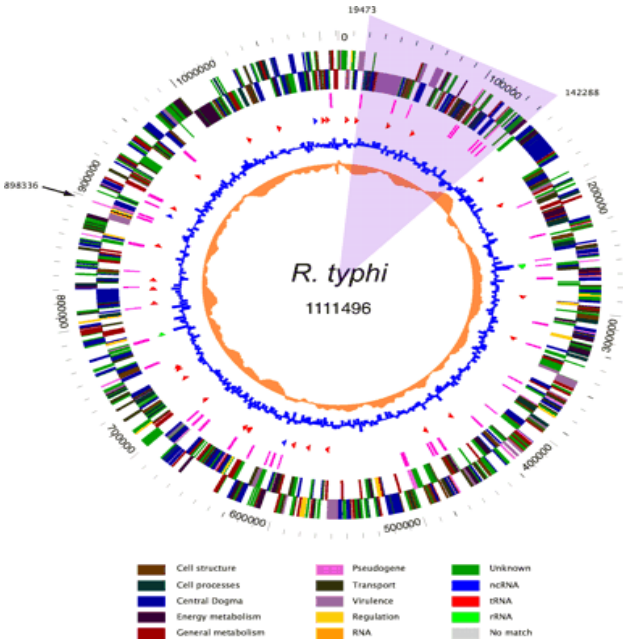
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΙΑΤΡΙΚΟ ΤΜΗΜΑ
ΤΟΜΕΑΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
Εργαστήριο Βακτηριολογίας Παρασιτολογίας
Ζωονόσων και Γεωγραφικής Ιατρικής

ΚΛΙΝΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΡΙΚΕΤΣΙΩΣΕΩΝ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΧΑΛΚΙΔΑΣ



ΧΑΛΙΩΤΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

Παθολόγος-Διαβητολόγος

Διδακτορική Διατριβή

ΧΑΛΚΙΔΑ 2013

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΙΑΤΡΙΚΟ ΤΜΗΜΑ
ΤΟΜΕΑΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
Εργαστήριο Βακτηριολογίας Παρασιτολογίας
Ζωονόσων και Γεωγραφικής Ιατρικής

ΚΛΙΝΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΡΙΚΕΤΣΙΩΣΕΩΝ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΧΑΛΚΙΔΑΣ

ΧΑΛΙΩΤΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

Παθολόγος-Διαβητολόγος

Διδακτορική Διατριβή

ΧΑΛΚΙΔΑ 2013

Σύνθεση Τριμελούς Επιτροπής

Τσελέντης Ιωάννης Ομότιμος Καθηγητής Μικροβιολογίας

Γκίκας Αχιλλέας Καθηγητής Παθολογίας Λοιμώξεων

Αντωνίου Μαρία Επίκουρος Καθηγήτρια Παρασιτολογίας

Σύνθεση Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής

Τσελέντης Ιωάννης	Ομότιμος Καθηγητής Μικροβιολογίας
Γκίκας Αχιλλέας	Καθηγητής Παθολογίας Λοιμώξεων
Σαμώνης Γεώργιος	Καθηγητής Παθολογίας – Ογκολογίας
Κοφτερίδης Διαμαντής	Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας
Αντωνίου Μαρία	Επίκουρος Καθηγήτρια Παρασιτολογίας
Σκούλικα Ευσταθία	Επίκουρος Καθηγήτρια Κλινικής Βακτηριολογίας
Ψαρουλάκη Άννα	Επίκουρος Καθηγήτρια Ζωονόσων

Στη μνήμη των γονέων μου Αργύρη και Βαρβάρας

&

Στη σύζυγό μου Λιάνα και τα παιδιά μου Μαρίτα και Ανάργυρο

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Βακτηριολογίας – Παρασιτολογίας Ζωονόσων και Γεωγραφικής Ιατρικής του Ιατρικού Τμήματος του Πανεπιστημίου Κρήτης και στην Παθολογική Κλινική του Γ.Ν.Ν.Χαλκίδας από όπου νοσηλεύονταν και οι υπό μελέτη ασθενείς από το 1999 έως και το 2005.

Ευχαριστώ θερμά το δάσκαλό μου και επιβλέποντα Καθηγητή κ. Γιάννη Τσελέντη, Δ/ντη του Εργαστηρίου Βακτηριολογίας – Παρασιτολογίας Ζωονόσων και Γεωγραφικής Ιατρικής του Ιατρικού Τμήματος του Πανεπιστημίου Κρήτης για όσα από το 1985 με δίδαξε που, περιλαμβάνουν, ήθος, επιμονή, μεθοδικότητα και αγάπη για το εργαστήριο και για τον ασθενή. Υπήρξε πρωτοπόρος στη σύγχρονη ελληνική πραγματικότητα παρουσιάζοντας και αναδεικνύοντας τις ρικετσιώσεις και άλλα παρασιτικά νοσήματα που μέχρι τότε ήταν άγνωστα και σπάνια για την Ελλάδα. Προϊόν της συνεργασίας αυτής ήταν σημαντικές μελέτες που αναφέρονται στη συνέχεια.

Επίσης ευχαριστώ θερμά τον Καθηγητή Παθολογίας-Λοιμώξεων και μέλος της τριμελούς κ. Αχιλλέα Γκίκα δάσκαλό μου και φίλο από τότε που μαζί περίπου αρχίσαμε τη συνεργασία μας με το καθηγητή Γ. Τσελέντη γιατί με εδίδαξε και αυτός ήθος επιμονή και μεθοδικότητα στις κλινικές και επιδημιολογικές μελέτες που εκπονήσαμε συνεργαζόμενοι. Επίσης θεωρώ ιδιαίτερα σημαντική τη συμβολή του στην ολοκλήρωση αυτής της μελέτης.

Την Επίκουρη καθηγήτρια Άννα Ψαρουλάκη για τη σημαντικότατη συμβολή της στην εργαστηριακή υποστήριξη αυτής και των άλλων μελετών στις οποίες είχα την τύχη να συνεργαστώ μαζί της ευχαριστώ θερμά καθώς και για τη συμβολή της στη συγγραφή της μελέτης.

Επίσης την Επίκουρη Καθηγήτρια Μαρία Αντωνίου ευχαριστώ για τη τιμή που μου έκανε να είναι μέλος της τριμελούς επιτροπής.

Επίσης ευχαριστώ όλο το προσωπικό του εργαστηρίου Βακτηριολογίας – Παρασιτολογίας Ζωονόσων και Γεωγραφικής Ιατρικής του Ιατρικού Τμήματος του Πανεπιστημίου Κρήτης για την άριστη συμβολή τους στην εργαστηριακή υποστήριξη της μελέτης. Το φίλο και συνάδελφο παθολόγο Δρ. Αντώνη Γερμανάκη για τις συμβουλές του στη συγγραφή αυτής της μελέτης. Τον παθολόγο Θωμά Γοζαδίνο τ. Δ/ντή της Παθολογικής Κλινικής του Γ.Ν. Ν. Χαλκίδας τον οποίο είχα την τιμή να διαδεχτώ ευχαριστώ ιδιαίτερα για την ενθάρρυνσή του στην εκπόνηση της μελέτης καθώς και όλο το ιατρικό και νοσηλευτικό προσωπικό της Παθολογικής Κλινικής του Γ.Ν.Ν. Χαλκίδας. Τον φίλο εντομολόγο Βύρωνα Χανιώτη για τη συνεργασία του σε προηγούμενη μελέτη στην οποία με εκπαίδευσε στη συλλογή τρωκτικών και παρασίτων και στη σωστή επεξεργασία τους. Το φίλο Γεωπόνο - Ακαρεολόγο Msc Σταμάτιο Καραχάλιο για τις συμβουλές και για τη τεχνική συμβολή του στη συγγραφή αυτής της μελέτης ευχαριστώ ιδιαιτέρως. Τον μαθηματικό στατιστικολόγο Ευάγγελο Κριτσωτάκη ευχαριστώ για τη στατιστική επεξεργασία των στοιχείων της μελέτης. Την φιλόλογο κα Ντούνα Αικατερίνη ευχαριστώ για την επιμέλεια και διόρθωση του τελικού κειμένου. Τέλος ευχαριστώ τα παιδιά μου Μαρίτα χημικό Msc κλινικής βιοχημείας και μοριακής διαγνωστικής και Ανάργυρο Βιοχημικό Βιοτεχνολόγο για την σημαντική τους βοήθεια στη συγγραφή αυτής της μελέτης.Επίσης σημαντική βοήθεια παρείχαν οι Διδ. Διατριβές που εκπονήθηκαν στο ίδιο Εργαστήριο των κκ Α. Ψαρουλάκη, Σ.Δουκάκη και Α. Γερμανάκη τους οποίους και πάλι ευχαριστώ.

Πίνακας περιεχομένων:

ΕΚΤΕΝΗΣ ΠΕΡΙΛΗΨΗ (ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ)……1

EXTENDED SUMMARY (ΑΓΓΛΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ)……7

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ …… 12

1.1 Ρικέτσιες…… 12

1.2 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ…… 13

1.3 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ …… 15

1.3 ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ …… 18

1.4 ΒΑΚΤΗΡΙΟΛΟΓΙΑ …… 21

1.4.1 Κυτταρική δομή μορφολογία…… 21

1.4.2 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ…… 22

1.4.3 ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ …… 23

1.5 ΓΕΝΕΤΙΚΗ …… 23

1.6 ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ…… 28

1.7 ΑΝΟΣΙΑ …… 34

1.7.1 Φυσική ανοσία …… 34

1.7.2 ΕΠΙΚΤΗΤΗ ΑΝΟΣΙΑ …… 35

1.7.3 Χυμική Ανοσία…… 36

1.8 Ρυθμιστικοί μηχανισμοί της ανοσολογικής απάντησης …… 37

1.8.1 Ανταπόκριση οξείας φάσης (APR)…… 37

1.9 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ…… 37

1.9.1 ΓΕΝΙΚΑ …… 37

1.9.1 ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ …… 38

2. ΡΙΚΕΤΣΙΕΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ – ΑΡΘΡΟΠΟΔΑ …… 39

2.1 Κρότωνες …… 39

2.1.2 Σχέσεις κροτώνων-ρικετσιών …… 43

2.1.3 ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ…… 43

2.1.4 ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ 45
2.2 Ακάρεα (Mites) 46
2.3 ΨΕΙΡΕΣ 47
2.4 ΨΥΛΛΟΙ 49
3. ΡΙΚΕΤΣΙΩΣΕΙΣ 52
3.1 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ-ΔΙΑΓΝΩΣΗ 53
3.2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΜΗ ΕΙΔΙΚΑ 55
3.2.1 ΕΙΔΙΚΟΣ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ χρώσης GIMENEZ και Giemsa 55
3.2.2 Άμεσος ανοσοφθορισμός 55
3.2.3 ΟΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ 56
3.3 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΡΙΚΕΤΣΙΩΝ 58
3.4 ΚΥΤΤΑΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ 58
3.5 ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ 59
3.6 ΡΙΚΕΤΣΙΩΣΕΙΣ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ 59
3.6.1 Διαφορική διάγνωση από άλλες λοιμώξεις με παρόμοια κλινική εικόνα 59
3.6.2 Διαφορική διάγνωση από ιογενείς λοιμώξεις 60
3.7 ΘΕΡΑΠΕΙΑ 61
3.7.1 Ρικέτσιες και αντιβιοτικά 61
3.7.2 Αντίσταση στα αντιβιοτικά-Μοριακή βάση 62
3.7.3 Αντιβιοτικά στη θεραπεία των ρικετσιών 62
3.7.4 Προφύλαξη 64
3.8 ΕΝΕΡΓΗΤΙΚΗ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ/ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΣ 64
3.8.1 Εμβολία που χρησιμοποιήθηκαν ενάντια στις ρικέτσιες 64
3.8.2Αντιγόνα ρικετσιών 65
3.9 Οι ρικέτσιες σαν βιολογικά όπλα 66
3.10 ΡΙΚΕΤΣΙΩΣΕΙΣ 67
3.10.1.1 Επιδημικός τύφος (ΕπΤ) 67

3.10.2.1 *R.typhi* –Ενδημικός τύφος (ΕΤ) 71

3.10.3 Ρικετσιώσεις της ομάδας Κηλιδ. Πυρετού (ΟΚΠ) 75

3.10.4 *R. conorii* 77

3.10.4.1 R. conorii subsp *conorii* Μεσογειακός κηλιδώδης πυρετός (ΜΚΠ) 77

3.10.5.1 *R. sibirica subsp mongolotimonae* 80

3.10.6 *Rickettsia austrlalis* – Queenslandtick typhus 81

3.10.7 *Rickettsia akari* 82

3.10.8 *Rickettsia Japonica*- Ιαπωνικός κηλιδώδης πυρετός 83

3.10.9 *Rickettsia africae*-Αφρικανικός κροτωνογενής πυρετός (ΑΚΠ) 83

3.10.10*Rickettsia honei*-Flinders island spotted fever (FISF) 84

3.10.11 *Rickettsia slovaca* – Tickborne lymphadenopathy (TIBOLA) Dermacentor-borne necrosis, erythema, lymphadenopathy (DEBONEL) 85

3.10.12 *Rickettsia felis*-Flea borne spotted fever 86

3.10.13 *Rickettsia aeschlimannii* 86

3.10.14 *Rickettsia parkeri* 87

3.10.15 *Rickettsia massiliae* 87

3.10.16 Νεότερες ρικέτσιες 87

3.10.17 Ρικέτσιες πιθανής ή αγνώστου παθογενετικότητας 89

4 ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ 90

4.1 ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ 90

4.2 Πρωτόκολλο μελέτης 91

4.2.1 Καταγραφή δεδομένων 91

4.2.2 Εργαστηριακά ευρήματα 92

4.2.3 Ειδικός εργαστηριακός έλεγχος 92

4.2.3.4 Αλληλούχιση (sequencinganalysis) 93

4.3 Ορισμός κρούσματος ρικετσιώσης (casedefinition) 94

4.3.1 Κριτήριο Rault 94

4.3.2 Κριτήρια CDC (2010) 96

4.3.3 Προσαρμογή κριτηρίων 98

4.4 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ 98

4.4.1 Έλεγχος περιβάλλοντος και συνθηκών διαβίωσης των ασθενών 98

4.4.2 Αναζήτηση ρικετσιών σε μεταβιβαστές 98

4.4.3 Έλεγχος αρθρόποδων-μεταβίβαστών (κρότωνες-ψύλλοι) 98

4.5 Υλικά και Μέθοδοι 99

4.6 Αποτελέσματα 100

4.6.2 Τρία περιστατικά με *R. felis* 101

4.7 Μελέτες 103

4.7.1 Ο μυικός τύφος σε ηλικωμένους ασθενείς 103

4.7.2 Μεθοδολογία 104

4.7.3 Αποτελέσματα 104

4.7.4 ΚΛΙΝΙΚΑ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ 104

4.7.5 Εργαστηριακός έλεγχος και πορεία 106

4.7.6 Θεραπεία και πορεία της νόσου 107

4.7.7 ΣΥΖΗΤΗΣΗ 107

4.8 ΚΥΡΙΟΑΡΘΡΟ 121

4.8.1 Ο Τύφος στους 90 ασθενείς στην Κεντρική Ελλάδα 121

4.8.2 Υλικά και μέθοδοι 122

4.8.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ 123

4.9 ΑΠΑΝΤΗΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΗ 124

4.10 ΣΥΖΗΤΗΣΗ 125

4.11 Γενικά Συμπεράσματα 135

5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 138

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ:

ΕΠΩΝΥΜΟ: **ΧΑΛΙΩΤΗΣ**

ΟΝΟΜΑ: **ΓΕΩΡΓΙΟΣ**

ΟΝΟΜΑ ΠΑΤΕΡΑ: **ΑΡΓΥΡΙΟΣ**

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΗΣ: **24/06/1955**

ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ: **ΒΑΣΙΛΙΚΟ ΧΑΛΚΙΔΟΣ**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ: **ΕΓΓΑΜΟΣ, ΠΑΤΕΡΑΣ ΔΥΟ ΠΑΙΔΙΩΝ**

e - mail: xaliotis@otenet.gr

- 1973 ΑΠΟΦΟΙΤΗΣΗ ΑΠΟ ΤΟ ΛΥΚΕΙΟ ΒΑΣΙΛΙΚΟΥ ΕΥΒΟΙΑΣ ΜΕ ΒΑΘΜΟ ΑΡΙΣΤΑ
- 1973 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ (ΑΠΘ) ΜΕ ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ
- 1975 ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ ΑΘΗΝΩΝ (ΕΚΠΑ)
- 1979 ΑΠΟΦΟΙΤΗΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ ΕΚΠΑ ΒΑΘΜΟΣ ΠΤΥΧΙΟΥ: ΛΙΑΝ ΚΑΛΩΣ
- 1980-1982 ΣΤΡΑΤΙΩΤΙΚΗ ΘΗΤΕΙΑ
- 1984 ΕΝΑΡΞΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ ΣΤΟ ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΧΑΛΚΙΔΟΣ
- 1985-ΣΗΜΕΡΑ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΣ ΣΥΝΕΡΓΑΤΗΣ ΤΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΩΝ ΚΚ ΤΣΕΛΕΝΤΗ Ι. ΚΑΙ ΓΚΙΚΑ Α.
- 1985-1989 ΟΛΟΚΛΗΡΩΣΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ – ΝΟΣ. ΕΛ.ΕΡΥΘΡΟΥ ΣΤΑΥΡΟΥ ΑΘΗΝΑ
- 4/1989 ΑΠΟΚΤΗΣΗ ΤΙΤΛΟΥ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ
- 1990-1998 ΕΠΙΜΕΛ. Β ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΝΙΚΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΧΑΛΚΙΔΟΣ
- 1996-1997 ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΗ ΣΤΟ ΣΑΚΧ.ΔΙΑΒΗΤΗ, ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
- 1998-2006 ΕΠΙΜΕΛ. Α ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΝΙΚΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΧΑΛΚΙΔΟΣ
- 2006-2010 ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΓΕΝΙΚΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΧΑΛΚΙΔΟΣ
- 2010-2012 ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΓΕΝΙΚΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΧΑΛΚΙΔΟΣ
- 11/2012 ΣΥΝΤΟΝΙΣΤΗΣ ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΓΕΝΙΚΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΧΑΛΚΙΔΟΣ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΚΑΙ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΕΡΓΟ

Α. ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ ΑΡΘΡΩΝ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΣΧΕΤΙΚΑ ΜΕ ΤΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Murine typhus in central Greece: epidemiological, clinical, laboratory, and therapeutic-response features of 90 cases ChaliotisG.,KritsotakisE. I., PsaroulakiA.,TselentisY., GikasA., Int J Infect Dis, 2012,**16**, 591-596.

Β. ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗΑΛΛΩΝΑΡΘΡΩΝ

Transmission cycle of murine typhus in Greece. , Chaniotis B., Psarulaki A., Chaliotis G., Gozalo Garcia G., Gozadinos T., Tselentis Y., Ann Trop Med Parasitol. 1994 Dec, **88**, 645-647.

Clinicoepidemiological study of murine typhus on the Greek island of Evia, Y Tselentis; T L Babalis; D Chrysanthis; A Gikas; G Chaliotis; D Raoult, Eur J of Epidem, 1992 Mar, **8**, 0393-2990.

Prevelence of Hospital acquired infections in surgical patients-Results from two nationwide prevalence surveys in Greek hospitals, Gikas A., Roubelaki M., Pediaditis J., Nikolaidis P. Levidiotou S., Metalidis S., ANEVLAVIS E., Chaliotis G., Colibiris H., Tselentis Y., Infect Cont and HospEpidem, 2004 Apr, **25**, 319-324.

Γ. ΔΙΕΘΝΕΙΣΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ

Clinical and Epidemiological Study of Murine Typhus in Euboea Greece, Chaliotis G., Gikas A., Gozadinos T., Chrysanthis A., Kofteridis D., Barbounakis E., Diakos A., Tselentis Y., ECCMID, 2001, δημοσίευσηστοCitClinMicrob and Infect, 2001, **7**, 394, Abstract, 963.

ΑΛΛΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ

1.Παρασιτκές ηωζινοφιλίες.

Μελέτη επί 44 περιπτώσεων. Α. Γκίκας, Σ. Μανέτας. Π. Ιωαννίδης, **Γ.Χαλιώτης**, Α. Μπαμπιονιτάκης, Ι. Τσελέντης. Ανακοινώθηκε στο **41ο Πενελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο** στην Θεσσαλονίκη, τον **Οκτώβρη του 1985** της Ιατροχειρουργικής Εταιρείας.

2.Λεμφαδενίτιδες τοξοπλασματικής αιτιολογίας.

Μελέτη επί 58 περιπτώσεων. **Γ.Χαλιώτης** , Α. Γκίκας, Π. Ιωαννίδης, Σ. Μανέτας, Α. Μπαμπιονιτάκης, Ι. Τσελέντης. Ανακοινώθηκε στο **41ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο** στην Θεσσαλονίκη, τον **Οκτώβρη του 1985** της Ιατροχειρουργικής Εταιρείας Αθηνών.

3. Κυστικέρκωση εγκεφάλου. Νεώτερα θεραπευτικά δεδομένα.

Β. Κουρμπάνης, Ι. Βέργος**, Γ.Χαλιώτης.** Ανακοινώθηκε στο **42ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο** στην Αθήνα , τον **Νοέμβρη του 1986** της Ιατροχειρουργικής Εταιρείας Αθηνών.

4.Αιμολυτική κρίση από έλλειψη G-6-PD ενζύμου επί υπεργλυκαιμίας

Γ.Χαλιώτης,Ν.Μαλάμος, Π. Χριστακόπουλος. **1ο Πανελλήνιο Διαβητολογικό Συνέδριο στην Αθήνα31Μαρτίου-1 Απριλίου 1989.**

5.Τα τρόφιμα για Διαβητικούς΄στην Ελληνική αγορά.

Α.Αλάβερας,**Γ.Χαλιώτης,** Ι. Τσιρώνης, Π. Χριστακόπουλος **1ο Πανελλήνιο Διαβητολογικό Συνεδριο** στην Αθήνα **31 Μαρτίου-1 Απριλίου 1989.**

6.Foods in the market for diabetics.Violatios of the legislation and the scientific recommendations

P.D. Christakopoulos, A.E.G.Alaveras**, G.A.Haliotis. Seventh International Symposium on Diabetes and Nutrition**.Byssum the **Netherlands 28-30th ofJune1989**.

7.The validity of the old generationantibiotics in the treatmentof common infections.

S.T. Bazeos, A. Adamantos, A.E.G. Alaveras, **G. Chaliotis,** P.D. Christakopoulos(Poster).**Mediterranean Medical Meeting**ΗράκλειονΚρήτης**Σεπτέμβριος 1989**.

8.The susceptibility of diabeticpatients to infections and theirresponsiveness to treatment.

G.A. Chaliotis, A.E.G. Alaveras, S.T. Bazeos,K. Tsironis, P.D. Christakopoulos (Poster).**Mediterranean Medical Meeting**ΗράκλειονΚρήτης**Σεπτέμβριος 1989**.

.

9.Το υπερηχογράφημα επαρκές απεικονιστικό συμπλήρωμα στη κλινική διάγνωση των παθήσεων ήπατος χοληφόρων και παγκρέατος .

Γ. Χαλιώτης, Π. Χρονόπουλος, Π. Γιαννόπουλος , Κ. Τσιρώνης, Π. Χριστακόπουλος. Ανακοινώθηκε στο **3ο Πανελλήνιο Ακτινολογικό ΣυμπόσιοΝεωτέρων Μεθόδων Απεικόνισης.** Αθήνα 20-22 **Οκτώβρη 1989**.

10.Η αξία της γ-Γλουταμινίκηςτρανσφέρασης, ως δείκτου ηπατικών μεταστάσεων σε καρκίνο του μαστού

Αλεξάνδρα Παντελάκη, Ελισ. Καραδέλογλου **Γ. Χαλιώτης,**Κατερ. Ντελάκη, Κων/να Παναγιωτακοπούλου, Π.Δ. Χριστακόπουλος, Γ. Σταθόπουλος.Α' Παθολογικό Τμήμα ΝΕΕΣ, Ογκολογικό Ιατρείο Ιπποκρατείου Γεν. ΝοσοκομείουΑθήνας. **16ΟΕτήσιοΠανελλήνιοΙατρικόΣυνέδριο- Αθήνα- 08-12/Μαίου/1990**

11.The influence of a Mediterraneandiet rich in soluble febers on the lipid profile.

P.D. Christakopoulos, K. Tsironis,T.K. Tyllis,C.Delaki, V.Patatsi, **G.A. Chaliotis.1est Med Dept. Red Cross Hospital Athens Greece**.Ανακοινώθηκε IV meeting of the mediteranian group for the study of diabetes.**MadridSpainMarch 4-7 1993.**

12. Η πλευρόδεση χωρίς έγχυσηουσιών στη θεραπεία της καρκινωματώδουςπλευριτικής συλλογής.

Νερούτσος Ισίδωρος , Νικολοπούλου Ελένη, Ποδάρας Στέλιος, ΤζιώνήΕλλη,Περλεπέ Αικατερίνη, **Χαλιώτης Γεώργιος** , Διάκος Ανέστης, Γοζαδίνος Θωμάς .Πνευμονολογικό Τμήμα και Παθολογική Κλινική Γενικού Νοσοκομείου Χαλκίδας.Ανακοινώθηκε στο **6ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος**Αθήνα**5-8 Δεκεμβρίου 1991.**

13. Συχνότητα Δευτεροπαθούς Αστοχίαςτων Υπογλυκαιμικών Δισκίων σε διαβητικούς τύπουςκαι παράγοντες σχετιζόμενοι με αυτή.

Α.Μαυρογιαννάκη, Τ. Ελ. Χασμπαν, **Γ, Χαλιώτης** , Γ. Χατζηγεωργίου,Κ.Πέτρου, Α.Θανοπούλου, Ε.Αντωνιάδου, Α. Κοφίνης.Διαβητολογικό Κέντρο Πανεπιστημίου Αθηνών-Ιπποκράτειο ΝοσοκομείοΑνακοινώθηκε στο **5ο Πανελλήνιο διαβητολογικό Συνέδριο**Αθήνα**21-25 Μαρτίου 1997**.

14.Η αυτόνομη νευροπάθεια σε διαβητικούς

Α.Χρυσάνθης, **Γ. Χαλιώτης,** Α. Διάκος, Ι. Ελευθερίου, Θ. Γοζαδίνος.Διαβητολογικό Ιατρείο Παθολογικής Κλινικής Γ.Ν.Ν. Χαλκίδας.Ανακοινώθηκε**Διαβητολογικό Συνέδριο Βορείου Ελλάδας Θεσσαλονίκη 1994.**

15.Χρονική Συσχέτιση της τιμής της Γλυκοζυλιωμένηςαιμοσφαιρίνηςμε τα επίπεδα γλυκόζης αίματοςκαι τις διακυμάνσεις των.

Β.Καραμάνος ,**Γ. Χαλιώτης** , Τ.Ελ. Χασμπάν, Χ. Τούντας, Α.Μαυρογιαννάκη, Α. Κοφίνης.Διαβητολογικό Κέντρο Πανεπιστημίου Αθηνών Ιπποκράτειο Νοσοκομείο.Ανακοινώθηκε στο**5ο Πανελλήνιο Διαβητολογικό Συνέδριο** Αθήνα **21-23 Μαρτίου 1997.**

16. Σχέση Λιπιδίων , Λιποπρωτεινών και ρυθμίσεως του διαβήτουπρο και μετά ετήσια παρακολούθηση.

Β. Καραμάνος , Τ.Ελ. Χασμπάν, **Γ.Χαλιώτης** , Χ. Τούντας, Α. Μαυρογιαννάκη,Α. Κοφίνης. Ανακοινώθηκε στο 5ο Πανελλήνιο Διαβητολογικό Συνέδριο Αθήνα 21-23 Μαρτίου 1997.

17.Θεραπεία Νευροκυστικερκώσεωςμεpraziquantel (228).

Μ.Κουτρουμανίδης, **Γ.Χαλιώτης**, Α. Καραμπέτσος, Α. Παπαδημητρίου.Νευρολογικό τμήμα ΝΕΕΣ.Ανακοινώθηκε στο**16ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο.**-Αθήνα **12-16 Μαίου 1992**.

18.Αιμορραγία ανωτέρου πεπτικού.Συχνότητα νοσηλείας, εποχιακή κατανομή και συσχέτιση με την ομάδα αίματος των ασθενών.

Α.Διάκος, Ν. Αγγελόπουλος, Γ.Τσιβίκα, Α. Γεωργίου, **Γ.Χαλιώτης**, Α.Χρυσάνθης, Θ. Γοζαδίνος. Παθολογική κλινική Γ.Ν.Ν.ΧαλκίδαςΑνακοινώθηκε στο **10ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γενικής Ιατρικής**.Καλλιθέα Χαλκιδικής **22-26 Απριλίου 1998**.

19.Δήγματα όφεων –κλινική εικόνα επιπλοκές.

Ν.Τσώκος, Π. Κυριακού, Μ. Μπούγας Ν. Αγγελόπουλος , **Γ. Χαλιώτης,**Α. Διάκος, Α. Χρυσάνθης, Θ. Γοζαδίνος,Π.Μαυρογιαννίδου.Παθολογική κλινική Γ.Ν.Ν. Χαλκίδας**10ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γενικής Ιατρικής** Καλλιθέα Χαλκιδικής **22-26 Απριλίου 1998**.

20.Εξέλιξη του ΓλυκαιμικούΠροφίλΔιαβητικών τύπου 2του Διαβητολογικού Ιατρείου του Γ.Ν.Ν. Χαλκίδας.

Α.Διάκος, Κ. Κυρθαζάκης Κλειώ Μαυραγάνη, Α. Γερασίμου, Α.Δημητρίου, Π. Μπούγα , Γ. Ελευθερίου, **Γ. Χαλιώτης,** Α. Χρυσάνθης .Διαβητολογικό Ιατρείο Γ.Ν.Ν. Χαλκίδας. **11^{ο} Πανελλήνιο Συνέδριο Γενικής ιατρικής.**Κέρκυρα**14-18 /4/1999.**

21. Κατάταξη Διαβητικών Τύπου 2σε κατηγορίες σύμφωναμε τα κριτήρια JNCVIπου αφορούν την υπέρταση.

Α.Διάκος, Ν. Αγγελόπουλος , Κ. Κυριαζάτης, Α, Γεωργίου, Ν.Τσώκος,Δ.Μεταξάς, **Γ.Χαλιώτης**, Α.Χρυσάνθης. Διαβητολογικό Ιατρείο Γ.Ν.Ν.Χαλκίδας.**11^{ο} Πανελλήνιο Συνέδριο Γενικής Ιατρικής** Κέρκυρα **14-18/4/1999**.

22.Συμμόρφωση των διαβητικώντύπου 2 προς τηνμείωση του βάρους σώματος.

Α.Διάκος ,Κ.Μαυραγάνη, Κ. Κυριαζάτης, Ν.Αγγελόπουλος, Α, Γεωργίου,Ν.Τσώκος, Γ.Ελευθερίου**,** **Γ.Χαλιώτης**, Α.Χρυσάνθης.**11^{ο} Πανελλήνιο Συνέδριο Γενικής Ιατρικής** Κέρκυρα **14-18/4/1999.**

23.Ρικετσίωση :Ένα ενδημικό νόσημαστη περιοχή της κεντρικής Εύβοιας.

Α.Διάκος, Ν.Τσώκος, Κ. Κυριαζάτης, Α.Γεωργίου, Κ.Μαυραγάνη, Δ.Μεταξάς, **Γ.Χαλιώτης** , Α. Χρυσάνθης. Παθολογική κλινική Γ.Ν.Ν. Χαλκίδας**11^{ο} Πανελλήνιο Συνέδριο Γενικής Ιατρικής** Κέρκυρα **14-18/4/1999.**

24.Νόσος εξ ονύχων Γαλής.Ένα μη συχνό αίτιοΔιόγκωσης λεμφαδένων.

Α.Διάκος,Κ.Κυριαζάτης,Α.Γερασίμου,Π.Μπούγα,Ν.Αγγελόπουλος,**Γ.Χαλιώτης**,Α.Χρυσάνθης, Θ.Γοζαδίνος. Παθολογική Κλινική Γ.Ν.Ν.Χαλκίδας**11° Πανελλήνιο Συνέδριο Γενικής Ιατρικής** Κέρκυρα **14-18/4/1999.**

25.Σχετίζεται η συχνότητα εμφάνισηςτου ΟΕΜ με κλιματολογικές παραμέτρους;

Ν.Α.Τσώκος, Ν.Γ. Ελευθεράκης, Π.Κυριάκου, Γ. Χαλιώτης, Κ.Δ.Δρεμέτσικας, Ι.Α.Τσάλας. ΓΕΝ. ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΧΑΛΚΙΔΑΣ-**10ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γενικής Ιατρικής** Καλλιθέα Χαλκιδικής **22-25 Απριλίου 1998.**

26. Νοσηλεία των γηριατρικών ασθενώνσε παθολογική κλινική . Συνηθέστερανοσήματα μέσος χρόνος νοσηλείαςκαι συνηθέστερα αίτιαενδονοσοκομειακούθανάτουτων ασθενών αυτών.

Α.Γ.Κουτεντάκης , Π. Ι. Κυριακού, Χ.Ν. Λούτσου, **Γ.Α. Χαλιώτης** ,Ν.Γ.Ελευθεράκης, Α. Διάκος, Θ. Γοζαδίνος.5° **Πανελλήνιο Συνέδριο Γηριατρικής Γεροντολογίας .**Αθήνα **11-13 Δεκεμβρίου 1997.**

27. Νοσηλεία Γηριατρικών ασθενώνγια λοιμώξεις .Διάγνωση,χρόνος νοσηλείας και θνητότητα.

Ν.Γ.Αγγελόπουλος , **Γ.Α. Χαλιώτης ,**Ν.Γ.Ελευθεράκης, Α. Διάκος, Θ. Γοζαδίνος.ΓΕΝ. ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΧΑΛΚΙΔΑΣ5^{o} **Πανελλήνιο Συνέδριο Γηριατρικής Γεροντολογίας**.Αθήνα**11-13 Δεκεμβρίου 1997.**

28.Περιγραφή περιπτώσεως νέας γυναίκας με κίρρωση ήπατος,συνεπείαομοζυγωτίαςαιμοχρωματώσεως.

Χ.Δρακούλης, Π. Πολιτάκης, Δ. Τσιτσιοπουλου, Α. Χατζηβασιλείου,**Γ.Χαλιώτης**, Χ. Μπελένης, Π. Σαρρής, Α. Παράση.Ηπατολογικό Ιατρείο Β. Παθολγικής Κλινικής Π.Γ.Ν. Νίκαιας Πειραιά ’΄ΆγιοςΠαντελεήμων΄΄.Ανακοινώθηκε στο **Πανελλήνιο Γαστρεντερολογικό Συνέδριο Αθήνα**

29.Θεραπευτική αντιμετώπιση παραλλαγήςλευχαιμίας εκ τριχωτώνκυττάρων (HCLVARIANT) με RITUXIMAB

Ζ. Καρτάσης, Γ. Πατεράκης, Β. Ξανθόπουλος, **Γ. Χαλιώτης**, Λ. Μαρίνος, Χ. Χριστοδουλίδης.ΜονάδαΜεσογειακής Αναιμίας Γ. Νοσοκομείο Χαλκίδας, Ανοσολογικότμήμα και Εθνικό Κέντρο Ιστοσυμβατότητας, εργαστήριο κυτταρομετρίαςΠεριφερειακόΝοσοκομείο Αθηνών ΄΄ Γ. Γεννηματάς΄΄, Αιμοπαθολογοανατομικό ΤμήμαΝοσοκομείου Ευαγγελισμός. Ανακοινώθηκεστο**15ο ΠανελλήνιοαιματολογικόΣυνέδριο**Αθήνα**24-28 Νοεμβρίου 2004**.

30.VancomycinResistantEnterococciinGreeceamulticenterprevalencestudyonintestinalcolonization.

Christidou, P. Nikolaidis, A.Skoutelis, S.Kartali, E.Maltezos, S. Levidiotou,j. Kioymis, j Pediaditis, **G. Chaliotis**, S. Dima, E. Scoulika, M.Roubelaki,E. Kritsotakis, A. Gikas, Y. Tselentis.**Υπό ανακοίνωση στο ECCMID 2005.**

31. Λιπώδης διήθηση σε μη ινσουλινοεξαρτώμενουςδιαβητικούς.Διαταραχές στους ασθενείς αυτούς των βιοχημικών εξετάσεων ήπατος

Α.Γ. Χρυσάνθης, Ε.Κ. Δρεμέτσικα, **Γ.Α. Χαλιώτης,** Α.Ν. Διάκος, Ν.Γ. Ελευθεράκης,Κ.Δ. Δρεμέτσικας, Θ. Γοζαδίνος. **Παθολογική Κλινική Γεν. Νοσοκομείου Χαλκίδας.** Ανακοινώθηκε στο **24ο ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο- ΑΘΗΝΑ 05-09/05/1998.**

32. Σχετίζεται η συχνότητα εμφάνισης του οξέως εμφράγματος και του οξέως πνευμονικού οιδήματος με κλιματολογικές παραμέτρους;

Ν.Α. Τσώκος, Ν.Γ. Ελευθεράκης, Π.Ι. Κυριακού, **Γ.Α. Χαλιώτης,** Κ.Δ. Δρεμέτσικας, **Γενικό Νοσοκομείο Χαλκίδας**Ανακοινώθηκε στο **24ο ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο- ΑΘΗΝΑ 05-09/05/1998.**

33. Η σημασία της πρώιμης διάγνωσης ενός συχνού κληρονομικού μεταβολικού νοσήματος, Περιγραφή περιπτώσεωςνέας γυναίκας με κίρρωση ήπατος,συνεπείαομοζυγωτίαςαιμοχρωμάτωσης.

Δρακούλης Χ., Πολιτάκης Π., **Γ.Α. Χαλιώτης,** Μπελέση Χ., Μερκούρης Π., Κορωναίος Β., Κατσαδώρου Ε., ΜηναδάκηΜ.**Ηπατολογικό Ιατρείο Β' Παθολογικής Κλινικής Π.Γ.Ν. Νίκαιας-Πειραιά ΄΄ΆγιοςΠαντελεήμων΄.**΄Ανακοινώθηκε στο **4° Πανελλήνιο Συνέδριο Προληπτικής Ιατρικής - ΑΘΗΝΑ 29-31/01/2004.**

34.TemporalrelationsofglucosylatedhaemoglobinHbA1cwithbloodglucoselevelsandfluctuations

B. Karamanos, **G. Chaliotis,** El. HusbanTaisir, Ch. Tountas, N. Mavrogiannaki, and A. Kofinis.PLACE of WORK: Diabetes Center HIPPOKRATION Hospital- Athens GREECE. Ανακοινώθηκεστο: **16th IDF CONGRESS-HELSINKI, 16-Dec.-1996**

35. Rate of secondary failure to sulphonylouria treatment in type-2 diabetesand factors which are related at it.

A. Kofinis, N. Mavrogiannaki, Ch. Tountas, El. HusbanTaisir,**G. Chaliotis,** G. Hadjigeorgiou, E. Antoniadou and B. Karamanos.Ανακοινώθηκεστο: **16th IDF CONGRESS-HELSINKI, 16-Dec.-1996**

ΕΚΤΕΝΗΣ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Από τα μακρινά βάθη της προϊστορίας 150 εκατομμύρια. χρόνια πριν οι ρικέτσιες φαίνεται ότι άρχισαν το μακρινό τους ταξίδι στον κόσμο μας έχοντας κοινό πρόγονο με τα α proteobacteria ο οποίος διέθετε 3000 - 5000 γονίδια. Στη συνέχεια της εξελικτικής τους πορείας ο κοινός πρόγονος του γένους Rickettsiae κατευθύνθηκε στην εύκολη λύση του να ζει παρασιτικά ενδοκυττάρια, απέβαλε αρκετά γονίδια από τα αρχικά και έφτασε στα 1254 - 1700 έχοντας χάσει την ικανότητα να συνθέτει αμινοξέα και νουκλεοτίδια τα οποία εξασφάλιζε από το μεταβολισμό των κυττάρων που παρασιτούσε στην αρχή ειρηνικά αργότερα όμως εχθρικά καταστρέφοντας τα κύτταρα που τον φιλοξενούσαν και προκαλούσε νόσο στον οργανισμό ξενιστή. Η εξελικτική πορεία αυτή επιταχυνόταν διαρκώς μέχρι πριν 50 εκατ. χρόνια, όταν ξεχώρισε ο κλάδος των ρικετσιών που σχετιζόταν με τα αρθρόποδα. Έτσι με τη βοήθεια των αρθροπόδων σαν μεταβιβαστές και με εύκολο πολλαπλασιασμό (εγκάρσια διχοτόμηση) έφτασαν στη σύγχρονη ιστορική εποχή. Έκαναν δυναμική και έντονη τη παρουσία τους στο μεσαίωνα με τον επιδημικό τύφο ο οποίος είχε περισσότερα θύματα από τους πολέμους. Η εξελικτική τους πορεία συνεχίστηκε με την εκστρατεία του Ναπολέοντα στη Ρωσία οπότε και μεταφέρθηκε εκ' νέου στην Ευρώπη ο επιδημικός τύφος με την επιστροφή των στρατιωτών. Αργότερα στις αρχές του 20ου αιώνα οι ρικέτσιες εμφανίσθηκαν στην Β. Αμερική απ' όπου άρχισε και η ουσιαστική επιστημονική τους διερεύνηση με πρώτη περιγραφή του πυρετού των βραχωδών ορέων από τον στρατιωτικό γιατρό Marshal Wood το 1896. Αργότερα ο Haward Rickets περιέγραψε την πρώτη ρικέτσια το 1907 που πήρε και το όνομά του αλλά δυστυχώς το 1910 πέθανε από τη νόσο που ο ίδιος ανακάλυψε. Στη συνέχεια ο Prowazec το 1914 περιγράφει τη παρουσία της ρικέτσιας στα κόπρανα της ψείρας. Δυστυχώς λίγο αργότερα έπεσε και αυτός θύμα της νόσου. Το1928 ο Mooser επιβεβαίωσε τα ευρήματα του Neil με ενοφθαλμισμό αίματος ασθενούς με Μεξικανικό τύφο σε ινδικά χοιρίδια και συνέβαλε στη διάκριση του επιδημικού και ενδημικού τύφου. Το 1930 ο ιατρός Joseph Lipsky νόσησε στη Βαλτιμόρη από εμπύρετο εξανθηματικό νόσημα και παρουσίασε οροαντίδραση Weil Felix θετική . Η όμοια νόσος δύο άλλων υπαλλήλων έγινε αφορμή για την ανακάλυψη των αρουραίων και των ψύλλων σαν φορέων και μεταβιβαστών της νόσου του Ενδημικού Τύφου (ΕΤ). Στην Αθήνα το1932 ο Lepine έδειξε ότι περιπτώσεις τύφου στην Αθήνα σχετιζόταν με αρουραίους από τους οποίους απομόνωσε τη ρικέτσια (rat virus). Ομοίως το1932 οι Blanc και Καμινόπετρος απέδειξαν ότι οι κρότωνες *R. sanguineus* ήταν μεταβιβαστής της *R.conorii* αιτίου του Μεσογειακού κηλιδώδους πυρετού (ΜΚΠ). Το 1970 ο David Walter έδειξε τη παρουσία της *R.rickettsii* σε δερματικό εξάνθημα ασθενούς με Κηλιδώδη Πυρετό Βραχωδών Ορέων (ΚΠΒΟ). Το 1981 με ανασοφθορισμό απομονώνονται ρικέτσιες σε κυτταρικές καλλιέργειες από τον Philip. Τέλος με την πρόοδο της Μοριακής Βιολογίας το1998 καταγράφηκε το γονιδίωμα της *R.prowazekii* και το 2002 το γονιδίωμα της *R.conorii*. Μετά τους Καμινόπετρο και Lepine από τη 10ετία του 1930 και για μισό αιώνα

στον Ελλαδικό χώρο υπήρξε μια περίοδος σιγής-σιωπής για τις ρικέτσιες μέχρι τη δεκαετία του 1980. Τότε ο Ι. Τσελέντης και η ομάδα του έκανε την πρώτη ανακοίνωση για ύπαρξη 49 περιστατικών ΕΤ στην Εύβοια στη συνέχεια ακολούθησαν και άλλες.

Η αποκλειστική ενδοκυττάρια ανάπτυξη των ρικετσιών δημιούργησε δυσκολίες στη προσπάθεια της ταξινόμησής τους. Οι ρικέτσιες περιγράφονται σαν μικροί Gram(-) βάκιλλοι που διατηρούν τη βασική φουξίνη όταν χρωματίζονται με τη μέθοδο Gimenez και η ανάπτυξή τους ήταν απόλυτα εξαρτημένη από την ανάπτυξη των ευκαρυωτικών κυττάρων. Με τον όρο ρικέτσιες χαρακτηρίζονται μόνο τα βακτήρια που ανήκουν στο γένος Rickettsiae της οικογένειας Rickettsiaceae,της τάξης Rickettsiales των α Proteobacteria. Το 1974 διαχωρίστηκε η οικογένεια των Chlamidiacae από την τάξη των Rickettsiales μετά από πολλαπλές διαιρέσεις σε τάξη οικογένεια φύλο και γένη προέκυψε η διαίρεση στα γένη Rickettsia, Coxiella, Rochalimea, με βάση την καλλιέργειά τους σε θρεπτικά υλικά και την επώαση σε ευκαρυωτικά κύτταρα .Τελικά το γένος Rickettsia διαιρείται σε 3 ομάδες: Ομάδα κηληδωδών πυρετών (ΟΚΠ) ομάδα τουΤύφου (ΟΤ) και ομάδα του τύφου των θάμνων.(Scrub typhus). Μετά το 1990 οι μοριακές τεχνικές αλλάζουν πάλι τα κριτήρια των ταξινομήσεων ανάλογα με τα γονίδια που γινόταν η ταξινόμηση. π.χ. με βάση το γονίδιο 16srRNA η Coxiella burnetti και η R. grylli διαχωρίστηκαν από την τάξη των Ricketsiales και τοποθετήθηκαν στη κατηγορία των α Proteobacteria στην οικογένεια Legionellaceae. Στη συνέχεια ο συνδυασμός των διαφόρων γονιδίων έδωσε θαυμάσια φυλογενετικά διαγράμματα που συμφωνούσαν στην ομαδοποίηση των διαφόρων ειδών με διαφορετικά γονίδια. Η τελευταία ομαδοποίηση των ρικετσιών με βάση το Sca4 γονίδιο έδωσε τις ακόλουθες 5 ομάδες ρικετσιών 1) ομάδα τύφου 2)ομάδα *R.rickettsii* 3) ομάδα *R.massiliae* 4)ομάδα *R.helvetica* και 5) ομάδα *R.conorii, R.acarii, R.felis, R.australis* με την οποία συμφωνούν και οι αναλύσεις σύμφωνα με τα Sca1 και Sca2 γονίδια. Η κυτταρική τους δομή με την ύπαρξη κυτταρικού τοιχώματος με δομή τριών στιβάδων και την ύπαρξη πρωτεϊνικών αντιγόνων έδωσε την δυνατότητα ανάπτυξης διαγνωστικών τεχνικών με πρώτη την οροαντίδραση Weil Felix η ποία στηρίζεται σε διασταυρούμενες αντιδράσεις μεταξύ αντιγόνων ρικετσιών και του *Protea vulgaris* (OX19 για την ομάδα του τύφου ΟΤ ΚΑΙ OX2 για την ομάδα των κηλιδωδών πυρετών ΟΚΠ). Με τη μέθοδο αυτή ανιχνεύονται IgM αντισώματα. Στη συνέχεια ανεπτύχθησαν η μέθοδος σύνδεσης συμπληρώματος (CF), η μικροσυγκόλληση, η έμμεση αιμοσυγκόλληση, η συγκολλητινοαντίδραση Latex, η ELISA, ο έμμεσος ανασοφθορισμός IFA και η Western blot. Η τελευταία εξέλιξη στην μοριακή βιολογία έφερε την PCR rflp sequesing με την οποία γίνεται η ταυτοποίηση του είδους της ρικέτσιας. Οι ρικέτσιες στη πορεία ανέπτυξαν ένα αρκετά έξυπνο μεταβολισμό στην εξέλιξή τους και χρησιμοποίησαν πολλά συστήματα του κυττάρου ξενιστή περιορίζοντας τον δικό τους μεταβολισμό και αντικαθιστώντας τον από συστήματα μεταφοράς. Χρησιμοποιώντας λοιπόν μεταβολικά συστήματα του κυττάρου ξενιστή αναπτύσσονται και

πολλαπλασιάζονται ενδοκυττάρια εύκολα με διχοτόμηση και εκδηλώνουν την κυτταροπαθογόνο δράση τους που είναι και ο μηχανισμός πρόκλησης της νόσου.

Οι παθογόνες ρικέτσιες μεταδίδονται στον άνθρωπο μέσω αιματοφάγων αρθροπόδων όπως οι κρότωνες, οι ψύλλοι και οι ψείρες τα οποία παρασιτούν τα σπονδυλωτά ξενιστές. Οι ρικέτσιες εισέρχονται στη κυκλοφορία μέσω λύσης της συνεχείας του δέρματος στη περιοχή του νύγματος, ή μέσω μολυσμένης κόνεος από τα κόπρανα των παρασίτων μέσω των βλεννογόνων του οργανισμού. Μετά την είσοδό τους μέσω τριχοειδών ή των λεμφαγγείων, εγκαθίστανται στα ενδοθηλιακά κύτταρα όπου πολλαπλασιάζονται και στη συνέχεια διασπείρονται σε όλα τα όργανα του ασθενούς και προκαλούν την νόσο. Η προσβολή αυτή των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων δημιουργεί ενδοαγγείιτιδα η οποία εξηγεί και τις κλινικές εκδηλώσεις της νόσου (εξάνθημα, προσβολή ΚΝΣ .πνευμόνων, νεφρών, καρδιάς). Η είσοδος των ρικετσιών από δέρμα ενεργοποιεί τα δενδριτικά κύτταρα του δέρματος τα οποία μεταναστεύουν στους επιχόριους λεμφαδένες και ενεργοποιούνται οι αμυντικοί μηχανισμοί. Η πρόσφατη αποκωδικοποίηση του γονιδιώματος των ρικετσιών διευκρίνισε πολλούς μηχανισμούς σχετικά με την παθογονικότητα τους. Οι ρικέτσιες της ομάδος ΟΚΠ αναπτύσσονται στο πυρήνα και στο κυτταρόπλασμα ενώ οι ρικέτσιες της ομάδος ΟΤ αναπτύσσονται μόνο στο κυτταρόπλασμα. Η προσβολή του ενδοθηλίου από τις ρικέτσιες προκαλεί διόγκωση καταστροφή και απόπτωση των κυττάρων με αποτέλεσμα την απογύμνωση του επιθηλίου και την ενεργοποίηση του μηχανισμού πήξης με αποτέλεσμα τις αιματολογικές διαταραχές που παρατηρούνται (θρομβοπενία κλπ.)

Η είσοδος των ρικετσιών στο κύτταρο ενεργοποιεί τον NF-κB ο οποίος στη συνέχεια επάγει την παραγωγή IL6-IL19 καθώς και IL8 και MCP-1 και τελικά μέσω της υπερίσχυσης των CD8T λεμφοκυττάρων προκαλείται καταστροφή και απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Επίσης ενεργοποιείται η P38MAP κινάση που παίζει ρόλο στην έκκριση ποικίλων φλεγμονωδών και χημειοτακτικών κυτοκινών. Επίσης οι TNFa και INFγ επάγουν την παραγωγή iNOS το οποίο είναι ρικετσιοκτόνο. Τελικά οι ενδοκυττάριες ρικέτσιες σκοτώνονται μέσω παραγωγής H_2O_2 από τα μακροφάγα και NO από τα RANTES ηπατοκύτταρα. Μεταξύ των ρικετσιών υπάρχουν μικροδιαφορές στη έκφραση κυτοκινών σε μολυσμένα μακροφάγα.

Τα δενδριτικά κύτταρα του δέρματος παρουσιάζουν τα αντιγόνα στα CD4 helper λεμφοκύτταρα και τελικά ενεργοποιούνται τα CD8 κυτταροτοξικά Τ λεμφοκύτταρα που θανατώνουν τα προσβεβλημένα κύτταρα.

Αντισώματα έναντι των rOmpA και rOmpB αντιγόνων προστατεύουν τα ποντίκια από θανατηφόρο λοίμωξη. Τελικό αποτέλεσμα είναι η καταστροφή των ρικετσιών μέσω του NO και των ενεργών ριζών O καθώς και της στέρησης της L τρυπτοφάνης που είναι απαραίτητη για το μεταβολισμό των ρικετσιών. Διαταραχές της χυμικής ανοσίας πχ υπερβολική διέγερση των TLR4 και TLR2 υποδοχέων των δενδριτικών κυττάρων από την LPS και τις πεπτιδογλυκάνες των ρικετσιών μπορεί να οδηγήσει από την παραγωγή προφλεγμονώδους κυτοκίνης IL12 στη παραγωγή αντιφλεγμονώδους κυτοκίνης IL10 η οποία διεγείρει τα T reg και κατασταλτικά T4 λεμφοκύτταρα με αποτέλεσμα την ανεξέλεγκτη ανάπτυξη των ρικετσιών και την κακή έκβαση της νόσου.

Παρατηρείται αύξηση των INFγ, IL6, TNFa, IL10 ενώ η IL1 και IL8 είναι μη ανιχνεύσιμες στην οξεία φάση της νόσου. Επίσης οι C3, C4, CRP και factorB αυξάνονται τις 2 πρώτες εβδομάδες της νόσου και στη συνέχεια επανέρχονται σε φυσιολογικά επίπεδα. Το ινωδογόνο αυξάνεται κατά την πρώτη εβδομάδα της νόσου. Σε θανατηφόρο περιστατικό στη Β. Ελλάδα ΜΚΠ τα επίπεδα του TNF ήταν μη ανιχνεύσιμα.

Η δοξυκυκλίνη αποτελεί θεραπεία εκλογής όπως τεκμηριώνεται από την MIC της, που είναι 0,06 –0,25μg/ml, και από την μέχρι τώρα βιβλιογραφία για την αποτελεσματικότητά της. Η χλωραμφαινικόλη είναι αποτελεσματική αλλά λόγω γνωστών σοβαρών παρενεργειών δεν αποτελεί φάρμακο πρώτης επιλογής, MIC0,25-1g/ml, ακολουθεί η θειαφαινικόλη η οποία είναι λιγότερο δραστική. Η κετολίδη τελιθρομυκίνη είναι δραστική όπως και οι μακρολίδες ερυθρομυκίνη, κλαριθρομυκίνη, αζιθρομυκίνη και η ροξιθρομυκίνη .Η γιοσαμυκίνη είναι ένα νεότερο δραστικό αντιβιοτικό χρειάζεται όμως περισσότερη κλινική εμπειρία. Οι φθοριοκινολόνες λεβοφλοξασίνη και οφλοξασίνη είναι δραστικές στη *R.conorii* – *R.prowazekii* όμως μερικές αναφορές για κακή έκβαση περιστατικών με τη θεραπεία τους, καθιστούν επιφυλακτική τη χρήση τους.

Οι ρικέτσιες παρουσιάζουν αντοχή στις β-λακτάμες, αμινογλυκοσίδες και στη κοτριμοξαζολη. Επίσης φαίνεται τελευταία ότι η χρήση στατινών παρέχει προστασία στη νόσηση από τη R.conorii.

Όπως και σε άλλες λοιμώδεις νόσους έγινε προσπάθεια κατασκευής εμβολίων χωρίς όμως ιδιαίτερη αποτελεσματικότητα ώστε να καθιερωθεί η χρήση τους.

Έχουν χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν η R.*prowazekii, R.typhi*,και η *R.rickettsii* σε μορφή εισπνεόμενου αεροζόλ ως βιολογικά όπλα. Προκαλούν νόσο στο 100% του πληθυσμού και θνητότητα ποικίλει από 10% εως 60%. Λόγω αυτής της επικινδυνότητος το CDC τις κατατάσσει στη κατηγορία επικινδυνότητας Β τη *R.prowazekii* και στη κατηγορία C τις υπόλοιπες ρικέτσιες. Χρήση τους σαν βιολογικά όπλα είχε γίνει στη Κίνα και στην Ιαπωνία το 1930-1940.

Η επανεμφάνιση στη περιοχή της Χαλκίδας κρουσμάτων ενδημικού τύφου αποτέλεσε την αφορμή για τη μελέτη αυτή.

Μελετήθηκαν 174 ασθενείς από την ευρύτερη περιοχή της Χαλκίδας που νοσηλεύθηκαν στο Γ.Ν.Ν. Χαλκίδας κατά τα έτη 1999-2005 με κλινική εικόνα ρικετσίωσης. Κλινικά κριτήρια ήταν ο πυρετός, η κεφαλαλγία και το εξάνθημα. Ελήφθησαν 3 δείγματα αίματος, με την εισαγωγή, μία εβδομάδα μετά και τρείς εβδομάδες αργότερα. Έγινε ο βασικός εργαστηριακός έλεγχος αιματολογικός - βιοχημικός ελήφθη στοιβάδα λευκών και διατηρήθηκε στους -80°C για να γίνει περαιτέρω έλεγχος στο Εργαστήριο Βακτηριολογίας Παρασιτολογίας και Ζωονόσων του Πανεπιστημίου Κρήτης. Έγινε πλήρης καταγραφή του επιδημιολογικού ιστορικού των ασθενών επίσκεψη σε πολλούς στο τόπο κατοικίας και εργασίας. Έγινε έλεγχος με έμμεσο .ανοσοφθορισμό (IFA) στα δείγματα των ορών τόσο για R.typhi οσο και για άλλες ρικέτσιες δεδομένης της υποψίας πλέον της ύπαρξης και άλλων ρικετσιών στη περιοχή. Επίσης από τη στοιβάδα λευκών (buffy coat) έγινε καλλιέργεια σε shel vial για απομόνωση στελέχους καθώς και PCR στο δείγμα ολικού αίματος. Θετικά θεωρήθηκαν τα δείγματα με τίτλο IgG>1:960 και για τα IgM>1:400 η τετραπλασιασμός του τίτλου σε δύο διαφορετικές λήψεις. Έγινε επίσης συλλογή 54 αρουραίων από το περιβάλλον των ασθενών από τους οποίους έγινε αιμοληψία για έλεγχο έγινε συλλογή 36 ψύλλων *X.cheopis* από τους αρουραίους καθώς και 23 ψύλλων *Ctenocefalides felis* από το περιβάλλον των ασθενών.

Από το σύνολο των ασθενών που είχαν θετικό ανοσοφθορισμό για *R.typhi* μελετήθηκαν 20 ηλικιωμένοι και η μελέτη ανακοινώθηκε στο «6th International Meeting on Rickettsiae and Ricketsial diseases» Heraklion CRETE GREECE 5-7 June 2011. Μελετήθηκαν επίσης 90 ασθενείς ενήλικες στους οποίους έγινε πλήρης καταγραφή της κλινικής τους πορείας των εργαστηριακών δεδομένων καθώς και των επιδημιολογικών δεδομένων. Η μελέτη έγινε δεκτή και δημοσιεύθηκε στο περιοδικό «International Journal of Infectius Diseases» τον Αύγουστο του 2012. Από τους αρουραίους οι 5 βρέθηκαν θετικοί ορολογικά στη *R. typhi*, 3 από τους 36 ψύλλους *X.cheopis* θετικοί για *R.typhi* και 2 από τους 23 ψύλλους *C.felis* θετικοί για *R.felis*. Τέλος βρέθηκαν ορολογικά θετικοί 3 ασθενείς στη *R.felis* και ένας ασθενής ορολογικά θετικός στη *R.mongoltimonae*. Επίσης στο buffy coat 6 ασθενών απομονώθηκε *Coxiella burnetii* και εξαιρέθηκαν από τη μελέτη.

Τελικά από τους συνολικά 174 ασθενείς υπόπτους για ρικετσίωση, μελετήθηκαν οι 128, στους οποίους ορολογικά επιβεβαιώθηκε η διάγνωση και από τους οποίους πλήρη στοιχεία συγκεντρώθηκαν για τους 90 ενήλικες και 20 ηλικιωμένους. Από τη μελέτη των 2 αυτών ομάδων προκύπτει ότι ο ενδημικός τύφος εξακολουθεί να υπάρχει στη περιοχή με τη κλασσική τριάδα κλινικής συμπτωματολογίας πυρετός, κεφαλαλγία, και κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα. Τα κύρια εργαστηριακά

ευρήματα είναι η τρανσαμινασαιμία, η θρομβοπενία, η αναιμία, η υποαλβουμιναιμία και η υπονατριαιμία. Η θεραπευτική ανταπόκριση στη δοξυκυκλίνη υπήρξε απόλυτα επιτυχής με μικρότερο χρόνο απυρεξίας συγκρινόμενη με την οφλοξασίνη που χρηρσιμοποιήθηκε και στις δυο ομάδες. Οι επιπλοκές αφορούσαν και στις 2 ομάδες το αναπνευστικό (διηθήσεις πυκνώσεις πλευρίτιδα) νεφρούς (νεφρική ανεπάρκεια) Κ.Ν.Σ. (κώμα λήθαργος) και οι ηλικιωμένοι είχαν τριπλάσια συχνότητα. Παρ' όλα αυτά η θεραπευτική ανταπόκριση υπήρξε απόλυτα επιτυχής και στις δύο ομάδες εξαιτίας της έγκαιρης θεραπευτικής αγωγής μιας και επιδημιολογικά, υπήρξε έντονη υποψία της νόσου. Τέλος η παρουσία δύο νέων ρικετσιών στη περιοχή επιβάλει την επαγρύπνηση και την περαιτέρω διερεύνηση. Οι ρικετσιώσεις λοιπόν δεν είναι και τόσο σπάνιες όσο πολλοί γιατροί θεωρούν. Η θεραπεία τους είναι απλή όταν χορηγείται έγκαιρα και αποτρέπει τις σοβαρές και δυσάρεστες και μερικές φορές μοιραίες επιπλοκές, αρκεί να υπάρχει υποψία όταν οι επιδημιολογικές συνθήκες το επιβάλουν.

Extended summary

Historical Background: Rickettsiaceae family of microbes first appeared on earth 150 million years ago. Their common ancestors were Proteobacteria which had 3000- 5000 genes. During the evolutionary course, the common ancestor of the genus Rickettisiae shed a great part of the initial genome (almost 1254- 1700 genes) and lost the ability to compose amino acids and nucleotides. As a consequence the microorganism needed to live intracellularly as a parasite to the host organism. Initially, this co-existence did not have any consequences for the hosting cells, later on the parasitic organism started destroying the cells leading to disease. The evolutionary course was rapidly accelerating until 50 million years ago when the arthropod-borne rickettsial diseases constituted a separate branch of the rickettsial diseases. Rickettsial diseases made their presence especially evident during the Middle Ages when the epidemic typhus claimed more victims than the wars. In the end of the 19th and the beginning of the 20th century the first cases of ricketssial diseases were described in N. America. Military doctor Marshal Wood first described Rocky Mountain spotted fever (RMSF) in 1896. In 1907 Howard Ricketts described the first Rickettsia species that was named after his name but in year 1910 he died of the disease he described. In 1914 Prowazek described the presence of *Rickettsia* species in louse feces but he died of the disease shortly later. In 1928 Mooser confirmed Neil's research by inoculating microorganisms from a patient's serum to guinea pigs and he contributed to the distinction between epidemic and endemic typhus. In 1930 Dr. Joseph Lipsky got sick with fever and rash and he tested positive for Weil-Felix test. It was then that rats and fleas were confirmed as carriers of endemic typhus. In 1932 Lepine confirmed that typhus cases in Athens were associated with rats from which he isolated Rickettsiae organisms (then called Ratvirus). In 1932 Blanc and Kaminopetros proved that the tick R. sanguineus was the transmitter of *R.conorii*, the causing organism of Mediterranean spotted fever. In 1970 David Walter proved the presence of *R.ricketsii* in skin rash of a patient suffering of RMSF. In 1981 Philip isolated Rickettsiae organisms in cell cultures using immunofluorescence. With the progress of molecular biology, in 1998 the genome of *R. prowazekii* was confirmed and later on in 2002 the genome of *R.conorii*. In the 1980s the research team of I. Tselentis described 49 cases of endemic typhus in the island of Evia, Greece.

Taxonomy: The exclusively intracellular growth of the rickettsiae led to significant taxonomy implications. Rickettsiae are described as small, intracellular Gram-negative bacilli that can be stained with Gimenez stain and their growth is totally dependent on their presence in eukaryotic cells. In 1974 the Chlamidiacae family was separated from the Ricketssials class. After several sub classifications the final taxonomy in *Rickettsiae, Coxiella* and *Rochalime*a based on their culture characteristics and their incubation in eukaryotic cells was proposed. Eventually Rickettsiae genus was divided in three groups:

The Spotted Fever Group, the Typhus Group and the Scrub Typhus Group. In the 1990s the molecular techniques based basically on the 16sRNA sequence change the taxonomy once again. The combination of different genome sequences led to admirable phylogenetic diagrams. The latest Rickettsiae classification was based on the Sca4 gene and it consists of the following five groups: 1. The Typhus group 2. The *R.ricketsii* group 3. The *R.massiliae* group 4. The *R.helvetica* group and 5. The *R.conorii*, *R. acarii*, *R. felis*, and *R.australis* group. This classification is also consistent with the analyses based on Sca1 and Sca2 genes. Their cellular structure with the 3-layer cell wall gave researchers the opportunity to develop diagnostic techniques like the Weil-Felix serodiagnostic procedure which is based on the cross reaction between the rickettsial antigens and the ones of *Proteus vulgaris* (OX19 for the Typhus group and OT and OX2 for the spotted fevers group). This method detects IgG antibodies. Later on, more diagnostic methods developed, like the complement fixation method (CF), the indirect hemoagglutination, ELISA, the indirect immunofluorescence (IFA) and Western Blot. Molecular biology contributed to the diagnosis of the disease with PCRrflp sequencing.

In conclusion, Rickettsiae are fastidious bacterial organisms that are obligate intracellular parasites. They are small pleomorphic coccobacilli. Their bacterial nature is well established; they multiply by binary fusion, contain both RNA and DNA and have both synthetic and energy-producing enzyme systems.

Pathophysiology of rickettsial diseases: The pathogenic rickettsias are transmitted to humans via arthropods like ticks, lice and fleas who parasitize on the vertebrate hosts. Humans are accidental hosts who presumably become infected when infected flea feces contaminate a pruritic flea bite wound or the conjunctivae of the host. After their entrance in the organism through capillaries or lymph vessels, the rickettsias settle into the endothelial cells where they multiply and they disseminate in all the host organs and they cause disease. The involvement of the endothelial cells causes vasculitis which can explain the clinical manifestations of the disease (rash, central nervous system, lung, kidney and heart involvement). Rickettsias entry into the skin activates the dendritic cells which migrate to the lymph nodes and the immune mechanisms are activated. The recent decoding of the genome clarified the pathogenicity mechanisms. The rickettsiae of the spotted fever group grow in both nucleus and cytoplasma whereas the rickettsiae of the Typhus group grow only in the cytoplasma. Endothelial involvement causes edema, destruction and cellular apoptosis which results to epithelial denudement, and coagulation mechanism activation. These manifestations account for the hema tological complications noted such as thrombopenia.

Immunity: The rickettsial entrance into the cell activates NFkB which promotes the IL6-IL19 production as well as IL18 and MCP-1. Eventually and through the CD8 T-lymphocyte preponderance, apoptosis of

the endothelial cells occurs. The P38MAP kinase leads to the secretion of a variety of inflammatory and chemotactic cytokines. TNF-alpha and INF-γ promote the iNOS production which is lethal for the rickettsiae. Eventually, the intracellular rickettsiae are killed through H_2O_2 production from the macrophages and NO production from the RANTES liver cells. Among the rickettsiae, there are specific small differences regarding the cytokine expression in the infected macrophages.

Acquired Immunity: The dendritic cells of the skin present the antigens to CD4 helper lymphocytes and lead to CD8 activation, the lymphocytes that kill the infected cells. Antibodies against rOmpA and rOmpB antigens protect mice from lethal infection. Rickettsiae eventually are destroyed through NO as well as L-Tryptophan deprivation which is necessary for the rickettsial metabolism. Humoral immunity disorders may lead to the production of the anti-inflammatory cytokine IL-10 which stimulates Treg and suppressor lymphocytes resulting to the uncontrolled rickettsial growth and bad disease outcome.

Acute phase reaction: During the acute phase there is an increase of INF-γ, IL6, TNF-alpha, IL10 but IL1 and IL8 are non-detectable. C3, C4, CRP and factor B increase during the first two weeks of the disease and consequently they return to normal levels. Fibrinogen increases during the first week of the disease. In a lethal case of spotted fever disease in Northern Greece the TNF levels were undetectable.

Treatment: Doxycycline is the treatment of choice with the MICs of the pathogens ranging between 0.06 and 0.25 μg/ml according to the literature. Chloramphenicol is equally effective but it is not the drug of choice because of the well known side effects. Ketolide telithromycin is effective, as well as macrolides such as erythromycin, clarithromycin, azithromycin and roxithromycin. Josamycin is a newer active antibiotic but more experience is needed. The fluoroquinolones levofloxacin and ofloxacin are active against R. conorii and R. prowasekii but several reports regarding lack of effectiveness make their use still questionable. Rickettsiae are resistant to beta-lactams, aminoglycosides and cotrimoxazole. Recent research indicates that statins may protect against R. conorii disease.

Vaccines: The attempts for the development of a vaccine have not yielded any encouraging results.

Biological Warfare*: R. prowazekii*, *R. typhi* and *R. ricketsii* have been used in the form of aerosolized inhaler. The disease attack rate is 100% and mortality rate ranges from 10% to 60%. Because of this significant risk, CDC categorizes *R.prowazekii* as Biological Weapon Risk Grade B and the rest of the Rickettsiae as Biological Weapons Risk Grade C. Their use has been dated back to 1930s and 1940s in China and Japan.

PRESENT RESEARCH:

The re-emergence of endemic typhus in the area of Chalkida, Evia (Central Greece) was the cause for this study.

Materials and Methods: 174 patients who presented to the General Hospital of Chalkida with the clinical syndrome of murine typhus (MT) between 1999- 2005 were included. The minimum presumptive clinical criteria for MT included fever, rash and headache and the absence of any other clinically identified site of infection. Three blood samples were obtained: upon admission, a week and three weeks later. The basic laboratory tests were obtained upon admission. White blood cell buffy coat was preserved in -80° C in order for further work to be performed in the Laboratory of Clinical Bacteriology, Parasitology and Zoonoses and Geographical Medicine in the University of Crete. A complete epidemiologic history of the patients was documented. In some cases this process included visits at residence and work environments. Indirect immunofluorescence serology was performed for *R. typhi* as well as other rickettsial types. Cultures from the white blood cells buffy coats were performed in shel vials for pathogen isolation. PCR was performed in the whole blood samples. IgG titers of ≥1:960 or IgM titers ≥1:400 and/or a 4-fold increase in titers between two successive assays were considered as indicative of acute infection. Fifty four rats were collected from the patients' environments and blood samples were also collected from them. Thirty six *X. cheopis* fleas were collected from the rats and 23 C. felis fleas from the patients' environment.

Results: The clinical syndrome was described in 90 patients, as well as a full recording of the clinical course and the laboratory and epidemiologic data. Among the rat samples, five were tested positive for serology to *R. typhi*. Three among 36 X. cheopis fleas were tested positive for *R. typhi* and two among 23 *C. felis* fleas were tested positive for *R. felis*. Three patients were tested positive to *R. felis* and one to *R.mongoltimone*. *C.burnetti* was isolated from the buffy coat of six patients and were excluded from the study. Among the 174 patients, 128 were studied. Full analysis was performed for a total of 90 adults and 20 geriatric patients. The study of these two groups of patients reveals that endemic typhus is still prevalent in the area. The classic clinical triad includes fever, headache and maculopapular rash. Main laboratory findings include transaminasemia, anemia, hypoalbuminemia and hyponatremia. Therapeutic response to doxycycline was successful with a shorter interval to defervescence compared to ofloxacin. Complications included lung infiltrates, pleurisy, renal failure, coma and lethargy and were almost 3-fold more in the geriatric subpopulation. Therapeutic response was successful in both teams, mainly because of the high index of suspicion for the disease. The presence of two new rickettsial species imposes increased vigilance for further investigation.

Conclusions: Rickettsioses are more common than most physicians suspect. The diseases are probably under-diagnosed and largely under-reported. Treatment is simple and may avert the serious and occasionally fatal complications. Increased awareness of the disease is necessary in endemic areas for early administration of effective treatment.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ρικέτσιες

Οι ρικέτσιες, από τις αρχές του 20^{ου} αιώνα, αναγνωρίσθηκαν ως παθογόνα υποχρεωτικά ενδοκυττάρια βακτήρια [Gram(-)] λαμβάνοντας το όνομα τους από τον άνθρωπο που τις ανακάλυψε τον Rickets, ο οποίος υπήρξε και θύμα της νόσου (εξανθηματικός τύφος). Αποτελούν δε μία ιδιαίτερη κατηγορία βακτηρίων [Gram(-)] στο βιολογικό κύκλο των οποίων υπάρχουν αρθρόποδα ως ξενιστές (Vectors) και σπονδυλωτά ως δεξαμενές (reservoirs) ή ως ξενιστές των αρθροπόδων. Τα αρθρόποδα διακρίνονται σε, αιματοφάγα, όπως ψείρες, ψύλλοι, κρότωνες, ακάρεα, καθώς και σε μη αιματοφάγα, τα οποία ζουν συμβιωτικά. Η μετάδοση στα σπονδυλωτά γίνεται από τα αιματοφάγα αρθρόποδα και εμφανίζεται συμπτωματική ή ασυμπτωματική λοίμωξη.

Τα τελευταία χρόνια, με την ανάπτυξη των μοριακών τεχνικών, βρέθηκε σημαντικά αυξημένος αριθμός ξενιστών, όπως μη αιματοφάγα αρθρόποδα και άλλα σπονδυλωτά, καθώς και πρωτόζωα. Οι σπονδυλωτοί ξενιστές είναι κατοικίδια ή άγρια ζώα, πτηνά και ερπετά. Οι ρικέτσιες ενοφθαλμίζονται στα σπονδυλωτά είτε λόγω νύγματος των αρθρόποδων (κρότωνες, ψύλλοι) μέσω εκκρίσεων, μέσω των σιελογόνων αδένων είτε με τα κόπρανα τους (ψείρες, ψύλλοι). Λόγω αυτού του βιολογικού τους κύκλου οι ρικέτσιες αποτελούν παράσιτα παρασίτων.

Ο ρόλος των αρθρόποδων είναι καθοριστικός για τη διάδοση τους στη φύση, μέσω καθέτου μετάδοσης ή οριζοντίως από έναν ξενιστή σπονδυλωτό σε άλλο. Για αυτό και η γεωγραφική τους κατανομή είναι ίδια με την κατανομή των ξενιστών τους.

Οι ρικέτσιες διακρίνονται σε παθογόνες για τον άνθρωπο ανάλογα με την ικανότητα τους να προκαλούν νόσο και τον τρόπο μετάδοσης από τα αρθρόποδα. Ανάλογα με την ανάπτυξη σύγχρονων διαγνωστικών τεχνικών τα τελευταία 20 έτη το φάσμα της παθογονικότητας των ρικετσιών έχει αυξηθεί, ενώ όσες ανιχνεύονται χωρίς στοιχεία νοσηρότητας χαρακτηρίζονται αγνώστου παθογονικότητος.

Οι γνωστές ρικέτσιες κατατάσσονται σε δύο ομάδες: α) **ομάδα τύφου (ΟΤ)** και β) **ομάδα κηλιδωδών πυρετών (ΟΚΤ)**. Η ομάδα του τύφου περιλαμβάνει δύο είδη: 1) ***επιδημικός*** (*R.prowazekii*) (ΕπΤ) και 2) ***ενδημικός*** (*R.typhi*) (ΕΤ) Η ομάδα των κηλιδωτών πυρετών περιλαμβάνει τα παθογόνα στελέχη και διαρκώς εμπλουτίζεται με νέα στελέχη (αναδυώμενες ρικετσιώσεις). Μέχρι σήμερα, 20 περίπου στελέχη έχουν αποδειχθεί παθογόνα για τον άνθρωπο.

Οι ρικέτσιες προσβάλλουν τα ενδοθηλιακά κύτταρα των μικρών αγγείων των σπονδυλωτών και προκαλούν λεμφοκυτταρική νεκρωτική ενδαγγειίτιδα. Σε αυτό ακριβώς οφείλεται και η κλινική συνδρομή και τα εργαστηριακά ευρήματα της νόσου, όπως πυρετός, εξάνθημα κηλιδώδες, **κηλιδωβλατιδώδες**, βλάβες ενοφθαλμισμού, κεφαλαλγία με ναυτία, αρθραλγίες, διάρροιες, έμετοι, βήχας, λεμφαδενοπάθεια. Ανάλογα με το είδος της ρικέτσιας παρατηρούνται και τα εργαστηριακά ευρήματα, όπως λευκοπενία, θρομβοπενία, αυξημένη ΤΚΕ και CRP, τρανσαμινασαιμία, αυξημένη LDH, αυξημένη ουρία. Εκτός από την κλινική εικόνα υπάρχουν διαφορές και στα επιδημιολογικά χαρακτηριστικά ανάλογα με το είδος των αρθροπόδων. Η κλινική υποψία της ρικετσίωσης μπορεί να γίνει από τα ανωτέρω κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα και είναι αρκετή για την έναρξη θεραπείας, η οποία είναι απλή και αποτελεσματική. Με περαιτέρω ορολογικές και μοριακές τεχνικές μπορεί να τεθεί ακριβής διάγνωση.

Στην Δ. Ευρώπη, από την ΟΤ υπάρχουν αναφορές μόνο ενδημικού τύφου (*R.typhi*), ενώ από την ομάδα ΟΚΠ αρχικά είχε αναγνωρισθεί ο μεσογειακός κηλιδώδης πυρετός οφειλόμενος στην *R.conorii,* με μεταβιβαστή τον καφέ κρότωνα του σκύλου (*Rhipicephalus sanguineus*). Αργότερα αναφέρθηκαν λίγα περιστατικά αναδυομένων ρικετσιώσεων από *R.sibirica mongolotimonae* και *R.slovaca*.

Στην Ελλάδα έγινε η πρώτη ανακοίνωση το 1992 από την Εύβοια για *R.typhi* και εν συνεχεια από τα Χανιά. Ακολούθησε η ανακοίνωση για *R.conorii* από τη Σητεία.

1.2 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Το 16^{ο} αιώνα ο Giloramo Fracostoro αναγνώρισε την πρώτη ρικετσίωση, τον επιδημικό τύφο και περιέγραψε την κλινική εικόνα λεπτομερώς στην Ιταλία το 1528, ονομάζοντας τη νόσο Lenticule or pancticulae fever, λόγω των κόκκινων κηλίδων που ομοίαζαν με φακές ή τσιμπήματα ψύλλων. Το 1760, ο όρος τύφος χρησιμοποιήθηκε λόγω του παραληρήματος (ο Ιπποκράτης με τον όρο αυτό χαρακτήριζε το παραλήρημα). Το 1836, ο W.Gerhard στη Φιλαδέλφεια ξεχώρισε τον τύφο από τον τυφοειδή πυρετό μελετώντας θύματα της νόσου, τα οποία δεν είχαν εξελκώσεις στις πλάγιες του Peyer, όπως στον τυφοειδή πυρετό. Περιγραφές του νοσήματος υπήρχαν και στο παρελθόν, οι οποίες έδειχναν σχέση με πολέμους, όπως η εκστρατεία του Ναπολέοντα στη Ρωσία το 1812. Κατά τον 1^{ο} παγκόσμιο πόλεμο, θύματα των επιδημιών υπήρξαν και πολλοί ιατροί. Στη Ρωσία κατά τον 1^{ο} παγκόσμιο πόλεμο και μεταξύ των ετών 1918-1922, 30 εκατομμύρια άνθρωποι νόσησαν από ΕπΤ, εκ των οποίων 3 εκατομμύρια

απεβίωσαν. Σε νεκρούς στρατιώτες του Ναπολέοντα ανιχνεύτηκε στον οδοντικό πολφό DNA της *R.prowazekii*. Από τη Ρωσία με την επιστροφή των στρατιωτών ο τύφος μεταδόθηκε στην Ευρώπη και σκότωσε δύο εκατομύρια ανθρώπους.

Το 1886, στην Αμερική ο στρατιωτικός γιατρός Marshal Wood κοντά στα βραχώδη όρη περιγράφει για πρώτη φορά τον πυρετό των βραχωδών ορέων . Το 1902 δημοσιεύτηκε άρθρο με τίτλο "*The so called spotted Fever of Rocky Mountains*". Ακολούθησαν αρκετές περιγραφές και μελέτες στην αμερικανική ήπειρο έως το 1907, όπου ο Haward Ricketts στη μελέτη του "*Observations and Means of Transmission of Rocky Mountain spotted Fever*", περιέγραψε την πρώτη ρικέτσια που αργότερα πήρε και το όνομα του, "*Rickettsia rickettsi*". Με σύγχρονη για την εποχή μεθοδολογία, περιέγραψε και την ενδοκυττάρια φύση της, όπου με διαδοχικές εκπλύσεις κυττάρων αίματος τεκμηρίωσε την ενδοκυττάρια παρουσία του μικροοργανισμού. Το 1909, ο Nikolle τεκμηρίωσε την μετάδοση του ΕπΤ με τις ψείρες του σώματος. Το 1910, ο Ricketts και ο Willer μελέτησαν τον εξανθηματικό τύφο (Tabarilo) και 100 μέρες μετά την ανακοίνωση των αποτελεσμάτων της μελέτης, ο Rickets πέθανε σε ηλικία 39 ετών από εξανθηματικό τύφο. Το 1910, ο Natham Brill στη Νέα Υόρκη μελέτησε τις περιπτώσεις που, έμοιαζαν με ΕπΤ και όχι με τυφοειδή πυρετό, δεν παρουσίαζαν επιδημικά χαρακτηριστικά, χαμηλή θνησιμότητα χωρίς παραλήρημα και ονομάστηκε νόσος Brill και αργότερα Brill-Zinser, και διαπιστώθηκε ότι αποτελεί υποτροπή το ΕπΤ με ηπιότερη πορεία. Το 1913, ο Paullin στην Ατλάντα, περιγράφει 7 σποραδικές περιπτώσεις τύφου και πιθανότατα αποτελεί την πρώτη περιγραφή ΕΤ. Ο Prouwasec, ο οποίος υπήρξε και αυτός θύμα του τύφου, περιγράφει το 1914 την παρουσία ρικέτσιας στα κόπρανα της ψείρας. Στο Βερολίνο το 1916, οι E.Weilman και A.Felix έδειξαν ότι ο ορός ασθενών με τύφο συγκολλούσε μεταξύ τους βακτήρια του στελέχους *Proteus vulgari*, που είχε απομονωθεί από ούρα ασθενών και έτσι αναπτύχθηκε η γνωστή δοκιμασία Weil Felix test.

Το 1919, ο παθολογοανατόμος του Harvard University, Burt Wolbach, μελετώντας ιστούς θυμάτων καθόρισε τη μορφή του βακτηριδίου ρικέτσια σαν ενδοκυττάριο και περιέγραψε τον τύπο αγγειίτιδος ως ενδοαγγειίτιδα. Το 1928, ο Mooser επιβεβαίωσε τα ευρήματα του Neil με ενοφθαλμισμό αίματος ασθενούς με Μεξικάνικο τύφο Tabardillo σε ινδικά χοιρίδια (αντιδραση Neil Mooseri) και περιέγραψε κύτταρα ρικετσιών βοηθώντας στην διάκριση επιδημικού και ενδημικού τύφου (*R.prowzekii* και *R.mooseri).*

Το 1930 ο Joseph-Lipsky, ιατρός, νόσησε στη Βαλτιμόρη από εμπύρετο εξανθηματικό νόσημα και παρουσίαζε οροαντίδραση Weil-Felix θετική. Όμοια εικόνα και δύο δημοτικών υπαλλήλων της περιοχής έγινε η αφορμή για την ανακάλυψη των αρουραίων ως φορέων της νόσου και των ψύλλων ως μεταβιβαστών της νόσου.

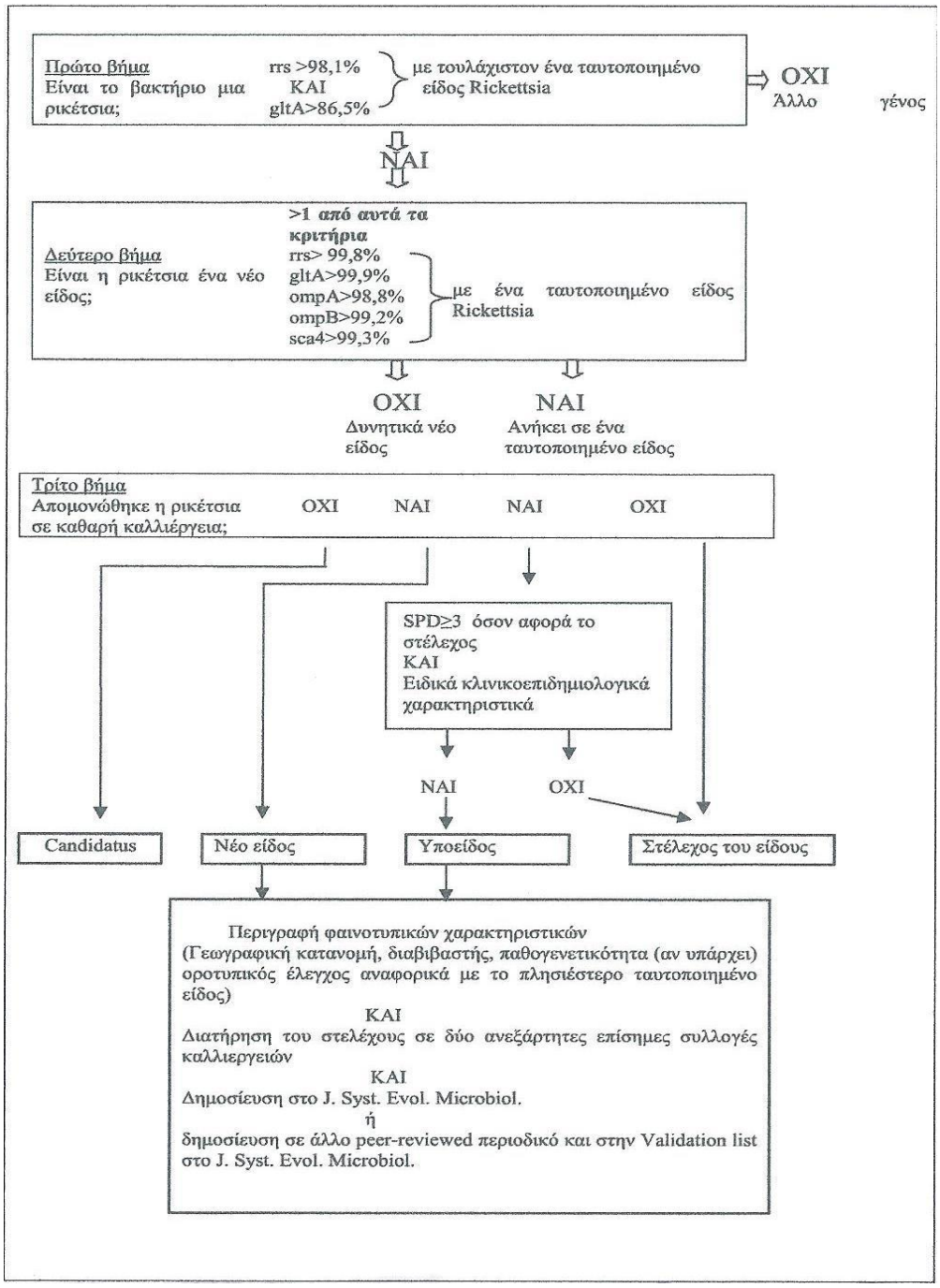
Ο Lepine το 1932 στην Αθήνα έδειξε ότι περιπτώσεις τύφου που εμφανίζονταν στην Αθήνα σχετίζονταν με αρουραίους από του οποίους απομόνωσε ρικέτσια (rat virus). Λόγω της ενδημικής της μορφής, η νόσος ονομάστηκε ενδημικός τύφος (Ε.Τ.) για να διακρίνεται από τον πυρετό που οφείλεται σε ψείρες, τον επιδημικό τύφο (ΕπΤ). Επίσης, το 1932, οι Blac και Καμινόπτερος στην Αθήνα ,απέδειξαν ότι οι κρότωνες *R.sanguineus* σε όλα τα στάδια ανάπτυξης τους, ήταν μεταβιβαστές της *R.conorii* αιτίου του μεσογειακού κηλιδώδους πυρετού. Ο David Walker (1970) έδειξε τη παρουσία της *R.richettsii* σε δερματικό εξανθήμα με ΚΠΒΟ (κηλιδώδη πυρετό βραχωδών ορέων) με ανοσοφθορισμό και το 1981 ο Philip απομόνωσε ρικέτσιες σε κυτταρικές καλλιέργειες. Τα τελευταία έτη με την εφαρμογή των κυτταροκαλλιεργειών και της μοριακής βιολογίας, κατεγράφη ολόκληρο γονιδίωμα της *R.prowazekii* (1998) και προσδιορίστηκε το γονιδίωμα της *R.conorii* (2002). Το 1992 έγινε η πρώτη ανακοίνωση από τους Ι. Τσελέντη et.al. για 49 περιπτώσεις ενδημικού τύπου στην Εύβοια.

1.3 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Η αποκλειστικά ενδοκυττάρια εντόπιση των ρικετσιών είχε ως αποτέλεσμα να υπάρξουν δυσκολίες στην εφαρμογή παραδοσιακών τρόπων ταξινόμησης. Αρχικά ο όρος ρικέτσια χαρακτήριζε όλα τα ενδοκυττάρια μικρά μη καλλιεργούμενα βακτήρια ανεξαρτήτως χαρακτηριστικών. Τα βακτήρια της τάξης Rickettsiales περιγράφονται ως μικροί Gram αρνητικοί βάκιλλοι οι οποίοι διατηρούσαν τη βασική φουξίνη, όταν χρωματίζονταν με τη μέθοδο Gimenez και η ανάπτυξή τους ήταν συναφής με την ανάπτυξη των ευκαρυωτικών κυττάρων. Η ουσιαστική πρόοδος στην ταξινόμηση τους, έγινε τα τελευταία 35 έτη. Σήμερα με τον όρο ρικέτσιες χαρακτηρίζονται μόνο τα βακτήρια που ανήκουν στο γένος *Rickettsia*, της οικογένειας Rickettsiaceae, της τάξης Rickettsiales των α-Proteobacteria. Το 1974 η οικογένεια των Chlamydiaceae διαχωρίσθηκε από την τάξη των Rickettsiales και τοποθετήθηκε στην τάξη των Chlamydiales.

Αρχικά, η τάξη Rickettsiales διαιρούνταν στις οικογένειες Rickettsiaceae, Bartonellaceae και Anaplasmataceae. Η οικογένεια Rickettsiaceae διαιρούνταν στα φύλα Rickettsiaea, Ehlricieae και Wolbachieae. Το φύλλο Rickettsiae διαιρούνταν στα γένη *Rickettsia, Coxiella* και *Rochalimea* με βάση την καλλιέργειά τους σε θρεπτικά υλικά, την εντόπισή τους στα ευκαρυωτικά κύτταρα, το σχηματισμό ενδοσπορίων, το pH ανάπτυξης και το ποσοστό GtC του DNA.

Το γένος *Rickettsia* διαιρούνταν σε τρεις ομάδες: **1)** την ομάδα **των κηλιδωδών πυρετών (ΟΚΠ)**, **2)** την ομάδα **του τύφου (ΟΤ)** και **3)** την ομάδα **του τύφου των θάμνων (ΟΤΘ) (scrubtyphus)** με βάση τα παρακάτω χαρακτηριστικά: α) την ενδοκυττάρια εντόπισή τους (πυρήνα και κυτταρόπλασμα) ομάδα ΟΚΠ και *R.canadeusis*, β) μόνο στο κυτταρόπλασμα για την ΟΤ και την ΟΤΘ, γ) την ικανότητα πολυμερισμού της ακτίνης για την ΟΚΠ και *R.canadensis*, δ) την ιδανική θερμοκρασία ανάπτυξης (32°C για την ΟΚΠ και 35 ^{o}C για την ΟΤ και ΟΤΘ) ε) την διασταυρούμενη αντίδραση του ορού του ασθενούς με το σωματικό αντιγόνο στελεχών *Proteus vulgaris* OX2 για ΟΚΠ, OX19 για την ΟΤ και *Proteus mirabilis* OXK για ΟΤΘ, και ε) το ποσοστό G+C του DNA (32-33% για την ΟΚΠ, 20% για την ΟΤ και την *R.conadensis*. Επίσης χρησιμοποιήθηκαν και επιδημιολογικά στοιχεία όπως η γεωγραφική κατανομή στελεχών, το είδος των αρθρόποδων (κρότωνες για την ΟΚΠ), ψείρες για την *R.prowazekii* και ψύλλοι για τη *R.typhi*, η παθογονικότητά τους στον άνθρωπο, στα ποντίκια και στα ινδικά χοιρίδια. Άλλα ταξινομικά χαρακτηριστικά είναι το μέγεθος και ο χρόνος σχηματισμού λυτικής πλάκας στις καλλιέργειες κυττάρων καθώς και η η ανάλυση των πρωτεινών τους με SDS-PAGE (Sodium Sulfate, polyacrylamine gel electrophoresis). Τέλος ως ταξινομικά χαρακτηριστικά χρησιμοποιούνται οι ανοσολογικές διαφορές μεταξύ των ρικετσιών, η διασταυρούμενη λοίμωξη και οι δοκιμασίες προστασίας με εμβολιασμό σε ινδικά χοιρίδια, με αντίδραση σύνδεσής του συμπληρώματος και εξουδετέρωσης τοξίνης σε ποντίκια με αντιορό παρασκευασμένο σε ινδικά χοιρίδια.



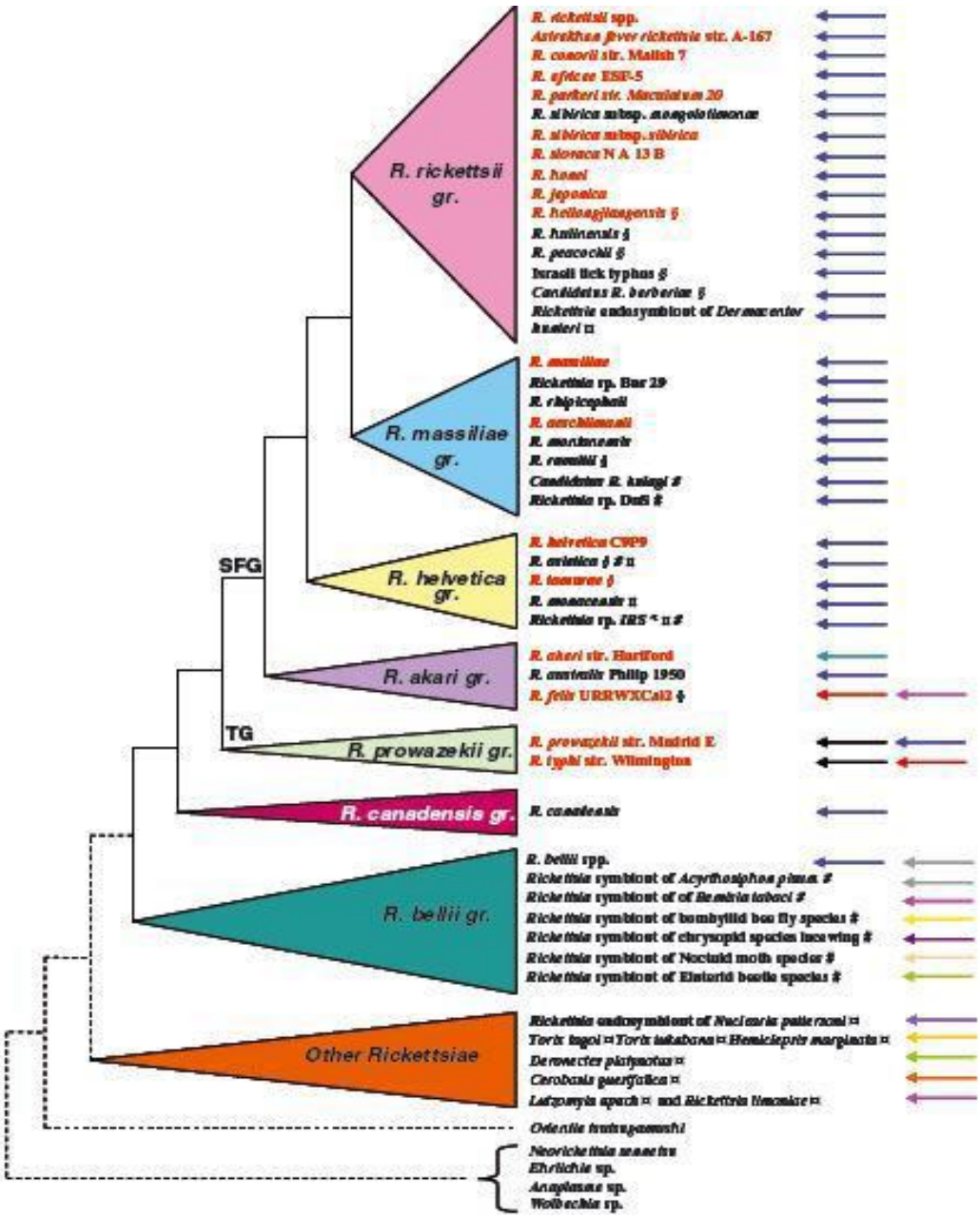
Πίνακας 1. Οδηγίες πολυφασικής ταξινόμησης για την ταξινόμηση των *Rickettsiae*. Γονίδια: rrs κωδικοποιεί το 16S rRNA, gltA κωδικοποιεί την κιτρική συνθετάση, ompA κωδικοποιείτην rOmpA, ompB κωδικοποιεί την rOmpB, sca4 κωδικοποιεί την Sca4 (5PS-120). SPD:specificity difference in mouse serotyping.

Αρχικά, η αναζήτηση νέων ρικετσιών περιοριζόταν στα αιματοφάγα αρθρόποδα, όμως τελευταία και μη αιματοφάγα αρθρόποδα (ακάρεα, σκαθάρια, σφίγγες, μύγες) πρωτόζωα και ασπόνδυλα (έλμινθες, βδέλλες) φαίνεται ότι παίζουν ρόλο στο βιολογικό κύκλο των ρικετσιών.

Για την ταξινόμηση των ρικετσιών δεν υπάρχει ομοφωνία και ορισμένοι θεωρούν υπερβολικό τον αριθμό των περιγραφομένων ειδών και υποειδών (1).

1.4 ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Πριν την εφαρμογή των μοριακών τεχνικών προ του 1990 η ταξινόμηση βασιζόταν σε μορφολογικά αντιγονικά μεταβολικά χαρακτηριστικά. Όμως η ανάπτυξη των μοριακών τεχνικών μεθόδων επέτρεψε την ακριβή ταξινόμηση των Richettsiales. Αρχικά, η μελέτη της αλληλουχίας των βάσεων του γονιδίου 16srRNA διαφοροποίησε μερικά βακτήρια από την τάξη των Richettsiales στην οποία είχαν ταξινομηθεί φαινοτυπικά, όπως η *Coxiela burnetti* και η *R.grylli,* οι οποίες τοποθετήθηκαν στην κατηγορία των Proteobacteria στην οικογένεια των Legionellaceae. Επίσης διαπιστώθηκε ότι η *R.tsutsugamushi* (scrub Typhus) είχε σημαντικές διαφορές από το γένος *Rikettsia* και τοποθετήθηκε στο νέο γένος *Orienta* (*Orienta tsutsugamushi*) (2)

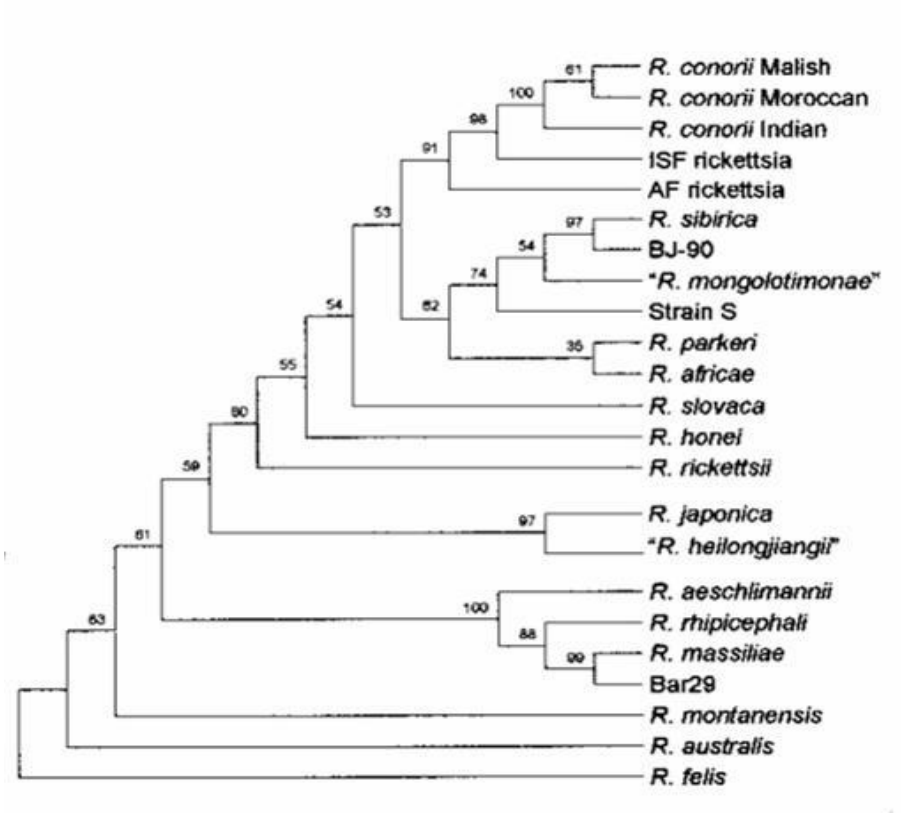


Διάγραμμα 1. Ταξινόμηση ρικετσιών (Merhej V, Raoult D. 2010)

Η μελέτη του γονιδίου 16srRNA λόγω μεγάλου βαθμού ομοιότητας του γένους *Rikettsia* δεν διευκόλυνε την φυλογενετικά συσχέτιση και διάκριση μεταξύ των μελών παρά μόνο τη διάκριση των δύο ομάδων του τύφου και των κηλιδωδών πυρετών καθώς και τη διάκριση των *R.belli* και *R.canadeusis* που έχουν προέλθει πριν το σχίσμα των δύο ομάδων και προτάθηκε να τοποθετηθούν στην λεγόμενη αρχέγονη ομάδα (ancestral group), χωρίς όμως να φαίνεται ότι αυτές οι δύο ρικέτσιες αποτελούν προγόνους των υπολοίπων.

Εν συνεχεία, έγιναν φυλογενετικές μελέτες με βάση όλα τα γονίδια με μεγαλύτερη μεταβλητότητα μεταξύ των ειδών, όπως το gltA 17 kDa protein, OmpA, OmpB, Sca4, Sca1 και Sca2. Αυτές οι μελέτες έδωσαν θαυμάσια φυλογενετικά διαγράμματα και συμφωνούσαν στην ομαδοποίηση των διαφόρων ειδών με διαφορετικά γονίδια.

Μόνο το γονίδιο των gltA, 17kDa protein, δεν έδωσε σημαντικές τιμές Bootstrap στους διάφορους κόμβους, αντιθέτως η gltA (διαγρ3) έδωσε σημαντικές bootsrap values σε όλους τους κόμβους πλην της ομάδας των κηλιδωδών πυρετών. Η ανάλυση του γονιδίου της gltA (διάγραμμα 3) έδωσε σημαντικές bootstrap values για όλους τους κόμβους εκτός αυτών μέσα στις επιμέρους ομάδες της ΟΚΠ. Οι επιμέρους ομάδες της ΟΚΠ ήταν η ομάδα της *R.rickettsii* που περιελάμβανε τις *R.conorii*, R.rickettsii, *R.honei, R.africae, R.parkeri, R.sibirica, R.slovaca* και *R.japonica,* η ομάδα της *R.massiliae* που περιελάμβανε τις *R.massiliae, R.rhipicephali, R.aeschlimannii* και *R.montanensis.* Οι *R.helvetica, R.akari, R.felis* και *R.australis* τοποθετούνταν σε μια θέση μεταξύ της *R.massiliae* και της ΟΤ, ενώ οι *R.canadensis, R.belli* και AB bacterium δεν ομαδοποιούνταν ούτε με την ΟΚΠ, ούτε με την ΟΤ. Το γονίδιο OmpA έδειξε επιμέρους ομαδοποιήσεις στη ομάδα της *Rickettsii* (διαγρ4).



Διαγραμμα 2. Φυλογενετικές σχέσεις ρικετσιών με βάση το ompA γονίδιο (Fournier *et al*, 2003)

Ομαδοποιήθηκαν στελέχη σχετιζόμενα με την *R.conorii*. Σε διαφορετικούς κλάδους τοποθετήθηκαν οι *R.rickettsii, R.honei, R.slovaca, R.japonica*. Οι ομαδοποιήσεις του Omp3 επιβεβαίωναν τις ομαδοποιήσεις των OmpA και gltA.

Τέλος από την μελέτη του sca4 γονιδίου προέκυψαν οι ακόλουθες πέντε ομάδες ρικετσιών: 1) ομάδα τύφου, 2) ομάδα *R.rickettsii*, 3) ομάδα *R.massiliae*, 4)ομάδα *R.helvetica* και 5) ομάδα *R.acari* (*R.acari*, *R.felis*, *R.australis*. Όμοια αποτελέσματα είχε και η ανάλυση των sca1 και sca2 γονιδίων.

1.4 ΒΑΚΤΗΡΙΟΛΟΓΙΑ

1.4.1 Κυτταρική δομή μορφολογία4

Οι ρικέτσιες είναι μικρά βακτήρια (κοκκοβάκιλοι) με στρογγυλεμένες άκρες, ραβδόμορφα με διάμετρο 0,3-0,5 και μήκους 0,8-2μm, εμφανίζονται δε με διαφορετικά σχήματα.

Αδρανοποιούνται μάλιστα με αποξήρανση και υγρή θερμότητα (50°C). Μολυσμένοι ιστοί αδρανοποιούνται με φορμαλδεύδη ή φαινόλη 0,1% και 0,5% αντίστοιχα για 24 ώρες. Στους -70°C επιβιώνουν για μεγάλο διάστημα, ενώ με λυοφυλοποίηση και διατήρηση στους -50°C επιβιώνουν για χρόνια.

Η μορφολογία τους είναι η τυπική των Gram (-) βακτηρίων. Το κυτταρικό τους τοίχωμα έχει τρίστιβη δομή: α) δίστιβη εσωτερική μεμβράνη, β) μία στιβάδα πρωτεογλυκάνης και γ) δίστιβη εξωτερική μεμβράνη. Εξωτερικά περιβάλλεται από μία στιβάδα πρωτεϊνικής συστάσεως (slime layer) που αντιπροσωπεύει το 10-15% της ολικής πρωτεϊνικής μάζας (4) και η οποία έχει απλή κρυσταλλοειδή δομή. Συστατικό της στοιβάδας αυτής είναι η πρωτεΐνη αντιγόνο rOmpB, η οποία συνδέεται με την κυτταρική μεμβράνη με το καρβοξυλικό άκρο. Επίσης, υπάρχει και μία άλλη πρωτεΐνη η rOmpA συστατικό και αυτή της κρυσταλλοειδούς στοιβάδας. Και οι δύο ανωτέρω πρωτεΐνες (rOmp) (surface proteins antigens) αποτελούν μείζονα αντιγόνα (4).

Μερικές ρικέτσιες, όπως οι *R.felis*, διαθέτουν λάχνες (Pili) οι οποίες χρησιμεύουν για σύζευξη μεταξύ των βακτηριδίων και άλλες ενδεχομένως να χρησιμεύουν στη σύνδεση ρικετσιών με άλλα κύτταρα. Οι ρικέτσιες είναι υποχρεωτικά ενδοκυττάρια βακτήρια, το κυτταρόπλασμά τους περιέχει DNA, RNA ριβοσώματα και πολλά ένζυμα. Οι ρικέτσιες αναπτύχθηκαν στο κυτταρόπλασμα των ευκαρυωτικών κυττάρων, χωρίς να περιβάλλονται από κυτταρική μεμβράνη, ενώ οι ρικέτσιες της ΟΚΠ επιπρόσθετα αναπτύσσονται και στον πυρήνα των ευκαρυωτικών κυττάρων διαφέροντας από άλλα ενδοκυττάρια βακτήρια που ανήκουν στα γένη *Chlamydiae*, *Coxiella* και *Ehrlichia*, τα οποία αναπτύσσονται μέσα σε φαγοσώματα και φαγολυσοσώματα. Ο λιποπολυσακχαρίτης (LPS) του κυτταρικού τοιχώματος των ρικετσιών της ΟΤ περιέχει γλυκόζη, 3-deoxy-Dmanno-octulosonic acid (KDO), glucosamine, quinovosamine, hexosamine- phosphate και λιπαρά οξέα (b hydroxyl myristic acid και d-heneicosa, sanic acid και μικρή ποσότητα επτόζης σε αντίθεση με το LPS των εντεροβακτηριδίων. Παρουσιάζει δε ομοιότητα με τον LPS του *Proteus Vulagaris* OX19 που χρησιμοποιήθηκε παλαιότερα στην αντίδραση Weil-Felix, διότι και οι δύο περιέχονται στον Ο-πολυσακχαρίτη glucosamine, quinovasamine και phosporylae hexosamine (7, 8). Στην ομάδα των ΟΚΠ , που έχουν ελεγχθεί, η *R.japonica* TT (3) βρέθηκε να περιέχει KDO glucosamine, quinovosamine, phosphate, rivose και palmitic acid, αλλά όχι επτόζη, ούτε d-hydroxyfatty acid. Φαίνεται ότι υπάρχουν κοινοί επίτοποι μεταξύ του LPS των ρικετσιών του ΟΚΠ και του *Proteus vulgaris* OX2, που βρίσκονται στις O poly saccharide περιοχές (9). Αυτά φαίνεται ότι ευθύνονται για τις αντιγονικές ιδιότητες των διασταυρούμενων ρικετσιών με στελέχη του *Proteus*

vulgaris (OX19 με OT και OX2 με την ΟΚΠ, τα δε αντισώματα που ευθύνονται για τις αντιδράσεις είναι IgM).

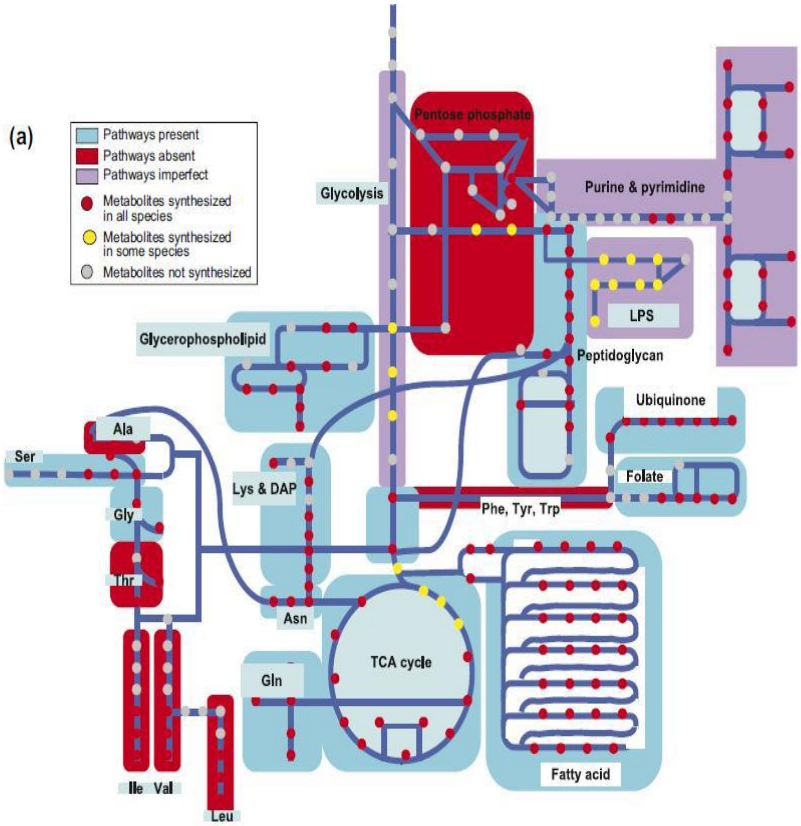
Στην κυτταρική επιφάνεια βρίσκονται πρωτείνες sca (surface-cell antigen). Οι rOmpA και rOmpB αποτελούν μείζονες αντιγονικούς καθοριστές και προκαλούν ανοσολογική απέκριση στους ασθενείς με ρικετσίωση. Οι sca πρωτεΐνες περιλαμβάνουν 17 μέλη όπως έχει κάνει από την μέχρι τώρα ανάλυση του γονιδιώματος των ρικετσιών (2). Θεωρούνται ως αυτομεταφερόμενες πρωτεΐνες (auto transporters) γιατί είναι οι ίδιες υπεύθυνες για την έκκρισή τους διαμέσου της εξωτερικής κυτταρικής μεμβράνης. Κάθε είδος ρικέτσιας διαθέτει διαφορετικό συνδυασμό γονιδίων των παραπάνω πρωτεϊνών.

Οι ρικέτσιες της ομάδας του τύφου δεν διαθέτουν το OmpA γονίδιο. Το εντός κυτταρικής μεμβράνης τμήμα της πρωτεΐνης παρουσιάζει μεγάλη μεταβλητότητα μεταξύ των ορθόλογων πρωτεϊνών. Το γονίδιο Sca1 είναι το μόνο που ανευρίσκεται και στα 20 είδη ρικετσιών στα οποία έχει ελεγχθεί η παρουσία του, εκτός από τις *R.prowazekii* και *R.canadensis* στις οποίες ανευρίσκεται διασπασμένο (Split) γονίδιο. Οι υποθετικές πρωτείνες του sca γονιδίου είναι 17, από τις οποίες έχει αποδειχτεί η παρουσία των OmpA (ScaO), rOmpB (Sca5), Sca4, Sca2 και Sca1 φαίνεται ότι έχουν ρόλο στη σύνδεση των ρικετσιών με το κύτταρο ξενιστή (10,11,12), ενώ η rOmpB φαίνεται ότι εμπλέκεται στην είσοδο των ρικετσιών εντός των κυττάρων. Από το κυτταρικό τους τοίχωμα οι ρικέτσιες προσλαμβάνουν ουσίες από το περιβάλλον μέσω εξειδικευμένων συστημάτων μεταφοράς και αντιστρόφως εκκρίνουν ουσίες προς αυτό. Τα συστήματα μεταφοράς είναι της τάξης ABC (ATP binding cassette), που χρησιμοποιούνται κυρίως για την άνοδο θρεπτικών ουσιών. Έχουν βρεθεί 22 γονίδια στις ρικέτσιες, υπεύθυνα για τα συστήματα μεταφοράς ABC (13). Επίσης, διαθέτουν εκκριτικά συστήματα (αντλίες) αποβολής αντιβιοτικών, αυτά είναι είτε ABC τάξης, είτε βασίζονται σε ηλεκτροχημικές κινήσεις ιόντων κατά μήκος της κυτταρικής μεμβράνης. Το εκκριτικό σύστημα (T4SS) των βακτηριδίων είναι συμπλέγματα μακρομορίων που μεταφέρουν πρωτείνες DNA και νουκλεοπρωτεΐνες διαμέσου του κυτταρικού τοιχώματος. Επίσης, μεταφέρουν και πλασμιδιακό DNA (14). Πολλά από αυτά τα 20 T4SS συστήματα μεταφοράς ανευρίσκονται στις ρικέτσιες. Τα συστήματα αυτά μπορούν επίσης να εκκρίνουν πρωτεΐνες και μέσω sec-mediated και Tat mediated μεταφοράς. Επιπλέον, υπάρχουν πρωτεΐνες στις ρικέτσιες με λειτουργία τη μεταφορά ουσιών ADP/ATP αμοιβαίους μεταφορείς, prop-proline/betaine εξαγωγής αίμης, μεταφορείς μαγνησίου, καλίου, ψευδαργύρου, γλουταμινικού, ριβονουκλεοτιδίων (15). Οι ρικέτσιες διαθέτουν μεγάλο αριθμό ομολόγων του μεταφορέα prop της προλίνης στο γονιδίωμά τους και αυτό φαίνεται να έχει σχέση με την ικανότητα προσαρμογής τους στις οσμωτικές μεταβολές του περιβάλλοντος ή με τη σχετιζόμενη με θερμοκρασία ρύθμιση της μολυσματικότητάς τους, τη γνωστή επανενεργοποίηση (16). Οι ρικέτσιες δεν μπορούν να κινηθούν επειδή δεν διαθέτουν βλεφαρίδες ή μαστίγια, με εξαίρεση τις ρικέτσιες της ΟΚΠ, που με τον πολυμερισμό της ακτίνης που διαθέτουν (στα ευκαρυωτικά κύτταρα), μπορούν να μετακινούνται εντός του πυρήνα καθώς και να μετακινούνται από κύτταρο σε κύτταρο (17).

1.4.2 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

Από τη μελέτη των γονιδίων των ρικετσιών διευκρινίζονται αρκετά για τις μεταβολικές οδούς που διαθέτουν. Η στενή σχέση με τους ξενιστές τους κατά την εξελικτική τους διαδικασία είχε σαν αποτέλεσμα τον περιορισμό των μεταβολικών οδών στην έκκριση περιττών ουσιών αλλά και χρήσιμων

μη ουσιωδών ουσιών (εικ.1). Αργότερα κατά την εξελικτική διαδικασία ένας αριθμός αυτών των μεταβολικών οδών αντικαταστάθηκε από συστήματα μεταφοράς.



εικ. 1. Μεταβολικές οδοί, πλήρεις, μερικές και απούσες των *Rickettsiaceae*. (Hans\Henrik Fuxelius 2008)

1.4.3 ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ

Οι ρικέτσιες πολλαπλασιάζονται με εγκάρσια διχοτόμηση. Η *R.prowazekii* παρά τον έντονο πολλαπλασιασμό της δεν προκαλεί σημαντική κυτταροπαθολογική δράση (18), ενώ η *R.rickettsii* προκαλεί νωρίς κατά τον πολλαπλασιασμό της σημαντική κυτταροτοξική βλάβη (19).

1.5 ΓΕΝΕΤΙΚΗ

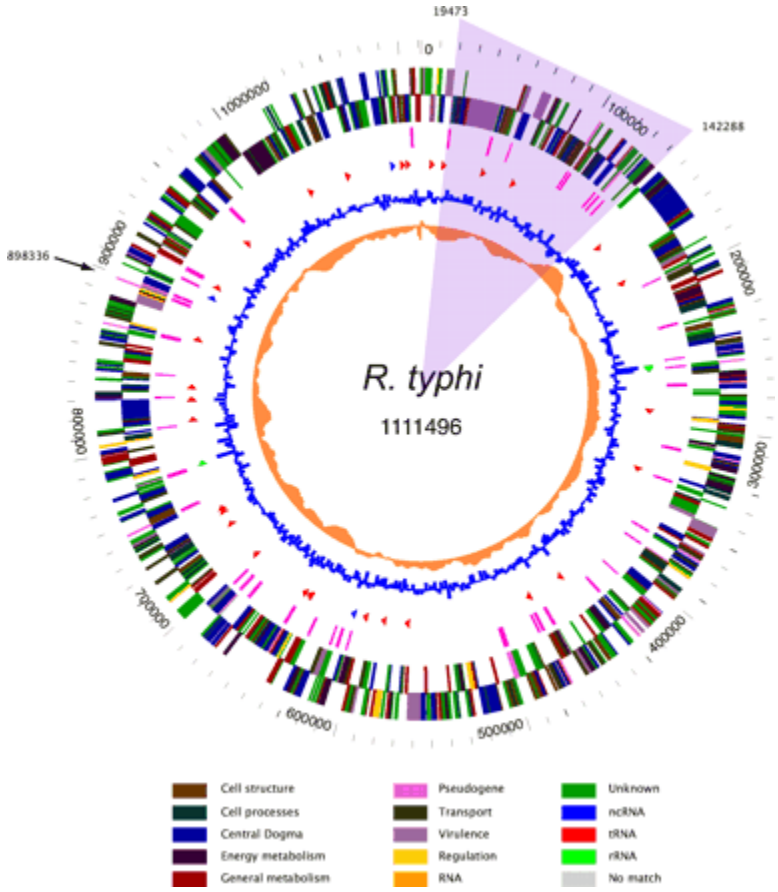
Ο ενδοκυτταρικός παρασιτισμός των ρικετσιών είχε σαν συνέπεια την προοδευτική σμίκρυνση του γονιδιώματος, λόγω της χρήσης λειτουργικών συστημάτων των ξενιστών και την προοδευτική απώλεια της λειτουργικότητας των γονιδίων. Αυτό είχε σαν αποτέλεσμα την αδυναμία επίτευξης διαφόρων κυτταρικών δραστηριοτήτων για τις οποίες εξυπηρετούνταν από τους ξενιστές (μεταφορά, βιοσύνθεση μικρών μορίων παραγωγής ενέργειας, μεταβολισμός DNA) .

Ο κοινός πρόγονος των α-proteobacteria διέθετε 3000-5000 γονίδια και ήταν ένα αερόβιο κινητό βακτηρίδιο με λάχνες και επιφανειακές πρωτείνες, που είχε τη δυνατότητα ελεύθερης διαβίωσης. Ο κοινός πρόγονος του γένους *Rikettsia* διέθετε 1254-1700 γονίδια. Ο κοινός πρόγονος των ρικετσιών

φαίνεται ότι ζούσε παρασιτικά ενδοκυττάρια έχοντας απωλέσει γονίδια σχετικά με τη βιοσύνθεση αμινοξέων και νουκλεοτιδίων. Το γένος *Rikettsia* εμφανίστηκε πριν 150 εκατομμύρια χρόνια και διαχωρίστηκε σε 2 κλάδους, ο ένας είχε σχέση με αρθρόποδα και ο άλλος με ένα ευρύ φάσμα ξενιστών όπως πρώτιστα, ευκαρυωτικά και αρθρόποδα. Εν συνεχεία, πριν από 50 εκατομμύρια χρόνια παρουσιάστηκε μία ταχεία επιπλέον διαίρεση του κλάδου που σχετιζόταν με αρθρόποδα.

Το μέγεθος του γονιδιώματος μέχρι το 2001 υπολογιζόταν με PFGE (Pulse Field Gel Elecrtoforisis) (50).

Η εκρηκτική ανάπτυξη των βιολογικών επιστημών τα τελευταία έτη, έκανε δυνατό τον πλήρη προσδιορισμό της αλληλουχίας των βάσεων του γονιδιώματος των βακτηριδίων, συμπεριλαμβανομένων πολλών ειδών ρικετσιών. Με αυτό τον τρόπο έγινε δυνατή η μελέτη της εξέλιξης, του μεταβολισμού των αντιγονικών πρωτεϊνών και των παραγόντων που καθορίζουν την παθογενετικότητά τους μέσω της σύγκρισης ομοιωτήτων και διαφορών στο γονιδιωμά τους. Το 1998 προσδιορίστηκε η αλληλουχία του γονιδιώματος της *R.prowazekii* (20). Η μελέτη έδειξε δομή όμοια με τα μιτοχόνδρια με απουσία γονιδίων για αναερόβια γλυκόλυση και γονιδίων για βιοσύνθεση αμινοξέων και νουκλεοτιδίων και παρουσία γονιδίων απαραίτητων για τον κύκλο του τρικαρβοξυλικού οξέος και του συμπλέγματος της αναπνευστικής αλυσίδας, που είναι απαραίτητη για την παραγωγή ATP. Ο προσδιορισμός εν συνεχεία του γονιδιώματος της *R.conorii* έδειξε ότι είχε μια τέλεια συγγραμικότητα με το γονιδίωμα της *R.prowazekii*, εμφάνιζε τα 804 από τα 834 γονίδια, είχε όμως επιπλέον 552 ORFs και 10πλάσιο αριθμό επαναλαμβανόμενων στοιχείων. Η φυλογενετική ανάλυση έδειξε ότι το γονιδίωμα των ρικετσιών είναι πιο κοντινό με το γονιδίωμα των μιτοχονδρίων απ όλα τα υπόλοιπα βακτήρια (20, 21, 22).

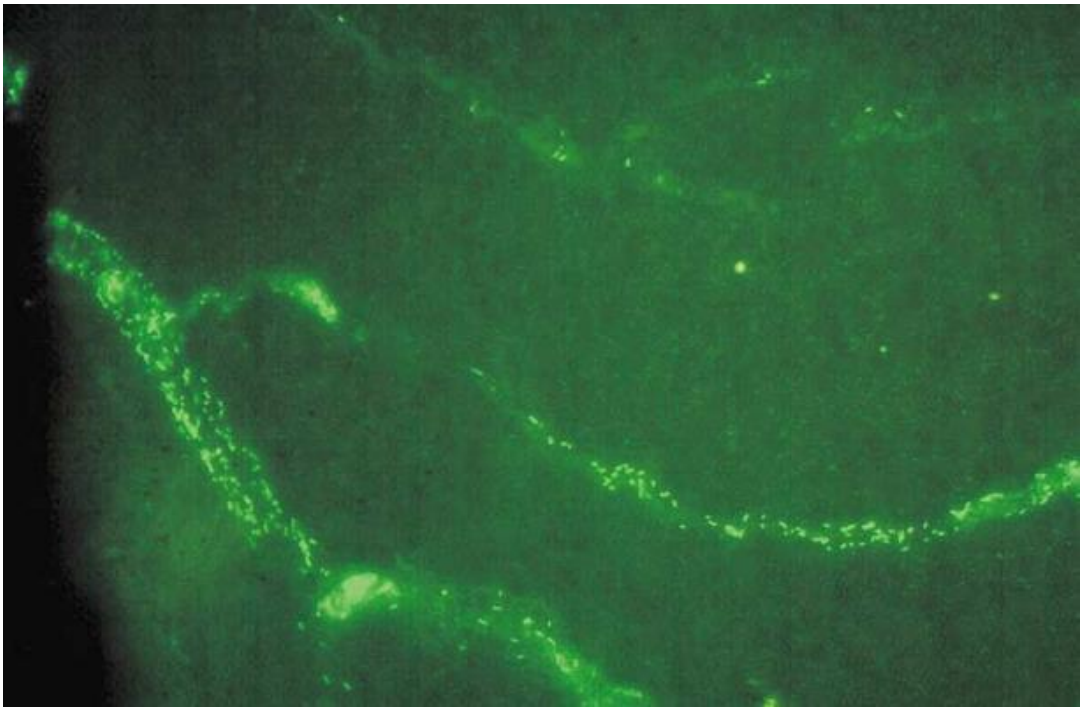


Εικ.2 Το γονιδίωμα της *R.typhi* J Bacteriol. 2004 September; 186(17): 5842–5855.

Το χρωμόσωμα των ρικετσιών είναι κυκλικό. Το γονιδίωμά τους παρουσιάζει σημαντικές διακυμάνσεις στο μέγεθος (από 1,1 MB στο OT μέχρι 1,2-1,4 MB στην ΟΚΠ και 1,5 στην *R.bellii)*, καθώς και στον αριθμό των γονιδίων των διαφόρων ειδών. Τα ανωτέρω στοιχεία πιθανόν να είναι αποτέλεσμα της υποβάθμισης του γονιδιώματος (23), επίσης μπορεί να οφείλονται σε προσθήκη γονιδίων μέσω διπλασιασμού ενός γονιδίου, πολλαπλασιασμού επαναλαμβανόμενων και παλινδρομικών αλληλουχιών DNA ή και οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων. Η υποβάθμιση του γονιδιώματος στους κλάδους του φυλογενετικού δέντρου των ρικετσιών οδήγησε στα σημερινά είδη. Το μη κωδικοποιόν DNA κυμαίνεται από 16% (*R.bellii*) έως 33% (*R.prowazekii*), ενώ τα ελεύθερα βακτήρια έχουν κατά μέσω όρο ποσοστά του 0,1%.

Τα ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης, δηλαδή οι αλληλουχίες DNA του χρωμοσώματος, που αν μεταγραφούν, μεταφράζονται σε πρωτεΐνες γνωστού μήκους και σύνθεσης (open reading frames, ORFs) κυμαίνονται από 834 στην *R.prowazekii* έως 1478 στην *R.bellii*. Η *R.conorii* έχει 1374 ORFs. Το 41% των ORFs της *R.conorii* παρουσιάζουν σημαντική ομοιότητα της αλληλουχίας βάσεων με διαγονιδιακές περιοχές της *R.prowazekii*, γεγονός το οποίο δείχνει ότι οι διαφορές που παρουσιάζουν τα δύο γονίδια οφείλονται σε εκφύλιση γονιδίων της *R.prowazekii*, κατά τον διαχωρισμό τους από τον κοινό πρόγονο πριν από 40-80 εκατομμύρια έτη (15). Η σύγκριση του γονιδιώματος της *R.conorii* με το μικρότερο

γονιδίωμα της *R.prowazekii* έδειξε ότι περισσότερα από 200 από τα γονίδια της *R.prowazekii* εκφυλίστηκαν και άλλα 200 εξαφανίστηκαν μετά το διαχωρισμό από την *R.conorii* (24).

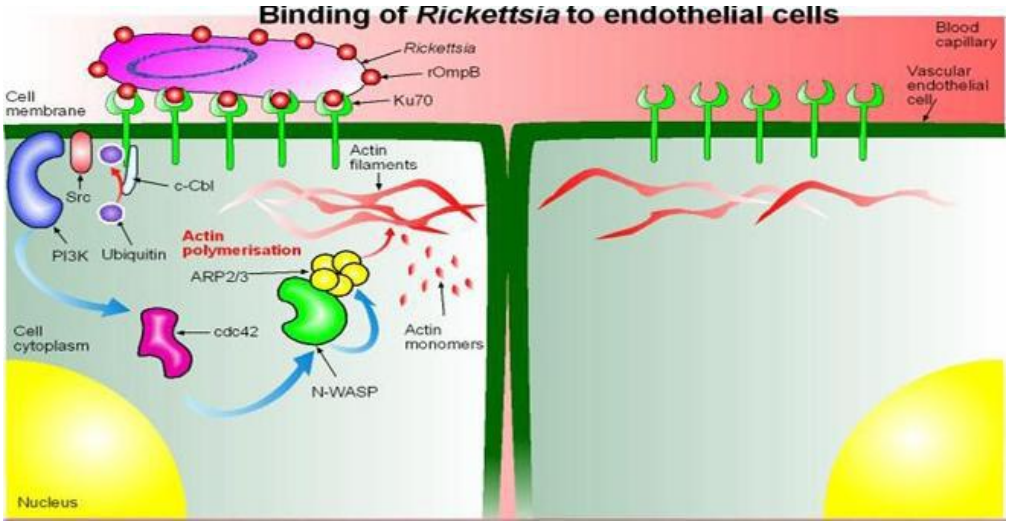


εικ. 3. Ανίχνευση με ανοσοφθορισμό της *R. conorii* στα αγγεία αμφιβληστροειδούς ποντικού. (Valbuena G, 2001)

Συγκριτικά το γονιδίωμα των ρικετσιών δείχνει συνεχή εκφύλιση από γονίδια πλήρως μεταγραφόμενα, σε γονίδια διασπειρώμενα μεταγραφόμενα και τέλος σε υπολείμματα γονιδίων (27,24,28).

Το DNA κωδικοποιείται από 39-40, ενώ τα ψευδογονίδια είναι από 100 (*R.bellii*) έως 286 (*R.massiliae*). Αρκετές μη κωδικοποιούσες περιοχές των ρικετσιών παρουσιάζουν ομοιότητες με ORFs άλλων βακτηρίων (24, 25), ορισμένες από αυτές τις περιοχές παρουσιάζουν συσπείρωση, παρόμοια με των κωδικοποιουσών περιοχών, γεγονός που υποδηλώνει ότι πιθανόν οι περιοχές αυτές να είναι λειτουργικές. Η μακρόχρονη παρουσία τους σε διαφορετικούς ξενιστές, όπως κρότωνες (*R.conorii*) , ή ψείρες (*R.prowazekii*) φαίνεται ότι καθορίζεται από την παρουσία ή μη ορισμένων γονιδίων και αυτό καθορίζει την ικανότητά τους για επιβίωση σε διαφορετικές συνθήκες. Σε ένα σημαντικό ποσοστό των ORFs του γονιδιώματος των ρικετσιών που διαφέρει από το ORFs άλλων βακτηριδίων με κωδικοποίηση γνωστών πρωτεϊνών, η λειτουργία του είναι άγνωστη. Στην *R.conorii* ο αριθμός αυτών των πρωτεινών με άγνωστη δράση είναι 676 σε σώμα 1374 ORFs . Το μέγεθος του γονιδιώματος φαίνεται ότι είναι αντιστρόφως ανάλογο από την παθογενετικότητά τους σε σπονδυλωτά, όπως η *R.prowazekii* έναντι της *R.conorii* ή ενδοσυμβιωτικών ρικετσιών. Η *R.prowazekii* στο μικρότερο γονιδίωμά της περιέχει γονίδια που υπάρχουν πλην τεσσάρων στο γονιδίωμα της *R.conorii*. Φαίνεται λοιπόν, ότι η απώλεια γονιδίων κατά τη διάρκεια της εξελικτικής διαδικασίας αυξάνει την παθογενετικότητα τους (24). Παρουσιάζουν

επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες βάσεων, άλλες σε μικρό ποσοστό, όπως της OT και άλλες σε μεγαλύτερο όπως η *R.felis* και η *R.bellii* (περίπου 4%). Μόνο οι ρικέτσιες και Wolbachia μεταξύ των βακτηρίων εμφανίζουν κάποιες από τις επαναλαμβανόμενες παλινδρομικές αλληλουχίες βάσεων (Rikettsia palindromic elements – RPEs 1-8 και Rickettsia repeats RR 1-2) σε θέσεις του γονιδιώματος και εκτός των διαγονιδιακών περιοχών, δηλαδή και εντός περιοχών του γονιδιώματος που κωδικοποιούν πρωτεΐνες (ORFs), χωρίς να επηρεάζεται η λειτουργικότητα των κωδικοποιούμενων πρωτεϊνών, καθώς το τμήμα της πρωτεΐνης που κωδικοποιούν εμφανίζεται πάντα στην εξωτερική επιφάνεια της πρωτεΐνης με τρόπο συμβατό με την αρχική δομή και λειτουργία της (29, 30, 31). Το μέγεθος αυτών των RPEs είναι 100-150 bp (31). Για παράδειγμα η *R.rickettsii* παρουσιάζει στο γονίδιο rompA, 13 σχεδόν πανομοιότυπες επαναλήψεις που αντιπροσωπεύουν 3kb από τα 6,8kb της ORF (32).



εικ. 4. Σύνδεση της ρικέτσιας στα ενδοθηλιακά κύτταρα (Από Immunopaedia.org)

Τα RPES με την προσθήκη τους εντός των γονιδίων, οδηγούν στη δημιουργία πρωτεϊνών με διαφορετική δομή και δράση είτε σε απώλεια γονιδίων συμβάλλοντας έτσι στην εξελικτική διαδικασία.

Στις *R.felis* και *R.bellii* βρέθηκε η παρουσία σημαντικού αριθμού γονιδίων που κωδικοποιούν την ανκυρίνη (Ank) καθώς και πρωτεΐνες που περιέχουν tetratricopeptitec (TPR), που υπάρχουν σε ευκαρυωτικά κύτταρα. Οι επαναλήψεις ανκυρίνης φαίνεται ότι αποτελούν μηχανισμό επικοινωνίας με τους ξενιστές. Στην *R.felis* εμφανίζονται 22 πρωτεΐνες με υπόνοια ανκυρίνης , ενώ μόνο 15 βακτήρια εμφανίζουν περισσότερες από 3 πρωτεΐνες με επαναλήψεις ανκυρίνης. Επίσης, υπάρχουν 4 πρωτεΐνες που περιέχουν TPR (34 αμινοξέα οργανωμένα σε ζεύγη) που φαίνεται ότι διευκολύνουν την αλληλεπίδραση των πρωτεϊνών. Λόγω της ενδοκυττάριας ζωής τους οι ρικέτσιες έχουν λίγες ευκαιρίες για οριζόντια ανταλλαγή DNA με άλλα βακτήρια. Όμως, παρουσιάζουν έναν μεγάλο αριθμό κινητών στοιχείων στο γονιδίωμά τους (mobilome) όπως πρόσφατα διαπιστώθηκε, όπως μεταθετόνια (γονίδια που σχετίζονται με φάγους) και πλασμίδια καθώς και ενός συστήματος σύζευξης που δείχνουν πιθανόν τη δυνατότητα οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων. Σε πρόσφατη μελέτη υπήρξαν ενδείξεις οριζόντιας μεταφοράς του tra cluster της *R.massilliae* από ένα άλλο είδος ρικέτσιας σχετιζόμενο με την *R.bellii*. Τα mobilome, της οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων, φαίνεται ότι πιθανότατα έχουν συμβάλλει ουσιαστικά στην εξέλιξη του γονιδιώματος των ρικετσιών. Επίσης, φαίνεται ότι υπάρχουν ενδείξεις απώτερης

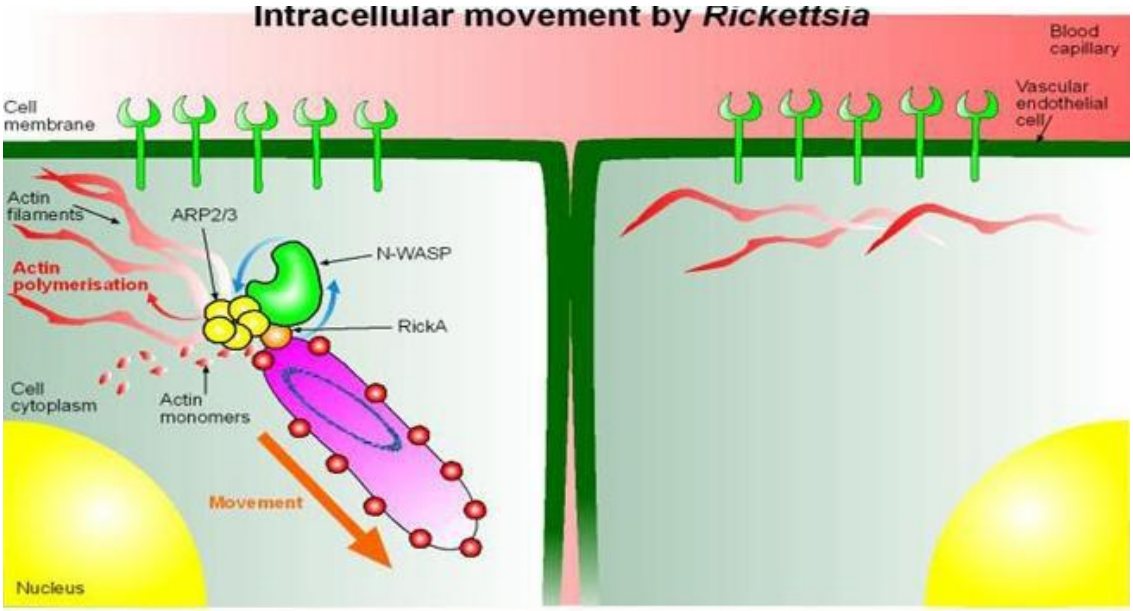
απόκτησης γονιδίων από βακτήρια που ζουν μέσα σε αμοιβάδες. Η *R.bellii* παρουσιάζει μεγάλο αριθμό γονιδίων με ομοιότητες αντίστοιχες της *Legionella pneumophila* και τον *Protochlamidia ameobophila* που ζουν ενδοκυττάρια σε αμοιβάδες. Οι translocates ADP/ATP πιθανώς να προήλθαν από οριζόντια μεταφορά από Chlamydia που με τη σειρά τους τις απέκτησαν από φυτά (33). Επίσης, γονίδια (T4SS) τύπου 4 εκκριτικού, αποδείχτηκε με φυλογενετική ανάλυση ότι προέρχονται από άλλα ενδοκυττάρια βακτήρια αμοιβάδων, που δεν είναι α-πρωτεοβακτήρια και αποκτήθηκαν με πλάγια μεταφορά γενετικού υλικού (34, 35). Πιθανολογείται, λοιπόν, ότι ο πρόγονος των Ricketsiales ζούσε μέσα σε αμοιβάδες όπου με ανταλλαγή γονιδίων με άλλα συμβιούντα βακτήρια απέκτησε την ικανότητα ενδοκυττάριας ζωής μέσα σε ευκαρυωτικά κύτταρα (58). Η *R.felis* έχει χρωμοσωμικές ORFs που δεν έχουν ομόλογες ORFs με άλλες ρικέτσιες, ενώ παρουσιάζει ομοιότητες με ORFs γ-πρωτεοβακτηριαδίων και κυανοβακτηριδίων που πιθανώς αποκτήθηκαν με πλάγια μεταφορά γονιδίων σε αντίθεση με τις κοινές ORFs με άλλες ρικέτσιες που φαίνεται ότι κληρονομήθηκαν κάθετα από τον κοινό τους πρόγονο. Η συνλοίμωξη (coinfection) που αποδείχτηκε σε κρότωνες από διαφορετικά είδη ρικετσιών φαίνεται ότι μπορεί να ευνοήσει την ανταλλαγή γονιδίων μεταξύ τους (36, 37). Παθογενετικές νησίδες, συναθροίσεις γονιδίων που κωδικοποιούν λοιμογόνα χαρακτηριστικά (προσκολλητίνες, τοξίνες, εκκριτικά συστήματα πρωτεϊνών), δεν εμφανίζονται στις ρικέτσιες αλλά αποκτώνται από τα βακτήρια, με πλάγια μεταφορά γενετικού υλικού από άλλα βακτήρια που τα καθιστούν λοιμογόνα (38). Το περιεχόμενο G+C των τμημάτων αυτών του γονιδιώματος σε 6 είδη ρικετσιών, έδειξε ότι οι ρικέτσιες στερούνται πλασμιδίων. Όμως, αργότερα διαπιστώθηκε η παρουσία πλασμιδίων στην *R.felis* (pRF και ρRFδ) και μετά στην *R.monaceusis* (pRM) (39), στον *R.africae* (pRA) και στην *R.massiliae* (pRMA) (40) καθώς και σε αρκετές άλλες ρικέτσιες. Τα στελέχη των ρικετσιών με παρουσία πλασμιδίων έιχαν λίγες ανακαλλιέργειες ενώ διαπιστώθηκε ότι ορισμένες ρικέτσιες όπως η *R.peacockii* μετά από πολλές ανακαλλιέργειες απώλεσαν τα πλασμίδιά τους (40), γεγονός που θέτει ερωτήματα σχετικά με τη συχνότητα παρουσίας πλασμιδίων σε στελέχη που δεν έχουν υποβληθεί σε πολλαπλές ανακαλλιέργειες. Ο επανέλεγχος στελεχών *R.conorii*, *R.rickettsii* και *R.typhi* που έχουν ανακαλλιεργηθεί πολλές φορές θα διευκρινίσει αυτή τη διαπίστωση. Τα αντίγραφα των πλασμιδίων ανά χρωμόσωμα είναι μικρός περίπου 4,4 (41). Τα γονίδιο rickA υπάρχει στις ρικέτσιες ΟΚΠ, ενώ απουσιάζει από τις *R.prowazekii* και *R.typhi* και έχει σχέση με την πιθανότητα μερισμού της ακτίνης, μέσω ενεργοποίησης του Arp 2/3. Ένα άλλο γονίδιο το sca2 που υπάρχει στις ρικέτσιες της ΟΚΠ απουσιάζει από την *R.prowazekii* και σχετίζεται με τον πολυμερισμό της ακτίνης και με την προσκόλυση. Εκφράζεται όμως στην *R.typhi* όπου εμφανίζει μικρές αλυσίδες ακτίνης και περιορισμένη κινητικότητα (11, 42). Μεγάλο τμήμα του γονιδιώματος των ρικετσιών κωδικοποιεί πρωτεΐνες που εμπλέκονται σε συστήματα μεταφοράς και έκκρισης τύπου IV (σύστημα έκκρισης, T4SS), λειτουργίες απαραίτητες λόγω του ενδοκυττάριου παρασιτισμού τους.

1.6 ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ

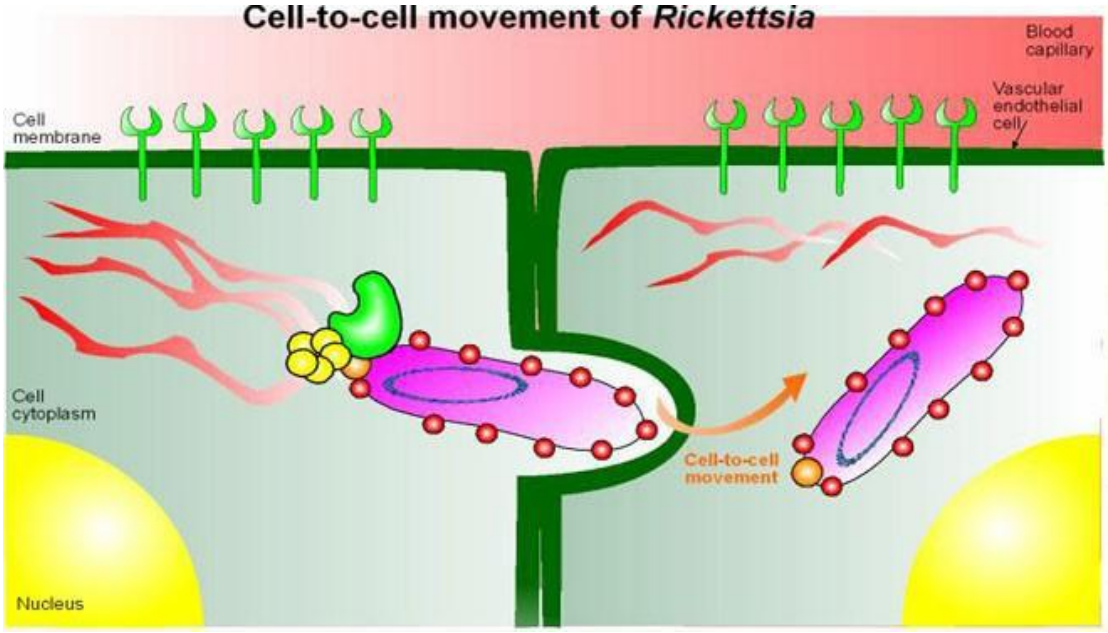
Η μετάδοση των παθογόνων ρικετσιών στον άνθρωπο γίνεται μέσω ορισμένων αιματοφάγων αρθροπόδων όπως κρότωνες, ακάρεα, ψύλλοι και ψείρες. Η μετάδοση γίνεται μέσω νύγματος (κρότωνες, ακάρεα) με εκκρίσεις των σιελογόνων αδένων τους. Στην περίπτωση της *R.slovaca* γίνεται με μολυσμένα κόπρανα κροτώνων *D.marginatus* (43). Η μετάδοση από τους ψύλλους και τις ψείρες γίνεται κυρίως από

τα μολυσμένα αποχωρείματά τους με εναπόθεση στο δέρμα κατά τη διάρκεια νύγματος και στη συνέχεια γίνεται ενοφθαλμισμός των ρικετσιών από τις λύσεις της συνέχειας του δέρματος στο σημείο του δήγματος ή στις εκδορές που γίνονται γύρω από αυτό λόγω κνησμού που προκαλείται. Τα κόπρανα των ψύλλων και των ψειρών παραμένουν μολυσματικά για πολλούς μήνες παρέχοντας τη δυνατότητα μετάδοσης με ενοφθαλμισμό μέσω μολυσμένων μικροσωματιδίων από τους βλεννογόνους επιπεφυκότες και αναπνευστικούς βλεννογόνους, καθώς και από μικρολύσεις της συνέχειας του δέρματος, ιδίως των κάτω άκρων μετά από βάδισμα με ακάλυπτα τα άκρα σε μολυσμένο έδαφος (π.χ αγρότες, εργάτες υπαίθρου). Σπάνια η μετάδοση από τους ψύλλους γίνεται και μέσω νήγματος. Η μετάδοση από μολυσμένο αίμα είναι σπανιότατη, έχει αναφερθεί μία μόνο περίπτωση από *R.rickettsii* (44).

Οι ρικέτσιες μετά τον ενοφθαλμισμό τους εισέρχονται στη συστηματική κυκλοφορία μέσω λεμφαγγείων, επιχώριων λεμφαδένων από όπου μετά τον πολλαπλασιασμό τους διασπείρονται σε όλα τα όργανα. Η επαφή των ρικετσιών με τα δενδριτικά κύτταρα του δέρματος οδηγεί στην ενεργοποίησή τους και την μετανάστευση τους στη συνέχεια στους επιχώριους λεμφαδένες, όπου ενεργοποιούνται οι μηχανισμοί της επίκτησης και φυσικής ανοσίας. Ο κύριος στόχος των ρικετσιών είναι τα ενδοθηλιακά κύτταρα . Τα ενδοθηλιακά κύτταρα ανάλογα με το όργανο και το μέγεθος των αγγείων παρουσιάζουν μεγάλη ετερογένεια, έχουν όμως σημαντικό ρόλο σαν ανοσοδραστικά κύτταρα στους αμυντικούς μηχανισμούς μέσω φλεγμονωδών αντιδράσεων παραγωγής και απόκρισης. Έχουν επίσης σημαντικό ρόλο σε ποικιλία μεσολαβητών όπως κυτοκίνες, αυξητικούς παράγοντες, προσκολλητίνες, αγγειοδραστικές ουσίες, χυμοκίνες. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα προσβάλλονται μέσω της ενδοαγγειακής κυκλοφορίας των ρικετσιών χωρίς την παρουσία ειδικών υποδοχέων. Μερικές φορές αποκολλώνται και επειδή παραμένουν βιώσιμα μεταφέρουν τις ρικέτσιες σε άλλες περιοχές (45). Επίσης οι ρικέτσιες προσβάλλουν και τα κύτταρα του συστήματος μονοπύρηνων μακροφάγων είτε περιαγγειακά, είτε τα μακροφάγα ήπατος σπλήνας καθώς και τα ηπατοκύτταρα. Σπανιότατα, εκτός του ενδοθηλίου προσβάλλονται και οι λείες μυϊκές ίνες των αγγείων (46). Επίσης η *R.akari* έχει ως κύριο στόχο τα CD 68+ μακροφάγα. Η προσβολή αυτή των αγγείων εκδηλώνεται σαν ενδαγγειίτιδα που προκαλεί το δερματικό εξάνθημα κηλιδώδες, κηλιδοβλατιδώδες (αγγειοδιαστολή-περιαγγειακό οίδημα) ή πετεχειώδες (διάσπαση ακεραιότητας του αγγειακού τοιχώματος). Η προσβολή του ενδοθηλίου του εγκεφάλου και των πνευμόνων ευθύνεται για τις σοβαρές κλινικές εκδηλώσεις από το Κ.Ν.Σ. και το αναπνευστικό σύστημα (λήθαργος, κώμα, πνευμονίτιδα κ.λ.π).



εικ. 5. Ενδοκυττάρια κίνηση της ρικέτσιας (Από Immunopaedia.org)



εικ. 6. Κίνηση της ρικέτσιας από κύτταρο σε κύτταρο (Από Immunopaedia.org)

Ο πολλαπλσιασμός των ρικετσιών διαφέρει ανάλογα με το είδος. Η ΟΤ πολλαπλασιάζεται σε μεγάλους αριθμούς 6-8 φορές περισσότερο από την ΟΚΠ. Τα προσβεβλημένα ενδοθηλιακά κύτταρα διογκώνονται και εκρήγνυνται με αποτέλεσμα να διασπείρουν τις ρικέτσιες στα γειτονικά κύτταρα και στην κυκλοφορία.

Το ενδοθήλιο καταστρέφεται, γίνεται εξαγγείωση ερυθρών αιμοσφαιρίων και η βασική μεμβράνη εκτίθεται στα αιμοπετάλια και στους παράγοντες πήξης.

Οι ρικέτσιες της ΟΚΠ παρότι έχουν μικρότερους ρυθμούς πολλαπλασιασμού μέσα στα ενδοθηλιακά κύτταρα μετακινούνται εντός αυτών και στη συνεχεία διασπείρονται ταχέως στα γειτονικά κύτταρα με πολυμερισμό της ακτίνης (47). Η μόλυνση των ενδοθηλιακών κυττάρων ενεργοποιεί την παραγωγή ενεργών ριζών οξυγόνου που βλάπτουν τις κυτταρικές μεμβράνες μέσω οξείδωσης λιπιδίων με αποτέλεσμα να εισέρχεται νερό στο κύτταρο, το οποίο συγκεντρώνεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο, με συνέπεια η οξειδωτική βλάβη να οδηγεί σε θάνατο τα κύτταρα. Σαν πρωιμότερη βλάβη περιγράφεται η διάταση του αδρού ενδοπλασματικού δικτύου με αποτέλεσμα την εμφάνιση δεξαμενών (cisternae). Τα προσβεβλημένα κύτταρα εμφανίζουν παράλληλα αντιοξειδωτική απόκριση μέσω της heme oxygenase (HO-1) (48) με σκοπό την προστασία τους από το οξειδωτικό στρες. Επίσης, φαίνεται ότι πιθανόν να υπάρχουν και άλλοι μηχανισμοί άμεσης βλάβης των κυτταρικών μεμβρανών από τις ρικέτσιες, όπως η δράση της φωσφολιπάσης D, η διάσπαση της μεμβράνης κατά την διαδικασία εξόδου των ρικετσιών μετά τον πολλαπλασιαμό τους και η διόγκωση και έκρηξη του κυττάρου. Επιπλέον, φαίνεται από τον εντοπισμό των γονιδίων tlyA και pat- l (patatin –like phospholipase) ότι αυτά κωδικοποιούν πρωτείνες με μεμβρανολυτική δράση. Μετά την προσβολή του από τις ρικέτσιες το κύτταρο είτε πεθαίνει και απελευθερώνει στην κυκλοφορία τις ρικέτσιες είτε ενεργοποιείται από το ανοσοποιητικό σύστημα και σκοτώνει τις ρικέτσιες (49). Η μόλυνση των ενδοθηλιακών κυττάρων δημιουργεί αύξηση της διαπερατότητας της μικροκυκλοφορίας λόγω διάσπασης των δεσμών μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων, της εμφάνισης χασμάτων (50 ,51) και παραγωγή νιτρικού οξέος (52) που έχει σαν αποτέλεσμα την αποκοπή των ενδοθηλιακών κυττάρων, την παραγωγή αγγειοδιασταλτικών προσταγλαδινών, λόγω αυξημένης έκκρισης της (COX2) (53) και την παρουσία αμυντικών ανοσολογικών μηχανισμών (54).

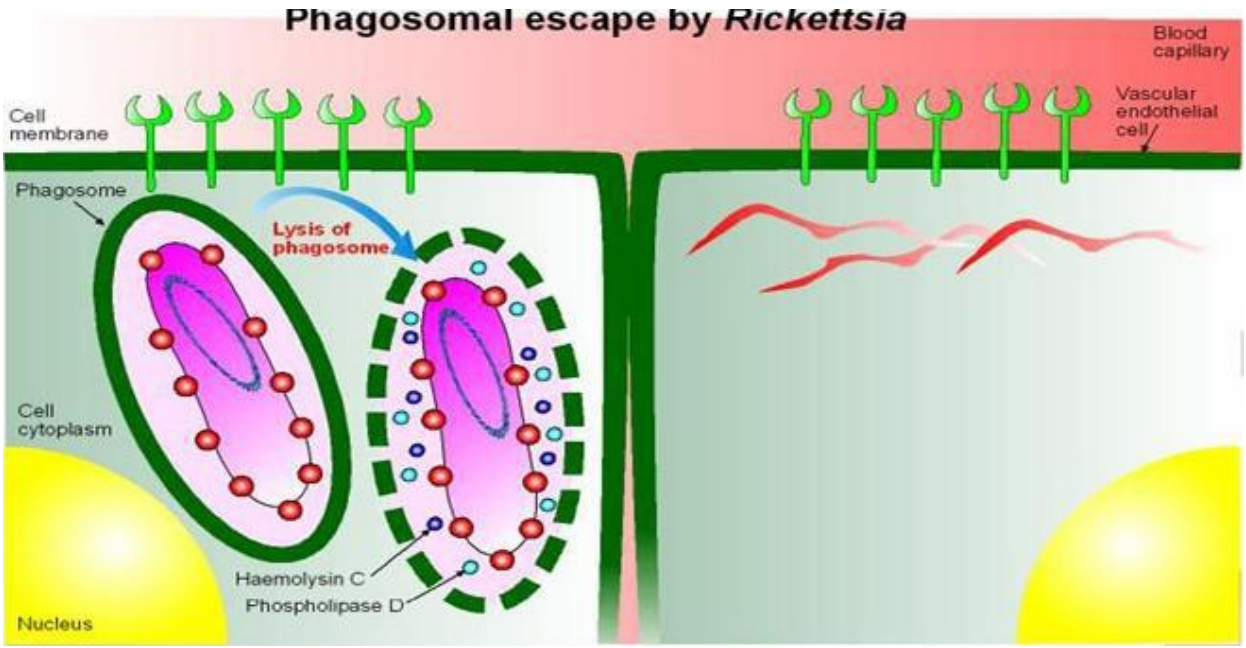
Η πρόσφατη αποκωδικοποίηση του γονιδιώματος των ρικετσιών διαφώτισε μηχανισμούς σχετικά με την παθογενετικότητά τους, όπως επίσης η οριστική απόδειξή τους πρόσφατα έγινε εφικτή με γενετικούς χειρισμούς για τη γενετική μεταλλαγή τους. (55, 56, 57).

Η είσοδος των ρικετσιών στα κύτταρα ξενιστές γίνεται με επαγώγιμη φαγοκυττάρωση (58). Αρχικά γίνεται σύνδεση των ρικετσιών με νέα κύτταρα ξενιστές με την βοήθεια των αυτομεταφερόμενων πρωτεϊνών της εξωτερικής μεμβράνης (rOmpA, rOmpB, Sca1, Sca2) (5, 10, εικ. 4).

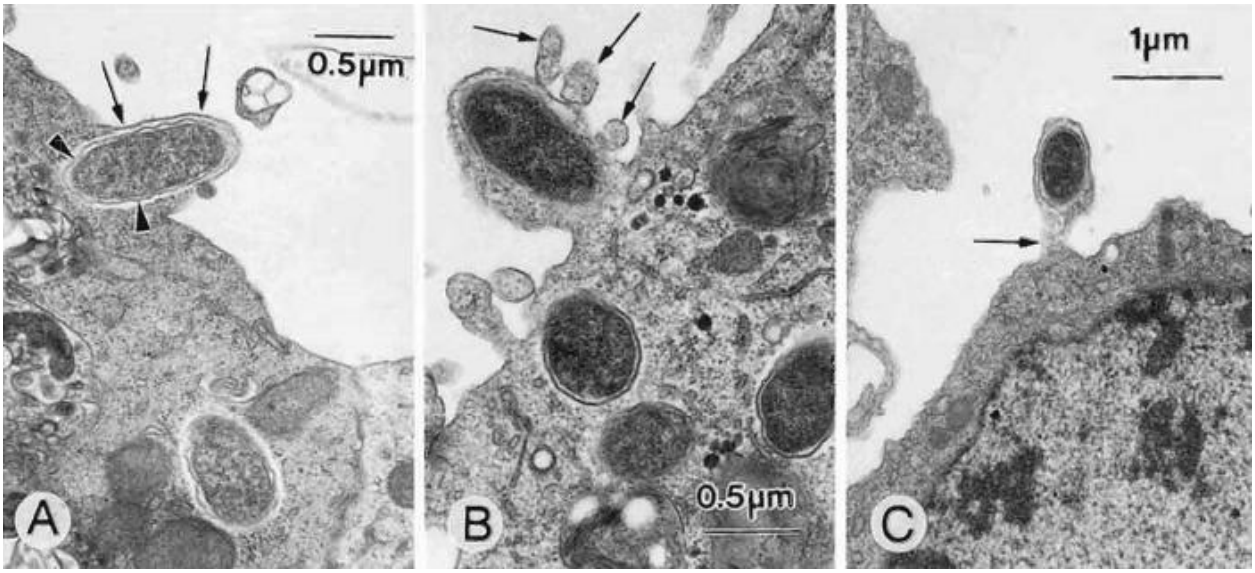
Οι ρικέτσιες της ομάδας του τύφου ΟΤ (59) δεν διαθέτουν την rOmpA πρωτεΐνη. Οι ρικέτσιες συνδέονται με τα κύτταρα όλων των τύπων χωρίς κατανάλωση ενέργειας, δεδομένου ότι λαμβάνει χώρα ακόμα και όταν τα κύτταρα και οι ρικέτσιες είναι νεκρά, όμως η σύνδεση εξαρτάται εν μέρει από την θερμοκρασία. Εν συνεχεία, γίνεται είσοδος των ρικετσιών στα κύτταρα με μία διαδικασία ενεργητική που απαιτεί βιώσιμες ρικέτσιες και μεταβολικά ενεργό κύτταρο ξενιστή (59) (εικ.8). Σημαντικό ρόλο σ’ αυτή τη διεργασία παίζουν η rOmpB και η Sca2 πρωτεΐνη. Η rOmpA είναι άγνωστο εάν παίζει ρόλο στην είσοδο των ρικετσιών στα κύτταρα, ένω η Sca1 δεν έχει κάποιο ρόλο. Στην επιφάνεια του κυττάρου ξενιστή, την παρουσία ρικετσιών φανερώνει η παρουσία μιας πρωτεΐνης της Ku70, η οποία συνδέεται με την rOmpB. Μετά ένα σύμπλεγμα το Arp2/3 που οδηγεί σε τοπικό πολυμερισμό της ακτίνης, προκαλεί την τροποποίηση του σκελετού του κυττάρου γύρω από τη ρικέτσια με τη συμβολή των c-Cbl1, clarithrin και caveolin 2 με τελικό αποτέλεσμα την φαγοκυττάρωση της ρικέτσιας (60, 12, 61, 11). Επίσης οι ρικέτσιες εισέρχονται στα κύτταρα του συστήματος των φαγοκυττάρων (μακροφάγα) με οψονοποίησή

τους με αντισώματα. Μετά την φαγοκυττάρωση οι μη οψονοποιημένες ρικέτσιες δραπετεύουν από το φαγόσωμα με διάλυση της μεμβράνης του πριν τη σύντηξή του με λυσόσωμα και την καταστροφή τους από λυσοσωμιακά ένζυμα (εικ 5). Ακολούθως, παραμένουν ελεύθερες στο κυτταρόπλασμα από όπου παραλαμβάνουν ένεργεια ATP, όλα τα απαραίτητα θρεπτικά υλικά, αμινοξέα και νουκλεοτίδια. Η διάλυση της μεβράνης του φαγοσώματος γίνεται με ρικετσιακή πρωτεΐνη, με δράση της φωσφολιπάσης D και της αιμολυσίνης C (TlyC) (62, 63). Ο χρόνος εισόδου της ρικέτσιας στο κύτταρο είναι 3 λεπτά και η διαφυγή της από το λυσόσωμα διαρκεί ελάχιστα. Οι ρικέτσιες της ΟΚΠ αναπτύσσονται και πολλαπλασιάζονται στο κυτταρόπλασμα και τον πυρήνα των κυττάρων ξενιστών, ενώ οι ρικέτσιες της ΟΤ αναπτύσσονται μόνο μέσα στο κυτταρόπλασμα.

Οι ρικέτσιες της ΟΚΠ εκτός από την *R.peocockii* πολυμερίζουν την ακτίνη του ευκαρυωτικού κυττάρου (εικ.7) και έτσι μετακινούνται μέσα σε αυτό και φτάνουν στην κυτταρική του μεβράνη όπου και δημιουργούν προεξοχή (φυλοπόδιο) μέσα στο οποίο προωθείται με τη βοήθεια της ακτίνης η ρικέτσια (εικ.6).



εικ.7. Διαφυγή της ρικέτσιας από το φαγόσωμα (από immunopaedia.org)



εικ. 8. Έξοδος ρικέτσιας της ΟΚΠ από το κύτταρο. (Munderlh U, 2004)

Στη συνέχεια αν υπάρχει επαφή με άλλο γειτονικό ενδοθηλιακό κύτταρο η ρικέτσια μεταφέρεται μέσα σε αυτό μέσω του φυλοποδίου χωρίς επαφή με το γειτονικό περιβάλλον (64, 65, εικ.8). Η ενδοθηλιακή βλάβη απελευθερώνει παράγοντες πήξης, ενεργοποιεί τον καταρράκτη πήξης, διεργασία η οποία βρίσκεται σε ισορροπία με το ενεργοποιημένο σύστημα ινωδόλυσης με αποτέλεσμα η διάχυτη ενδαγγειακή πήξη να σπανίζει. Η ελάττωση των αιμοπεταλίων συχνά οφείλεται στη συγκόλυσή τους στο απογυμνωμένο αγγειακό τοίχωμα και στα κατεστραμμένα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η ρικετσιακή λοίμωξη του ενδοθηλίου οδηγεί στην έκφραση του ιστικού παράγοντα, με την παραγωγή παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF) (66), έκφραση θρομβομοντουλίνης (67), έκκριση αναστολέων ενεργοποίησης πλασμινογόνου (68) και απελευθέρωση του παράγοντα Von Willebrand (116).

Η προσβολή των ενδοθηλιακών κυττάρων από τις ρικέτσιες προκαλεί την έκφραση στην επιφάνειά τους μορίων προσκόλλησης λευκών αιμοσφαιρίων, όπως πολυμορφοπύρηνων (Ε σελεκτίνη) με μέγιστη έκφραση 6-8 ώρες και μονοπύρηνων ICAM1 και VCAM1 η δράση των οποίων διαρκεί >24 ώρες (69).

Επίδραση στην παθογένεση των ρικετσιών έχουν τα γονίδια OmpA, OmpB (προσκολλητίνες), pld, thyC, (δραπέτευση από το φαγόσωμα), rickA (κινητικότητα βασιζόμενη στην ακτίνη, tlyA, pat1 (ισχυρή μεμβρανολυτική δραστηριότητα, VirD, Vir B (τύπο IV εκκριτικά συστήματα), InVA και SovB γονίδια για σύνδεση λιποσακχαρίτη (70).

1.7 ΑΝΟΣΙΑ

1.7.1 Φυσική ανοσία

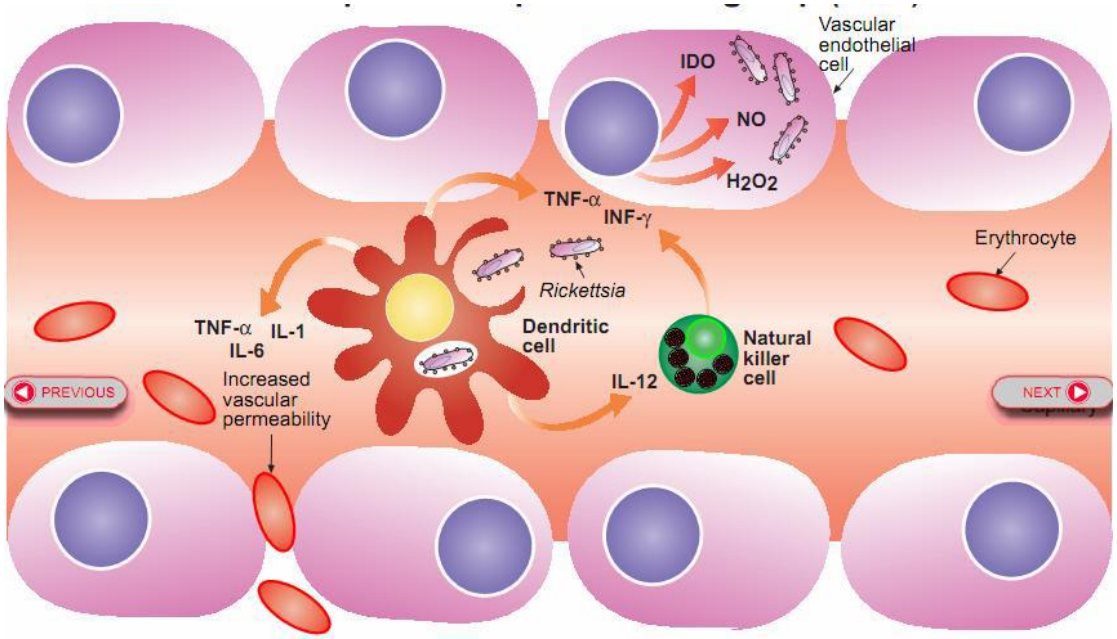
Μετά την είσοδο των ρικετσιών στο ενδοθηλιακό κύτταρο ενεργοποιείται το nuclear factor kappaB (NFkB) μέσω ενεργοποίησης της δραστικότητας της κινάσης του συμπλέγματος Nemo /Ikkα/Ikkβ, η οποία φωσφορυλιώνει τον αναστολέα IkB, που είναι συνδεδεμένος με το κυτττταροπλασματικό NFkB. Η αδρανοποίηση του IkB οδηγεί στην αποδέσμευσή του από τον NFkB, ο οποίος μετακινείται στον πυρήνα επάγοντας την γονιδιακή μεταγραφή προφλεγμονωδών κυτοκινών IL-6, IL1α και χημειοκινών, όπως IL8 και MCP-1. Επίσης, επάγει τη μεταγραφή αντιαποπτωτικών γονιδίων με παραγωγή BCL-2 και IAPS οδηγώντας έτσι στην αναστολή της απόπτωσης των ενδοθηλιακών κυττάρων και επομένως παράταση του πολλαπλασιασμού των ρικετσιών εντός αυτών, τελικά όμως υπερισχύουν άλλοι μηχανισμοί, όπως των κυτταροτοξικών CD8T λεμφοκυττάρων και οδηγούν στην απόπτωση των κυττάρων (I20,I21,I22,I23,24). Τελικό αποτέλεσμα είναι η αύξηση της IL-6, IL-8 πιθανώς λόγω αυξημένης παραγωγής IL-1 α από τα ίδια τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η IL διαγείρει την παραγωγή από το ήπαρ πρωτεϊνών οξείας φάσεως (CRP, C3,C4, ινοδωγόνο) και ,επίσης, διεγείρει την έκκριση IL-2 καθώς και την έκφραση υποδοχέων της IL-2 που με τη σειρά τους οδηγούν σε πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση των Τ-λεμφοκυττάρων. Η IL-8 αποτελεί ισχυρό χημειοτακτικό παράγοντα για πολυμορφοπύρηνα και λεμφοκύτταρα (72). Τα ενδοθηλιακά κύτταρα με την προσβολή τους ενεργοποιούν τη φυσική ανοσία η οποία περιλαμβάνει την παραγωγή κυτοκινών από ενδοθηλιακά και μη κύτταρα, με τη διέγερση μηχανισμών της οξείας φάσης ανταπόκρισης και την ενεργοποίηση μακροφάγων και των ΝΚ κυττάρων. Οι ρικέτσιες ,επίσης, με την είσοδό τους στα κύτταρα ενεργοποιούν την p38MAP κινάση που παίζει επίσης ρόλο, όπως και τον NFkB στην έκφραση και έκκριση ποικίλων φλεγμονωδών και χημειοτακτικών κυτοκινών από τα ενδοθηλιακά κύτταρα (71).

Μεταξύ των ρικετσιών ΟΤ και ΟΚΠ υπάρχουν διαφορές ως προς την απόκριση των ενδοθηλιακών κυττάρων μετά την είσοδο των ρικετσιών. Η *R.conorii* προκαλεί διφασική ενεργοποίηση του NFkB στις 3 και στις 24 ώρες ενώ η *R.typhi* προκαλεί μόνο την αρχική ενεργοποίηση του NFkB στις 3 ώρες. Επίσης, η *R.conorii* προκαλεί εντονότερη και ταχύτερη ενεργοποίση της p38 MAP κινάσης σε σχέση με την *R.typhi* (73). Τα δενδριτικά κύτταρα του δέρματος εγκολπώνουν τις ρικέτσιες και ενεργοποιούνται μέσω της σύνθεσης του λιποσακχαρίτη (LPS) και της πεπτιδογλυκάνης του κυτταρικού τοιχώματος των ρικετσιών με τους TLR-4 και TLR2 υποδοχείς των δενδριτικών κυττάρων αντιστοίχως. Η ενεργοποίηση των δενδριτικών κυττάρων προκαλεί παραγωγή IL-12 η οποία διαγείρει τα ΝΚ κύτταρα έτσι ώστε να παράγουν INFγ. Επίσης παρατηρείται αύξηση της κυτταροτοξικής ικανότητας των ΝΚ κυττάρων (74, 75, 76, 77). Από τα δενδριτικά κύτταρα όπως και από τα μακροφάγα, έχουμε επίσης παραγωγή TNF-α, IL-1 και IL-6, οι οποίες εκτός των άλλων προκαλούν πυρετό και αυξημένη διαπερατότητα των αγγείων (54, 78).

Οι TNF-α και INF-γ επάγουν την παραγωγή της συνθάσης του νιτρικού οξέος (inducible nitric oxide synthase, iNOS), μέσα από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, το οποίο προκαλεί της παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου (NO), το οποίο είναι ρικετσιοκτόνο (79). Επίσης, από τα ενδοθηλιακά κύτταρα παράγεται υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), που είναι και ρικετσιοκτόνο (80). Όλα τα ανωτέρω περιορίζουν τον αρχικό πολλαπλασιασμό των ρικετσιών σε μια αρχική lag phase της ρικετσιακής ανάπτυξης (77).

Επίσης, η παραγόμενη indolamine-2,3 dioxygene (IDO) αποδομεί την τρυπτοφάνη, που είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη των ρικετσιών. Τα μακροφάγα που ενεργοποιούνται από την TNF-α, INF-γ και IL-IB σκοτώνουν τις ενδοκυττάριες ρικέτσιες μέσω παραγωγής H_2O_2 και αποδόμησης της τρυπτοφάνης, ενώ τα ενεργοποιημένα RANTES ηπατοκύτταρα (από τις ίδιες ουσίες) σκοτώνουν τις ενδοκυττάριες ρικέτσιες με παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου NO (80) (εικ. 9).

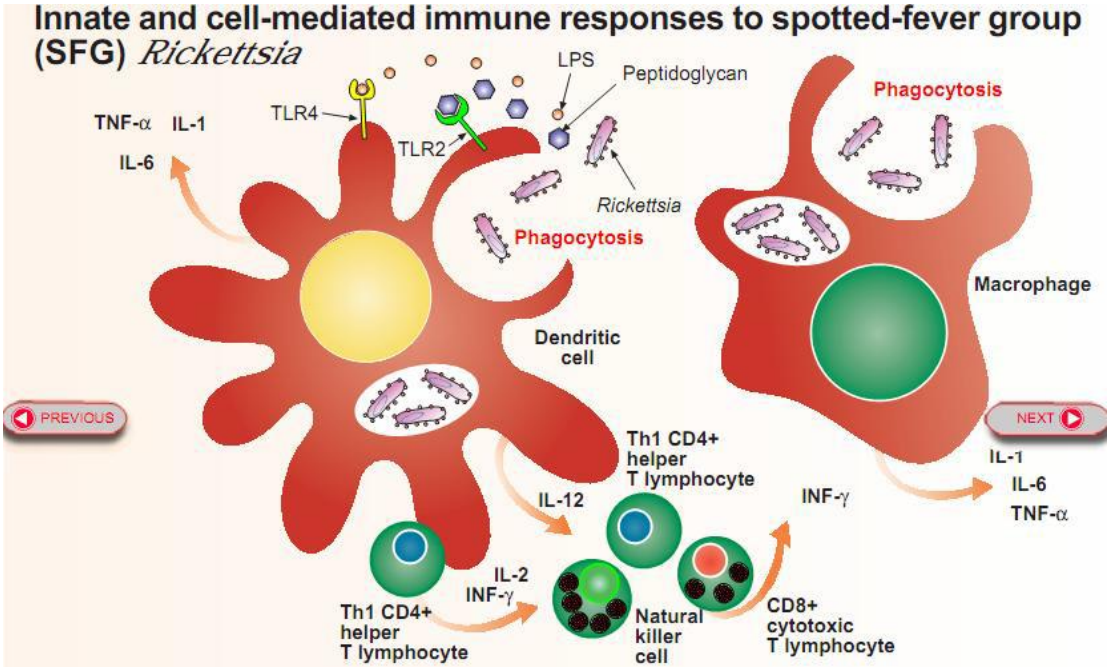
Η *R.akari* και η *R.typhi* διαπιστώθηκε ότι εμφανίζουν διαφορετική έκφραση κυττοκινών σε μολυσμένα μακροφάγα, πιθανόν λόγω βιολογικών διαφορών που υπάρχουν μεταξύ των δύο ρικετσιών (81). Σε βιοψίες δερματικών βλαβών ασθενών με *R.conorii* (ΜΚΠ) βρέθηκαν αυξημένες ποσότητες mRNA, των TNF-α, INF-γ, IL10, RANTES, inducible nitricoxite-synthase (iNOS) και IDO (82).



εικ. 9. Φυσική ανοσία – αλληλεπίδραση ενδοθηλιακών, δενδριτικών και NK κυττάρων (Από Immunopaedia.org)

1.7.2 ΕΠΙΚΤΗΤΗ ΑΝΟΣΙΑ

Τα αντιγόνα παρουσιάζονται από το δενδριτικό κύτταρο στα CD4+ helper T λεμφοκύτταρα, τα οποία διεγείρονται από την IL-12 και προκαλείται μία T4 ανοσολογική απόκριση που με τη σειρά της ωθεί τα CD8+ κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα στη θανάτωση των προσβεβλημένων κυττάρων (77). Μεγάλες ποσότητες TNF-α παράγονται από την ενεργοποίηση των δενδριτικών και των μακροφάγων κυττάρων. Οι αυξημένες ποσότητες INF-γ, που παράγονται από την ενεργοποίηση των CD4+ και CD8+ T λεμφοκυττάρων και των NK, δρουν συνεργικά με τον TNF-α και ενεργοποιούν τα προσβεβλημένα από ρικέτσιες κύτταρα (ενδοθηλιακά και άλλα) να σκοτώσουν τις ενδοκυττάριες ρικέτσιες (εικ. 10). Όμως τα CD8+ T-λεμφοκύτταρα με την κυτταροτοξική τους δράση φαίνεται να διαδραματίζουν ένα σημαντικό ρόλο στον περιορισμό της λοίμωξης από ότι η παραγωγή INF-γ από αυτά (83).



εικ. 10 Επίκτητη ανοσία - κυτταρική ανοσολογική απόκριση (Από Immunopaedia.org)

Από βιοψίες θανόντων ασθενών από ρικετσίωση φαίνεται ότι υπάρχει περιαγγειακή διήθηση από CD4+ και CD8+ Τ λεμφοκύτταρα, μονοπύρηνα μακροφάγα στις περιοχές του ενδοθηλίου που έχουν προσβληθεί από ρικέτσιες. Το ενδοθήλιο που έχει προσβληθεί από ρικέτσιες φαίνεται ότι καθαρίζεται με τη δράση αυτή των προαναφερθέντων κυττάρων είτε μέσω ενεργοποίησης ρικετσιοκτόνων μηχανισμών από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, είτε μέσω περιορισμού (απόπτωσης) των προσβεβλημένων κυττάρων από τα Τ κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα (CTL).

1.7.3 Χυμική Ανοσία

Τα αντισώματα έναντι των rOmpA και rOmpB αντιγόνων της κυτταρικής επιφάνειας της *R.conorii* έχει αποδειχθεί ότι προστατεύουν τα ποντίκια από θανατηφόρα λοίμωξη, ενώ τα αντισώματα έναντι του λιποσακχαρίτη (84) δεν έχουν αυτή την ιδιότητα. Οι ρικέτσιες με την οψωνοποίησή τους προσλαμβάνονται ταχύτερα από το ενδοθηλιακό κύτταρο και τα μακροφάγα και γίνονται ισχυροί ενεργοποιητές της φυσικής ανοσίας. Για την ρικέτσια *R.conorii* έχει βρεθεί ότι τα αντισώματα έναντι της rOmpB (μονοκλωνικά) και πολυκλωνικά έναντι της ρικέτσιας, εμποδίζουν την απελευθέρωση των ρικετσιών από το φαγόσωμα των ενδοθηλιακών κυττάρων και των μακροφάγων με αποτέλεσμα την καταστροφή τους μέσα στο φαγολυσόσωμα με τη δράση του Νιτρικού Οξειδίου (NO), ενεργών ριζών οξυγόνου καθώς και μέσω της διαιτητικής στέρησης της L-Τρυπτοφάνης (84, 85). Τα φαγοκύτταρα και τα NK κύτταρα εκφράζουν Fc υποδοχείς για IgG ανίχνευση των οψωνοποιημένων βακτηριδίων. Τα αντισώματα IgG και IgM έχουν δυνατότητα να ενεργοποιήσουν την κλασική οδό του συμπληρώματος.

Τα αντισώματα των rOmpA και rOmpB προστατεύουν από επαναλοίμωξη δεν φαίνεται όμως να έχουν σημαντικό ρόλο κατά την πρωτολοίμωξη. Η χυμική ανοσία έναντι των ρικετσιών ΟΚΠ και αυτών

της ΟΤ δεν παρουσιάζει διασταυρούμενη αντίδραση, ενώ η κυτταρική ανοσία παρουσιάζει διασταυρούμενη αντίδραση μεταξύ των παραπάνω ομάδων (86).

1.8 Ρυθμιστικοί μηχανισμοί της ανοσολογικής απάντησης

Είναι γνωστό ότι η λοίμωξη από ρικέτσιες έχει ως αποτέλεσμα σε μερικές περιπτώσεις να προκαλείται σοβαρή ή και θανατηφόρος λοίμωξη. Αυτό θεωρείται αποτέλεσμα έλλειψης ισορροπίας μεταξύ της προφλεγμονώδους ανταπόκρισης, που απομακρύνει τις ρικέτσιες, και τις αντιφλεγμονώδους ανταπόκρισης, η οποία περιορίζει την ιστική βλάβη που προκαλούν οι ανοσολογικοί μηχανισμοί.

Η κατάσταση της κυτταρικής ανοσίας γίνεται μέσω της IL-10 από τα δενδριτικά CD4 ρυθμιστικά Τ λεμφοκύτταρα (T reg). Υπερβολική διέγερση των TLR4 και TLR2 υποδοχέων των δενδριτικών κυττάρων από το LPS και την πεπτιδογλυκάνη αντίστοιχα των ρικετσιών μπορεί να οδηγήσει σε στροφή από την παραγωγή προφλεγμονώδους κυτοκίνης IL12 στην παραγωγή αντιφλεγμονώδους κυτοκίνης IL10, η οποία διαγείρει τα Treg λεμφοκύτταρα και καταστέλλει τα Τ4 λεμφοκύτταρα. Αυτή η διαταραχή έχει σαν αποτέλεσμα την ανεξέλεγκτη ανάπτυξη των ρικετσιών, η οποία με τη σειρά της οδηγεί σε δυσμενή έκβαση της νόσου (87) (εικ16). Κατά την $10^{η}$ ημέρα της λοίμωξης έχουν βρεθεί υψηλά επίπεδα IL10 στον ορό αλλά όχι την $5^{η}$ και $15^{η}$ ημέρα.

Η λοίμωξη κατά την $10^{η}$ ημέρα είναι καλά ελεγχόμενη και η συνεχιζόμενη ενεργοποίηση ανοσολογικών μηχανισμών θα έχει βλαπτική επίδραση.

1.8.1 Ανταπόκριση οξείας φάσης (APR)

Μέσα από μετρήσεις καθώς και από την ανταπόκριση οξείας φάσεως στον ορό ασθενών με ΜΚΠ, βρέθηκε ότι παρουσιάζουν αύξηση των INF-γ και IL-6, TNF-α και IL-10, ενώ οι IL-1 και IL-8 ήταν μη ανιχνεύσιμες. Οι C3, C4, CRP, factor B αυξάνονταν κατά τις δύο πρώτες εβδομάδες και εν συνεχεία υποχωρούσαν σε φυσιολογικά επίπεδα. Κατά την πρώτη εβδομάδα παρατηρείται αύξηση του ινοδωδογόνου (88). Σε θανατηφόρο ΜΚΠ στην Ελλάδα τα επίπδα TNF-α ήταν μη ανιχνεύσιμα (89).

1.9 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

1.9.1 Γενικά

Οι ποικίλες και πολυσυστηματικές κλινικές εκδηλώσεις και εργαστηριακές διαταραχές της ρικετσιώσεως φαίνεται ότι οφείλονται σε ανάλογες παθοφυσιολογικές διαταραχές. Η προσβολή των μικρών αγγείων οδηγεί σε αυξημένη διαπερατότητα με αποτέλεσμα οίδημα, υποογκαιμία (90), προνεφρική αζωθαιμία, οξεία σωληναριακή νέκρωση, οξεία νεφρική ανεπάρκεια. Επιπλέον, επειδή λόγω της υποογκαιμίας, εκκρίνεται αντιδιουρητική ορμόνη και εμφανίζεται υπονατριαιμία. Η διαφυγή αιματίνης στον περιαγγειακό χώρο λόγω βλάβης του ενδοθηλίου δημιουργεί υποαλβουμιναιμία.

Στους πνεύμονες λόγω βλαβών στην μικροκυκλοφορία εμφανίζεται εικόνα μη καρδιογενούς πνευμονικού οιδήματος, ομοίως στην καρδιά λόγω ισχαιμίας του συστήματος αγωγής ή λόγω μυοκαρδίτιδος εμφανίζονται διαταραχές αγωγής-αρρυθμίες.

Οι εστιακές αγγειακές βλάβες στο ήπαρ λόγω προσβολής από τις ρικέτσιες των πυλαίων διαστημάτων ευθύνονται για την αύξηση των τρανσαμινασών, σπανίως όμως παρατηρείται ηπατική ανεπάρκεια.

Η προσβολή των αγγείων του ΚΝΣ οδηγεί σε αγγειογενές εγκεφαλικό οίδημα, διανοητική σύγχυση, σπασμούς, κώμα, αταξία, παραλύσεις κρανιακών νεύρων, σπασμούς. Η προσβολή των αγγείων του Κ.Ν.Σ. και του αναπνευστικού συστήματος επιβαρύνουν πολύ την πρόγνωση (91). Η παρατηρούμενη αιματουρία οφείλεται σε προσβολή του ενδοθηλίου, των αγγείων του σπειράματος ή σε αιμορραγία των βλεννογόνων του ουροποιητικού (92).

Οι αιματολογικές διαταραχές, θρομβοπενία, λευκοπενία οφείλονται στη σύνδεση των αιμοπεταλίων και των λευκών στα προσβεβλημένα σημεία του ενδοθηλίου και την απομάκρυνσή τους από την κυκλοφορία.

1.9.2 ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Η προσβολή του ενδοθηλίου των μικρών αγγείων στους ιστούς των πασχόντων από ρικετσίωση δημιουργεί αγγειοδιαστολή, αυξημένη διαπερατότητα, περιαγγειακό οίδημα και εμφάνιση CD4 και CD8 λεμφοκυττάρων και μακροφάγων και εν συνεχεία λεμφοιστιοκυτταρική περιαγγειακή διήθηση με τελικό αποτέλεσμα τη δημιουργία αγγειίτιδος. Η αγγειίτιδα αυτή εμφανίζεται σε μεγάλο αριθμό οργάνων, δέρμα, πνεύμονες, ήπαρ, νεφρά, εγκέφαλο, καρδιά, γαστρεντερικό, πάγκρεας, όρχεις με αποτέλεσμα να έχουμε και τα ανάλογα κλινικά και βιοχημικά ευρήματα. Από βιοψίες έχει βρεθεί η παρουσία πολυμορφοπύρηνων μέχρι την 3^{η} ημέρα και εν συνεχεία ακολουθείται από λεμφοκύτταρα. Η παρουσία θρόμβου, ινικής και αιμοπεταλίων είναι σπάνια και μόνο σε περιπτώσεις σοβαρής αγγειακής βλάβης (51). Σπάνια παρατηρούνται έμφρακτα στους ιστούς που να δημιουργούν βαριά κλινική εικόνα π.χ. γάγγραινα δέρματος σε ασθενείς με *R.rickettsii*. Γενικευμένη ενεργοποίηση των μηχανισμών πήξης δεν παρατηρείται και έτσι η εικόνα της διάχυτης ενδαγγειακής πήξης σπανίζει. Στα νεφρά εμφανίζεται οξεία σωληναριακή νέκρωση λόγω υπογλυκαιμίας ή πολυεστιακή διάμεση νεφρίτιδα. Σε θανόντες ασθενείς από κηλιδώδη πυρετό βραχωδών ορέων (ΚΠΒΟ) βρέθηκαν στον πνευμονικό τους ιστό διάχυτη διάμεση διήθηση από μονοπύρηνα (λεμφοκύτταρα και μακροφάγα), πνευμονικό οίδημα, ενδοαγγειακή αιμορραγία και αγγειίτιδα μικρών φλεβιδίων και αρτηριδίων (93,94,95). Στον εγκεφαλικό ιστό εμφανίζονται ρικέτσιες στο ενδοθήλιο της μικροκυκλοφορίας, περιαγγειακή διήθηση από μονοκύτταρα και οίδημα παρεγχύματος. Χαρακτηριστική βλάβη είναι το glial or typhus module που δημιουργείται από διήθηση του ενδοθηλίου και του νευροπιλήματος από λεμφοκύτταρα και μακροφάγα, χωρίς όμως η βλάβη αυτή να είναι ειδική για τις ρικέτσιες. Ομοίως και στο μυοκάρδιο παρατηρούνται πυκνές διηθήσεις από μονοπύρηνα γύρω από τριχοειδή φλεβίδια και αρτηρίδια και οίδημα του μυοκαρδίου. Επίσης έχουν παρατηρηθεί ελάχιστα σημεία ινιδοειδούς νέκρωσης (96, 97). Το κύριο εύρημα στο ΚΠΒΟ στο ήπαρ είναι η φλεγμονώδης διήθηση των πυλαίων διαστημάτων από μονοπύρηνα και πολυμορφοπύρηνα, ένω η ηπατοκυτταρική νέκρωση δεν αποτελεί χαρακτηριστικό εύρημα (98). Διηθήσεις των ηπατικών κολποειδών τριχοειδών έχουν παρατηρηθεί στον Ε.Τ. από πολυμορφοπύρηνα, ενδοηπατική χολόσταση, οίδημα ηπατοκυττάρων, διηθήσεις πυλαίων διαστημάτων και περιοχών των κεντρικών φλεβών καθώς και περιορισμένης έκτασης, ηπατοκυτταρική νέκρωση και ενδείξεις ταχείας αποκαταστάσεως ηπατοκυττάρων (αυξημένες μιτώσεις) (99, 100, 101). Στο σημείο του νήγματος από κρότωνες στο δέρμα των ασθενών με ΚΠΒΟ δημιουργείται σε ορισμένες περιπτώσεις, νεκρωτική εσχάρα ενοφθαλμισμού

(tache-noire-μαύρη κηλίδα). Η ιστολογική εικόνα δείχνει νέκρωση επιδερμίδος και της εξωτερικής στιβάδος του δέρματος, οίδημα του δέρματος εντοπισμένο στη θηλώδη στοιβάδα, περιαγγειίτιδα στις βαθύτερες στοιβάδες του και βλάβες στα μικρά αγγεία όπως οίδημα του ενδοθηλίου, περιαγγειακό οίδημα και φλεγμονή με παρουσία μικρών λεμφοκυττάρων και μεγάλων μονοπύρηνων-μακροφάγων ενώ η παρουσία θρόμβων ανευρίσκεται σε μικρό αριθμό αγγείων και δεν είναι κύριο χαρακτηριστικό της νόσου (102,103). Σε βιοψίες δέρματος ασθενών με ΚΠΒΟ ανευρίσκεται σε όλους εικόνα λεμφοιστιοκυτταρικής αγγειίτιδος των τριχοειδών και μετατριχοειδών φλεβιδίων, εάν όμως υπάρχει πετεχειώδες η πορφυρικό εξάνθημα κατά την $4^{η}$ - $6^{η}$ ημέρα της νόσου παρατηρείται εικόνα λευκοκυττοκλαστικής αγγειίτιδος με νέκρωση του ενδοθηλίου, νέκρωση του αγγειακού τοιχώματος και σχηματισμό θρόμβων ινικής (104).

2. ΡΙΚΕΤΣΙΕΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ – ΑΡΘΡΟΠΟΔΑ

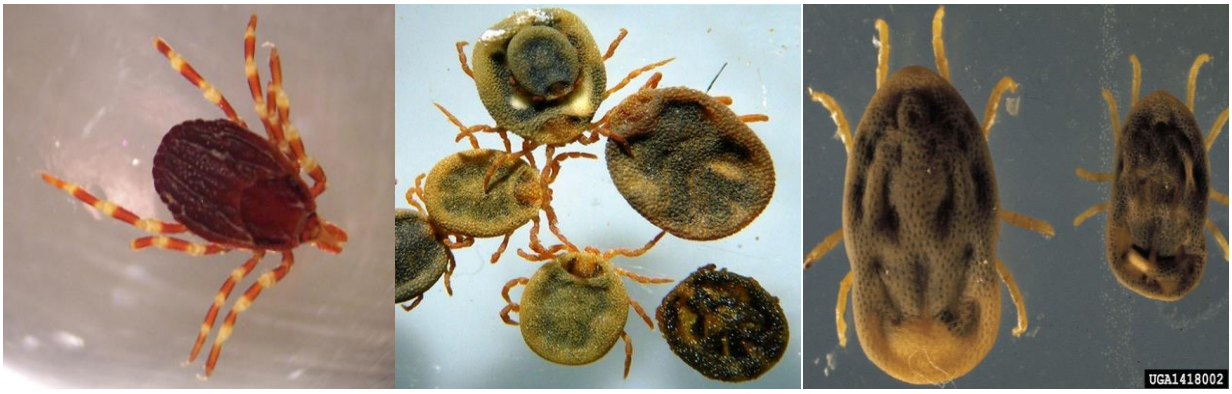
Οι παθογόνες ρικέτσιες για τον άνθρωπο, σχετίζονται με αρθρόποδα μεταβιβαστές: κρότωνες, ψείρες, ψύλλους και ακάρεα. Μεγάλος αριθμός ρικετσιών έχει βρεθεί σε κρότωνες και η παθογενετικότητά τους στον άνθρωπο δεν είναι γνωστή, είναι υπό διερεύνηση ακόμα, όπως π.χ η *R.parkeri*, που στο παρελθόν θεωρούνταν συμβιωτική για τους κρότωνες και μη παθογόνος για τον άνθρωπο και τελικά αποδείχθηκε η παθογονικότητά της. Ορισμένες ρικέτσιες κυκλοφορούν σε αζωοτικούς και επιζωοτικούς κύκλους μεταξύ των άγριων σπονδυλωτών και των αρθρόποδων μεταβιβαστών τους. Η πρώτη συσχέτιση ρικέτσιας με κρότωνα στις αρχές του $20^{ου}$ αιώνα αφορούσε τον κρότωνα του ξύλου *Demaceutor andersoni* και την *R.rickettsii*. Ακολούθως το 1930 σχετίσθηκε ο καφέ κρότωνας του σκύλου *Rhipicephalus sanguineus* με την μετάδοση της *R.conorii*.

2.1 Κρότωνες

Οι κρότωνες σχετίζονται με τις περισσότερες ρικέτσιες της ομάδας κηλιδώδους πυρετού ΟΚΠ καθώς και με την *R.candensis*. Η γνώση του βιολογικού κύκλου των κροτώνων βοηθάει στην κατανόηση των νοσημάτων που μεταδίδονται από αυτούς. Οι κρότωνες και τα ακάρεα είναι αρθρόποδα που ανήκουν στην κλάση των αρανχιδών Arachnida και στην τάξη των Acari, οι οποίοι έχουν 4 στάδια ανάπτυξης: αυγό, προνύμφη (larvae), νύμφη (nymph) και ακμαίο άτομο (adult) εικ. 18. Οι προνύμφες έχουν 3 ζεύγη ενώ οι νύμφες και τα ενήλικα άτομα έχουν 4 ζεύγη ποδιών. Υπάρχουν 45000 mites και 899 είδη κρότωνων (105). Οι κρότωνες είναι αιμομυζητικά αρθρόποδα που παρασιτούν και απομυζούν αίμα από κάθε είδους σπονδυλωτά όπως θηλαστικά, πτηνά και ερπετά, έχουν εξαπλωθεί παγκοσμίως και έχουν τη δυνατότητα να μεταδώσουν στους ξενιστές τους μεγάλη ποικιλία παθογόνων μικροοργανισμών, όπως ιούς, βακτήρια-ρικέτσιες και πρωτόζωα. Επίσης, μέσω τοξινών μπορούν να προκαλέσουν τοξικά φαινόμενα όπως παράλυση και αλλεργικές αντιδράσεις.

Οι κρότωνες ανήκουν σε 3 οικογένειες: α) σκληροί (οικογένεια Ixodidae), β) μαλακοί (οικογένεια Argasidae) και γ) οικογένεια Nuttalliellidae με 1 μόνο είδος *Nuttalliella namaqua* που έχει εντοπιστεί

στην Αφρική. Εν συντομία η πλήρης ταξινόμηση των κρότώνων είναι η ακόλουθη: κλάση Arachnida (Αραχνοειδή), τάξη Acari, υπόταξη Metastigmata και οικογένειες Ixodidae, Argasidae και Nuttalliellidae. Ο παρασιτισμός των κροτώνων στα σπονδυλωτά διαφέρει ανάλογα με το είδος των κροτώνων και του σταδίου ανάπτυξης που βρίσκονται (ώριμοι και ανώριμοι κρότωνες). Οι ανώριμοι κρότωνες *Hyalomma* sp. (Οικ. Ixodidae), παρασιτούν σε μικρά σπονδυλωτά, όπως κουνέλια και πτηνά ενώ οι ώριμοι σε μεγάλα θηλαστικά. Επίσης, διάφορα είδη κροτώνων δείχνουν ιδιαίτερη προτίμηση σε διαφορετικά μέρη του σώματος των σπονδυλωτών ξενιστών τους π.χ. οι κρότωνες *Hyalomma* sp. προτιμούν το πίσω μέρος των ζώων και τους μαστούς, οι ενήλικες *R.bursa* την περιπρωκτική περιοχή, οι *R.turanicus* τα αυτιά των αιγών και των προβάτων. Η εποχική τους διασταύρωση εξαρτάται από το είδος και το στάδιο ανάπτυξης. Η αναζήτηση των ξενιστών ποικίλει ανάλογα με τα είδη των κροτώνων (ενέδρα, κυνήγι), διαθέτουν δε όργανα εντοπισμού διαφόρων στοιχείων του ξενιστή όπως το CO_2 που εκπέμπεται, η οσμή, η θερμοκρασία, οι δονήσεις και οπτικές ενδείξεις και αφού με όλα τα ανωτέρω γίνει ο εντοπισμός, περπατούν επάνω του και προσδένονται σταθερά στο κατάλληλο σημείο και επιφέρουν το νήγμα που είναι ανώδυνο και έτσι δεν γίνονται αντιληπά από τους ξενιστές. Μετά το νήγμα ακολουθεί η απομύζηση αίματος. Οι σκληροί κρότωνες σιτίζονται μία φορά σε κάθε στάδιο της ανάπτυξης και το γεύμα τους διαρκεί αρκετές ημέρες. Στους ενήλικες θηλυκούς κρότωνες η μάζα φτάνει μέχρι 200 φορές μετά το γεύμα. Αντίθετα, οι μαλακοί κρότωνες σιτίζονται πολλές φορές σε κάθε στάδιο ανάπτυξης στον ίδιο ή σε διαφορετικούς ξενιστές και κάθε γεύμα τους διαρκεί 1-2 ώρες. Οι σκληροί κρότωνες έχουν τρία στάδια κατά τον κύκλο της ζωής τους και περιλαμβάνουν τρεις ξενιστές ένα για κάθε στάδιο ανάπτυξης προνύμφη, νύμφη και ακμαίο. Τα ενήλικα θηλυκά μετά το ζευγάρωμα γεννούν στο έδαφος χιλιάδες αυγά τα οποία εκκολάπτονται σε 10-20 μέρες και νεαρές προνύμφες, οι οποίες αρχίζουν τον κύκλο ζωής τους και μετά από 2-3 βδομάδες εκδύονται σε νύμφες κ.τ.λ. Οι μαλακοί κρότωνες έχουν πολλαπλά στάδια νύμφης, γενούν λίγες εκατοντάδες ζεύγη, αντέχουν στη νηστεία περισσότερο από τους σκληρούς και έτσι έχουν μεγαλύτερη διάρκεια ζωής. Η σίελος των κροτώνων που εκκρίνεται κατά τη διάρκεια του νύγματος περιέχει αντιπηκτικές, αναλγητικές και αντιφλεγμονώδεις ουσίες οι οποίες κάνουν με τη δράση τους μη αντιληπτό το νύγμα. Επίσης υπάρχει και μία συγκολλητική ουσία η οποία βοηθά τη σύνδεση του κρότωνα με το δέρμα του ξενιστή. Επίσης στη σίελο μπορεί να υπάρχουν λοιμωγόνοι παράγοντες, ρικέτσιες, που λόγω της ύπαρξης στο σίελο ουσιών που δεσμεύουν κυτοκίνες, η μετάδοσή του είναι ευκολότερη (106). Επίσης, οι σιελογόνοι αδένες είναι όργανο οσμορρυθμιστής κατά τις μακρές περιόδους που παρασιτούν σε ξενιστή. Η διάρκεια ζωής των σκληρών κροτώνων ποικίλει ανάλογα με το κλίμα και την ύπαρξη ξενιστών. Στις τροπικές χώρες ζουν περίπου ένα έτος ενώ σε ψυχρά κλίματα ζουν περίπου για τρία έτη. Διαφορετικά είδη κροτώνων έχουν διαφορετικές εποχικές δραστηριότητες στην αναζήτηση των ξενιστών. Έτσι ο *Rhipicephalus sanguineus* σε αυξημένη θερμοκρασία παρουσιάζει αυξημένη επιθετικότητα και τάση παρασιτισμού σε ζώα και ανθρώπους.



εικ.11 *Hyalomma* sp (Οικ. Ixodidae) *Nuttalliella namaqua* (Οικ.Nuttalliellidae) Οικ. Argasidae

2.1.1.1 *Rhipicephalus sanguineus*

Ο *Rhinpicephalus sanguineus*, είναι ο πιο διαδεδομένος κρότωνας, καφέ χρώματος, ο οποίος παρασιτεί στον σκύλο, σπανιότερα σε άλλους ξενιστές και στον άνθρωπο. Έχει προσαρμοστεί στο οικιακό περιβάλλον και βρίσκεται μέσα και έξω από το σπίτι. Ο συνηθέστερος παράγοντας που μπορεί να διαδοθεί από τον συγκεκριμένο κρότωνα είναι η *R.conorii*. Σε σταθερή θερμοκρασία περιβάλλοντος είναι ενεργός όλο το χρόνο και μπορεί να ολοκληρώσει γενιές μέσα σε ιστούς. Στον κύκλο ζωής του προσβάλλει τρεις διαφορετικούς ξενιστές που ανήκουν στο ίδιο είδος (σκύλος). Οι ενήλικοι κρότωνες εντοπίζονται κυρίως στο κεφάλι, τα αυτιά και το λαιμό των σκύλων ενώ οι ανώριμοι κυρίως στην κοιλιά, τους γλουτούς και τα πίσω πόδια (107). Ο αριθμός των ενηλίκων κροτώνων αυξάνεται από Ιούλιο έως Αύγουστο, ενώ οι ανώριμοι αυξάνονται τον Ιούλιο με κορύφωση το Σεπτέμβρη, εποχή που εμφανίζονται και τα περισσότερα κρούσματα ΜΚΠ σε συγκεκριμένες γεωγραφικές περιοχές, για αυτό και ο ΜΚΠ αποδίδεται σε δήγματα κροτώνων *R.sanguineus* ανώριμων σταδίων (108).

εικ.12 *Rhipicephalus* sg. (Οικ. Ixodidae)

***Rhipicephalus turanicus*:** Είναι κρότωνας τριών ξενιστών. Τα ώριμα άτομα παρασιτούν σε πρόβατα, κατσίκες, αγελάδες, σκυλιά, μεγάλα πουλιά που τρέφονται στο έδαφος, ενώ τα ανώριμα σε μικρά τρωκτικά, λαγούς και σκαντζόχοιρους. Τα ώριμα άτομα εντοπίζονται στα αυτιά των ζώων. Ενδημεί σε μεσογειακές, στεπώδεις και ερημικές περιοχές. Η κατανομή του αφορά όλες τις μεσογειακές χώρες καθώς και την Ανατολική Αφρική, Αραβία, Ρωσία, Ινδία, Πακιστάν , Κίνα. Στη Σαουδική Αραβία παρουσιάζουν δραστηριότητα σε όλη τη διάρκεια του έτους (109, 110). Στο Μαρόκο τα ενήλικα άτομα παρασιτούν στα πρόβατα τους θερμότερους μήνες με κορύφωση Απρίλιο, Μάιο και Αύγουστο ενώ δεν παρατηρείται παρασιτισμός από Νοέμβριο έως Φεβρουάριο (111). Στη Βόρειο Ελλάδα οι ώριμοι Rh tyranicus παρουσιάζουν δραστηριότητα από Απρίλιο έως Ιούλιο και παρομοίως στη Γαλλία από Μάρτιο έως Ιούνιο (108).

2.1.1.2 *Hyalomma anatolicum excavatum*

Ο βιολογικός κύκλος του *Hyalomma anatolicum excavatum* περιλαμβάνει 2 ή 3 ξενιστές. Στα ανώριμα στάδια (προνύμφες παρασιτούν μόνο στα μικρά θηλαστικά όπως λαγούς, σκαντζόχοιρους, τρωκτικά και σε πουλιά που τρέφονται στο έδαφος, ενώ ώριμα άτομα παρασιτούν σε μεγάλα θηλαστικά όπως αγελάδες, κατσίκες, πρόβατα, άλογα (εικ21). Ο άνθρωπος προσβάλλεται μόνο από ώριμα άτομα. Ο κρότωνας αυτός είναι προσαρμοσμένος στις κλιματολογικές συνθήκες της Μεσογείου και των στεππών. Στην Αφρική κατανέμεται από τις Βόρειες περιοχές έως το Σουδάν, την Ερυθραία και την Αιθιοπία, ενώ δεν βρίσκεται συχνά στην υποσαχάρια Αφρική. Στην Ασία συναντάται στην Τουρκία, Μ.Ανατολή, Ιράν,

Τουρκμενιστάν, Αφγανιστάν, Ουζμπεκιστάν. Στην Ευρώπη συναντάται στην Ελλάδα, στην Αλβανία και στην Κύπρο. Στη Β.Αφρική παρουσιάζει δραστηριότητα σε όλη τη διάρκεια του έτους με κορύφωση την Άνοιξη. Παρασιτεί κυρίως στα οπίσθια μέρη του σώματος των ζώων όπως τους μαστούς και τις βουβωνικές περιοχές.

εικ. 13 *Hyalomma anatolicum excavatum* (Οικ. Ixodidae)

2.1.2 Σχέσεις κροτώνων-ρικετσιών

Το σύνολο των παθογόνων για τον άνθρωπο ρικετσιών σχετίζεται με κρότωνες που αποτελούν τους μεταβιβαστές (φορείς) τους εκτός από την *R.acari* που σχετίζεται με ακάρεα (mites) και την *R.felis* που σχετίζεται με ψύλλους. Επίσης, παραμένει άγνωστη η παθογονικότητα στον άνθρωπο μεγάλου αριθμού ρικετσιών που έχει βρεθεί μόνο σε κρότωνες. Πολλές ρικέτσιες, που παλαιότερα θεωρούνταν συμβιωτικά για τους κρότωνες, αποδείχθηκαν τελικά παθογόνες (*R.parkeri*). Η πρώτη ρικετσίωση που σχετίσθηκε με κρότωνα *Dermacentor andersoni* ή κρότωνας του ξύλου ήταν η *R.rickettsii*. Ακολούθως το 1930 η μετάδοση της *R.conorii* σχετίσθηκε με τον καφέ κρότωνα του ξύλου *Rhipicephalus sanguineus*.

2.1.3 ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ

Ο σημαντικότερος τρόπος μετάδοσης είναι διαωοθηκικά (TOT transovarian transmission / κάθετος τρόπος μετάδοσης). Κάθε κρότωνας του οποίου οι ωοθήκες είναι μολυσμένς με ρικέτσιες γεννά μολυσμένα αυγά και οι προνύμφες που εκκολάπτονται από αυτά είναι επίσης μολυσμένες. Με αυτό τον τρόπο οι ρικέτσιες μεταδίδονται από τη μία γενιά στην άλλη και ακολούθως μεταδίδουν τις ρικέτσιες διασταδιακά (TS – transtadial) από το ένα στάδιο ανάπτυξης στο επόμενο. Η διαωοθηκική και η διασταδιακή μετάδοση καθιστούν του κρότωνες «καταφύγιο» (reservoir) στη διατήρηση των ρικετσιών

και δεν είναι απαραίτητη η ύπαρξη ρικετσιαιμικού σπονδυλωτού ξενιστή. Η διαωοθηκική μετάδοση ρικετσιών εκτιμάται με δύο παραμέτρους την TOT transovarium transmission (ποσοστό μολυσμένων θηλαστικών που γεννούν τουλάχιστον 1 μολυσμένο αυγό και το Filial Infection Rate (ποσοστό μολυσμένων αυγών από 1 μολυσμένο θηλυκό). Οι παραπάνω παράμετροι έχουν εκτιμηθεί σε πολλές παθογόνες ρικέτσιες και παρουσιάζουν ποικιλομορφία. Διαφορές σε κρούσματα ΜΚΠ παρουσιάζονταν σε συγκεκριμένες εστίες, ενώ απουσίαζαν σε απόσταση 2 km, όπως είχε παρατηρηθεί ο Καμινόπετρος στην Ελλάδα (112).

Επίσης, ενώ οι κρότωνες *R.sanguineus* έχουν παγκόσμια κατανομή η *R.conorii* απουσιάζει από την Αμερικανική ήπειρο. Φαίνεται ότι οι παράγοντες του περιβάλλοντος όπως η θερμοκρασία είναι πιθανόν να επηρεάζουν την βιωσιμότητα των μολυσμένων με ρικέτσιες κροτώνων. Ένας 2^{ος} τρόπος μόλυνσης των κροτώνων με ρικέτσιες, είναι κατά τη διάρκεια της απομύζησης αίματος από ρικετσιαιμικά σπονδυλωτά και χαρακτηρίζεται οριζόντιος τρόπος μετάδοσης. Μικρός βέβαια αριθμός σπονδυλωτών παρουσιάζει ρικετσιαιμία ικανή ώστε να μπορεί να μολύνει τους κρότωνες. Τρίτος τρόπος μόλυνσης είναι κατά τη διάρκεια της λήψης τροφής, στο ίδιο μη ρικετσιαιμικό ξενιστή από διάφορους κρότωνες μολυσμένους και μη, σε κοντινές θέσεις. Η ύπαρξη αντισωμάτων έναντι των ρικετσιών στο συγκεκριμένο ξενιστή παρεμποδίζει την μετάδοση αυτή (113, 114).

Επίσης, κατά τη διάρκεια του ζευγαρώματος των κροτώνων έχει παρατηρηθεί μετάδοση ρικετσιών και από τα δύο φύλα ενδεχομένως, όμως, να γίνεται και με τη διαδικασία του cofeedinig (απομύζιση αίματος σε γειτονικές περιοχές).

Όταν οι κρότωνες απομυζούν αίμα από ρικετσιαιμικό ξενιστή, αυτό καταλήγει στο μέσο έντερο (mid-gut) όπου πέπτεται και με αυτό τον τρόπο οι ρικέτσιες έρχονται σε επαφή με τα επιθηλιακά κύτταρα. Είναι άγνωστοι οι υποδοχείς των επιθηλιακών κυττάρων με τους οποίους συνδέονται κατά την είσοδό τους οι ρικέτσιες. Ενδοκυττάρια πολλαπλασιάζονται χωρίς να μεταβάλουν την δομή των κυττάρων. Το μέσο έντερο είναι καθοριστικό για τη διασπορά των ρικετσιών, αφενός μέσω εκκρίσεων των σιελογόνων αδένων και αφετέρου μέσω των κοπράνων.

Από το μέσο έντερο οι ρικέτσιες εισέρχονται στα αιμοκύτταρα της αιμολέμφου και ακολούθως διασπείρονται σε όλα σχεδόν τα όργανα, όπου πολλαπλασιάζονται. Ξεφεύγουν από τους αμυντικούς μηχανισμούς των κροτώνων οι οποίοι διαφέρουν έναντι συγκεκριμένης ρικέτσιας ανάλογα με το είδος των κροτώνων και είναι εντονότερα σε είδη κροτώνων που δεν αποτελούν φυσικούς ξενιστές τους (190). Οι ρικέτσιες πολλαπλασιάζονται στα κύτταρα των σιελογόνων αδένων των κροτώνων και εκκρίνονται με τη σίελο κατά τη διάρκεια της λήψης τροφής μολύνοντας τον ξενιστή. Επίσης, με την είσοδό τους στα ωοκύτταρα των ωοθηκών δημιουργείται κάθετη μετάδοσή τους στα αυγά των κροτώνων. Μερικά είδη ρικετσιών, όπως η *R.rickettsii* ανευρίσκονται σε πολλά διαφορετικά είδη κροτώνων, ενώ άλλα είδη, όπως η *R.conorii* σε ένα είδος κρότωνα ή σε περιορισμένο αριθμό κροτώνων που ανήκουν στο ίδιο γένος (*R.sanguineus*). Επίσης, ορισμένα είδη ρικετσιών αναπτύσσονται σε κυτταροκαλλιέργειες από κύτταρα ορισμένων ειδών κροτώνων, ενώ δεν μπορούν να αναπτυχθούν σε κυτταροκαλλιέργειες από άλλα είδη κροτώνων (115). Το ποσοστό των προσβεβλημένων κροτώνων στη φύση που ανήκουν σε συγκεκριμένο είδος παρουσιάζει ευρείες διακυμάνσεις. Π.χ. οι *R.sanguineus* μολυσμένοι με την *R.conorii* είναι μικρότεροι του 1%, ενώ οι κρότωνες *A.variegatum,* που είναι μολυσμένοι με την *R.africae* κυμαίνονται σε ποσοστά στης τάξης 27-100%. Το μικρό ποσοστό κροτώνων μολυσμένων με ρικέτσιες εγείρει

ερωτηματικά κατά πόσον οι κύριες δεξαμενές αυτών των ρικετσιών είναι οι κρότωνες ή άλλα είδη σπονδυλωτών που δεν έχουν προσδιοριστεί ακόμα. Η προσαρμογή σε διαφορετικά περιβάλλοντα των αρθροπόδων και των σπονδυλωτών που παρασιτούν οι ρικέτσιες εμφανίζουν έκκριση διαφορετικών γονιδίων σε κάθε περίπτωση π.χ στην αιμολέμφο των κροτώνων μολυσμένων με *R.conorii* οι περισσότερες ρικέτσιες δεν συνδέονται με αντισώματα έναντι τη rOmpA και αυτό ίσως εξηγεί το γεγονός της μειομένης έκφρασης της πρωτείνης στο περιβάλλον των κροτώνων (116). Διάφορες καταστάσεις επηρεάζουν την μολυσματικότητα των ρικετσιών, π.χ. χαμηλή θερμοκρασία, νηστεία. Έτσι κρότωνες που παρασιτούνται από *R.rickettsii* όταν μείνουν νηστικοί για μεγάλο διάστημα ή σε χαμηλή θερμοκρασία έχουν μειωμένη μολυσματικότητα των ρικετσιών, ενώ όταν εκτεθούν σε θερμοκρασία 37 ^{o}C ή λάβουν ένα γεύμα αίματος ανακτούν την μολυσματικότητα τους. Η πρακτική σημασία των ανωτέρω είναι ότι ο κρότωνας εάν μεν απομυζήσει αίμα για λίγες ώρες δεν μεταδίδει τις ρικέτσιες. Επίσης, εάν αφαιρεθεί εντός δεκαώρου (2-20 ώρες) μετά την προσκόλλησή του στο δέρμα δεν προλαβαίνει να μεταδώσει τις ρικέτσιες (117). Σύμφωνα με τους Spenser και Parker, από το 1930 είχε παρατηρηθεί ότι η νηστεία των κροτώνων επηρέαζε την παθογενετική ικανότητα της *R.rickettsii* (118). Το παραπάνω φαινόμενο λέγεται επανεργοποίηση των ρικετσιών (reactivation) και σχετίζεται με την εμφάνιση της slime-layer στην εξωτερική επιφάνεια των ρικετσιών, όπως διαπιστώνεται με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (119). Όπως φαίνεται στην αδρανοποίηση και επανενεργοποίηση των ρικετσιών πιθανόν να εμπλέκεται η διαφορετική έκφραση των spot γονιδίων που διαθέτουν και τα οποία είναι ρυθμιστές του κυτταρικού μεταβολισμού σε καταστάσεις νηστείας. Ένας κρότωνας συνήθως μολύνεται από ένα είδος ρικέτσιας, περιγράφονται όμως περιπτώσεις με μόλυνση από τρία διαφορετικά είδη ρικετσιών συγχρόνως (120). Πειραματικά έχει βρεθεί ότι οι κρότωνες που είναι μολυσμένοι από ένα είδος ρικέτσιας, αν μολυνθούν από δεύτερο είδος ρικέτσιας δεν μπορούν να μεταδώσουν το δεύτερο είδος (121). Επίσης, έχει δειχθεί πειραματικά ότι κρότωνες μολυσμένοι με τη μη παθογόνο *R.peacocki* ήταν ανθεκτικοί στη λοίμωξη και στη διατήρηση της λοίμωξης από *R.rickettsii* (122). Όλα τα παραπάνω επηρεάζουν την ανακατανομή παθογόνων ρικετσιών σε είδη κρότωνων που αποτελούν ξενιστές τους και με αυτό τον τρόπο επηρεάζεται και η συχνότητα εμφάνισης των αντίστοιχων ρικετσιώσεων. Οι ρικέτσιες με την παρουσία τους μέσα στα κύτταρα των οργάνων στόχων των κροτώνων επιδρούν στην έκφραση ορισμένων γονιδίων των κυττάρων με αποτέλεσμα την έκφραση διαφόρων γονιδίων π.χ. στο *Dermasentor andresoni* ενεργοποιείται η έκφραση 54 διαφορετικών γονιδίων, ορισμένα από τα οποία κωδικοποιούν πρωτεΐνες που εμπλέκονταν στη κυτταρική δομή, στην κίνηση και στη διακυτταρική αλληλεπίδραση (123).

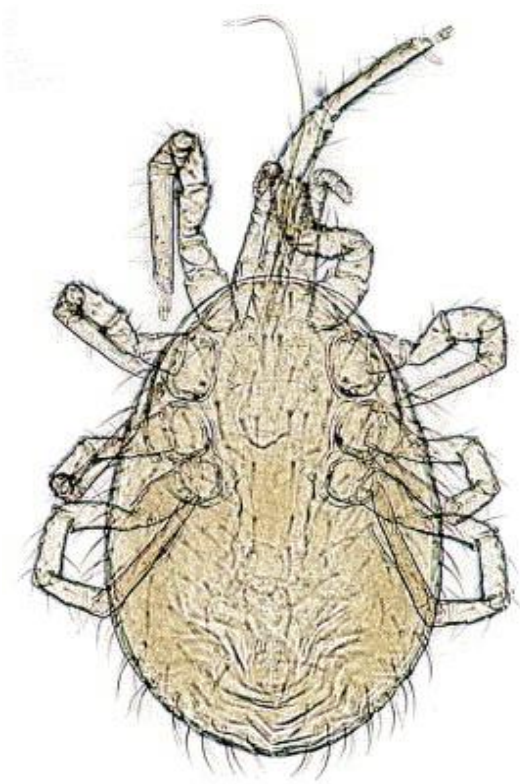
2.1.4 ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ

Άνθρωποι, οι οποίοι λόγω δραστηριοτήτων είναι εκτεθειμένοι σε περιβάλλον που υπάρχουν κρότωνες, όπως κυνηγοί, αγρότες, κτηνοτρόφοι, ιδιοκτήτες σκύλων, πρέπει να λαμβάνουν μέτρα για να αποτρέψουν την πιθανότητα προσβολής από κρότωνες και μόλυνση από ρικέτσιες και πρέπει να φορούν ανοιχτόχρωμα ρούχα, για να διακρίνονται καλύτερα οι κρότωνες, να σφίγγουν τα μανίκια και τα παντελόνια να μπαίνουν στις κάλτσες. Πρέπει να παρατηρούν τα ρούχα τους και το δέρμα τους και εάν δουν κάποιον κρότωνα να τον απομακρύνουν αμέσως. Σε περίπτωση που έχει προσκολληθεί στο δέρμα αφαιρείται με μικρό τσιμπιδάκι φρυδιών, αφού συλληφθεί ο κρότωνας στο σημείο επαφής του, εν συνεχεία τραβάμε αργά και σταθερά και τον απομακρύνουμε. Οι κρότωνες δεν πρέπει να αφαιρούνται με τα δάχτυλα και να συνθλίβονται λόγω του κινδύνου μόλυνσης , λόγω ενφθαλμισμού στους βλεννογόνους

και επιπεφυκότες. Η εφαρμογή εντομοαπωθητικών όπως DHT στο δέρμα ή στα ρούχα και τα παπούτσια βοηθά, αλλά έχουν χρόνο δράσης λίγες ώρες.

2.2 Ακάρεα (Mites)

Τα ακάρεα είναι μικρά αρθρόποδα που είναι είτε φυτοφάγα, είτε παρασιτούν σε σπονδυλωτά (άνθρωποι, τρωκτικά) είτε τρέφονται με οργανικά υλικά και προκαλούν δερματολογικά νοσήματα (ψείρες). Επίσης μπορούν να μεταδώσουν λοιμώδεις παράγοντες όπως *R.akari* και *Orienta tsutsugamushi*. Στον οικιακό ποντικό *Mus musculus* (Rodentia, οικ.Muridae) παρασιτούν τα ακάρεα *Lipomyssoides sanguineus* (Mesostigmata, οικ.Dermanyssidae) (εικ 14), τα οποία είναι αιματοφάγα. Βασικό τους ταξινομικό χαρακτηριστικό είναι ότι τα χηληκέρατά τους (προστοματικό εξάρτημα για την λήψη τροφής) είναι δύο νυσσούσες βελονοειδής σμήριγγες για απομύζηση του αίματος. Επίσης, παρασιτούν σε αρουραίους αλλά και σε άλλα τρωκτικά και μεταδίδουν την *R.akari*. Οι ρικέτσιες μεταδίδονται από τα τρωκτικά στα ακάρεα, όμως, μόλις αποκτήσουν ανοσία η ρικετσιαιμία παύει και έτσι παύει να είναι σημαντικός ο ρόλος τους σαν δεξαμενή. Τα ακάρεα βιολογικό κύκλο αποτελούμενο από πέντε στάδια: α) ωό, β) προνύμφη, γ) πρωτονύμφη, δ) δευτερονύμφη) και ε) ακμαίο άτομο. Οι προνύμφες δεν τρέφονται (οι μοναδικές με 3 ζεύγη ποδιών, τα υπόλοιπα στάδια έχουν 4), οι νύμφες τρέφονται μόνο μια φορά και τα ενήλικα άτομα τρέφονται με γεύμα αίματος κάθε 3-4 ημέρες. Το κάθε γεύμα διαρκεί 1-2 ώρες (από 5 λεπτά έως 36 ώρες). Μετά τη λήψη γεύματος το μέγεθός τους διπλασιάζεται ή τριπλασιάζεται 1 - 1,6 mm, παρ΄όλα αυτά παραμένει μικρό και για αυτό είναι δυσδιάκριτα. Μετά το γεύμα απομακρύνονται από τον ξενιστή και μαζεύονται στις φωλιές των ξενιστών. Μετά από κάθε γεύμα τα θηλυκά ωοτοκούν 1-26 ωά. Ο βιολογικός τους κύκλος ολοκληρώνεται σε περίπου 17-23 ημέρες. Η διάρκεια του βιολογικού τους κύκλου επηρεάζεται από τη θερμοκρασία. Ο άνθρωπος, όπως και τα μεγαλύτερα ζώα (σκύλοι, γάτες) προσβάλλονται μόνο περιστασιακά, όταν δεν μπορούν να βρούν τους κύριους ξενιστές τους. Η *R.akari* μεταδίδεται διασταδιακά και διαωοθηκά στα παραπάνω ακάρεα τα οποία έτσι αποκτούν διπλό ρόλο. Τα ακάρεα μεταδίδουν τις ρικέτσιες κατά τη διάρκεια του γεύματος στους ξενιστές με τις εκκρίσεις των σιελογόνων αδένων τους. Επίσης, οι ψείρες του σώματος του ανθρώπου μεταδίδουν την *R.akari* και την αποβάλλουν στα αποχωρείματά τους χωρίς επηρεασμό της επιβίωσής τους. Επίσης άλλα είδη ρικετσιών έχουν βρεθεί σε ακάρεα όπως *R.australis, R.japonica, R. conorii, R. felix, R.typhi.* Είναι όμως άγνωστος ο ρόλος τους στον κύκλο ζωής των παραπάνω ρικετσιών καθώς μπορεί να αποκτήθηκαν τυχαία μετά από γεύμα με μολυσμένα σπονδυλωτά (124, 125, 126).



εικ 14 *Lipomyssoides sanguineus* (Mesostigmata, οικ. Dermanyssidae) και ο ξενιστής του *Mus musculus*

2.3 ΨΕΙΡΕΣ

Οι ψείρες είναι αρθρόποδα ξενιστές σπονδυλωτών θερμόαιμων πτηνών και θηλαστικών που εμφανίζουν τροπισμό για συγκεκριμένο ξενιστή. Ζουν πάντα στον ίδιο ξενιστή και μεταδίδονται σε άλλο ξενιστή μόνο αν έρθουν σε στενή επαφή μεταξύ τους και παρουσιάζουν τροπισμό και για συγκεκριμένη περιοχή του σώματος των θηλαστικών. Έχουν μόνο μικρά πόδια, που λιγότερο βοηθούν στη μετακίνηση και περισσότερο επιτρέπουν να στερεώνονται σταθερά στις τρίχες και το δέρμα του ξενιστή τους. Οι ψείρες τρέφονται άλλες με δέρμα και άλλες είναι αιματοφάγες. Υπάρχουν περίπου 3000 γνωστά είδη ψειρών, από τα οποία τρία παρασιτούν στον άνθρωπο (η μαύρη φυλή ελάχιστα προσβάλλεται). Αυτά είναι η ψείρα κεφαλής (*Pediculus humanus* οικ. Pediculidae, Anoplura, Insecta), η ψείρα του σώματος (*Penticulus humanus corporis* υποείδος της προηγούμενης), και η ψείρα του εφηβαίου (*Pthirus pubis* ή *Pediculus pubis* οικ. Pthiridae, Anoplura, Insecta). Λοιμώδεις παράγοντες μεταδίδονται μόνο με την ψείρα του σώματος που μπορεί να μεταδώσει την *R.prowazekii* (επηδημικός τύφος), την *Bartonella quintana* –trench fever πυρετός των χαρακωμάτων και την σπειροχαίτη *Borrelia recurreutis*-υπόστροφος πυρετός). Μερικά είδη ψειρών παίζουν ρόλο στην επιδημιολογία του ενδημικού τύφου, αλλά ο κύριος τρόπος μετάδοσης της *R.typhi* στον άνθρωπο είναι οι ψύλλοι (127, 128, 129, 130). Όλοι οι προαναφερθέντες λοιμώδεις παράγοντες μεταδίδονται με μολυσμένα κόπρανα από τις ψείρες, τα οποία εναποθέτουν πλησίον του σημείου του νύγματος. Ακολουθεί ενοθφαλμισμός σε σημεία με λύση συνέχειας του δέρματος (σημείο νύγματος, εκδορές λόγω κνησμού). Το μέγεθος των ψειρών διαφέρει ανάλογα με το είδος κεφαλής (2-3 mm), σώματος (2,2-3,6mm), εφηβαίου (1,1-1,8mm). Τα ωά των ψειρών του σώματος εκκολάπτονται σε θερμοκρασία 22-31°C.

Οι ψείρες του σώματος ζουν στα ρούχα του ανθρώπου και μετακινούνται στο σώμα μόνο για να τραφούν συνήθως πέντε φορές το μήνα. Η ψείρα του σώματος γεννά 8 ωά ημερησίως, συνολικά γεννά 150-300 ωά. Ο βιολογικός τους κύκλος διαρκεί 4-12 εβδομάδες.

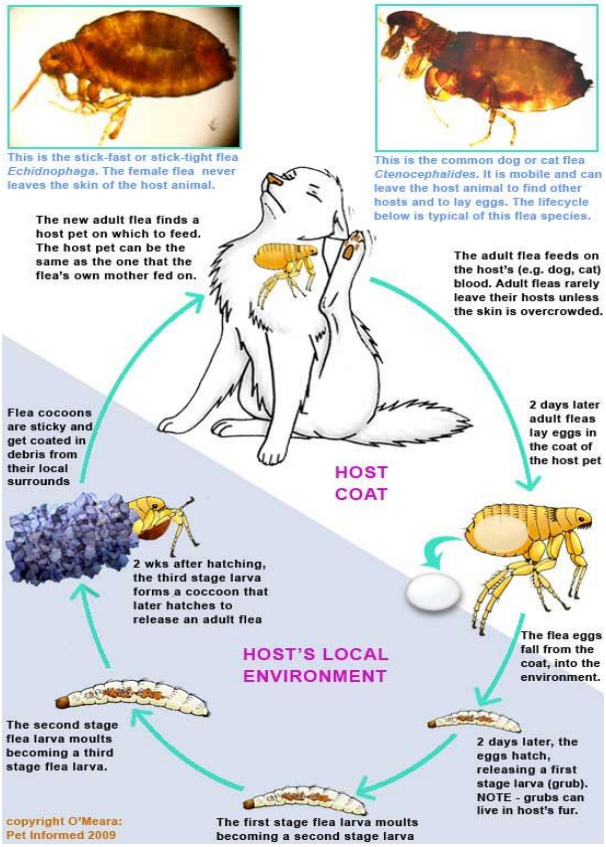
Τα ωά που υπάρχουν στα ρούχα, όταν αυτά αφαιρούνται, αναπτύσσονται αργά αλλά δεν εκκολάπτονται, συγχρονίζονται στο σημείο πριν την εκκόλαψη και όταν τα ρούχα ξαναφορεθούν τα ωά εκκολάπτονται. Η ανάπτυξη των ψειρών γίνεται σε δύο στάδια: α) της νύμφης και του ενήλικου ατόμου. Οι νύμφες για να ωριμάσουν περνούν από τρία στάδια, την $2^{η}$, την $5^{η}$ και τη $10^{η}$ μέρα αντίστοιχα. Τα ενήλικα άτομα έχουν 6 πόδια (για αυτό ταξινομούνται και στα Insecta), τα θηλυκά είναι μεγαλύτερα από τα αρσενικά, ζουν περίπου 30 μέρες στο κεφάλι του ανθρώπου. Χωρίς γεύμα οι ψείρες της κεφαλής πεθαίνουν σε 1-2 μέρες ενώ αυτές του σώματος 3-5 μέρες λόγω αφαιμάτωσης. Εάν οι άνθρωποι έχουν δυνατότητα να αλλάξουν ρούχα για περισσότερο από 5 μέρες οι ψείρες δεν επιβιώνουν, ο καλύτερος χρόνος για αλλαγή ρούχων είναι οι 7 μέρες. Εάν πληθούν τα ρούχα σε θερμοκρασία > 50°C πεθαίνουν οι ψείρες. Επίσης, με την αλλαγή οι καινούργιες ψείρες δεν προλαβαίνουν να ωοτοκήσουν και έτσι διακόπτεται ο βιολογικός τους κύκλος. Οι ψείρες της κεφαλής μεταδίδονται με την άμεση επαφή των μαλλιών της κεφαλής ενώ οι ψείρες του σώματος μεταδίδονται με στενή φυσική επαφή - συνοστισμό και έμεσα με ρούχα ή από το κρεβάτι του νοσούντος ατόμου.

Το νύγμα της ψείρας προκαλεί έντονο κνησμό. Οι θερμοκρασίες που προτιμούν είναι 29-31°C, ενώ σε θερμοκρασία > 50°C δεν επιβιώνουν επειδή χρειάζονται υγρασία > 40%. Εάν ο άνθρωπος έχει πυρετό οι ψείρες απομακρύνονται από αυτόν και βρίσκουν άλλους υγιείς, μεταδίδοντας τους λοιμογόνους παράγοντες. Τέλος, μετά το θάνατο του ατόμου, όλες μαζί οι ψείρες απομακρύνονται και μολύνουν άλλους υγιείς. Πρόσφατα αποδείχθηκε ότι οι ψείρες της κεφαλής και του σώματος γενετικά είναι ίδιες αλλά οι φαινοτυπικές τους διαφορές οφείλονται σε περιβαλλοντικούς παράγοντες. Έτσι δόθηκε απάντηση σε διχογνωμία που υπήρχε για 200 χρόνια ,έαν η ψείρα τη κεφαλής και του σώματος είναι 2 διαφορετικά είδη. Πρόσφατα αποδείχθηκε ότι οι ψείρες της κεφαλής μετακινούνται στο σώμα, ενώ αποδείχθηκε, επίσης, ότι οι ψείρες της κεφαλής μολύνονται με ρικέτσια *R.prowazekii* και την απεκκρίνουν με τα αποχωρείματά τους. Ομοίως, έχει αποδειχθεί ότι η *Barronella quintana* ανευρίσκεται και στις ψείρες της κεφαλής. Από το 1912, οι Golberger και Andersen απέδειξαν ότι η *R.prowazekii* μπορούσε να μεταδοθεί σε πιθήκους από συνθλιβείς ψείρες κεφαλής. Επίσης, το ίδιο επιβεβαιώθηκε και από άλλους ερευνητές. Το 1909 και 1920 ο Nicole αντίστοιχα ανακάλυψε ότι αρχικά η ψείρα του σώματος αλλά και η ψείρα της κεφαλής μετέδιδε την νόσο. Μετά τον πολλαπλασιασμό των ρικετσιών στα επιθηλιακά κύτταρα του ανώτερου τμήματος του λεπτού εντέρου την $5^{η}$ ημέρα, διαρρυγνύονται απευλευθερώνοντας ρικέτσιες στον αυλό του εντέρου και στα αποχωρείματα των ψειρών. Την $6^{η}$ μέρα το 37,5 % των ψειρών έχουν κόκκινο χρώμα από την είσοδο του αίματος στην αιμολέμφο τους και πεθαίνουν σε 4 ώρες και η μέση διάρκεια ζωής τους μειώνεται περίπου κατά 25 μέρες σε σχέση με τις μη μολυσμένες. Το κόκκινο χρώμα των ψειρών είναι χαρακτηριστικό διαγνωστικό σημείο για ασθενή με πυρετό και εξάνθημα για τη διάγνωση του επιδημικού τύφου. Η μολυσμένη ψείρα δεν μεταδίδει την νόσο στους απογόνους της (131). Η μετάδοση στον άνθρωπο γίνεται με μολυσμένα αποχωρείματα ψειρών με λύση συνέχειας του δέρματος λόγω εκδορών από κνησμό ή ενοφθαλμισμό ρικετσιών από μολυσμένα αποχωρείματα σε βλεννογόνους όπως οι επιπεφυκότες. Τα μολυσμένα αποχωρείματα των ψειρών διατηρούν την μολυσματικότητα τους για περισσότερο από 100 μέρες και είναι δυνατόν μέσω εισπνοής κόνεως από τα κόπρανα να μεταδοθεί η *R.prowazekii* (131). Οι ασθενείς που έχουν ψείρες παρουσιάζουν

ηωζινοφιλία. Ως μέσο προφύλαξης συνίσταται η αλλαγή ρούχων κάθε εβδομάδα και το πλύσιμό τους σε θερμοκρασία μεγαλύτερη των 50°C.

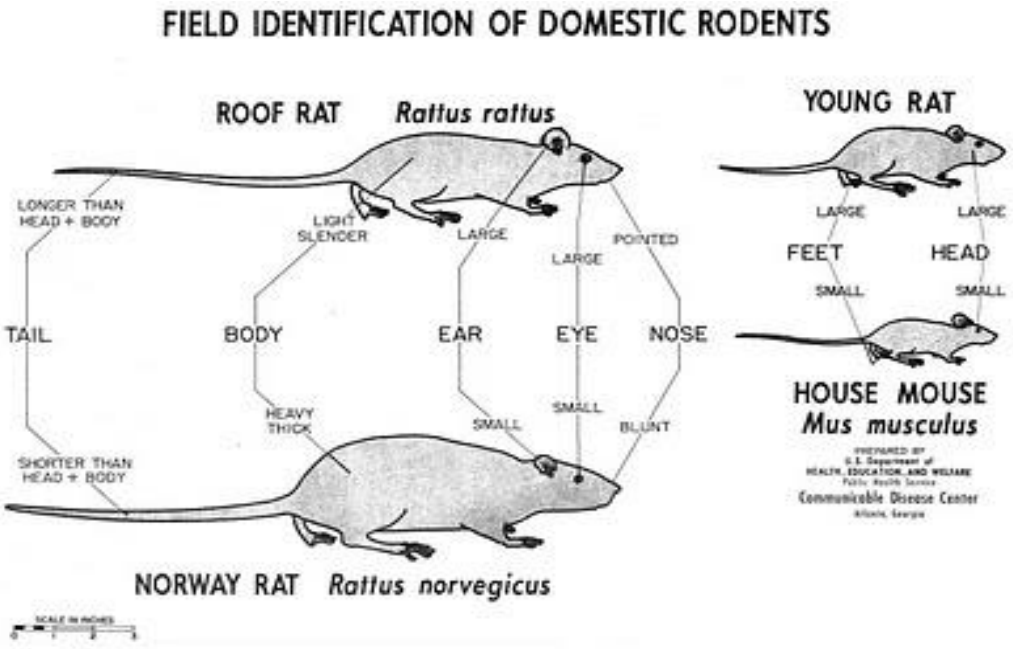
2.4 ΨΥΛΛΟΙ

Οι ψύλλοι (Siphonaptera, Insecta) είναι αρθρόποδα αιματοφάγα που παρασιτούν σε θερμόαιμα σπονδυλωτά, θηλαστικά (κυρίως τρωκτικά) και πτηνά. Υπάρχουν 2574 είδη ψύλλων που ανήκουν σε 16 οικογένειες και 238 γένη όμως μόνο ένα μικρό ποσοστό τους ζει σε εγγύτητα με τους ανθρώπους. Έχουν 6 μακριά πόδια ενώ δεν διαθέτουν φτερά. Το τελευταίο ζεύγος ποδιών είναι περισσότερο ανεπτυγμένο και χρησιμεύει για να πραγματοποιούν μεγάλα άλματα ύψους 1,8 m και μήκος 3,3m. Το σώμα τους συμπιεσμένο στα πλάγια παρουσιάζει μεγάλη σκληρότητα και αντοχή. Ο βιολογικός τους κύκλος διακρίνεται σε 4 στάδια: α) ωό,β) προνύμφη, γ) χρυσαλίδα και δ) ακμαίο άτομο (εικ 15). Μετά το στάδιο της προνύμφης οι χρυσαλίδες μετατρέπονται σε ενήλικα άτομα σε 5-14 μέρες, μπορούν όμως να παραμείνουν στο κουκούλι τους για μεγάλο χρονικό διάστημα σε κατάσταση έως ότου αντιληφθούν την παρουσία κάποιου ζώου κοντά τους μέσω δονήσεων, θερμοκρασίας ή εκπνεόμενου διοξειδίου του άνθρακα. Οι περισσότεροι ψύλλοι διαχειμάζουν στο στάδιο της προνύμφης ή της χρυσαλίδας. Ο βιολογικός τους κύκλος διαρκεί ένα έτος χωρίς γεύμα όταν βρίσκονται στο κουκούλι τους. Όταν βγουν από το κουκούλι τους μπορούν να ζήσουν μόνο 1 βδομάδα χωρίς να τραφούν με αίμα. Δεν παράγουν ωά αν δεν τραφούν. Τα ακμαία άτομα λαμβάνουν πολλαπλά γεύματα αίματος από τον ίδιο ή διαφορετικούς ξενιστές. Τα θηλυκά άτομα γεννούν 45-50 ωά και έως 600 σε όλη τη διάρκεια της ζωής τους, πάνω στους ξενιστές από όπου πέφτουν σε σημεία όπου τα ζώα διαβιούν και ανευρίσκονται σε μεγάλους αριθμούς στον τόπο παραμονής των ζώων ή στις φωλιές τους. Η εκκόλαψη των ωών γίνεται σε 1-10 μέρες και εξαρτάται από τη θερμοκρασία και την υγρασία. Το φάσμα προσβολής των θηλαστικών από τους ψύλλους είναι μεγάλο όπως σκύλοι, γάτες, κουνέλια, ποντίκια, αρουραίοι, πτηνά, κοτόπουλα. Μέσω αυτών μεταδίδουν βακτήρια όπως ρικέτσιες (*R.typhi, R.prowazekii, R.felis*) κ.α. Οι τρόποι μετάδοσης είναι μέσω των κοπράνων, είτε από το στόμα τους με αναγωγή γεύματος. Ο άνθρωπος παρασιτείται συνήθως από τα είδη *Ctenocephalides felis* (ψύλλος γάτας), *Xenopsylla cheopis* (ψύλλος αρουραίων) και *Pulex irritans* (ψύλλος του ανθρώπου). Οι αρουραίοι παραμένουν ρικετσιαιμικοί για 2 εβδομάδες (R. typhi) και μεταδίδουν την ρικέτσια στην *Xenopsylla cheopis* η οποία θα είναι φορέας της. Μετά το γεύμα του ψύλλου από το ρικετσιαιμικό αρουραίο οι ρικέτσιες εισέρχονται στα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου ,όπου και πολλαπλασιάζονται και σε διάστημα 8 ημερών ανευρίσκονται σε μεγάλους αριθμούς στα επιθηλιακά κύτταρα καθ όλο το μήκος τους εντέρου και τα αποχωρείματα γίνονται μολυσματικά σε 10 μέρες από την μόλυνση του ψύλλου (132) και δεν επηρεάζουν την επιβίωσή τους (133).Παραμένουν μολυσμένοι καθ όλη τη διάρκεια της ζωής τους και μεταδίδουν τη ρικέτσια διαωοθηκιακά (134). Διαωοθηκιακή μετάδοση έχει διαπιστωθεί στην *R.felis* ενώ δεν έχει διαπιστωθεί πειραματικά οριζόντια μετάδοση στις γάτες.



εικ.15 Βιολογικός κύκλος ψύλλου

εικ.16 *Ctenocephalides felis* *Pulex irritans* *Xenopsylla cheopis*



εικ.17 Ταξινομικές Διαφορές μεταξύ διαφορετικών ειδών τρωκτικών

εικ.18 *Rattus norvegicus*

3. ΡΙΚΕΤΣΙΩΣΕΙΣ

3.1 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ-ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η κλινική εικόνα των ρικετσιώσεων κατά τα αρχικά στάδια της νόσου είναι παρόμοια, στην πορεία όμως μπορεί να υπάρξει διαφοροποίηση ως προς τη βαρύτητα και τις επιπλοκές. Οι διαφοροποιήσεις αυτές πιθανά οφείλονται σε διάφορα αίτια όπως είναι τα ακόλουθα:

i. Διασταυρούμενη προστασία λόγω προηγειθείσης λοίμωξης από άλλη ρικέτσια μέσω χημικής ή κυτταρικής ανοσίας.

ii. Λοίμωξη από στελέχη ρικέτσιας ίδιου είδους αλλά διαφορετικής παθογενετικότητας.

iii. Διαφορές του ξενιστή ως προς την αντίσταση στη λοίμωξη.

iv. Περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την ανοσολογική απάντηση του ξενιστή όπως συνηπάρχουσες λοιμώξεις, χρήση φαρμάκων σουλφωναμιδών ή κατάχρηση γενικώς.

v. Διαφορετική απόκριση ενδοθηλιακών κυττάρων από διαφορετικά είδη ρικετσιών.

Η κλινική εικόνα μπορεί να διαφοροποιείται από την εμφάνιση ή όχι τοπικής βλάβης στο σημείο οφθαλμισμού των ρικετσιών και από το την εμφάνιση ή όχι τοπικής βλάβης των ρικετσιών και από το εάν η αρχική οδός διασποράς γίνεται μέσω λεμφαγγείων στους σύστοιχους λεμφαδένες με αποτέλεσμα να υπάρχει χρόνος για τους μηχανισμούς επίκτητης ανοσίας να αναπτυχθούν. Λόγω των ανωτέρω, πιθανόν να οφείλεται το γεγονός ότι οι ρικετσιώσεις που δεν εμφανίζουν εσχάρα ενοφθαλμισμού όπως ΚΠΒΟ και ο επιδημικός τύφος, έχουν βαρύτερη κλινική εικόνα από ρικετσιώσεις που παρουσιάζουν εσχάρα ενοφθαλμισμού και σύστοιχη λεμφαδενίτιδα. Πρόσφατα, διερευνάται και ο ρόλος που μπορεί να έχει το είδος του αρθρόποδου στη πορεία της νόσου λόγω της επίδρασης ανοσορυθμιστικών ουσιών που υπάρχουν μόνο στη σίελό του.

Η κοινή κλινική εικόνα των ρικετσιώσεων συνίσταται σε πυρετό, εξάνθημα, εσχάρα, κεφαλαλγία, μυαλγίες, αρθραλγίες, κακουχία, λεμφαδενίτιδα, λεμφαγγείιτιδα. Συμπτωματολογία από το πεπτικό. Η συχνότητα και η βαρύτητα των ανωτέρω συμπτωμάτων εξαρτάται από το είδος της ρικέτσιας που έχει πρόσβαση στον ασθενή. Βασική και ουσιώδη σημασία έχει η κλινική εικόνα που θα δημιουργήσει την υποψία της ρικετσίωσης και θα οδηγήσει στη χορήγηση της κατάλληλης αγωγής πριν το αποτέλεσμα των κανονικών διαγνωστικών εξετάσεων. Ειδικότερα η συμπτωματολογία και τα κλινικά ευρήματα έχουν τους ακόλουθους χαρακτήρες:

i. **Πυρετός**: είναι συνήθως υψηλός > 39°C με ρίγος, χωρίς ειδική θεραπεία διαρκεί 2-3 εβδομάδες και με θεραπεία 2-3 μέρες

ii. **Εξάνθημα** (εικ.19): είναι συμήθως κηλιδοβλατιδώδες, σπάνια κηλιδώδες, ενώ μπορεί να εξελιχθεί σε πετεχειώδες φυσαλιδώδες με εκτεταμένες εκχυμώσεις και νεκρώσεις του δέρματος. Δεν εμφανίζει κνησμό και χωρίς κατάλληλη αγωγή έχει μεγάλη διάρκεια. Το είδος του εξανθήματος εξαρτάται και από το είδος της ρικέτττσιας π.χ. *R.typhi* κηλιδώδες και

κηλιδοβλατινώδες, *R.rikettsii* αιμορραγικό, *R.akari* φυσαλιδώδες. Η εμφάνιση του εξανθήματος γίνεται λίγες ημέρες μετά την έναρξη του πυρετού.

εικ.19 Εξάνθημα από ασθενή της μελέτης

iii. **Εσχάρα** (tache noire-Μαύρη Κηλίδα) : είναι νεκρωτική περιοχή μαύρου συνήθως χρώματος που περιβάλλεται από ανώδυνη εξέρυθρη οιδηματώδη περιοχή, εντοπίζεται στο σημείο εισόδου των ρικετσιών (δήγμα, λύση συνέχειας του δέρματος) σε διάφορα σημεία του σώματος και προηγείται της εμφάνισης του πυρετού. Πρέπει να γίνεται σχολαστική αναζήτηση γιατί συχνά εντοπίζονται σε περιοχές του σώματος που δεν επισκοπούνται (βουβωνικές περιοχές, εξωτε.γεν.όργανα), γλουτοί, μασχάλες, κεφαλή.

iv. **Λεμφαδενίτιδα**: παρατηρείται στην περιοχή που παροχετεύονται τα λεμφαγγεία από την εσχάρα.

v. **Λεμφαγγειίτιδα** παρατηρείται στα λεμφαγγεία μεταξύ εσχάρας και σύστοιχων λεμφαδένων. Σπανιότερα, αλλά όχι ασυνήθη σημεία είναι τα εξής: γενικευμένο οίδημα, πτώση πιέσεως και σχετική βραδυκαρδία, δυσανάλογη με το ύψος του πυρετού ταυτοχρόνως. Επίσης, έχουν αναφερθεί και περιπτώσεις μυοκαρδίτιδος και περικαρδίτιδος από *R.acari*, *R.typhi* και *R.helvetica*. Από το αναπνευστικό μπορεί να υπάρχουν πνευμονικές διηθήσεις, πλευρίτιδα και σε σοβαρές περιπτώσεις μη καρδιογενές πνευμονικό οίδημα ARDS. Από το ΚΝΣ είναι σύγχυση, λήθαργος, κώμα και σπάνια εικόνα εστιακής βλάβης ΚΝΣ, μηνιγγίτιδα-εγκεφαλίτιδα.

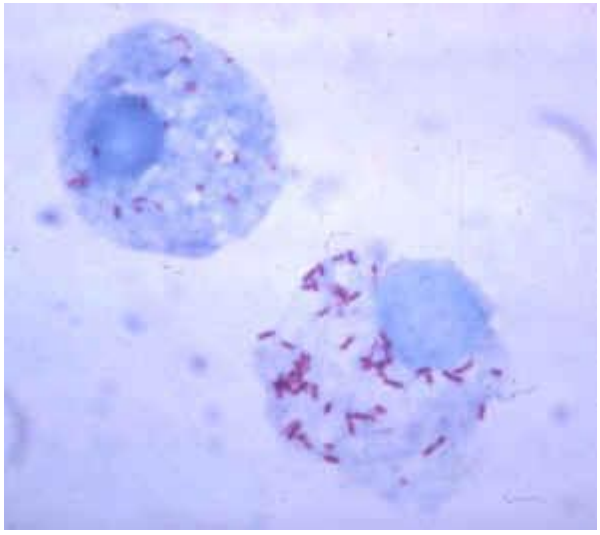
Επειδή η αρχική συμπτωματολογία των ρικετσιώσεων μοιάζει με των ιώσεων, σημαντική διαγνωστική βοήθεια προσφέρει το επιδημιολογικό ιστορικό (ταξίδια, επαφές με ζώα ή αρθρόποδα, ,η εποχή του έτους και η συρροή).

3.2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΜΗ ΕΙΔΙΚΑ

Από αιματολογικής πλευράς συνήθως παρατηρείται ήπια αναιμία, λευκά φυσιολογικά ή λευκοπενία με συχνή στροφή προς τα αριστερά, με αυξημένα ραβδοπύρηνα 77%. Σπανιότερα παρατηρείται λευκοκυττάρωση, όπως συχνή είναι και η θρομβοπενία. Η ανωτέρω αιματολογική εικόνα σε συνδυασμό με επιδημιολογικά στοιχεία πιθανόν να συμβάλλει στην πρώιμη διάγνωση (135,136)` και αντιμετώπιση. Επίσης, συχνά ανευρίσκονται αυξημένες πρωτεΐνες οξείας φάσης, όπως η CRP και το ινωδογόνο, καθώς και αυξημένη ΤΚΕ. Συχνό εύρημα είναι η υπολευκωματιναιμία, και επίσης συχνότερο εύρημα είναι η ήπια αύξηση των τρανσαμινασών, της LDH, της ουρίας και σπανιότατα βρίσκεται αυξημένη η χολερυθρίνη και η κρεατινίνη. Συχνό εύρημα είναι και η υπονατριαιμία και η υπασβεστιαιμία. Σε ιδιαίτερα βαριές περιπτώσεις οι παράγοντες πήξης βρίσκονται ελαττωμένοι, ως αποτέλεσμα της διαδικασία διάχυτης ενδαγγειακής πήξης (137,138).

3.2.1 ΕΙΔΙΚΟΣ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ χρώσης GIMENEZ και Giemsa

Η τεχνική αυτή έγγυται στο χρωματισμό με χρώση Gram και εν συνεχεία στο χρωματισμό με χρώση Gimenez. Οι ρικέτσιες διατηρούν τη βασική φουξίνη και έχουν κόκκινο χρώμα σε ένα γαλάζιο υπόβαθρο και με αυτό τον τρόπο ανιχνεύεται η παρουσία τους στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων (εικ21). Επίσης χρωματίζονται με τις χρώσεις Giemsa, Macchavello και Casparrela.¨

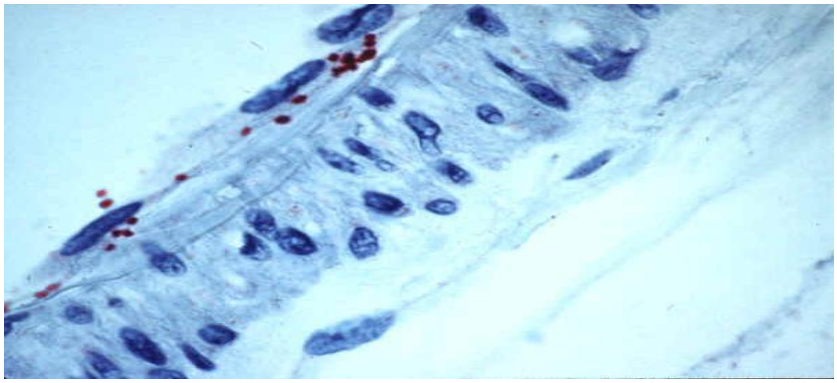


εικ.21 Χρώση Gimenez σε κύτταρα αιμολέμφου κρότωνα (εικόνα από CDC)

3.2.2 Άμεσος ανοσοφθορισμός

Οι ρικέτσιες ανιχνεύονται πρώιμα στους ιστούς ή σε δείγμα αίματος από το οποίο απομονώνονται τα κυκλοφορούντα ενδοθηλιακά κύτταρα, που έχουν αποσπαστεί από το ενδοθήλιο λόγω της προσβολής από ρικέτσιες, με τη βοήθεια ανοσομαγνητικών σφαιριδίων, τα οποία είναι

επικεκαλυμμένα με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι των ενδοθηλιακών κυττάρων. Εν συνεχεία, στα ενδοθηλιακά κύτταρα ελέγχεται η παρουσία των ρικετσιών με άμεσο ανοσοφθορισμό με τη χρώση πολυγονικών αντισωμάτων έναντι της συγκεκριμένης ρικέτσιας. Η μέθοδος αυτή έχει μεγάλη ειδικότητα, αλλά ευαισθησία 50%. Ο ανοσοπροσδιορισμός των ρικετσιών μπορεί να γίνει σε κάθε ιστό που υπάρχουν, συνήθως χρησιμοποιούνται κυρίως βιοψίες εσχάρας ή εξανθήματος, όπου οι ρικέτσιες ανευρίσκονται σε αφθονία. Χρησιμοποιούνται μονοκλωνικά ή πολυκλωνικά συστήματα έναντι ρικετσιών για τον προσδιορισμό είτε με άμεσο ανοσοφθορισμό, είτε με τη μέθοδο της ανοσουπεροξειδάσης (139, 140, 141). Οι ως άνω μέθοδοι, όπως προαναφέρθηκε, έχουν ειδικότητα 100% και ευαισθησία 53 - 75%. Οι βιοψίες πρέπει να λαμβάνονται πριν την έναρξη της αντιβιοτικής αγωγής και οι φρέσκοι ιστοί να διατηρούνται είτε στους -70°C είτε σε αιθανόλη.



εικ. 22. Ανοσοϊστοχημική χρώση όπου διακρίνονται οι ρικέτσιες στο ενδοθήλιο του αγγείου. (Paddock C. – CDC)

3.2.3 ΟΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

i. **Οροαντίδραση Weil Felix:** Χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1916. Βασίζεται στην παρουσία διασταυρούμενων ορολογικών αντιδράσεων μεταξύ των επίτοπων αντιγόνων των ρικετσιών-εκτός της R.akari- και των αντιγόνων στελεχών *Proteus*. Τα αντισώματα έναντι *R.typhi, R. prowazekii* και *R. rickettsii* αντιδρούν με το στέλεχος *P.vulgaris* OX19,ενώ τα υπόλοιπα στελέχη της ομάδος των κηλιδωδών πυρετών αντιδρούν με το στέλεχος *P.vulgaris* OX2 και αντισώματα έναντι της *Orienta tsutsugamushi* αντιδρούν με το στέλεχος *P.mirabilis* OXK. Η weil felix έχει μικρή ευαισθησία και ειδικότητα και ανιχνεύει κυρίως IgM αντισώματα.

ii. **Μέθοδος σύνδεσης του συμπηρώματος (CF):** Δεν χρησιμοποιείται πλέον στη διάγνωση της οξείας λοίμωξης, γιατί δεν παρουσιάζει ικανοποιητική ευαισθησία κατά τις πρώτες εβδομάδες της νόσου, έχει όμως μεγάλη ειδικότητα για αυτό και είναι χρήσιμη σε οροεπιδημιολογικές μελέτες (143,144, 142).

iii. **Μικροσυγκόλυση**: Παρουσιάζει μικρότερη ευαισθησία από την CF και την IFA και επιπλέον απαιτούνται για τη διενέργειά της μεγάλες ποσότητες αντιγόνου (144).

iv. **Έμμεση αιμοσυγκόλυση**: παρουσιάζει ικανοποιητική ευαισθησία και ειδικότητα στον ορό οξείας φάσης (145).

v. **Συγκολλητινο αντίδραση Latex**: Η ευαισθησία της είναι συγκρίσιμη με τον IFA στον ορό οξείας φάσεως και ανιχνεύει κυρίως IgM αντισώματα(146).

vi. **ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay**: Παρουσιάζει ίδια ειδικότητα και ευαισθησία με τον IFA και μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο στη διάγνωση οξείας νόσου όσο και σε οροεπιδημιολογικές μελέτες, δεν είναι όμως ποσοτική μέθοδος όπως ο IFA(147) και η Line blot (148).

vii. **Μέθοδος έμμεσης ανοσουπεροξειδάσης,** που μοιάζει με IFA δεν απαιτείται όμως μικροσκόπιο ανοσοφθορισμού

viii. **Έμμεσος ανοσοφθορισμός IFA**: Αποτελεί την μέθοδο αναφοράς με βελτιωμένη εξέλιξη τον μικροανοσοφθορισμό (MIF), ο οποίος έχει το πλεονέκτημα της ταυτόχρονης ανίχνευσης πολλαπλών διαφορετικών ρικετσιακών αντιγόνων στη ίδια μικρή ποσότητα δείγματος. Με αυτό τον τρόπο μπορεί να γίνει ταυτόχρονα σύγκριση τίτλων αντισωμάτων σε περίπτωση παρουσίας πολλαπλών διαφορετικών αντιδράσεων (διασταυρούμενες) μεταξύ αντιγόνων διαφορετικών ρικετσιών. Έχει τη δυνατότητα ανίχνευσης IgM και IgG αντισωμάτων. Απαιτούνται κατά κανόνα 2 δείγματα ορού, ένα κατά την οξεία φάση της νόσου (2 βδομάδες από τη έναρξη του συμβάντος) και ένα δύο εβδομάδες μετά για σύγκριση. Το κάθε εργαστήριο έχει δικό του cut off τιμών που θεωρεί θετικά. Μεγαλύτερη σημασία έχει η θετική ορομετατροπή ή ο τετραπλασιασμός του τίτλου των αντισωμάτων μεταξύ δύο διαδοχικών δειγμάτων ορού. Η IFA έχει μεγάλη ευαισθησία εκτός από τη *R.africae* (149) αλλά μικρή ειδικότητα, λόγω συχνών διασταυρούμενων αντιδράσεων, που παρατηρούνται στα στελέχη της ίδιας ομάδας (150) και μεταξύ διαφορετικών ομάδων (ΟΚΠ και ΟΤ) (151,152) και μεταξύ ρικετσιών και άλλων βακτηρίων *Coxiella burnetti* (153,154) *Proteus legionella* (153,155) *Bartonella.* Για τις διασταυρούμενες αντιδράσεις περισσότερο ευθύνονται τα αντισώματα έναντι του πολυσακχαρίτη. Επίσης, ψευδώς θετικές αντιδράσεις παρατηρούνται όπου υπάρχει παρουσία ρευματικού παράγοντα και σε λοιμώξεις από παράσιτα και ιούς, οι οποίες προκαλούν ένα μη ειδικό πολλαπλασιασμό των Β λεμφοκυττάρων, όπως λοιμώξεις από CMV, CBV και ελονοσία. Εάν υπάρχει τετραπλάσιος τίτλος από τον τίτλο άλλων αντιγόνων, θεωρείται διαγνωστικός υπέρ του συγκριτικού αντιγόνου (IgM και IgG). Εάν η διαφορά τίτλων είναι μικρότερη, τότε συντελείται η μέθοδος Western blot (WB). Επίσης, άλλο σημαντικό μειονέκτημα της μεθόδου IFA είναι η υποκειμενικότητα στην εκτίμηση του αποτελέσματος. Ο χρόνος εμφάνισης των αντισωμάτων IgM και IgG διαφέρει μεταξύ των διαφορετικών ρικετσιών π.χ. η R conorii σε σύγκριση με την R Africa εμφανίζει νωρίτερα τα IgM και IgG αντισώματα (1-5 εβδ. Έναντι 2-7 εβδ. Και 1-5 εβδ. Ένατι 3-7 εβδ.). Γι ΄αυτό στις ρικετσιώσεις λαμβάνονται δύο δείγματα, ένα με την έναρξη των συμπτωμάτων και ένα δύο εβδομάδες μετά. Εάν επιδημιολογικά υπάρχει υποψία για *R.africae,* απαιτείται η λήψη ενός δείγματος τέσσερις εβδομάδες μετά την έναρξη των συμπτωμάτων ούτως ώστε να υπάρχει η χρονική δυνατότητα ορομετατροπής ή και τετραπλασιασμού του τίτλου των αντισωμάτων. Επίσης, πρέπει να λαμβάνεται υπ όψιν ότι η πρώιμη χορήγηση δοξυκυκλίνης μπορεί να εμποδίσει την ανάπτυξη των αντισωμάτων στην *R.africae.*

ix. **Western blot**: είναι η μέθοδος με την μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα. Η μέθοδος αυτή ανιχνεύει νωρίτερα αντισώματα από την IFA (156). Ανιχνεύει δύο τύπων αντισώματα έναντι του

λιποπολυσακχαρίτη, που εμφανίζεται νωρίς και έναντι υψηλού μοριακού βάρους πρωτεινών (rOmpA, rOmpB και sca4) που εμφανίζονται αργότερα. Έχει μεγάλη χρησιμότητα σε οροεπιδημιολογικές μελέτες. Η αποκλειστική αντίδραση με συγκεκριμένο ρικετσιακό αντιγόνο θεωρείται ότι δείχνει τον υπεύθυνο για τη λοίμωξη παράγοντα. Επίσης, υπάρχει η μέθοδος της διασταυρούμενης απορρόφησης που εφαρμόζεται εάν οι τίτλοι με την IFA είναι υψηλοί και η WB δεν είναι διαγνωστική. Με τη μέθοδο αυτή όταν η απορρόφηση γίνεται με την υπεύθυνη ρικέτσια για τη νόσο απομακρύνονται από τον ορό τα ομόλογα και ετερόλογα αντισώματα, ενώ εάν γίνονται από άλλο βακτήριο η ρικέτσια απορροφόνται μόνο τα ομόλογα αντισώματα (157).

3.3 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΡΙΚΕΤΣΙΩΝ

Παλαιότερα χρησιμοποιούνταν εμβρυοφόρα ωά ορνίθων, ενώ μεταγενέστερα χρησιμοποιήθηκε ο λεκιθικός σάκος για την καλλιέργεια ρικετσιών και αυτή η μέθοδος έχει αντικατασταθεί από κυτταρολιέργειες.

Πειραματόζωα: Κατά το παρελθόν χρησιμοποιήθηκε ο ενοφθαλμισμός ρικετσιών σε ινδικά χοιρίδια και σε ποντίκια για καλλιέργεια. Ο ενοφθαλμισμός σε πειραματόζωα χρησιμοποιείται τώρα μόνο για απομόνωση ρικετσιών από δείγματα νεκροψιών, τα οποία είναι επιμολυσμένα με άλλα μικρόβια, όπως και για την απομάκρυνση μυκοπλασμάτων από επιμολυσμένες κυτταροκαλλιέργειες.

3.4 ΚΥΤΤΑΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

Οι κυτταροκαλλιέργειες αποτελούν σήμερα την κύρια μέθοδο απομόνωσης των ρικετσιών. Χρησιμοποιούνται δείγματα από λευκοκυτταρική στιβάδα αίματος (buffy coat), ολικό αίμα, πλάσμα, βιοψίες δέρματος. Τα εργαστήρια που εφαρμόζουν την ανωτέρω μέθοδο πρέπει να έχουν επίπεδα βιοασφάλειας 3. Οι κυτταροκαλλιέργειες shell-vial θεωρούνται αποτελεσματικές στην απομόνωση ρικετσιών. Απαιτείτα ένα αρχικό στάδιο φυγοκέντρησης που θα αυξήσει την αναλογία των ρικετσιών προς τα κύτταρα και κατά συνέπεια την αύξηση της εισόδου των ρικετσιών στα κύτταρα. Απαιτούνται 3 swell vials. Η συλλογή του αίματος πρέπει να γίνεται σε σωληνάρια με ηπαρίνη, γιατί το EDTA και το κιτρικό προκαλούν αποκόλληση της κυτταρικής στιβάδας από την καλυπτρίδα. Ο έλεγχος των καλυπτρίδων για την ανάπτυξη των ρικετσιών γίνεται με χρώση Gimenez και άμεσο ανοσοφθορισμό μετά από 3,6 και 14 ημέρες. Συνήθως, οι ρικέτσιες ανιχνεύονται σε 3-7 ημέρες, αλλά είναι δυνατόν να ανιχνευθούν και σε 48-72 ώρες (158). Διαμέσου θετικού ανοσοφθορισμού το υπερκείμενο ελέγχεται με PCR για ταυτοποίηση της ρικέτσιας και το υπόλοιπο υπερκείμενο, καθώς και το περιεχόμενο του 3^{ου} φιαλιδίου, ενοφθαλμίζεται σε στιβάδες κυττάρων HEL με σκοπό τον πολλαπλασιασμό των ρικετσιών. Τα κύτταρα των shell vials προέρχονται από διάφορες κυτταρικές σειρές όπως από κρότωνες ή κύτταρα θηλαστικών. Μία χρήσιμη κυτταρική σειρά, που χρησιμοποιείται, είναι τα κύτταρα ινοβλαστών ανθρώπινου εμβρυικού πνεύμονα (HEL). Άλλες σειρές είναι **α)** τα vero cells από νεφρά νεαρού Αφρικάνικου πράσινου πιθήκου, **β)** τα L929 cells από ινοβλάστες ποντικού καθώς και άλλα. Η λήψη του δείγματος πρέπει να γίνεται όσο το δυνατόν νωρίτερα με την έναρξη της νόσου και οπωσδήποτε πριν από την έναρξη της αντιβιοτικής αγωγής. Ο ενοφθαλμισμός των κυττάρων πρέπει να γίνεται το συντομότερο δυνατόν μετά τη λήψη του δείγματος μέσα στο πρώτο 24 ωρο μιας και έχει παρατηρηθεί ότι η παραμονή του δείγματος σε θερμοκρασία δωματίου ή στους 40°C για 24 ώρες μειώνει σημαντικά την πιθανότητα ανάπτυξης ρικετσιών σε κυτταροκαλλιέργειες. Η θερμοκρασία που απαιτείται για την ανάπτυξη των

ρικετσιών είναι 35°C για την ομάδα του τύφου ΟΤ, 32°C για τις ρικέτσιες της ομάδας των κηλιδωδών πυρετών ΟΚΠ και 28°C για τη ρικέστια *R.felis*.

3.5 ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

Η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR) αποτελεί βασική εξέταση για τις μοριακές μεθόδους ανίχνευσης ρικετσιών. Η εξέταση αυτή παρέχει τη δυνατότητα της ταχείας ανίχνευσης των ρικετσιών από βιολογικά δείγματα. Αν το δείγμα είναι αίμα με αντιπηκτικό, αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου έως ότου καθιζήσουν τα κύτταρα και ακολούθως από την στιβάδα των λευκών γίνεται συλλογή υγρού (buffy coat) προς αναζήτηση ρικετσιών στα λευκά και στα κυκλοφορούντα ενδοθηλιακά κύτταρα. Από βιοψίες ιστών προτιμάται ο φρέσκος ιστός, που έχει σταθεροποιηθεί σε παραφίνη. Το πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ότι το θετικό PCR επιβεβαιώνει τη διάγνωση πριν την εμφάνιση ορομετατροπής και πριν το θετικό αποτέλεσμα των κυτταροκαλλιεργειών. Επίσης, η προηγηθείσα αντιβιοτική αγωγή δεν αναστέλλει την θετικότητα της PCR. Αρχικά, η μέθοδος PCR εφαρμοζόταν σε συνδυασμό με ανάλυση του πολυμορφισμού των κλασμάτων του DNA μετά την επίδραση περιοριστικών ενζύμων (restriction fragment length polymorphism - RFLP) για τον καθορισμό του είδους της ρικέτσιας. Με την ανάπτυξη αυτόματων αναλυτών της αλληλουχίας των νουκλεοτιδίων (sequensing) είναι δυνατή πλέον η ταχεία ανάλυση της αλληλουχίας των προϊόντων της PCR και ο προσδιορισμός του είδους της ρικέτσιας

3.6 ΡΙΚΕΤΣΙΩΣΕΙΣ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Λόγω της εμπειρικής χρήσης αντιβιοτικών στα πλαίσια εμπύρετου νοσήματος, συχνά το εξάνθημα των ρικετσιώσεων θεωρείται φαρμακευτικό, όμως ο φυσιολογικός αριθμός των λευκών σε συνδυασμό με την αριστερή στροφή του τύπου καθώς και κλινική σημειολογία, κεφαλαλγίες , μυαλγίες αλλά κυρίως το επιδημιολογικό ιστορικό, μπορούν να βοηθήσουν στη διαφορική διάγνωση.

3.6.1 Διαφορική διάγνωση από άλλες λοιμώξεις με παρόμοια κλινική εικόνα

Μηνιγγιτιδοκοκαιμία: Αρχικά, το εξάνθημα μπορεί να είναι κηλιδοβλατιδώδες, γίνεται όμως πετεχειώδες ή νεκρωτικό σε μια ή δυο ημέρες. Με προσεκτικότερη παρατήρηση ξεχωρίζει ο εμβολικός του χαρακτήρας. **Η διαφορική διάγνωση από μηνιγγιτιδοκοκκική μηνιγγίτιδα *<u>γιατί</u>* στις ρικετσιώσεις όπως και στο ΚΠΒΟ παρουσιάζεται συχνά στο ΕΝΥ (συνήθως τα λευκά είναι λιγότερα από 100μl) και μπορεί να έχουν λεμφοκυτταρικό ή πολυμορφοπυρηνικό τύπο**. Συνήθως, δεν υπάρχει ανίχνευσιμη δυσκαμψία και επί αμφιβολίας ο ασθενής πρέπει να θεραπεύεται και για τα δύο νοσήματα. Βέβαια κλινικά ο έμπειρος κλινικός μπορεί να διακρίνει την εντονότερη και ταχεία εξελισσόμενη συμμετοχή από το ΚΝΣ.

Τυφοειδής πυρετός: Συνήθως τα λευκά είναι φυσιολογικά ή ελαφρά ελαττωμένα αλλά απουσιάζει η θρομβοπενία. Άλλες λοιμώξεις που μπορεί να έχουν παρόμοια κλινική εικόνα είναι η αναπλάσμωση, τουλαραιμία, διάχυτη γονοκοκκική λοίμωξη, δευτερογενής σύφιλη, λεπτοσπείρωση, , βρουκέλλωση και εντοπισμένες λοιμώξεις (πχ λοίμωξη μαλακών μορίων). Η διαφορική διάγνωση θα γίνει με ορολογικές μεθόδους με κλινικά και κυρίως επιδημιολογικά στοιχεία.

3.6.2 Διαφορική διάγνωση από ιογενείς λοιμώξεις

Ιλαρά: Υπάρχουν πρόδρομα συμπτώματα από το αναπνευστικό, φωτοφοβία.

Εντεροϊοί: Αχνό κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα και περιστασιακά **πετεχειώδες,** που εμφανίζεται μετά την έναρξη του πυρετού, αρχίζει από το πρόσωπο και επεκτείνεται στον κορμό και στα άκρα και μπορεί να περιλαμβάνει πέλματα και παλάμες κλινική εικόνα είναι ηπιότερη και οι λοιμώξεις είναι αυτοπεριοριζόμενες. Τα λευκά συνήθως είναι χαμηλά με ήπια θρομβοπενία, ενώ στις ρικετσσιώσεις είναι φυσιολογικά με αριστερή στροφή.

Λοιμώξεις από ερπητοϊούς: Δεν παρουσιάζουν κεφαλαλγία, υπάρχει πυρετός, ραχιαλγία, λευκοπενία, δεν εμφανίζεται εξάνθημα, ενώ έχουμε επανεμφάνιση του πυρετού σε δυο με τρεις ημέρες.

Ιογενείς αιμορραγικοί πυρετοί, νόσος από ανθρώπινο ερπητοιό 6 (Roscola): CCHF, hantavirus. Το εξάνθημα εμφανίζεται 3-5 ημερές μετά την έναρξη του πυρετού, είναι κηλιδοβλατινώδες, αρχίζει από τον κορμό και υποχωρεί σύντομα.

Human parvovirus B19 (λοιμώδες ερύθημα, πέμπτη νόσος): χαμηλός πυρετός πριν την έναρξη του εξανθήματος, εξέρυθρα μάγουλα, δαντελωτή εικόνα εξανθήματος στον κορμό.

Σύνδρομο λοιμώδους μονοπυρήνωσης: Συνήθως λευκοκυττάρωση με χαρακτηριστικό λεμφοκυτταρικό τύπο και χαρακτηριστικά διεγερμένα λεμφοκύτταρα, τα οποία ο έμπειρος εργαστηριακός αιματολόγος εύκολα αναγνωρίζει το περιφερικό αίμα. Επίσης παρατηρείται διόγκωση λεμφαδένων (τραχηλικών) - κυνάγχη.

Λοιμώδεις παράγοντες με κύριο όργανο το ενδοθήλιο είναι πολλοί λίγοι: *Orienta tsutsugamushi*, *Ehlrichia rumminantium*, Hantaviruses, Human Herpesvirus 8 .

Άλλα νοσήματα, μη λοιμώδη αυτοάνοσα: Αγγειίτης από ανοσοσυμπλέγματα, ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα, σύνδρομο τοξικού shock, νόσος Kawasaki, μηνιγγίτιδες, ηπατίτιδες, λοίμωξη χοληφόρων, τροπικά νοσήματα (ελονοσία). Ο πυρετός εισβάλλει αρχικά μέτριος 37,5-38 και εν συνεχεία σε 48-72 ώρες γίνεται υψηλός, συνεχής και συνοδεύεται από βραδυκαρδία και σπανιότερα από ρίγος. Η εμφάνιση του εξανθήματος στα πέλματα και στις παλάμες δεν είναι παθογνωμική των ρικετσιώσεων, γιατί μπορεί επίσης να εμφανιστεί σαν αντίδραση υπερευαισθησίας σε φάρμακα, λοιμώδη ενδοκαρδίτιδα, *Neisseria menigitis* και σε ορισμένους εντεροϊούς.

Το εύρος της διαφορικής διάγνωσης εμφανίζεται με εξάνθημα και είναι πολύ μεγάλο. Όλα τα χαρακτηριστικά του εξανθήματος πρέπει να εκτιμηθούν, όπως ο τύπος εντόπισης από τον οποίο εκτιμάται ο χρόνος επιμήκυνσης σε σχέση με τον πυρετό καθώς και η εποχή του έτους που εμφανίζεται και τα ιδιαίτερα επιδημιολογικά χαρακτηριστικά της γεωγραφικής περιοχής. Είναι γνωστό ότι κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα μπορούν να προκαλέσουν ο ανθρώπινος εντεροϊός Γ, ο parvovirus B19, ο west Nile virus, οι ιοί coxsakie echo, ο EBV, γενικευμένη γονοκοκκική λοίμωξη, θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα, λεπτοσπείρωση, δευτερογενής σύφιλη, νόσος Kawasaki, φαρμακευτικές αντιδράσεις από ανοσοσυμπλέγματα. Ειδικότερα, πετεχειώδες εξάνθημα μπορεί να εμφανισθεί σε λοιμώξεις από μηνιγγιτιδόκκοκο, λοιμώξεις από εντεροϊούς, ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα και μετά από φαρυγγίτιδα από στρεπτόκκοκο της ομάδας Α. Άλλα νοσήματα από τα οποία χρειάζονται

διαφοροδιάγνωση οι ρικετσιώσεις είναι το πολύμορφο ερύθημα, σύνδρομο Steven Jonson και το σύνδρομο του τοξικού shock. Επίσης, η διαφορική διάγνωση της εσχάρας περιλαμβάνει, λοιμώξεις δέρματος από *Aspergillus*, έρπητα, *Parapoxvirus*, *Streptovacilus*, *Francisela tolurensis* κ.α

3.7 ΘΕΡΑΠΕΙΑ

3.7.1 Ρικέτσιες και αντιβιοτικά

Η ευαισθησία των ρικετσιών στα αντιβιοτικά μπορεί να ελεγχθεί με πολλούς τρόπους. Αρχικά, ο έλεγχος γινόταν με ανάπτυξη των ρικετσιών σε εμβρυοφόρα αυγά όρνιθος ή μοντέλα ζώων (159,160). Άλλη μέθοδος νάπτυξης ρικετσιών είναι η μέθοδος της πλάκας (plaque assay), η οποία βασίζεται στο κυτταροπαθολογικό επακόλουθο του πολλαπλασιασμού των ρικετσιών στα κύτταρα των κυτταροκαλλιεργειών με σχηματισμό πλακών. Η MIC είναι η μικρότερη συγκέντρωση του αντιβιοτικού που προκαλεί πλήρη αναστολή της δημιουργίας πλάκας (160). Μερικές ρικέτσιες, όπως η *R.felis*, δεν έχουν την ικανότητα δημιουργίας πλάκας. Άλλη μέθοδος είναι το κυτταροπαθολογικό επακόλουθο των ρικετσιών στα κύτταρα, η οποία ονομάζεται Dye Uptake assay, που είναι χρωματομετρική μέθοδος (161). Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί τον ανοσοφθορισμό για την ανίχνευση των ρικετσιών σε κυτταροκαλλιέργειες υπό την επίδραση διαφόρων συγκεντρώσεων του αντιβιοτικού (162). Επίσης, μέθοδοι κυτταροκαλλιεργειών έχουν συνδυασμό με ποσοτική εκτίμηση των ρικετσιών με τη χρήση μοριακών μεθόδων (PCR) (163).

Από την αξιολόγηση όλων αυτών των ανωτέρω μεθόδων προκύπτει ότι το αποτελεσματικότερο αντιβιοτικό για όλες τις ρικέτσιες είναι η δοξυκυκλίνη με τη μικρότερη MIC 0,06-0,25 μg/ml (164,161). Η χλωραμφαινικόλη είναι δραστική με MIC 0,25-1μg (161) και η θειαμφαινικόλη με MIC 0,5-4 μg/ml. Και τα δύο προαναφερθέντα αντιβιοτικά (δοξυκυκλίνη και χλωραμφαινικόλη) είναι βακτηριοστατικά αντιβιοτικά έναντι όλων των ρικετσιών (165). Επίσης, πολύ δραστικά έναντι των ρικετσιών είναι η κετολίδη τελιθρομυκίνη έναντι όλων των ρικετσιών με MIC 0,5-1μg/ml (163,164). Από τις μακρολίδες in vitro έναντι της *R.prowazekii* η αζιθρομυκίνη, η ερυθρομυκίνη και η ροξιθρομυκίνη έναντι της *R.akari* η αζιθρομυκίνη και η κλαριθρομυκίνη (162, 166). Άλλες μελέτες έδειξαν ότι η πριστιναμυκίνη και η ροξιθρομυκίνη είναι δραστικές έναντι της *R.conorii* και της *R.rickettsii* (167). Ισχυρότερη δράση έναντι των ρικετσιών από τις μακρολίδες εμφανίζει η γιοσαμυκίνη με MIC 0,5-1 μg/ml (168). Οι ρικέτσιες της ομάδας του τύφου είναι ευαίσθητες στην ερυθρομυκίνη, ενώ οι ρικέτσιες της ΟΚΠ παρουσιάζουν αντοχή (161). Μερικές από τις ρικέτσιες της ΟΚΠ, όπως η *R.massiliae*, η *R.aeschliman*, η *R.rhipicephalus* και το Strain Bar 29, παρουσιάζει σχετική αντοχή στη ρικαμπικίνη MIC 2-4 μg/ml, ενώ είναι σχετικά ευαίσθητες στις φθοριοκινολόνες με MIC 0,25-2μg/ml. Η λεβοφλοξασίνη και οφλοξασίνη είχαν τη μεγαλύτερη δραστικότητα έναντι της *R.conorii* και η λεβοφλοξασίνη έναντι της *R.prowazekii* (169), ενώ σε άλλες μελέτες βρέθηκε η οφλοξασίνη να είναι δραστική έναντι της *R rickettsii* και της *R.conorii*.

Αντοχή παρουσιάζουν όλες οι ρικέτσιες στα β-λακταμικά αντιβιοτικά, στις αμινογλυκοσίδες και την κοτριμοξαζόλη. Πρόσφατα, παρατηρήθηκε ότι σε κυτταροκαλλιέργειες με *R.conorii* η επώαση με στατίνες για 48 ώρες της κυτταροκαλλιέργειες, πριν της μόλυνσής της με ρικέτσιες, είχε σαν αποτέλεσμα τη μείωση του σχηματισμού πλακών κατά 30-68%, επομένως φαίνεται πιθανόν οι άνθρωποι που λαμβάνουν στατίνες να προφυλάσσονται μετά από λοίμωξη με *R.conorii* (170).

3.7.2 Αντίσταση στα αντιβιοτικά-Μοριακή βάση

Φαίνεται ότι η αντίσταση σε μερικά αντιβιοτικά που έχει παρατηρηθεί σε ορισμένες ρικέτσιες έχει γενετική βάση, η οποία δημιουργεί μηχανισμούς ειδικούς και μη ειδικούς, π.χ. στις *R.typhi* έχει βρεθεί ένα ομόλογο για τις μέταλλο-β-λακτάμασες, επίσης ο ίδιος μηχανισμός έχει βρεθεί και στις *R.prowazekii* και *R.conorii*. Στις *R.felis* έχουν βρεθεί μία β-λακταμάση τάξης C και μία β λακταμάση τάξης D, καθώς και ένα ομόλογο πενικιλίνακυνάσης. Επίσης, πολλαπλά αντίγραφα του AmpG γονιδίου πιθανόν να σχετίζουν τη φυσική τους αντίσταση με τα β λακταμικά αντιβιοτικά, τέτοια διαθέτουν οι *R.conorii, R.typhi* και *R.prowazekii*. Επίσης διαθέτουν πενικιλλοδεσμευτικές πρωτεΐνες (PBPs). Έχουν επίσης βρεθεί πολλά ορθόλογα μεταφορέων πολλαπλών αντιβιοτικών, όπως ένα ABC σύστημα. Επίσης, φαίνεται ότι λόγω απουσίας ενζύμων βιοσύνθεσης φυλικού ή φολικού οξέος υπάρχει αντίσταση στην τριμεθυπρίμησουλφομεθοξαζόλη. Ειδικότερα, οι ρικέτσιες της ΟΤ δεν διαθέτουν το folA και folP γονίδια, ενώ οι ρικέτσιες *R.felis, R.conorii, R.sibirica* και *R.rickettsii* δεν διαθέτουν το folA γονίδιο. Η αντίσταση στη γενταμυκίνη οφείλεται πιθανότατα στο γεγονός ότι αυτή παραμένει εξωκυττάρια ενώ οι ρικέτσιες είναι ενδοκυττάρια παθογόνα (15). Έχει πάντως βρεθεί στην *R.conorii* ένα γονίδιο που κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη παρόμοια με aminoglycoside 3phospho transferase. Η αντίσταση στη ριφαμπικίνη που παρατηρείται στην υποομάδα της *R.massiliae* σχετίζεται με μεταλλάξεις στο rpoB γονίδιο (171). Οι ρικέτσιες της ΟΤ έχουν τρία διαφορετικά αμινοξέα στην r22 ριβοσωμική πρωτεΐνη συγκριτικά με τις ρικέτσιες της ΟΚΠ, γεγονός που πιθανώς εξηγεί την διαφορετική ευαισθησία τους στην ερυθρομυκίνη (172).

3.7.3 Αντιβιοτικά στη θεραπεία των ρικετσιών

Το παραμινοβενζοϊκό οξύ ήταν το πρώτο φάρμακο που χρησιμοποιήθηκε στη θεραπεία των ρικετσιώσεων με θετικά αποτελέσματα (173). Τα πλέον χρησιμοποιηθέντα αντιβιοτικά στη θεραπεία των ρικετσιώσεων είναι οι τετρακυκλίνες, κυρίως η δοξυκυκλίνη και χλωραμφαινικόλη, η οποία ήταν το πρώτο αντιβιοτικό που χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία στη θεραπεία του ΚΠΒΟ το 1948 (174). Αργότερα,δοκιμάστηκε με επιτυχία στον επιδημικό και στον ενδημικό τύφο. Πειραματικά δοκιμάσθηκε η τετρακυκλίνη σε άτομα με *R.akari* και έδειξε ότι είναι αποτελεσματικότερη από την χλωραμφαινικόλη (175). Σε μία μελέτη , την πρώτη συγκριτική μεταξύ δοξυκυκλίνης με χλωραμφαινικόλη ή τριμεθοπρίμη, για 15 μέρες σε ασθενείς με επιδημικό τύφο φάνηκε ελαφρά η υπεροχή της δοξυκυκλίνης (176).

Η χλωραμφαινικόλη προτιμούνταν στη θεραπεία ρικετσιώσεων παιδιών κάτω των 9 ετών, λόγω του φόβου χρώσης των οδόντων και ανώμαλης ανάπτυξης των οστών από την δοξυκυκλίνη, πράγμα που όπως φαίνεται σήμερα τελικά δεν ισχύει όταν η τετρακυκλίνη χορηγείται βραχέως (7-10) ημέρες και έτσι η λήψη δοξυκυκλίνης σε παιδιά δεν αντενδείκνυται πλέον για τη θεραπεία των ρικετσιώσεων (177). Από τα μέχρι σήμερα κλινικά δεδομένα φαίνεται ότι το αποτελεσματικότερο αντιβιοτικό για τις ρικετσιώσεις έχει αποδειχθεί ότι είναι η δοξυκυκλίνη. Φαίνεται ότι οι ασθενείς που θεραπεύτηκαν με δοξυκυκλίνη έχουν τη μικρότερη θνητότητα και ταχύτερη απυρεξία σε σχέση με άλλα αντιβιοτικά. Σε διάφορες σειρές ασθενών φαίνεται απυρεξία με την δοξυκυκλίνη 2,9 ημέρες, με την χλωραμφαινικόλη 4 ημέρες και με την σιπροφλοξασίνη 4,2 ημέρες (178). Μεταξύ των ετών 1981 και 1998 βρέθηκε ότι όσοι έλαβαν αγωγή μόνο με τετρακυκλίνη (6338 ασθενείς) παρουσιαζαν θνητότητα 1,5%. Ενώ όσοι έλαβαν χλωραμφαινικόλη παρουσίαζαν 7,6% που πλησιάζει την θνητότητα όσων δεν έλαβαν αγωγή. Επίσης, η καθυστερημένη έναρξη της αγωγής πάνω από 5 ημέρες σχετίζεται με την αυξημένη θνητότητα (179, 180). Η δοξυκυκλίνη έχει πολύ καλή βιοδιαθεσιμότητα και λαμβάνεται είτε από το στόμα είτε

ενδοφλέβια. Σπάνια, όπως σε όλες τις τετρακυκλίνες εμφανίζεται εξάνθημα φωτοευαισθησίας, το οποίο είναι σπανιότερο από άλλες τετρακυκλίνες. Η θεραπευτική δόση είναι 100mg ανά 12ωρο για ενήλικες και παιδιά >45 kg , ενώ για μικρότερα παιδιά η δόση είναι 2,2 mg/kg ανά 12 ωρο. Η ιδανική διάρκεια θεραπείας φαίνεται ότι δεν έχει προσδιοριστεί, προτείνεται όμως αγωγή για 7-10 ημέρες και τουλάχιστον 48 ώρες μετά τη απυρεξία.

Εφόσον η θεραπεία χορηγηθεί νωρίς κατά την έναρξη του πυρετού, σύμφωνα με κλινικά και επιδημιολογικά κριτήρια, απυρεξία επέρχεται εντός 48 ωρών, εφόσον δεν επέλθει η διάγνωση της ρικέτσιας, τίθεται υπό αμφισβήτηση.

Επιπλέον, σε σοβαρότερες περιπτώσεις με την καθυστερημένη χορήγηση αντιβιοτικού η απυρεξία καθυστερεί. Επίσης, η δοξυκυκλίνη φαίνεται ότι είναι αποτελεσματική στη προφύλαξη από ρικετσίωση γεγονός που έχει αποδειχθεί σε λοίμωξη από *Orienta tsutsugamushi* (181). Η δοξυκυκλίνη αντενδείκνυται στις εγκύους μετά το πρώτο 3μηνο της κύησης λόγω κινδύνων ηπατικής βλάβης ή παγκρεατίτιδας της εγκύου ή οδοντικών ανωμαλιών των οδόντων των εμβρύων. Η χορήγησή της συνίσταται μόνο σε απειλητικές για τη ζωή λοιμώξεις. Επίσης, η χλωραμφαινικόλη αντενδείκνυται , γιατί έχει ως παρενέργειες το gray baby syndrome. Η χλωραμφαινικόλη αποτελεί για τις ρικέτσιώσεις εναλλακτική θεραπευτική επιλογή, όταν αντενδείκνυται η χρήση της δοξυκυκλίνης, υπάρχει όμως ο κίνδυνος εμφάνισης απλαστικής αναιμίας. Επίσης έχουν αναφερθεί περιπτώσεις μη ανταπόκρισης ή υποτροπών στη θεραπεία με χλωραμφαινικόλη (182). Η δοσολογία της χλωραμφαινικόλης είναι 50 mg/kg/day, διαιρεμένη σε 4 δόσεις με μέγιστη δόση 2 gr/ ημέρα. Αργότερα, χρησιμοποιήθηκαν οι φθοριοκινολόνες στη θεραπεία των ρικετσιώσεων, αλλά η χρήση τους παρέμεινε περιορισμένη. Σε πρόσφατη μελέτη ασθενών με ΜΚΠ που έλαβαν δοξυκυκλίνη 100mg/12ωρο, δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς το χρόνο της απυρεξίας,ενώ σε άλλη μελέτη με δοξυκυκλίνη 100mg*2 ή σιπροφλοξασίνη 500mg*2, συντομότερα επιτεύχθηκε απυρεξία, όταν χορηγήθηκε η δοξυκυκλίνη.

Πρόσφατα σε συνέδριο διατυπώθηκε η άποψη ότι η αγωγή με φθοριοκινολόνες πιθανόν να σχετίζονται με αυξημένη βαρύτητα της νόσου και ενδεχομένως η χορήγηση φθοριοκινολονών να αποτελεί αντένδειξη για τη θεραπεία των ρικετσιώσεων, πράγμα όμως που δεν φαίνεται προς το παρόν επαρκώς τεκμηριωμένο. Επίσης, σε μελέτες με ερυθρομυκίνη και τετρακυκλίνη σε παιδιά με ΜΚΠ, φάνηκε ότι η τετρακυκλίνη υπερέχει (183). Σε παιδιά με ηλικίες μικρότερες των 14 ετών με ΜΚΠ η ερυθρομυκίνη με την αζιθρομυκίνη φαίνεται ότι ήταν ισοδύναμα αποτελεσματικές με μέσο όρο απυρεξίας τις δύο ημέρες (184). Επίσης, σε άλλες μελέτες η κλαρυθρομυκίνη επέφερε απυρεξία λίγο συντομότερα από την χλωραμφαινικόλη (185). Ακόμη, ανάλογη μελέτη σε παιδιά έδειξε ισοδυναμία μεταξύ χλωραμφαινικόλης ή κλαριθρομυκίνης ή αζιθρομυκίνης, ως προς το χρόνο εμφάνισης απυρεξίας λιγότερο από 2 ημέρες, όμως το 0,9% με κλαριθρομυκίνη και το 11,5% αυτών με αζιθρομυκίνη παρουσίασαν πυρετό για > 5 ημέρες και χρειάστηκε να γίνει αλλαγή της θεραπείας με χλωραμφαινικόλη (186). Σε ενήλικους η χορήγηση τετρακυκλίνης 250 mg x 4 x 7 ημέρες δοξυκυκλίνης, 200mg x 2 x 1 ή αζιθρομυκίνης 500 x 2 x 1 ή σιπροφλοξασίνης 500mg x 3 x 3 είχαν παρόμοια αποτελέσματα (187). Ένα νεότερο αντιβιοτικό, η γιοσαμυκίνη, πιθανώς αποτελεί μία νέα αγωγή κατάλληλη για παιδιά και εγκύους, όμως χρειάζονται περισσότερες μελέτες με επαρκή τεκμηρίωση (188,189,190).

Οι σουλφοναμίδες στις ρικετσιώσεις αποτελούν αντένδειξη, γιατί αυξάνουν την νοσηρότητα και τη θνησιμότητα.

3.7.4 Προφύλαξη

Μόνο η αζιθρομυκίνη έχει τεκμηριωμένα αποδείξει προφυλακτική δράση μετά από νύγμα κρότωνα με θετικά αποτελέσματα (191).

3.8 ΕΝΕΡΓΗΤΙΚΗ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ/ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΣ

3.8.1 Εμβόλια που χρησιμοποιήθηκαν ενάντια στις ρικέτσιες

Από την ιστορική επιστημονική αναδρομή φαίνεται ότι έχουν δοκιμασθεί 2 είδη εμβολίων αυτά με αδρανοποιημένες ρικέτσιες και αυτά με εξασθενημένες ρικέτσιες.

Το πρώτο δοκιμάσθηκε στην Πολωνία το 1930 και ονομαζόταν Weige έναντι της *R.prowazekii*. Οι ρικέτσιες πολλαπλασιάζονταν σε ψείρες που τρέφονταν σε άνοσους ανθρώπους και στη συνέχεια αδρανοποιούνταν με φορμαλίνη. Όμως η δύσκολη παραγωγή του και ατυχήματα με μόλυνση και θανάτους προσωπικού από ρικέτσιες, τελικά ματαιώνουν οριστικά την παραγωγή και την εφαρμογή του.

Εν συνεχεία το 1939 αδρανοποιημένες ρικέτσιες είχαν πολλαπλασιασθεί στον εγκέφαλο ποντικιών και είχαν την ίδια τύχη λόγω παρενεργειών. Το 1938 η *R.prowazekii* και η *R.rickettsii* καλλιεργήθηκαν σε εμβρυοφόρα αυγά όρνιθος και ακολούθως αδρανοποιήθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν σε ανθρώπους σαν εμβόλια και εμφάνισαν μερική προστασία προφυλάσσοντας από βαριές μορφές της νόσου.

Γενικά εμβόλια με αδρανοποιημένες ρικέτσιες, οι οποίες προέρχονταν από καλλιέργεια με κρότωνες ή εμβρυοφόρα αυγά όρνιθας και αδρανοποιούνταν με φορμόλη και φορμαλδεύδη, βρέθηκαν αναποτελεσματικά σε λοιμώξεις από *R.rickettsii* και οι εμβολιασμένοι ανέπτυξαν ΚΠΒΟ μετά τη λοίμωξη με *R.rickettsii* και μετά την ανάρρωσή τους απέκτησαν ανοσία στην *R.rickettsii* (192).

Η μελέτη με μεθόδους μοριακής βιολογίας και γενετικής του γονιδιώματος των διαφορετικών στελεχών του ιδίου είδους ρικετσιών επιτρέπει πλέον την κατανόηση διαφόρων μηχανισμών που επηρεάζουν τη λοιμογόνο ικανότητά τους.

Έτσι μελλοντικά θα είναι δυνατή η δημιουργία στελεχών που να έχουν ισχυρή ανοσία και χαμηλή λοιμογόνο δύναμη ιδανική για την παραγωγή εμβολίων. Πρόσφατα, με αυτούς τους μηχανισμούς δημιουργήθηκε το στέλεχος EVIR με μερική διαγραφή του Pld γονιδίου που κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη με δραστηριότητα φωσφολιπάσης D, που ευθύνεται για την πρώιμη διαφυγή της ρικέτσιας από το φαγόσωμα. Σε ζώα αυτό το στέλεχος έδειξε μειωμένη παθογενετικότητα και ισχυρή ανοσογόνο δράση με διασταυρούμενη ανοσία από το πρότυπο λοιμογόνο στέλεχος Breinl της *R.prowazekii* (193). Μία διαφορετική προσέγγιση του θέματος των εμβολίων είναι η δημιουργία τους μέσω του DNA, με στόχο τη διατήρηση αποτελεσματικής ανοσολογικής απάντησης μέσω κυτταρικής ανοσίας με παρατεταμένη έκφραση αντιγόνων. Τα DNA εμβόλια δημιουργούνται μέσω γονιδίων που αφορούν την είσοδο ρικετσιών στα κύτταρα, τη διαίρεσή τους και τη λοιμογόνο δράση (194).

3.8.2Αντιγόνα ρικετσιών

Οι πρωτεΐνες SPA (surface protein antigen) της εξωτερικής μεμβράνης των ρικετσιών βρέθηκε ότι έχουν ανοσογόνες ιδιότητες και τα αντισώματα εναντίον τους ασκούσαν προστατευτική δράση σε μοντέλα ζώων μετά την έκθεση σε θανατηφόρες δόσεις ρικετσιών. Φαίνεται ότι καθοριστικό ρόλο σ ΄αυτή τη διαδικασία παίζουν οι πρωτεΐνες rOmpA και r OmpB της εξωτερικής μεμβράνης που σαν ρικετσιακά ισχυρά αντιγόνα ενεργοποιούν έντονα την χυμική και κυτταρική ανοσία. Οι πρωτεΐνες rOmpA και rOmpB είναι μείζονα αντιγόνα και είναι ειδικές για κάθε είδος ρικέτσιας και η rOmpA είναι περισσότερο ανοσογόνος από την rOmpB (195).

Υφίσταται έντονη φυσική επιλογή με διαφοροποίηση της αλληλουχίας των αμινοξέων μεταξύ των διαφορετικών ειδών των ρικετσιών σε περιοχές των πρωτεϊνών σημαντικά λειτουργικές, όπως επιτόπους. Η διαδικασία της επιλογής της φαίνεται ότι επηρεάζεται από το ανοσολογικό σύστημα των σπονδυλωτών ξενιστών τους. Η ταυτόχρονη απομύζηση αίματος με άλλα μολυσμένα αρθρόποδα καθιστά την ένταση αυτής της διαδικασίας μικρότερη. Η ενδοκυττάρια πρωτεΐνη, αντιγόνο PS120, δεν αποτελεί υποκείμενο φυσικής επιλογής (196). Οι ρικέτσιες της ΟΚΠ περιέχουν στην εξωτερική επιφάνεια πρωτεΐνες rOmpA και rOmpB, ενώ οι ρικέτσιες της ΟΤ μόνο την rOmpB. Η rOmpA περιέχει μεγάλο τομέα(domain) υδρόφιλων Tandem repeat units. Η ανοσοποίηση των πειραματοζώων με ανοσοσυνδιασμένη rOmpA ρικετσιών της ΟΚΠ τους παρέχει προστασία από λοιμώξεις με τις αντίστοιχες ρικέτσιες (197,198). Ομοίως η ανοσοποίηση χοιριδίων με την rOmpB της *R.typhi* τα προστατεύει από λοίμωξη με *R.typhi* (199) και η ανοσοποίηση με ανασυνδιασμένη rOmpA της *R.rickettsii* τα προστατεύει από τη θανατηφόρα δόση της *R.rickettsii* (197, 198).

Στην *R.conorii* με μονοκλωνικά αντισώματα βρέθηκαν 11 διαφορετικοί επίτοποι στην rOmpA και 18 στην rOmpB πρωτεΐνη. Επίσης, και στις λοιπές ρικέτσιες βρέθηκαν 3-25 κοινοί επίτοποι με rOmp με την *R.conorii* εκτός από τις *R.helvetica* , *R.akari* και *R.australis,* που δεν έχουν κοινούς επιτόπους με την *R.conorii* (200). Επίσης, στην rOmpB της *R.conorii* ανευρέθηκαν επίτοποι ικανοί για την ενεργοποίηση των CD8 T6 λεμφοκυττάρων που εκφράζονται με τον πολλαπλασιασμό και αυξημένη έκκριση INFγ και αυξημένη κυτταροτοξικότητα. Ο λιποσακχαρίτης LPS του κυτταρικού τοιχώματος των ρικετσιών παρουσιάζει αντιγόνα ειδικά της ομάδος (group specific) (201). Ευθύνεται για τις διασταυρούμενες ορολογικές αντιδράσεις μεταξύ ρικετσιών που ανήκουν στην ίδια ομάδα αλλά και μεταξύ διαφορετικών ομάδων και δεν φαίνεται να έχουν κάποιο σημαντικό ρόλο στην παθογενετικότητα.

Επίσης, σε πειραματόζωα έχει βρεθεί διασταυρούμενη προστασία μεταξύ ρικετσιών της ίδιας ομάδας αλλά με διαφορετικά rOmpA και rOmpB *R.conorii* και *R.australis* (202). Μεταξύ ρικετσιών διαφορετικών ομάδων εμφανίζεται ήπια μόνο διασταυρούμενη αντίδραση (*R.conorii R.typhi*), η οποία οφείλεται σε Τ λεμφοκύτταρα.

Ιδανικό εμβόλιο θα ήταν εκείνο που περιέχει επιτόπους με ισχυρή αντιγονικότητα για τη δημιουργία χημικής και κυτταρικής ανοσίας έναντι των περισσότερων παθογόνων ρικετσιών (ΟΤ, ΟΚΠ).

3.9 Οι ρικέτσιες ως βιολογικά όπλα

Οι ρικέτσιες έχουν κατά το παρελθόν χρησιμοποιηθεί σαν βιολογικά όπλα. Το CDC (Center of Disease Control and Prevention) έχει θέσει κριτήρια με βάση τα οποία οι βιολογικοί παράγοντες διακρίνονται σε κατηγορίες ανάλογα με τον κίνδυνο που έχουν και την τοξικότητα-κυτταροτοξικότητα που παρουσιάζουν, εάν χρησιμοποιηθούν σαν βιολογικά όπλα. Διακρίνονται ανάλογα με την ευκολία παραγωγής υψηλής θνησιμότητας και ευκολία μετάδοσης σε τρεις κατηγορίες Α, Β, C. Κατηγορία Α : εύκολη παραγωγή, εύκολη διασπορά και μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο, έχουν υψηλή νοσηρότητα και θνησιμότητα, προκαλούν μείζον πρόβλημα δημόσιας υγείας.

Οι ρικέτσιες τοποθετούνταν από το CDC: στην κατηγορία Β η *R.prowazekii* και στην κατηγορία C οι υπόλοιπες ρικέτσιες. Από ειδικούς εκφράζονται αντιρρήσεις για αυτή την κατάταξη όπως ο D Walter, που εκτιμούν ότι η *R.prowazekii* θα έπρεπε να καταταγεί στην κατηγορία Α, όπως και οι *R.rickettsii* και η *R.typhi* ή τουλάχιστον στη Β (203). Οι ρικέτσιες είναι αεροδιασπειρόμενες υπό μορφή μικροσκοπικών μορίων και με την εισπνοή μικρού αριθμού ρικεστιών μπορεί να προκύψει λοίμωξη σε μεγάλο ποσοστό εκτεθειμένων ατόμων με μεγάλη νοσηρότητα και θνητότητα ανάλογα με το είδος της ρικέτσιας.

Οι *R.rickettsii*, *R.prowazekii* και *R.typhi* με εισπνοή τους προσβάλλουν έως και το 100% των εκτεθειμένων ανθρώπων, η δε θνησιμότητα της λοίμωξης χωρίς θεραπεία είναι 20-25% για την *R.rickettsii* και για την *R.prowazekii* 10-60%. Οι *R.typhi* και *R.conorii* παρουσιάζουν μικρότερη θνησιμότητα στο γενικό πληθυσμό αλλά μεγαλύτερη θνησιμότητα σε ειδικές ομάδες πληθυσμού. Η κλινική εικόνα που ομοιάζει με κοινές ιογενείς ή μικροβιακές λοιμώξεις δεν βοηθάει στην πρώιμη διάγνωση και η εμπειρική θεραπεία με όχι ειδικά αντιβιοτικά δεν είναι αποτελεσματική. Επίσης, υπάρχει δυνατότητα γενετικής τροποποίησης των ρικετσιών ούτως ώστε να αποκτήσουν αντοχή στις τετρακυκλίνες και σε άλλα αντιβιοτικά με αποτέλεσμα να αυξηθεί η τοξικότητά τους.

Οι ρικέτσιες έχουν εύκολη διαθεσιμότητα γιατί ανευρίσκονται στη φύση σε αρθρόποδα, καλλιεργούνται εύκολα σε εμβρυοφόρα αυγά όρνιθας ή σε πειραματόζωα και εν συνεχεία δημιουργούνται μολυσματικά αερομεταφερόμενα μόρια. Επίσης, οι *R.prowazekii* και η *R.typhi* αποβάλλονται με τα αποχωρήματα των ψειρών και των ψύλλων και είναι βιώσιμες διατηρώντας την λοιμογόνο ικανότητά τους για μεγάλο χρονικό διάστημα. Επιπλέον, με κατάλληλη επεξεργασία μπορούν από ειδικές κυτταρολογικές καλλιέργειες και καλλιέργειες σε εμβρυοφόρα αυγά όρνιθας να προκύψουν ρικέτσιες με σταθερή μολυσματικότητα. Μαζική παραγωγή της *R.prowazekii* γινόταν το 1930 (204) για πιθανή χρήση της σαν βιολογικό όπλο. Επίσης, στην Ιαπωνία είχε δοκιμαστεί από τη δεκαετία του 1940. Έως το τέλος του δεύτερου παγκόσμιου πολέμου μεταξύ πολλών βιολογικών παραγόντων χρησιμοποιήθηκε και η *R.prowazekii* σαν βιολογικό όπλο σε φυλακισμένους στη βορειοανατολική Κίνα. Επίσης, έγιναν μελέτες πεδίου με βιολογικά όπλα συμπεριλαμβανομένων της *R.typhi* σε κατοίκους της ίδιας περιοχής (205).

3.10 ΡΙΚΕΤΣΙΩΣΕΙΣ

- ΟΜΑΔΑ ΤΟΥ ΤΥΦΟΥ (ΟΤ)

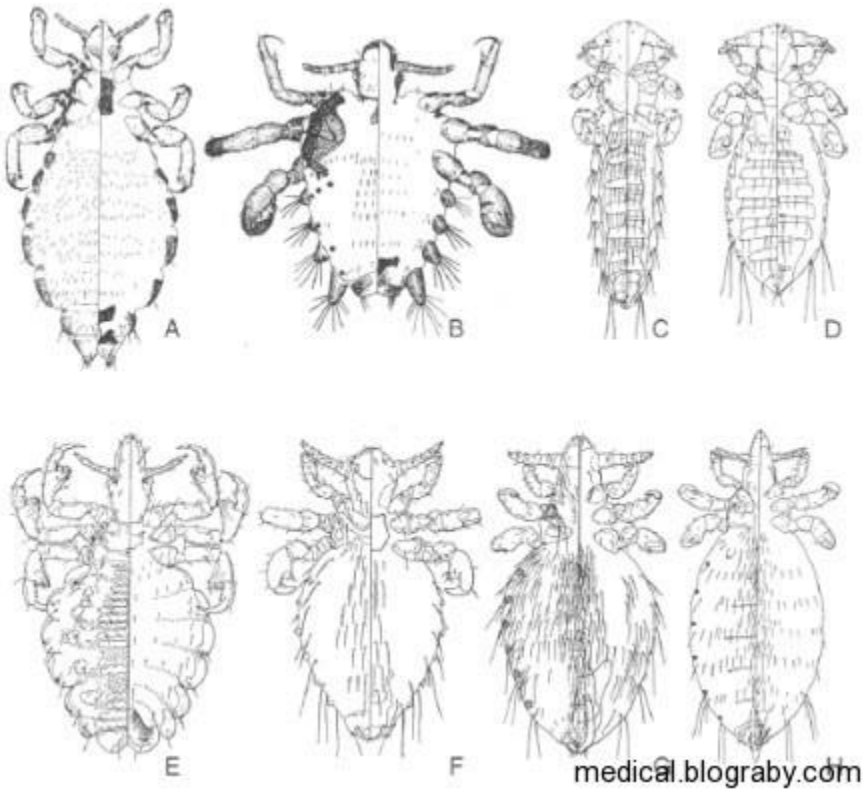
- R. prowazekii -Επιδημικός τύφος (ΕΤ)

3.10.1.1 Επιδημικός τύφος

Ο επιδημικός τύφος είναι η πρώτη ρικετσίωση που παρατηρήθηκε στον κόσμο, είχε αναφερθεί σαν φυσαλιδώδης πυρετός, πυρετός της φυλακής, εξανθηματικός τύφος, τύφος των άγριων ζώων, Ευρωπαϊκός φθειρογενής τύφος, τύφος του παλαιού κόσμου. Η νόσος έχει αιτιολογικό παράγοντα την *R.prowazekii* και μεταδίδεται με την ψείρα του ανθρώπινου σώματος που αποτελεί και τον κύριο φορέα. Η ψείρα ονομάζεται peticulus humanus corpmoris, εμφανίζει έντονο τροπισμό για τον άνθρωπο και δεν παρασιτεί σε άλλα σπονδυλωτά. Με την εμφάνιση του πυρετού οι ψείρες μεταναστεύουν από τον νοσούντα σε άλλους υγιείς ανθρώπους με αποτέλεσμα την ταχεία εξάπλωση της νόσου και εμφάνιση επιδημιών. Κατά τη διάρκεια των επιδημιών, η δεξαμενή των ρικετσιών είναι οι ασθενείς ιδιαίτερα κατά το τέλος του χρόνου επώασης και τις πρώτες ημέρες της νόσου πριν την εμφάνιση εξανθήματος. Σε αυτή τη φάση της ρικετσιαιμίας μολύνονται άλλες ψείρες και παραμένουν μολυσμένες ισοβίως. Ένα χαρακτηριστικό στοιχείο της επιδημιολογίας της λοίμωξης από *R.prowazekii* είναι η νόσος Brill-Zinsser η οποία είναι υποτροπή της λοίμωξης στον άνθρωπο μετά από πολλά έτη ή δεκαετίες από την πρωτολοίμωξη, που γίνεται σε κατάσταση στρες ή ανοσοκαταστολής και συνοδεύονται από ρικετσιαιμία. Εάν υπάρχουν ψείρες στον άνθρωπο κατά τη διάρκεια της νόσου λόγω της ρικετσιαιμίας, μπορεί να ξεκινήσει νέα επιδημία ΕπΤ.

3.10.1.2 Επιδημιολογικός κύκλος

Ο επιδημιολογικός κύκλος για πολλά έτη ήταν η ψείρα διαβιβαστής και ο άνθρωπος δεξαμενή και θεωρούνταν ο μόνος που διατηρούσε την *R.prowazekii* στη φύση. Το 1975 βρέθηκαν στις Η.Π.Α. ιπτάμενοι σκίουροι μολυσμένοι με *R.prowazekii* και αποτέλεσαν μία νέα δεξαμενή για τη νόσο (206). Η εν συνεχεία απομόνωση της *R.prowazekii* σε ψείρες και ψύλλους των ιπτάμενων σκίουρων επιβεβαίωσε την μεταξύ τους μετάδοση λόγω του ότι η ψείρα *Neohaematopinus sciuropteri* (Phthiraptera, Anoplura Οικ. Polyplacidae), δεν παρασιτεί στον άνθρωπο.(εικ.23) Επίσης, έχουν παρατηρηθεί σποραδικές επιδημίες στις ανατολικές ΗΠΑ με επιδημιολογική συσχέτιση με ιπτάμενους σκίουρους σε ασθενείς που δεν παρασιτούνταν από ψείρες ούτε είχαν επαφή με ανθρώπους που παρασιτούνταν από ψείρες (207, 208, 209,210).



εικ.23 *Neohaematopinus sciuropteri* (Phthiraptera, Οικ. Polyplacidae)

3.10.1.3 Κατανομή

Η ρικέτσια *R.prowazekii* ευθύνεται για εκατομμύρια θανάτους στην ανθρωπότητα κατά τη διάρκεια πολέμων και φυσικών καταστροφών. Μετά το 2^{ο} παγκόσμιο πόλεμο ο αριθμός των περιστατικών μειώθηκε προοδευτικά. Κατά τη δεκαετία του ΄70 οι κύριες εστίες επιδημικού τύφου στην Αφρική ήταν στην Αιθιοπία και στη Ρουάντα. Το 1981 έως το 1997 υπάρχουν αναφορές για σποραδικά κρούσματα στις περιοχές Νιγηρία και Αιθιοπία (211). Από τότε επιδημίες έχουν παρατηρηθεί σε ορεινές αγροτικές περιοχές της Αφρικής και της Νότιας Αμερικής. Το 1997 παρουσιάσθηκε μεγάλη επιδημία στο Μπουρούντι όπου υπήρχε εμφύλιος πόλεμος και εκατοντάδες χιλιάδες άτομα έγιναν πρόσφυγες και ζούσαν σε στρατόπεδα προσφύγων κατά την οποία νόσησαν περισσότερα από 43.000 άτομα και η θνησιμότητα ήταν 15% χωρίς θεραπεία. Επίσης, υπήρξαν επιδημίες σε φυλακές (212, 213, 214). Στη Ρωσία κατά τα έτη 1997 και 1998 υπήρξαν κρούσματα σε ψυχιατρικά νοσοκομεία (215,216). Ακόμη, σποραδικές περιπτώσεις αναφέρθηκαν στην Αλγερία (217). Σποραδικά κρούσματα αναφέρονται στις ΗΠΑ λόγω των ιπτάμενων σκίουρων που αποτελούν δεξαμενές της *R.prowazekii* (218, 208). Επίσης υπάρχει αναφερόμενη νόσος από την Αλγερία (218) και στην Ελβετία από το Μπουρουντί (219) καθώς και αυτόχθονη περίπτωση ΕπΤ το 2002 στην Γαλλία σε σχέση με πρόσφατη ορομετατροπή για την *R.prowazekii* (220).

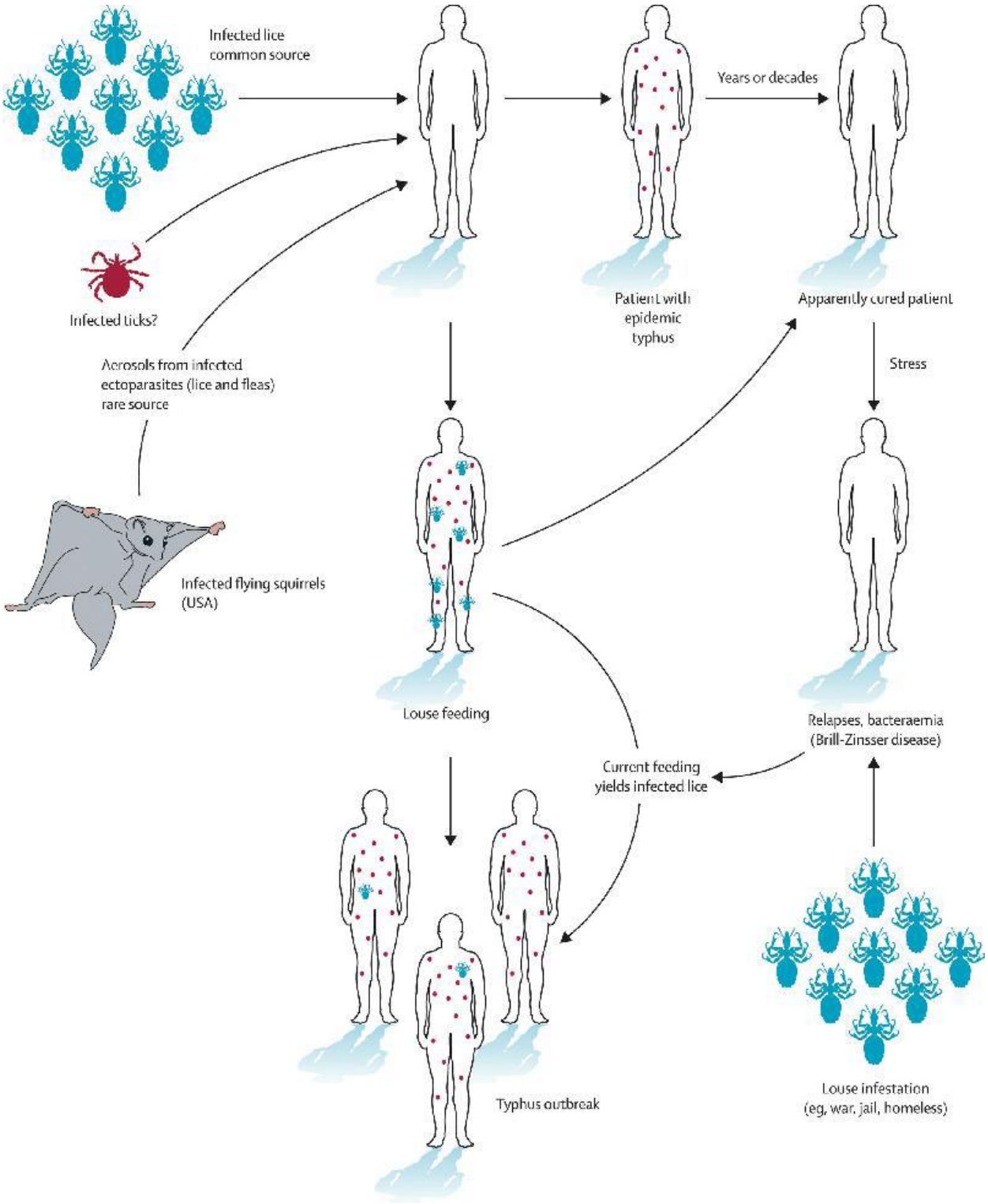
3.10.1.4 Κλινική εικόνα

Ο ΕπΤ εκδηλώνεται με δύο κλινικές μορφές: το πρωτοπαθές εμπύρετο νόσημα και την νόσο Brill-Zinsser.

Η πρωτοπαθής νόσος έχει χρόνο επώασης 10-14 μήνες, πρόδρομα συμπτώματα όπως κεφαλαλγία, ναυτία, αρθραλγίες και στη συνεχεία εμφανίζεται υψηλός πυρετός 39 - 40°C, ο οποίος συνοδεύεται από ρίγη, έντονη κεφαλαλγία (214) κατά την $5^{η}$ ημέρα ($4^{η}$-$7^{η}$) και εμφανίζεται εξάνθημα αρχικά κηλιδώδες, στη συνέχεια κηλιδοβλατινδώδες και συχνά πετεχειώδες ή πορφυρικό (211). Το εξάνθημα συχνότερα πρωτοεμφανίζεται στις μασχάλες, επεκτείνεται στον κορμό και στα άκρα και δεν αναφέρεται συμμετοχή του προσώπου των παλαμών και των πελμάτων. Το εξάνθημα έχει συχνότητα εμφάνισης στο 50% περίπου των ασθενών, πιθανόν όμως να είναι δυσδιάκριτο σε άτομα με σκουρόχρωμο δέρμα. Εσχάρες απουσιάζουν. Συμπτώματα από το ΚΝΣ όπως διανοητική σύγχυση, ψευδαισθήσεις, παραλήρημα, σπασμοί, κώμα, μηνιγγισμός, απώλεια ακοής, πάρεση κρανιακών νεύρων εμφανίζονται έως και στο 80% των περιστατικών. Τα περισσότερα από αυτά τα συμπτώματα υποχωρούν κατά την ανάρρωση (213). Άλλα συμπτώματα είναι ρίγος (82%), ανορεξία, μυαλγίες (70%), αρθραλγίες (50%), κοιλιακό άλγος (30-74%), ναυτία ή έμετος (48%), φωτοφοβία (33%) και επιπεφυκίτιδα (29-53%). Επίσης, συχνά εμφανίζονται συμπτώματα από το αναπνευστικό, βήχας 38-70% και η ανεύρεση διηθημάτων στην ακτινογραφία θώρακος που οφείλονται είτε σε μη καρδιογενές πνευμονικό οίδημα είτε σε δευτεροπαθή πνευμονική λοίμωξη. Σε σοβαρότερες περιπτώσεις εμφανίζεται καταπληξία , πολυοργανική ανεπάρκεια, γάγγραινα δαχτύλων, μύτης και έξω γεννητικών οργάνων.

Ο εργαστηριακός έλεγχος είναι ίδιος με τις άλλες ρικετσιώσεις. Ο ορολογικός έλεγχος με IF παρουσιάζει σε μεγάλο βαθμό διασταυρούμενες αντιδράσεις και απαιτείται περαιτέρω έλεγχος με western blot σε συνδυασμό με διασταυρούμενη απορρόφηση για τη διαφοροδιάγνωση των δύο νοσημάτων (214).

Η θνησιμότητα εξαρτάται από την ηλικία > 60 ετών, την γενική κατάσταση της υγείας και τα συνυπάρχοντα νοσήματα, την κατάσταση θρέψης, τυχόν καχεξία και την έγκαιρη χορήγηση της θεραπευτικής αγωγής . Πριν την ύπαρξη των αντιβιοτικών έφτανε έως και το 60%, ενώ σε έγκαιρη λήψη αντιβιοτικού έπεφτε στο 4%. Γενικά η θνησιμότητα σήμερα είναι 10-30%. Οι περισσότεροι θάνατοι συμβαίνουν την 12-$14^{η}$ μέρα της νόσου. Οι Rickets και Prowazekii πρωτοπόροι στην έρευνα της νόσου υπήρξαν και θύματα αυτής πεθαίνοντας από λοίμωξη με *R.prowazekii*. Προς τιμήν τους υπήρξε και η ονοματολογία των ρικετσιών που φέρουν το όνομά τους. Όπως προαναφέρθηκε μετά από την ανάρρωση από τη νόσο μπορεί να διατηρηθεί σε λανθάνουσα κατάσταση στους ιστούς του ασθενή η ρικέτσια εφ’όρου ζωής και σε καταστάσεις στρες η ανοσοκαταστολή του οργανισμού να αναζωπυρωθεί και να εκδηλωθεί ως νόσος Brill-Zinsser, που μοιάζει κλινικά με τον ΕπΤ είναι όμως ηπιότερη και μικρότερης διάρκειας.



εικ. 24. Βιολογικός κύκλος επιδημικού τύφου (Bechah Y. et al. 2008)

3.10.1.5 ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Θεραπεία εκλογής είναι η δοξυκυκλίνη 100mg ανά 12 ωρο για 7-10 ημέρες, θεραπεία 2ης εκλογής είναι η χλωραμφαινικόλη.

3.10.2.1 *R.typhi* –Ενδημικός τύφος (ΕΤ)

Αιτιολογικός παράγοντας του ενδημικού τύφου (murine typhus-τύφος των ποντικών) είναι η *Rickettsia typhi* (mooseri). Για αρκετά χρόνια δεν υπήρχε διάκριση μεταξύ του ενδημικού τύφου και του επιδημικού τύφου. Με την πάροδο όμως του χρόνου με περισσότερη μελέτη και παρατήρηση των δύο νόσων φαίνεται ότι υπήρχε ένα νόσημα που έμοιαζε κλινικά με τον Επ. τύφο, όμως είχε ηπιότερη κλινική πορεία, με μικρή θνητότητα και λιγότερες επιπλοκές. Παρουσιάζονταν με σποραδικά κρούσματα και μικρές επιδημίες στις νοτιοανατολικές περιοχές των ΗΠΑ και στο Μεξικό. Η υπεύθυνη ρικέτσια προκαλούσε οίδημα και φλεγμονή στο όσχεο των αρσενικών ινδικών χοιριδίων, εύρημα το οποίο δεν υπήρχε στον Επ. τύφο. Η δεξαμενή της νόσου βρέθηκε ότι ήταν οι αρουραίοι και μετέδιδαν την νόσο με τους ψύλλους των αρουραίων *Xenopsylla cheopis*. Αρχικά και οι ερευνητές που διέκριναν αυτές τις διαφορές μεταξύ των δύο μορφών τύφου θεωρούσαν ότι η αιτία ήταν ένα διαφορετικό στέλεχος της *R.prowazekii*. Οι επιδημίες στο Μεξικό ταυτίστηκαν αρχικά με τον ΕΤ, στην πραγματικότητα όμως ήταν ένα μίγμα περιπτώσεων ΕπΤ και ΕΤ που δεν ήταν δυνατόν να διαχωριστούν εργαστηριακά (221). Επίσης, υπήρξε σύγχυση μεταξύ της νόσου του Grll και του ΕΤ.

Οι *R.typhi* και *R.prowazekii* παρουσιάζουν πολλές ομοιότητες που ήταν και ο λόγος της δυσκολίας στη διάκριση σε διαφορετικά είδη. Μορφολογικά είναι όμοιες, εντοπίζονται και οι δύο μόνο στο κυτταρόπλασμα των ευκαρυωτικών κυττάρων στο ινδικό χοιρίδιο, προκαλούν όμοιες αντιδράσεις με εξαίρεση τον χιτώνα των οσχέων, παρουσιάζουν σε μεγάλο βαθμό διασταυρούμενες ορολογικές αντιδράσεις και υπάρχει διασταυρούμενη ανοσία μεταξύ των δύο ρικετσιών σε ζώα και στους ανθρώπους. Οι λιποσακχαρίτες τους είναι ανόμοιοι, περιέχουν στο DNA ίδιο ποσοστό C+G και ο βαθμός υβριδισμού του DNA τους είναι μεγάλος περίπου 70%.

3.10.2.2 Μετάδοση

Η *R.typhi* έχει σαν κύριο φορέα για τον άνθρωπο, τον ψύλλο των αρουραίων *Xenopsylla cheopis*. Έχει όμως βρεθεί και σε άλλα ήδη ψύλλων, όπως στον ψύλλο της γάτας και στον ψύλλο του ποντικού (222) καθώς και σε ψείρες σώματος του ανθρώπου (223, 224, 225), σε ψείρες τρωκτικών ,σε κρότωνες και ακάρεα. Η επιβίωση και η αναπαραγωγή του ψύλλου δεν επηρεάζεται από τις ρικέτσιες και υπάρχει δυνατότητα διοωοθηκηκής μετάδοσης στους απογόνους τους. Η ψείρα του σώματος όταν μολύνεται με την *R.typhi* υφίσταται τα ίδια βλαπτικά αποτελέσματα, όπως με την *R.prowazekii*. Οι κύριες δεξαμενές της *R.typhi* είναι οι αρουραίοι των ειδών *R.novergicus* και *R.rattus* που και μετά την μόλυνσή τους παραμένουν ρικετσιαιμικοί για 7-12 ημέρες. Είναι δε ασυμπτωματικοί, έχει όμως βρεθεί και σε άλλα είδη ζώων όπως σε ποντίκια, γάτες, γαλές, σκίουρους, μαρσιπομύες, ρακούν (226, 127). Οι ψύλλοι μετά την μόλυνσή τους απεκκρίνουν τις ρικέτσιες στα αποχωρήματά τους, όπου μπορούν να παραμείνουν βιώσιμες για μεγάλο χρονικό διάστημα έως και έτη και να μεταδίδουν τη νόσο μέσω εισπνοής μολυσμένων αποχωρημάτων για μεγάλο διάστημα μετά την εξαφάνιση των ψύλλων (227). Ο κυριότερος τρόπος μόλυνσης των ανθρώπων είναι τα μολυσμένα αποχωρήματα των ψύλλων τα οποία αποβάλλονται κατά τη διάρκεια του νύγματος και ακολούθως ενοφθαλμίζονται σε λύσεις της συνέχειας του δέρματος ή

στο σημείο του νύγματος ή σε εκδορές που δημιουργούνται από τον κνησμό του δέρματος. Μόλυνση με μολυσμένα αποχωρήματα μπορεί να γίνει μέσω των επιπεφυκότων. Με τον ίδιο τρόπο μπορεί να ενοφθαλμιστούν ρικέτσιες από ιστούς ψύλλων μετά τη σύνθλιψή τους. Επίσης, μπορούν να μεταδοθούν ρικέτσιες κατά τη διάκρκεια του νύγματος με αναγωγή του περιεχομένου του πεπτικού σωλήνα (228, 229). Ο άνθρωπος είναι τυχαίος ξενιστής της *R.typhi* και δεν συμμετέχει στον βιολογικό της κύκλο.

3.10.2.3 Κατανομή

Ο ΕΤ είναι μία ζωονόσος με παγκόσμια κατανομή σε περιοχές με διαφορετικές κλιματολογικές συνθήκες. Εμφανίζονται συχνότερα σε λιμάνια όπου μεταφέρονται οι αρουραίοι και οι ψύλλοι τους με τα πλοία. Επίσης, εμφανίζονται σε περιοχές με αγορές τροφίμων υπαίθριες και αποθήκες τροφίμων όπου βρίσκονται πολλοί αρουραίοι, γιατί βρίσκουν εύκολα τροφή. Μετά από οργανωμένες μυοκτονίες στις ανεπτυγμένες περιοχές σε συνδυασμό με χρήση εντομοκτόνων πριν τις μυοκτονίες η συχνότητα της νόσου έχει ελαττωθεί. Ανάλογα με τις συνθήκες σε διαφορετικές περιοχές τα κρούσματα εμφανίζονται σε αυτές τις περιοχές ενώ άλλα σε αγροτικές.

Εποχικά η νόσος εμφανίζεται σε έξαρση αργά το καλοκαίρι και νωρίς το φθινόπωρο, γιατί τότε οι ψύλλοι των αρουραίων είναι αφθονότεροι και επίσης υπάρχει μεγαλύτερη έκθεση των ανθρώπων λόγω εποχικής κινητικότητας σε περιβάλλον με ψύλλους και αρουραίους. Επιπλέον, ο ΕΤ υπάρχει και σε περιοχές που απουσιάζουν οι ψύλλοι και οι αρουραίοι και επομένως, όπως προαναφέρθηκε και άλλα σπονδυλωτά και αρθρόποδα συμμετέχουν στον βιολογικό κύκλο της *R.typhi*. Στις ΗΠΑ έχει προταθεί η ύπαρξη ενός περιστατικού επιδημιολογικού κύκλου του ΕΤ που περιλαμβάνει ως μεταδίδοντα τον ψύλλο *Ctenocephalides felis* και ως δεξαμενές της *R.typhi* οι ξενιστές των ψύλλων που είναι κυριως τα αδέσποτα σκυλιά, οι γάτες καθώς και οι μαρσιπομύες (226, 230, 231, 232, 233)

Στην Ελλάδα ο ΕΤ αναφέρθηκε για πρώτη φορά το 1934 και ακολούθως το 1948. Ο Dimizas ανέφερε το 1420 περιπτώσεις και 17 θανάτους. Το 1992 στην Εύβοια αναφέρθηκαν 49 περιπτώσεις(234) και ακολούθως με PCR-RFLP διαπιστώθηκε η παρουσία της *R.typhi* στους αρουραίους *Rattus norvegicus* (18%) και στους ψύλλους *Xenopsylla cheopis* (14%)σε χωριά της περιοχής που υπήρχε τουλάχιστον ένα περιστατικό ενδημικού τύφου. Η οροθετικότητα των αρουραίων ήταν για την *R.typhi* 92% σε τίτλους >1:80 και 42% σε τίτλους >1:240 (234, 235). Το 2002 αναφέρθηκαν 83 περιπτώσεις από τα Χανιά της Κρήτης (236) και το 2009 41 περιπτώσεις σε παιδιά στην Κρήτη (237). Σε οροεπιδημιολογική μελέτη στη Β. Ελλάδα αντισώματα έναντι στην *R.typhi* εμφάνιζε το 2% του πληθυσμού. Επίσης, τα τελευταία χρόνια αναφέρθηκαν ως case reports περιστατικά ΕΤ στις νότιες πολιτείες των ΗΠΑ (Καλιφόρνια), Κολομβία, Μεξικό, Χαβάη, Ταϊλανδή, Ινδονησία, Ν. Ζηλανδία, Νεπάλ, Ισπανία , Αυστραλία, Αλγερία, Αίγυπτο, Κύπρο.

3.10.2.4 Κλινική εικόνα

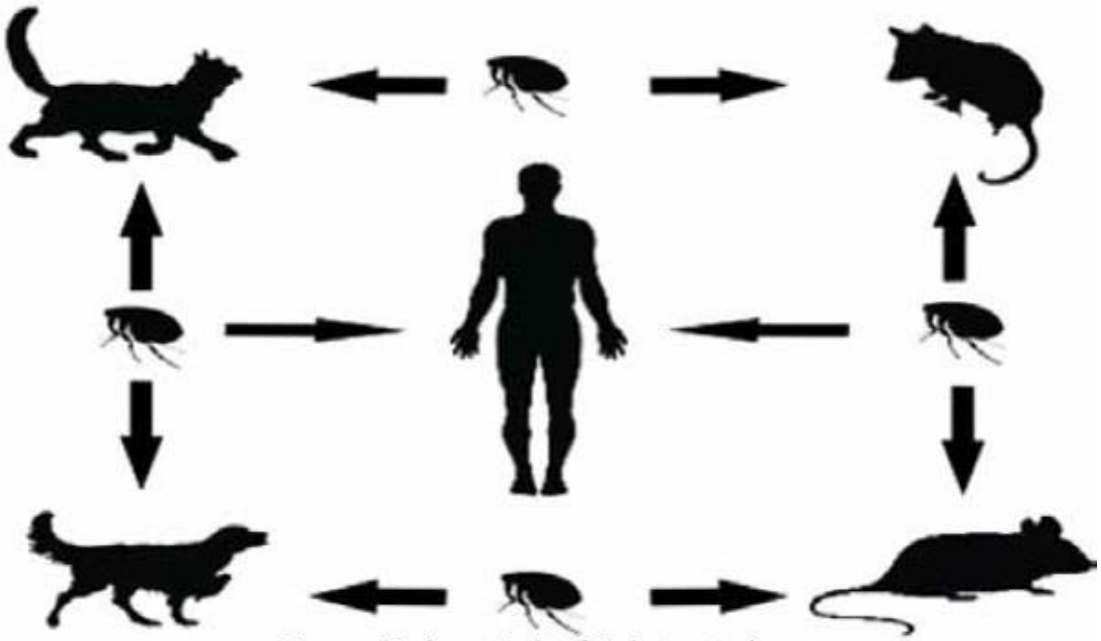
Ο ΕΤ έχει χρόνο επώασης 6-14 ημέρες με κύρια κλινικά συμπτώματα τον υψηλό πυρετό (39-40), αιφνίδια έναρξη με ρίγος. Χωρίς αγωγή ο πυρετός παραμένει υψηλός χωρίς ιδιαίτερες διακυμάνσεις για 8-12 ημέρες και ακολούθως για μία περίοδο 2-7 ημερών πέφτει προοδευτικά και παρουσιάζει μεγαλύτερες ημερήσιες διακυμάνσεις. Η κεφαλαλγία είναι συχνή και έντονη (238), εξανθήματα εμφανίζονται κατά μέσο όρο 3-8 ημέρες κυρίως μετά την εισβολή του πυρετού και διατηρείται κατά μέσο όρο 5 ημέρες (εύρος 1-12). Συνήθως, το εξάνθημα είναι κηλιδώδες, μπορεί να είναι κηλιδοβλατιδώδες,

διάχυτο ερύθημα, κηλιδώδες με πετεχειώδη στοιχεία, βλατιδώδες, πετεχειώδες και σπάνια πορφυρικό ή πολύμορφο. Συχνότερα παρουσιάζεται στον κορμό και μπορεί να βρεθεί στα άκρα με σπανιότερη συμμετοχή παλαμών και πελμάτων όπως επίσης και του προσώπου. Συνήθως, το εξάνθημα παρουσιάζεται αρχικά στον κορμό και ακολούθως επεκτείνεται στα άκρα μπορεί όμως να εμφανιστεί και το αντίστροφο (239), εσχάρα δεν παρατηρείται. Χαρακτηριστική της νόσου είναι η τριάδα των συμπτωμάτων-πυρετός, εξάνθημα, καφαλαλγία, όμως η καθυστέρηση στην εμφάνιση του εξανθήματος δεν βοηθά στην έγκαιρη διάγνωση της νόσου. Κατά τις 3 πρώτες ημέρες της νόσου η ανωτέρω τριάδα βρίσκεται στο 12,5-14% και στην πορεία στο 49% των περιπτώσεων (240, 238). Συμπτώματα από το πεπτικό, ναυτία, έμετοι, διάρροιες, κοιλιακό άλγος είναι λιγότερο συχνά και εμφανίζονται κυρίως στα παιδιά. Λιγότερο συχνά, επίσης, εμφανίζονται κακουχίες, ανορεξία, μυαλγία, αρθραλγίες, βήχας, επιπεφυκίτιδα, φωτοφοβία, διανοητική σύγχυση. Στην κλινική εξέταση - εξέλιξη μπορεί να διαπιστωθεί ηπατομεγαλία, σπληνομεγαλία και λεμφαδενοπάθεια, ενώ πνευμονικές διηθήσεις, πλευριτική συλλογή και οξεία νεφρική ανεπάρκεια παρατηρούνται σπανιότερα (232, 241, 236).

Η κλινική εικόνα της νόσου συνήθως είναι ήπια, χωρίς επιπλοκές. Χωρίς θεραπεία εμφανίζεται απυρεξία σε 7-14 ημέρες και η διάρκεια του πυρετού μπορεί να φτάσει τον 1 μήνα. Η θνησιμότητα είναι 0-4%, σε σοβαρότερες περιπτώσεις μπορεί να εμφανιστεί οξεία νεφρική ανεπάρκεια (242), έμφρακτα μεγάλων αγγείων όπως υποξία, εκδηλώσεις από το ΚΝΣ όπως διανοητική σύγχυση, λήθαργος, σπασμοί, κώμα, ημιπάρεση (243), άσυπτη μηνιγγίτιδα (244), κώφωση, διπλωπία και σε ασθενείς με ανεπάρκεια G-6-PD, αιμόλυση.

εικ.25 Εξάνθημα από ασθενή της μελέτης με *R.typhii*

εικ.26 Εξάνθημα από ασθενή της μελέτης με *R.typhi*



εικ.27 Βιολογικός Κύκλος της *R.typhi*

3.10.3 Ρικετσιώσεις της ομάδας Κηλιδ. Πυρετού (ΟΚΠ)

3.10.3.1 *R.rickettsii* Κηλιδώδες πυρετός βραχωδών Όρεων (ΚΠΒΟ)

Είναι από τις πρώτες ρικετσιώσεις που μελετήθηκαν και παρουσιάζει βαρύτατη κλινική εικόνα με θνησιμότητα που φτάνει το 70% (245). Η *R.rickettsii* μεταδίδεται με κρότωνες, επίσης πρόσφτα βρέθηκε ότι ο καφέ κρότωνας του σκύλου *Rhipicephalus sanguineus* είναι επίσης σημαντικός φορέας (246, 247). Ο κρότωνας είναι συγχρόνως και δεξαμενή της *R.rickettsii,* αφού η μετάδοση γίνεται διασταδιακά και διαωοθηκιακά.

3.10.3.2 Γεωγραφική κατανομή

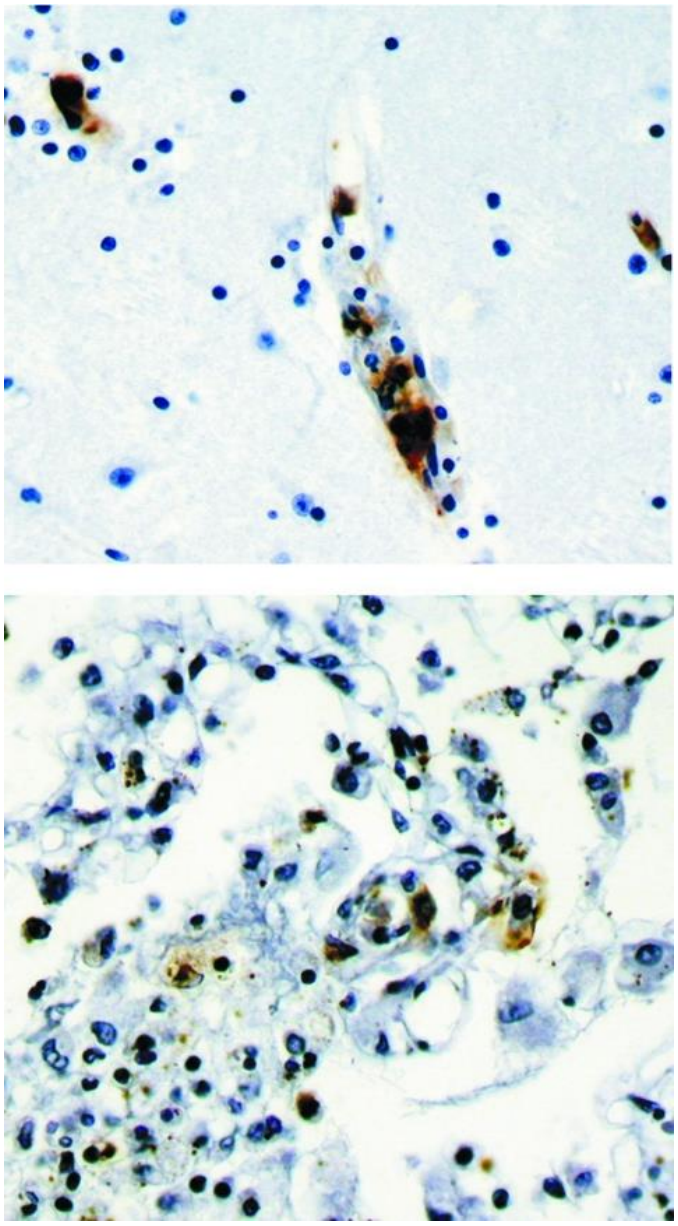
Ο ΚΠΒΟ πρωτοεμφανίστηκε στην Μοντάνα και το Αιντάχο των δυτικών ΗΠΑ, στη συνέχεια διαπιστώθηκε ότι ήταν παρόν σε όλες σχεδόν τις ΗΠΑ σε περιοχές δασώδεις και αγροτικές. Τα τελευταία χρόνια δίνεται η εντύπωση ότι εμφανίζεται συχνότερα στις ανατολικές ΗΠΑ, επίσης σε γειτονικές χώρες όπως Καναδάς, Μεξικό, Βραζιλία, Κολομβία και πιθανότατα υπάρχει σε όλη την Αμερικανική ήπειρο και ίσως να μην έχει αναγνωριστεί σε ορισμένες χώρες ακόμη. Από τα μέχρι τώρα δεδομένα φαίνεται ότι η νόσος περιορίζεται στο Δυτικό Ημισφαίριο.

3.10.3.3 Κλινική εικόνα

Ο ΚΠΒΟ εμφανίζεται κλινικά με δύο μορφές. Η μία με την βαριά κλινική εικόνα και η άλλη με πιο ήπια κλινική εικόνα, με ή χωρίς εξάνθημα. Λόγω της ανωτέρω διαπίστωσης είναι υπό έρευνα το κατά πόσο η νόσος είναι υπεύθυνη για την ηπιότερη μορφή του κηλιδώδους πυρετού ή άλλες νεότερες ρικέτσιες που δίνουν μεταξύ τους διασταυρούμενες αντιδράσεις (248). Επίσης, διάφορα στελέχη της *R.rickettsii* παρουσιάζουν διαφορετική παθογενετικότητα. Ο χρόνος επώασης μετά το νύγμα του κρότωνα είναι 3-12 ημέρες. Το νύγμα του κρότωνα συνήθως γίνεται αντιληπτό από το 58-80% των ασθενών. Η νόσος αρχίζει αιφνίδια με υψηλό πυρετό 39-40, που χωρίς θεραπεία διαρκεί 15-20 ημέρες με ρίγη, έντονη κεφαλαλγία (70%) γενικευμένη ή μετωπιαία. Εξάνθημα εμφανίζεται στο 90% κατά τη $2^{η}$ ημέρα έως $5^{η}$ ημέρα του πυρετού συνήθως στα άκρα και επεκτείνεται κεντρικότερα στους καρπούς, βραχίονες, πέλματα παλάμες (50-80%) και συχνά στο πρόσωπο. Αρχικά είναι κηλιδώδες και τις επόμενες 2-3 ημέρες είναι κηλιδοβλατιδώδες με βαθύ κόκκινο χρώμα που δεν υποχωρεί πλήρως στην πίεση. Την $5^{η}$ ημέρα γίνεται πετεχειώδες στο 30-60% των περιπτώσεων, τα στοιχεία συρρέουν και μπορούν να εμφανίσουν μεγάλες εκχυμώσεις. Χαρακτηριστικό είναι το σημείο (Rumpel-Leade) που μετά από πίεση στο δέρμα μπορεί να εμφανιστεί εκχύμωση. Οι πετέχειες αποτελούν κακό προγνωστικό σημείο και η θεραπεία πρέπει να αρχίζει πριν την εμφάνισή τους. Σε σκουρόχρωμους ή νέγρους το εξάνθημα μπορεί να ξεφύγει από την παρατήρηση. Οίδημα εμφανίζεται στο πρόσωπο ιδίως περικογχικά καθώς και στις ραχιαίες επιφάνειες χεριών, ποδιών και αποτελεί χαρακτηριστικό της νόσου.

Σπάνια σε βαριές περιπτώσεις εμφανίζεται γάγγραινα στα δάχτυλα, στα πτερύγια των αυτιών και στα εξωτερικά γεννητικά όργανα. Με την ανάρρωση υποχωρεί το εξάνθημα αλλά παραμένει η υπέρχρωση του δέρματος που διατηρείται για μερικές εβδομάδες. Επίσης, μετά την ανάρρωση εμφανίζεται ήπια απολέπιση του δέρματος. Η συχνή υπεραιμία του επιπεφυκότος και το έντονο περικογχικό οίδημα βοηθά στη διάγνωση. Άλλα συμπτώματα είναι η ανορεξία, η ναυτία, έμετοι (60%) κοιλιακό άγος, ενώ σε μερικές περιπτώσεις έντονο (ΔΔ σε χολοκυστίτιδα, οξεία κοιλία), διάρροιες (20%), μυαλγίες 92% εντονότερες στη ράχη και στις κνήμες, σημειολογία από το ΚΝΣ, αυπνία,

μηνιγγισμός. Επίσης, συχνά παρατηρείται ηπατομεγαλία, σπληνομεγαλία. Στα παιδιά είναι σπανιότερη η οσφυαλγία και συχνότερα εξάνθημα (249, 250, 251). Χωρίς θεραπεία η θνησιμότητα είναι πολύ υψηλή. Αναφέρονται περί το 70% σε εργάτες από τη Μοντάνα (245), ενώ στη Βραζιλία το 1990 η θνητότητα ήταν 40%. Σήμερα η θνητότητα χωρίς θεραπεία είναι περίπου 20%. Τελευταία στις ΗΠΑ η συχνότητα της νόσου τετραπλασιάστηκε ενώ η θνητότητα της νόσου έπεσε στο 0,3 - 2,2%. Η θνητότητα αυξάνεται με την ηλικία των ασθενών > 40 ετών, τη θεραπεία με χλωραμφαινικόλη και από την αρχική θεραπεία με αντιβιοτικά τετρακυκλινης και με την καθυστέρηση στη διάγνωση πάνω από 5 ημέρες.



εικ.28 Ανοσοϊστοχημική χρώση

3.10.4 *R.conorii*

Η *R.conorii* προκαλεί εμπύρετο νόσημα, όπως και οι άλλες ρικέτσιες της ΟΚΠ με μερικές κλινικές ιδιαιτερότητες. Τελευταία έχουν διαιρεθεί σε 4 υποείδη της *R.conorii*. Οι γενικές διαφορές μεταξύ τους είναι ελάχιστες για να αντιστοιχούν σε διαφορετικά είδη, παρουσιάζουν όμως με την MLST (multi locus sequence typing) και με τη MST (multispacer typing) 4 διαφορετικούς γονότυπους και 4 διαφορετικούς ορολογικούς τύπους. Επίσης παρουσιάζουν φαινοτυπικές διαφορές και κάποιες διαφορές στην κλινική εικόνα και σε ορισμένα επιδημιολογικά χαρακτηριστικά (252). Αυτός ο διαχωρισμός της *R.conorii* σε υποείδη δεν βρίσκει σύμφωνους όλους τους ρικετσιολόγους, πολλοί από τους οποίους θεωρούν ότι όλα τα στελέχη ανήκουν στο ίδιο είδος που απλώς παρουσιάζει μεγαλύτερα γενετική ποικιλομορφία (253).

3.10.4.1 R.conorii subsp *conorii* Μεσογειακός κηλιδώδης πυρετός

Το στέλεχος Malish 7 απομονώθηκε στην Αφρική, το στέλεχος Kenyan (απομονώθηκε στην Κένυα), το στέλεχος Morocan (απομονώθηκε στο Μαρόκο) καθώς και πολλά στελέχη που έχουν απομονωθεί σε χώρες της Μεσογείου ανήκουν σε συγκεκριμένο υποείδος. Το στέλεχος Malish 7είναι το αίτιο του Μεσογειακού κηλιδώδους πυρετού (ΜΚΠ). Ο ΜΚΠ ονομάστηκε Boutonnese fievre (Βλατιδωδης πυρετός) από τον Conor. Ο ΜΚΠ εθεωρείτο μια ρικετσίωση με καλή πρόγνωση μέχρι το 1980, που αναφέρθηκε το πρώτο θανατηφόρο περιστατικό.

3.10.4.2 Μετάδοση

Η *R.conorii* έχει σαν κύριο φορέα τον καφέ κρότωνα του σκύλου *Rhipicephalus sanguineus*. Οι ενήλικες κρότωνες αυτού του είδους έχει βρεθεί ότι παρασιτούν και σε άγρια ζώα όπως σκαντζόχοιρους, ασβούς, αλεπούδες, κατσίκες, πρόβατα ενώ οι προνύμφες παρασιτούν σε μικρότερου μεγέθους άγρια θηλαστικά. Μέχρι σήμερα δεν έχει διαπιστωθεί το τρωκτικό δεξαμενή της *R.conorii* από την οποία μολύνονται οι μη μολυσμένοι κρότωνες. Πιθανόν αυτόν το ρόλο να έχουν κουνέλια και μικρά τρωκτικά, που ζουν σε φωλιές κουνελιών χωρίς αυτό να έχει τεκμηριωθεί απόλυτα (254, 255). Στους σκύλους έχει μικρή ρικετσιαιμία 2-10 ημερών και διαλειπούσα (256, 257). Η σύχρονη απομύζηση στο ίδιο ζώο σε γειτονική θέση από διαφορετικούς κρότωνες πιθανόν να συμβάλλει στη οριζόντια μετάδοση της ρικέτσιας. Οι σκύλοι παίζουν σημαντικό ρόλο στην επιδημιολογία του ΜΚΠ, γιατί μεταφέρουν τους μολυσμένους κρότωνες εγγύς του ανθρώπου. Στο μικροπεριβάλλον του σπιτιού μπορούν να βρεθούν όλο το χρόνο στους σκύλους όλες οι μορφές των κροτώνων.

Ο καφέ κρότωνας του σκύλου δεν είναι ανθρωπόφιλος αλλά περιστασιακός μόνο ξενιστής του ανθρώπου εάν δεν υπάρχει σκύλος να απομυζήσει. Με την αύξηση της θερμοκρασίας γίνεται περισσότερο ανθρωπόφιλος. Στην Ελλάδα και συγκεκριμένα στη Βόρεια Ελλάδα βρέθηκε ότι το 81,5% των παρατηρούμενων κροτώνων στην ανθρωπότητα ήταν το *R.sanguineus*, ενώ στην Ισπανία μόνο το 1,1% (253). Γενικά το ποσοστό των μολυσμένων κροτώνων με *R.conorii* είναι μικρό < 1% (258). Οι κρότωνες αποτελούν τη δεξαμενή της *R.conorii* και σε αυτούς μεταδίδεται διασταδιακά και διαωοθηκιακά. Η μετάδοση στον άνθρωπο γίνεται με το νύγμα του κρότωνα, αλλά έχει αναφερθεί μετάδοση μέσω του επιπεφυκότα.

3.10.4.3 Επιδημιολογία

Ο ΜΚΠ είναι νόσημα ενδημικό των χωρών πέριξ της λεκάνης της Μεσογείου. Η *R.conorii* έχει διαπιστωθεί σε ανθρώπους ,ζώα και κρότωνες σε πολλές χώρες της Μεσογείου Ισπανία, Πορτογαλία, Ιταλία, Σικελία, Κροατία, Σλοβενία, Κύπρο, Ελλάδα (259), καθώς και σε χώρες της Β. Αφρικής, σε χώρες της υποσαχάριας Αφρικής, Ν Αφρική, Κορέα, Κίνα, Ασία καθώς επίσης πρόσφατα έχουν αναφερθεί περιστατικά στη Β. Ευρώπη από μεταφορά *R.shaguinneus* με σκύλους από ενδημικές περιοχές. Συνήθως τα κρούσματα είναι σποραδικά, ενώ σε μερικές περιπτώσεις αναφέρεται συρροή κρουσμάτων. (260, 261). Οι περισσότεροι ασθενείς είναι άνδρες πιθανότατα λόγω αυξημένης έκθεσης σε κρότωνες στην εργασίας τους. Οι μισοί ασθενείς αναφέρουν νύγμα κρότωνα ενώ σε ποσοστό 10% ανευρίσκεται κρότωνας πάνω στον ασθενή όταν ζητά ιατρική βοήθεια (189). Ο σκύλος αναφέρεται στις επαφές στη μεγαλύτερη πλειοψηφία των ασθενών.

3.10.4.4 Κλινική εικόνα

Παλαιότερα ο ΜΚΠ θεωρούνταν η μόνη ρικέτσια της ομάδος του ΚΠ στις χώρες της Μεσογειακής λεκάνης και το μοναδικό αίτιο είναι η *R.conorii*. Πρόσφατα, όμως, εμφανίστηκαν και άλλες ρικέτσιες σε αυτές τις περιοχές και έτσι φαίνεται ότι οι κλινικές μελέτες που αφορούν την περιοχή αυτή περιλαμβάνουν την κλινική εικόνα διαφορετικών ρικετσιώσεων λόγω διασταυρούμενων αντιδράσεων στην ορολογική μελέτη. Ο χρόνος επώασης είναι 6,6 ± 2,1μέρες (189). Αρχικά εμφανίζεται μαύρη κηλίδα ή εσχάρα ενοφθαλμισμού tache noir-μαύρη κηλίδα (72-89%) στο σημείο του νύγματος. Η εντόπιση είναι στα άκρα ή στον κορμό, πρέπει όμως να αναζητούνται και σε άλλες περιοχές όπως όσχεο, βουβωνικές χώρες και οι μασχάλες που συχνά δεν επισκοπούνται κατά την κλινική εξέταση. Στα παιδιά κυρίως λόγω του ότι κατά την περιοχή των παιχνιδιών έρχονται σε επαφή με το χώμα εντοπίζονται στην περιοχή του τραχήλου, της κεφαλής και πτερύγια ωτός (138, 190). Η εσχάρα είναι κατά κανόνα μονήρης, όμως σπάνια αναφέρονται και πολλαπλές σε επιβεβαιωμένες περιπτώσεις. Επίσης, έχουν αναφερθεί περιπτώσεις με εσχάρα χωρίς εξάνθημα (262, 259). Εν συνεχεία, ακολουθεί πυρετός με αιφνίδια εισβολή υψηλού πυρετού 39-40, που συχνά συνοδεύεται με ρίγη. Κατά την $2^{η}$-$5^{η}$ ημέρα εμφανίζεται εξάνθημα κηλιδοβλατιδώδες στο 96% των περιπτώσεων που συχνά περιλαμβάνει και πέλματα και παλάμες αλλά δεν περιλαμβάνει το πρόσωπο. Στα παιδιά συνήθως είναι κηλιδώδες, εμφανίζεται στους καρπούς και στους αστραγάλους και ακολούθως επεκτείνεται στα πέλματα, τις παλάμες και γίνεται κηλιδοβλατιδώδες. Το εξάνθημα σπάνια γίνεται πορφυρικό, πετεχειώδες. Σε ορισμένες μελέτες αναφέρεται και σε μικρό ποσοστό βλατιδοφυσαλιδώδες εξάνθημα με μικρά φυσαλιδώδη στοιχεία σε ερυθηματώδη βάση ή πάνω σε βλατίδα. Ο αριθμός των κηλίδων του εξανθήματος ποικίλλει και αναφέρονται περιπτώσεις λίγων στοιχείων που θυμίζουν τσιμπήματα εντόμων (138). Επίσης, έχουν επιβεβαιωθεί περιπτώσεις χωρίς εξάνθημα (263) με ή χωρίς εσχάρα ενοφθαλμισμού (264). Η κεφαλαλγία είναι πολύ συχνή στους ενήλικες αλλά σπανιότερα στα παιδιά. Λεμφαδενοπάθεια σύστοιχη με εσχάρα δεν αναφέρεται, είναι όμως συχνή σε παιδιά (33-77%). Αναφέρονται λίγες περιπτώσεις με μοναδική

κλινική εκδήλωση λεμφαδενίτιτδα, λεμφαδενίτιδα με εσχάρα, η εξελιγμένη βλατίδα με ή χωρίς πυρετό (189, 190, 186, 138, 439). Η συμπτωματολογία συμπληρώνεται από κεφαλαλγία, μυαλγίες , αρθραλγίες, συμπώματα από το γαστρεντερικό, υπεραιμία των επιπεφυκώτων, υπεραιμία του φάρυγγα (265). Σπανιότερα έχουμε εκδηλώσεις από το ΚΝΣ (διαταραχές συνείδησης, κώμα μηνιγγίτεδες). Άλλα κλινικά ευρήματα είναι η σπηνομεγαλία, ηπατομεγαλία (190). Επίσης, ευρήματα από το οπίσθιο διαμέρισμα των οφθαλμών είναι ιδιαίτερα συχνό (266). Από μελέτες σε επιβεβαιωμένα περιστατικά ΜΚΠ από *R.conorii* σε Αλγερία , Μαρόκο και οι Γαλλία, οι ασθενείς εμφάνισαν σε εκατοστιαίο ποσοστό την ακόλουθη συμπτωματολογία κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα. Πυρετό 100%, κεφαλαλγία 48-100%, γενικευμένο κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα 93-100%, πετεχειώδες (15%), εκτεταμένα πορφυρικά στοιχεία 1,8%, με συρροήν εξάνθημα 43%, εσχαρά (74-94%). Πολλαπλές εσχάρες (1-14%), κακουχία (92), μυαλγιες (88-95%), ναυτία, εμετοί (72%, δυσκοιλιότητα (19%), διάρροιες (8%), κοιλιακό άλγος (17%) επιπεφυκίτιδα (5-46%, λεμφαδενίτιτδα (1-15%), μηνιγγισμό (5%), διαταραχές επιπέδου συνείδησης, οιδήματα άκρων (27%), βήχα (35%). Η θνησιμότητα ήταν 2,3 -5% (189). Οι πολλαπλές εσχάρες στις χώρες της Β.Αφρικής και οι λιγότερες στις Ευρωπαικές χώρες ίσως να σχετίζονται με την μειωμένη επιθετικότητα των κροτώνων λόγω της διαφοράς θερμοκρασίας. Επιπλοκές έχουν αναφερθεί στο 12,7% (1-20%) των περιπτώσεων (267). Ειδικότερα οι επιπλοκές περιλαμβάνουν διάμεσες πνευμονικές διηθήσεις (21%) (189, 268), πλευρίτιδα (269, 456), πνευμονικό οίδημα, νεφρική ανεπάρκεια, μηνιγγοεγκεφαλίτιδα (270), αταξία (271), Guillain Barre σύνδρομο, νευροαισθητήριο, βαρυκοία, ηπατίτιδα, αρθρίτιδα, περικαρδίτιδα, πνευμονική εμβολή, εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση, κυκλοφορική καταπληξία, πολυοργανική ανεπάρκεια, αυτόματη ρήξη σπληνός (273). Η θνητότητα κυμαίνεται περίπου στο 2% (0-6%) αλλά αναφέρεται όμως στην Πορτογαλία θνητότητα μεταξύ των νοσηλευόμενων ασθενών 21-32% (274, 275). Η θνητότητα της νόσου διαφέρει μεταξύ διαφορετικών περιοχών, ακόμα και της ίδιας της χώρας, που πιθανόν να σχετίζονται με την αυξημένη παθογενετικότητα ορισμένων στελεχών. Θανατηφόρο περιστατικό έχει αναφερθεί και στην Ελλάδα (272).

Παράγοντες κινδύνου για δυσμενή πρόγνωση είναι η μεγάλη ηλικία, η ανεπέρακεια G-6-PD, η ανοσοκαταστολή, ο αλκοόλισμός, ο σακχαρώδης διαβήτης , η καθυστερημένη διάγνωση, η προηγειθείσα χρήση φθοριοκινολών και η αρχική χρησιμοποίηση μη αποτελεσματικών αντιβιοτικών (276, 275, 277).

Κλινικά σημεία δυσμενούς πρόγνωσης είναι η απουσία εξανθήματος, νεφρική ανεπάρκεια, συμπτώματα από το γαστρεντερικό σωλήνα, διανοητική σύγχυση, αφυδάτωση, ηπατομεγαλία, αυξημένες τιμές ηπατικών ενζύμων και CPK, υπερχολερυθρυναιμία. Από τα παραπάνω, με θανατηφόρο έκβαση, συσχετίζονται η νεφρική ανεπάρκεια, η απουσία εξανθήματος και η υπερχολερυθρυναιμία (274).

3.10.5.1 *R.sibirica subsp mongolotimonae*

Αρχικά η ρικέτσια αυτή απομονώθηκε από ένα κρότωνα στη Μογγολία και η παθογενετικότητά της αποδείχθηκε το 1996 μετά την απομόνωσή της από εσχάρα ασθενούς που παρουσίαζε κλινική εικόνα ρικετσίωσης, στη Μασσαλία στη Γαλλία. Η ασθενής νόσησε το μήνα Μάρτιο, εποχή ασυνήθιστη για ΜΚΠ στη συγκεκριμένη περιοχή, με κύρια συμπτώματα πυρετό, αραιό γενικευμένο κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα, εσχάρα ενοφθαλμισμού στη βουβωνική χώρα της ασθενούς καθώς και μικρή αύξηση των ηπατικών ενζύμων. Η μόνη πιθανή έκθεση ήταν από χρήση φυτικού λιπάσματος , που χρησιμοποίησε η ασθενής στις γλάστρες της, το οποίο είχε συλλεγχθεί από τον άντρα της σε σημείο που φωλιάζουν μεταναστευτικά πουλιά. Η ασθενής νοσηλεύτητκε σε νοσοκομείο της Μασσαλίας (278). Το δεύτερο περιστατικό διαγνώσθηκε το Μάιο του 1998 και αφορούσε άντρα HIV θετικό με κύρια συμπτώματα υψηλό πυρετό, κεφαλαλγία, μυαλγίες, εσχάρα ενοφθαλμισμού, σύστοιχη λεμφαδενίτιδα, λεμφαγγείτιδα από το σημείο της εσχάρας έως τους σύστοιχους λεμφαδένες, ενώ δεν εμφάνιζε εξάνθημα. Το 2002 υπήρξε διάγνωση τρίτου περιστατικού στη Ν. Αφρική. Η εικόνα ήταν ανάλογη με τα προηγούμενα, πυρετός, κεφαλαλγία, εσχάρα σε δάχτυλο του ποδιού, σύστοιχη βουβωνική λεμφαδενίτιδα και λεμφαγγείτιδα ενώ απουσίαζε το εξάνθημα (281). Το 2001 η συγκεκριμένη ρικέτσια ανιχνεύθηκε σε κρότωνα αγελάδος στον Νίγηρα της Αφρικής (279). Οι συγκεκριμένοι κρότωνες παρασιτούν σε μεταναστευτικά πουλιά (280). Το 2005 προτάθηκε η λοίμωξη από τον συγκεκριμένο κρότωνα να ονομαστεί ρικετσίωση σχετιζόμενη με λεμφαγγείτιδα, λόγω του ότι πολύ σημαντικό ποσοστό των ασθενών παρουσιάζουν λεμφαγγείτιδα. Μέχρι σήμερα έχουν αναφερθεί 16 περιστατικά σε Νότιο Γαλλία, Νότιο Αφρική, Πορτογαλία, Ισπανία, Αλγερία, Αίγυπτο, χώρες οι οποίες βρίσκονται στην πορεία των μεταναστευτικών πτηνών.

3.10.5.2 Κλινική εικόνα

Ο χρόνος επώασης της συγκεκριμένης ρικέτσιας είναι 3-6 ημέρες. Συνολικά τα ευρήματα από τα 16 περιστατικά ήταν: πυρετός 38,5-39 (16/16), ρίγη (3-16), εξάνθημα (11-16), βλάβη ενοφθαλμισμού (13/16), μυαλγίες (13/16), αρθραλγίες 3/16), λεμφαδενίτιδα (6/16), αγγειίτιδα του αμφιβληστροειδούς (1/16). Εκτός του πυρετού, που μπορεί να είναι το μόνο σύμπτωμα, το εξάνθημα είναι κηλιδοβλατιδώδες και μπορεί να περιλαμβάνει πέλματα και παλάμες και τα στοιχεία του μπορεί να είναι από πολύ λίγα έως άφθονα. Δεν έχει αναφερθεί αιμορραγικό εξάνθημα. Εσχάρα αναφέρεται στα κάτω άκρα, βουβωνικές χώρες, κορμό, πρόσωπο και σπανιότερα αναφέρεται στα δάχτυλα των ποδιών.

Η λεμφαδενίτιδα είναι σύστοιχη του σημείου ενοφθαλμισμού και περιγράφεται και χωρίς την παρουσία εσχάρας, είναι επώδυνη και φθάνει μέχρι 3cm. Επεκτείνεται από το σημείο έως τους σύστοιχους λεμφαδένες. Είναι ασυνήθιστη στις άλλες ρικετσιώσεις, περιγράφεται μόνο στην *R.heilongiiangensis* (15%) και στην *R.africae*. Τα υπόλοιπα εργαστηριακά ευρήματα είναι τυπικά των ρικετσιώσεων. Η μέση ηλικία των ασθενών είναι 50 έτη (20-76) , την άνοιξη νόσησαν 7, το φθινόπωρο 2, το καλοκαίρι 6 και το χειμώνα 1. Πολλοί ήταν ασχολούμενοι με γεωργικές εργασίες, ενώ αρκετοί αναφέρουν επαφή με κατοικίδια, άγρια ζώα και κρότωνες. Η πορεία της νόσου ήταν ήπια σε όλους τους ασθενείς. Μόνο ένας ασθενής παρουσίασε επιδείνωση της νεφρικής ανεπάρκειας. Θεραπευτικά χορηγήθηκε δοξυκυκλίνη, η αζιθρομυκίνη και η απυρεξία επήλθε σε 48 ώρες, ενώ σε ασθενή με HIV σε 15 ημέρες. Σε σχέση με τον ΜΚΠ η σχετιζόμενη με λεμφαγγείτιδα ρικετσίωση (LAR) που συνυπάρχει στις Μεσογειακές χώρες έχει περισσότερα κρούσματα τη άνοιξη, ενώ ο ΜΚΠ εμφανίζεται το καλοκαίρι. Η διαφορετική εποχική κατανομή των κρουσμάτων καθώς και η παρουσία πολλαπλών εσχάρων σχετίζονται με τη διαφορετική εποχή αυξημένης δραστικότητας των κροτώνων ξενιστών, αλλά και την επιθετική συμπεριφορά των διαφόρων ειδών έναντι των ανθρώπων.

3.10.6 *Rickettsia australis* – Queenslandtick typhus

Το 1946 αναγνωρίστηκε ο κροτωνογενής τύφος του Queensland (QTT), όταν στρατιώτες στην περιοχή παρουσίασαν εμπύρετο νόσημα με εσχάρα και φυσαλιδώδες εξάνθημα (282). Η R australis φυλογενετικά βρίσκεται σε ακραία θέση στο φυλογενετικό δέντρο των ρικεστιών της ομάδας των κηλιδώδων πυρετών και ανήκει στην ίδια ομάδα με την *R.akari* και την *R.felis*. Οι τρεις αυτές ρικέτσιες έχουν προταθεί να ενταχθούν σε μία μεταβατική ομάδα (transitional group) μεταξύ των ρικετσιών του ΟΚΠ και ΟΤ. Ο κύριος μεταβιβαστής της είναι ο κρότωνας *Ixodes holocyclus* , ο οποίος προσβάλλει συχνά τον άνθρωπο και παρασιτεί σε μια μεγάλη ποικιλία σπονδυλωτών, όπως κατοικίδια (σκυλιά), τρωκτικά, μαρσιποφόρα. Ο QTT εξαπλώνεται γεωγραφικά σε όλη την Ανατολική Αυστραλία (283). Ο μεγαλύτερος αριθμός των κρουσμάτων εμφανίζεται μεταξύ Ιουνίου-Νοεμβρίου (χειμώνας, άνοιξη στην Αυστραλία). Η κλινική εικόνα είναι ήπια έχουν όμως αναφερθεί και βαριά και θανατηφόρα περιστατικά (284, 285, 286).

εικ.29 Mcbride, W. J. H., Hanson, J. P., Miller, R., & Wenck, D. (2007). Fever Group, 13(11), 11–13.

3.10.7 *Rickettsia akari*

Ένα μυστηριώδες εμπύρετο εξανθηματικό νόσημα το οποίο εμφανίσθηκε το 1946 στη Νέα Υόρκη με συρροή κρουσμάτων με βλατιδοφυσαλιδώδες εξάνθημα που θύμιζε ανεμοβλογιά (Rickettsialpox). Η *R.akari* μεταδίδεται με κάθετη ωοθηκιακή μετάδοση. Ο κύριος ξενιστής είναι ο κοινός ποντικός των σπιτιών *Mus musculus* και η κατανομή του είναι παγκόσμια. Επίσης συναντάται και σε μερικά είδη αρουραίων και σε μερικά τρωκτικά (287) καθώς επίσης σε σκύλους και σε γάτες (288, 289). Μεταδίδεται με το αιματοφάγο ακάρι *Liponyssoides sanguineus,* που αποτελεί τη δεξαμενή της λόγω διασταδιακής και διοωθηκής διάδοσης.

Η *R.akari* έχει βρεθεί και σε άλλες περιοχές των ΗΠΑ, καθώς και σε άλλες χώρες Ευρώπη, Ασία, Ν. Αφρική. Τα περιστατικά εμφανίζονται όλο το χρόνο. Ο άνθρωπος σπάνια αντιλαμβάνεται το νύγμα το οποίο διαρκεί για μικρό χρονικό διάστημα, καθώς το μέγεθος του ακάρεος είναι πολύ μικρό. Μετά το νύγμα εμφανίζεται σε 7 ημέρες δερματική βλάβη στο σημείο του νύγματος και σε 10 ημέρες πυρετός. Η βλάβη ενοφθαλμισμού παρατηρείται στο 83-100% των νοσούντων. Η εξέλιξη είναι βλατίδα φυσαλίδα εσχάρα με σύστοιχη λεμφαδενίτιδα. Η διάρκεια του εξανθήματος είναι 1-4 ημέρες και κατά την έναρξη του πυρετού είναι αραιό, περιλαμβάνει πρόσωπο, τριχωτό της κεφαλής και σπάνια πέλματα και παλάμες. Αρχικά είναι κηλιδώδες, εν συνεχεία κηλιδοβλατιδώδες και μερικές βλάβες σχηματίζουν φυσαλίδα με

θολερό υγρό. Σπάνια εμφανίζεται και στο βλεννογόνο του στόματος με βλατίδες φυσαλίδες διαβρώσεις, που συνήθως υποχωρούν σε 48 ώρες. Ο πυρετός 38-40 χωρίς θεραπεία υποχωρεί σε 7-21 ημέρες. Η υπόλοιπη συμπτωματολογία είναι παρόμοια. Με τις άλλες ρικετσιώσεις κεφαλαλγία (90-100%), μυαλγίες, επιπεφυκίτιδα, ναυτία, έμετοι, αιμορραγίες από τους βλεννογόνους, σπληνομεγαλία. Μερικές φορές εμφανίζεται ηπατίτιδα. Εργαστηριακά παρατηρείται λευκοπενία, μονοπυρήνωση παρομοιάζουσα με την λοιμώδη μονοπυρήνωση. Θανατηφόρα περιστατικά δεν έχουν αναφερθεί. Η κύρια διαφορά της *R.akari* με τις υπόλοιπες είναι ότι δεν προσβάλλει τα ενδοθηλιακά κύτταρα αλλά μακροφάγα. Ιστολογικά οι εσχάρες δείχνουν λεμφοϊστοκυτταρική περιαγγειακή αγγείτιδα.

3.10.8 *Rickettsia japonica*- Ιαπωνικός κηλιδώδης πυρετός

Τρία περιστατικά στην περιοχή Skikoku της Ιαπωνίας το 1984 με εμπύρετο εξανθηματικό νόσημα ήταν η πρώτη εκδήλωση της νέας ρικέτσιας *R.japonica* (290). Η ρικέτσια απομονώθηκε σε κρότωνες από την Ιαπωνία και τη Ν. Κορέα. Έχει παρατηρηθεί σε παραλιακές περιοχές της νοτιοδυτικής και κεντρικής Ιαπωνίας κυρίως στις ακτές του Ειρηνικού ωκεανού (291, 292). Τα κρούσματα εμφανίζονται μεταξύ Απριλίου και Οκτωβρίου με έξαρση τους καλοκαιρινούς μήνες (293). Περιοχές με φυτείες μπαμπού, καλλιεργήσιμοι αγροί και παραλιακοί λόφοι ευνοούν την εμφάνιση της νόσου. Χρόνος επώασης αναφέρονται οι 2-8 ημέρες.

Η κλινική εικόνα περιλαμβάνει υψηλό πυρετό (38,5-40), ρίγη, κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα, γενικευμένο με εμφάνιση σε πέλματα και παλάμες, εμφανίζεται 2-3 ημέρες μετά την εμφάνιση του πυρετού και μπορεί να εξελιχθεί σε πετεχειώδες. Η εσχάρα εμφανίζεται στο 71-94% των ασθενών και μικρός αριθμός των ασθενών εμφανίζει πολλαπλές εσχάρες. Η υπόλοιπη συμπτωματολογία είναι κεφαλαλγία (81%), κακουχία (89%), σύστοιχη λεμφαδενίτιτδα, μυαλγίες, αρθραλγίες, εμετοί, διάρροιες (290, 293). Επίσης αναφέρονται σοβαρές επιπλοκές όπως διαταραχές επιπέδου συνείδησης, σπασμοί, νεφρική ανεπάρκεια, μυοκαρδίτιδα, μηνιγγοεγγεφαλίτιδα και θανατηφόρα περιστατικά.

3.10.9 *Rickettsia africae*-Αφρικανικός κροτωνογενής πυρετός (ΑΚΠ)

Το 1992 απομονώθηκε από το αίμα των ασθενών στη Ζιμπάμπουε μια νέα ρικέτσια παρόμοια με αυτήν που είχε απομονωθεί πριν από 20 χρόνια από κρότωνες στην Αιθιοπία. Στη συνέχεια ανιχνεύθηκε σε κρότωνες της υποσαχάριας Αφρικής, στην Καραϊβική και στην Ωκεανία. Κύριοι φορείς θεωρούνται κρότωνες οι οποίοι ενδημούν σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές, σε εκτάσεις με γρασίδια και θάμνους. Κύριοι ξενιστές του είναι οι αγελάδες καθώς και άλλα ζώα όπως αντιλόπες και ζέβρες. Οι νύμφες και οι προνύμφες τους παρασιτούν στα ίδια τα ζώα αλλά και σε τρωκτικά. Λόγω της επιθετικής

συμπεριφοράς τους προς τον άνθρωπο μπορεί να γίνει προσβολή του ίδιου του ασθενούς από πολλούς κρότωνες. Τα νύγματα εντοπίζονται στα κάτω άκρα αλλά και σε βουβωνικές περιοχές, περίνεο και μασχάλες. Δραστηριοποιούνται όλο το έτος αλλά κυρίως τους μήνες Ιανουάριο έως και το Μάιο κατά τις περιόδους των βροχοπτώσεων. Λόγω του τρόπου μετάδοσης, διαωοθηκικής και διασταδιακής οι ανωτέρω κρότωνες αποτελούν τις δεξαμενές της *R.africae* κατά 100%. Από μελέτες οροεπιδημιολογικές και κλινικές εκτιμάται ότι ο ΑΚΠ ενδημεί σε όλη την υποσαχάρια Αφρική και την Καραϊβική λόγω εισαγωγής αγελάδων από την Αφρική.

Επίσης η *R.africae* βρέθηκε σε κρότωνα στην Ιταλία καθώς και στην Καληδονία ,και σε νησί της Νότιας Ισπανίας. Οι ίδιοι κρότωνες παρασιτούν εκτός από θαλασσοπούλια, σε αίγες και ερπετά σε πολλά νησιά του Ινδικού και της Αυστραλίας. Συχνά προσβάλλονται τουρίστες της υποσαχάριας Αφρικής, οι οποίοι εκτίθενται σε κρότωνες λόγω των δραστηριοτήτων τους στην ύπαιθρο με αποτέλεσμα να παρατηρούνται συρροές κρουσμάτων όταν γίνεται ομαδική έκθεση. Η νόσος αποτελεί ένα από τα συχνότερα αίτια πυρετού του γηγενούς πληθυσμού και των επισκεπτών της υποσαχάριας Αφρικής.

Η κλινική εικόνα είναι ήπιας έως μέτριας βαρύτητας. Η νόσος χωρίς θεραπεία διαρκεί 10 ημέρες με χρόνο επώασης 3-10 ημέρες. Η συμπτωματολογία της είναι πυρετός (100%), που συνήθως είναι χαμηλός, κεφαλαλγία, μυαλγίες, αυχεναλγία**.** Οι περισσότεροι ασθενείς εμφανίζουν εσχάρα (95-100%), ενώ συχνά συνυπάρχουν πολλές εσχάρες (54%) και συχνή είναι και η εμφάνιση σύστοιχου λεμφαδενίτιδος και λεμφαγγειίτιδος. Εξάνθημα εμφανίζεται στο 15-55% ενώ το 1/3 από αυτούς που προσβάλλονται παραμένουν ασυμπτωματικοί. Οι επιπλοκές είναι σπάνιες, όπως μυοκαρδίτιδα, υποξεία νευροπάθεια, νευροψυχιατρικές διαταραχές και αρθρίτιδα. Δεν έχουν αναφερθεί θανατηφόρα περιστατικά. Η ορολογική διάγνωση λόγω καθυστερημένης ορομετατροπής γίνεται μετά από 4 εβδομάδες σε σύγκριση με την *R.conorii*. Η τεχνική **Western blot** είναι πιο ευαίσθητη μέθοδος για την ανίχνευση των αντισωμάτων έναντι της *R.africae* (ευαισθησία 100%), συγκριτικά με την IFA (ευαισθησία 45%). Ιστολογικά παρατηρείται αγγειίτιδα με περιαγγειακή διήθηση από λεμφοκύτταρα, μακροφάγα ή από πολυμορφοπύρηνα.

3.10.10 *Rickettsia honei*-Flinders island spotted fever (FISF)

Το 1991 μία σειρά περιστατικών στα νησιά Flinders της Νότιας Αυσταλίας είχαν κλινική εικόνα παρόμοια με της ομάδας του ΟΚΠ. Η νέα ρικέτσια ονομάσθηκε *R.honei* προς τιμήν του Frank Hone, ενός αυστραλού ρικετσιολόγου. Δεξαμενή της νόσου και μεταβιβαστής είναι ένας κρότωνας ο οποίος βρίσκεται στα νησιά Flinders αλλά και στη Νότια Αυστραλία γενικότερα και στην Τασμανία. Παρασιτεί

σε διάφορα ερπετά στο ακουστικό κανάλι αυτών, δίχως όμως η ρικέτσια να έχει απομονωθεί από αυτά τα ερπετά. Η ίδια ρικέτσια έχει βρεθεί και σε κρότωνα στην Ταϊλάνδη, στο Τέξας και στην Ιταλία. Η διασπορά σε τόσο διαφορετικές περιοχές φαίνεται ότι οφείλεται σε μεταφορά τους από μεταναστευτικά πουλιά. Ο χρόνος επώασης είναι 2-9 ημέρες, βαριά θανατηφόρα περιστατικά δεν έχουν αναφερθεί. Η κλινική συμπτωματολογία είναι πυρετός, κεφαλαλγίες, αρθραλγίες, μυαλγίες, εσχάρα (20-50%), κηλιδώδες, κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα με συμμετοχή παλαμών και πελμάτων που εμφανίζονται 5 ημέρες μετά την έναρξη των συμπτωμάτων, λεμφαδενίτιδα (52%) και βήχας (294).

3.10.11 *Rickettsia slovaca* – Tickborne lymphadenopathy (TIBOLA) Dermacentor-borne necrosis, erythema, lymphadenopathy (DEBONEL)

Το 1948 απομονώθηκε από κρότωνα στη Σλοβακία η *R.slovaca*. Παρόμοιο στέλεχος απομονώθηκε το 1974 στην Αρμενία και στη συνέχεια έχουμε απομόνωση από το ίδιο είδος κροτώνων και σε άλλες ευρωπαικές χώρες. Με θετική PCR και με ορομετατροπή αποδείχθηκε η παθογενετικότητά τους στον άνθρωπο, το 1997 στη Γαλλία σε ασθενή με εσχάρα μετά από δήγμα κρότωνα (295). Η επίσημη αναγνώριση της *R.slovaca* έγινε το 1998 και έγινε περιγραφή των χαρακτηριστικών της (296). Λόγω της χαρακτηριστικής κλινικής εικόνας, το 2002 προτάθηκε το όνομα κρωτονογεννής λεμφαδενοπάθεια.

Μεταβιβαστές της *R. slovaca* είναι οι κρότωνες των ειδών D. Reticulates και D. marginatus οι οποίοι είναι πολύ διαδεδομένοι στην Ευρώπη, στην κεντρική Ασία έως τα Ουράλια Όρη. Βιοτόπους αυτών αποτελούν δάση, αγροί και βοσκοτόπια. Σε διάφορες μελέτες το ποσοστό των μολυσμένων κροτώνων με *R.slovaca* είναι από 1-60% και λόγω του ότι προσβάλλουν και τον άνθρωπο, η κροτωνογενής λεμφαδενοπάθεια είναι από τις συχνότερες ρικετσιώσεις στην Ευρώπη. Οι κρότωνες αυτοί εμφανίζουν αυξημένη δραστηριότητα στη Ν Ευρώπη, το φθινόπωρο, το χειμώνα και νωρίς την Άνοιξη, και συνήθως προσβάλλουν το τριχωτό της κεφαλής. Οι ενήλικες *D.marginatus* παρασιτούν συνήθως σε αίγες, πρόβατα, αγελάδες, αγριογούρουνα, ενώ οι ανώριμες μορφές τους σε μικρότερα θηλαστικά.

Η κλινική συμπτωματολογία μετά από χρόνο επώασης 1-3 ημέρες είναι η ακόλουθη: Εσχάρα στο τριχωτό της κεφαλής (100%) σπανιότατα και σε άλλα ανώτερα σημεία του ημίσεως του σώματος, τραχηλική λεμφαδενοπάθεια (100%), επώδυνη κεφαλαλγία (53-80%), ανορεξία, κακουχίες, πυρετός (11,7-54%) συνήθως χαμηλός, εξάνθημα (5,8-23%), οίδημα ημίσεως προσώπου 19%. Γύρω από την εσχάρα υπάρχει ερύθημα μεγαλύτερο των 5 cm, ενώ στο σώμα όταν εντοπίζεται η εσχάρα μπορεί να φτάσει τα 4 cm . Η υποχώρηση της νόσου είναι αυτόματη χωρίς θεραπεία, μπορεί όμως στο σημείο της

εσχάρας να παραμείνει γυροειδής αλωπεκία (23-59%) που διαρκεί από 1 έως 5 έτη. Συχνά επίσης παραμένει εμμένουσα κακουχία (14-17%) που διαρκεί έως τρεις μήνες. Επειδή μεγάλο ποσοστό ασθενών δεν εμφανίζουν με IFA αντισώματα έναντι της R. slovaca , η καλύτερη μέθοδος είναι η PCR σε εσχάρα ή λεμφαδένα μετά από παρακέντηση με λεπτή βελόνα.

3.10.12 *Rickettsia felis*-Flea borne spotted fever

Το 1990 σε ένα εργαστήριο στην Καλιφόρνια βρέθηκε σε ψύλλους της γάτας Ctenocephalides felis ένας μικροοργανισμός, rickettsia like, ο οποίος στην αρχή ονομάσθηκε παράγοντας ELB (298). Αρχικά ο ορολογικός έλεγχος έμοιαζε με ρικέτσιες της ομάδας του τύφου ΟΤ (297). Το 1992 ο παράγοντας ELB διαπιστώθηκε σε σπλήνες μαρσιπομυών καθώς και σε ψύλλους. Το 1994 απομονώθηκε για πρώτη φορά στο αίμα ενός ασθενούς στο Τέξας ο οποίος παρουσίαζε εικόνα ενδημικού τύφου. Το 2001 απομονώθηκε ο παράγοντας ELB από ψύλλους, με χρήση ειδικής κυτταροκαλλιέργειας. Ο παράγοντας FLP φαίνεται μέσα από μελέτες ότι δίνει διασταυρούμενες αντιδράσεις με τις δύο κύριες ομάδες ρικετσιών ΟΤ και ΟΚΠ (299). Εξαιτίας αυτού μπορεί να τεθεί υποψία ρικετσίωσης από *R.felis* (300). Το 2001 δόθηκε στον παράγοντα ELB η επίσημη ονομασία Rickettsia felis και περιγράφησαν τα χαρακτηριστικά της (301). Η *R.felis* κατατάχθηκε τελικά στην ομάδα ΚΠ, αν και τελευταία προτείνεται η κατάταξής της σε μια ενδίαμεση ομάδα μεταβατική μαζί με την *R.akari* και την *R.australis,* με τις οποίες μοιάζει περισσότερο συγγενής. Η *R.felis* μεταδίδεται διαωοθηκιακά στους απογόνους των μολυσμένων ψύλλων χωρίς να επηρεάζει τη βιωσιμοτητά τους και την ικανότητα αναπαραγωγής τους. Οι ψύλλοι εκτός από κάθετα μολύνονται και οριζόντια από την απομύζηση μολυσμένου αίματος. Αποβάλλεται στα αποχωρήματα των ψύλλων και αυτό αποτελεί έναν από τους τρόπους μετάδοσης μέσω λύσεως της συνέχειας του δέρματος, ενώ ο άλλος τρόπος είναι μέσω νύγματος μολυσμένου ψύλλου. Μέχρι σήμερα έχουν επιβεβαιωθεί αρκετές δεκάδες περιστατικών σε όλο τον κόσμο επιβεβαιωμένα με PCR ή ορολογικά.

Η κλινική εικόνα μέσα από τα δεδομένα 34 ασθενών είναι η ακόλουθη: πυρετός 32/34 (15, 17), εσχάρα 4/34, εξάνθημα 24/34 ενώ οι λοιπές εκδηλώσεις μοιάζουν με αυτές των υπολοίπων ρικετσιών, δηλαδή κεφαλαλγία, επιπεφυκίτιδα, κακουχία, καταβολή, εμετοί, ανορεξία, διάρροιες, πνευμονία, σπληνομεγαλία, ηπατομεγαλία, ηπατίτιδα κ.α.

3.10.13 *Rickettsia aeschlimannii*

Η ανωτέρω ρικέτσια απομονώθηκε σαν στέλεχος MC 16 το 1992 και το 1997 χαρακτηρίστηκε ως νέο είδος ρικέτσιας (302). Το 1992 η ρικέτσια απομονώθηκε σε κρότωνα *Hyalomma marginatum*

marginatum στην Πορτογαλία. Το 2002 απομονώθηκε σε δύο ασθενείς, ο ένας ήταν ταξιδιώτης στο Μαρόκο, παρουσίαζε υψηλό πυρετό, εσχάρα, κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα και ένα δεύτερο περιστατικό παρουσιάστηκε σε ασθενή στη Ν.Αφρική, ο οποίος παρουσίαζε εσχάρα στο κέντρο της οποίας υπήρχε ο κρότωνας *Rhipicephalus appendiculatus* (303). Ο δεύτερος ασθενής πήρε μόνος του δοξυκικλύνη και δεν ανέπτυξε άλλα συμπτώματα. Κύρια συμπτωματολογία σε αυτή τη ρικέτσια ήταν ο πυρετός, η εσχάρα και σπανιότερα οι μυαλγίες, ναυτία, αμφιβληστροειδική αιμορραγία, μηνιγγίτιδα.

3.10.14 *Rickettsia parkeri*

Η ρικέτσια αυτή αρχικά απομονώθηκε από τον R.R. Parker το 1937 στο Τέξας από κρότωνα Amblyomma maculatum, ονομάστηκε δε *R.parkeri* και χαρακτηριζόταν ως μη παθογόνος. Το 2004 όμως απομονώθηκαν από ασθενή στη Βιρτζίνια με πυρετό 2 εσχάρες, μία με εξελκωμένη βλατίδα στα κάτω άκρα, βουβωνική λεμφαδενιτιδα, κεφαλαλγίες, μυαλγίες, αρθραλγίες και 4 μέρες μετά παρουσίασε γενικευμένο κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα με συμμετοχή πελμάτων , παλαμών και προσώπου. Η *R.parkeri* έχει απομονωθεί από κρότωνες σε πολλές αμερικανικές πολιτείες, στη Βραζιλία, στην Αργεντινή. Η δεξαμενή αυτής της ρικέτσιας είναι ο κρότωνας *Ablyomma maculatum* με βαθμό μόλυνσης που κυμαίνεται από 1,2-15%. Η εποχική κατανομή των κρουσμάτων παρουσιάζει έξαρση από τον Ιούλιο έως το Σεπτέμβριο. Η επώαση της νόσου διαρκεί 2-10 ημέρες και η συμπτωματολογία της συνίσταται σε πυρετό μέτριο η χαμηλό που διαρκεί 2-11 ημέρες, εσχάρα που προηγείται του πυρετού κατά 0-4 ημέρες και κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα.

3.10.15 *Rickettsia massiliae*

Το στέλεχος της ρικέτσιας αυτής απομονώθηκε το 1990 στη Μασσαλία. Το 2005 υπήρξε περίπτωση ασθενους, που βρέθηκαν στο περιβάλλον του σπιτιού του κρότωνες μολυσμένοι με *R.massiliae*. Τρίτη περίπτωση ανακοινώθηκε στην Αργεντινή με υψηλό πυρετό, γενικευμένοι κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα με συμμετοχή παλαμών και πελμάτων, εσχάρα και πλευριτική συλλογήξ(304). Επίσης, το 2003 είχε βρεθεί ορολογικά περίπτωση ΜΚΠ στην Καταλονία που οφειλόταν στο στέλεχος της *R.massiliae*.

3.10.16 Νεότερες ρικέτσιες

Το 1998 απομονώθηκε ρικετσιακό στέλεχος το οποίο αναγνωρίσθηκε σαν νέα ρικέτσια και ανεπίσημα της δόθηκε το όνομα *R.monacensis* λόγω του ότι ανακαλύφθηκε σε κρότωνα *Ixodes ricinus* που συλλέχθηκε σε πάρκο του Μονάχου. Επίσης, το ίδιο στέλεχος ανιχνεύθηκε σε Ουγγαρία, Αλγερία,

Μαρόκο και Γερμανία. Το 2007 ανακοινώθηκαν οι δύο πρώτοι ασθενείς που νόσησαν το 2003 στην Ισπανία και έτσι αποδείχθηκε η παθογενετικότητά της στον άνθρωπο (305).

Επίσης το 1999 τρία νέα ρικετσιακά στελέχη ανιχνεύθηκαν από κρότωνες που συλλέχθηκαν στη Σοβιετική ένωση. Τελικά τα στελέχη αυτά αποδείχθηκε ότι αποτελούσαν στελέχη του ίδιου είδους και ανήκαν στην ομάδα του *R.massiliae* (306). Το 2006 στην Ινδία, σε παιδί με πυρετό από 10ημέρου, και γενικευμένο κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα με συμμετοχή πελμάτων και παλαμών, ο ορολογικός έλεγχος με Well Felix και IFA έδειξε ότι επρόκειτο για ρικετσίωση. Ο μοριακός έλεγχος έδειξε παρουσία νέας ρικέτσιας και ονομάσθηκε *R.candidatus kellyi* και ακόμα δεν έχει απομονωθεί (308). Επιπλέον, το 1979 στην Ελβετία απομονώθηκε από κρότωνες *I.ricinus* μία νέα ρικέτσια, η οποία αρχικά ονομάσθηκε Swissagent (309) και το 1993 *R.helvetica* (310). Το 1999 η ρικέτσια αυτή ενοχοποιήθηκε για θανατηφόρα περιστατικά χωρίς όμως να υπάρξει απομόνωση της *R.helvetica*, ενώ το 2000 ενοχοποιήθηκε για πυρετό αγνώστου αιτιολογίας, με συνοδό κακουχία, μυαλγίες, τρανσαναιμία, ο οποίος ορολογικά έδειξε λοίμωξη *R.helvetica*. Ακολούθησαν αναφορές με ορολογική τεκμηρίωση στην Ταυλάνδη, Γαλλία, Ιταλία και Ελβετία. Η συμπτωματολογία ήταν πυρετός, εξάνθημα και μυαλγίες (311). Το 2010 η *R.helvetica* απομονώθηκε από το ΕΝΥ ασθενούς με εικόνα μηνιγγίτιδος και ακτινολογικά ευρήματα πνευμονίας.

Το 2010 στην Καλιφόρνια ανακοινώθηκε ασθενής με δερματική βλάβη στο αντιβράχιο με εξέλιξη σε τυπική εσχάρα και διάχυτη ερυθρότητα από τον καρπό έως τον αγκώνα και σύστοιχη μασχαλιαία λεμφαδενίτιδα. Σε βιοψία της εσχάρας ο μοριακός έλεγχος έδειξε παρουσία μιας νέας ρικέτσιας της 364 D. Επίσης, αναφέρθηκαν στην ίδια εργασία και άλλες τρεις πιθανές περιπτώσεις (598). Η 364 D έχει βρεθεί σε κρότωνες στη Καλιφόρνια.

Το 1999 ανακαλύφθηκαν 3 νέα στελέχη ρικετσιών από κρότωνες στην πρώην Σοβιετική Ένωση. Το στέλεχος RpA4 ανιχνεύτηκε σε κρότωνες *Rhipicephalus pumilio* από την περιοχή Astrakhan και τα στελέχη DnS14 και DnS28 σε κρότωνες *Dermacentor nuttallii* από την Σιβηρία. Τα παραπάνω στελέχη σχετίζονται στενά γενετικά και αποτελούν στελέχη του ίδιου είδους, που ανήκει στην ομάδα της *R.massiliae* (306). Γονότυποι όμοιοι με κάποιο από τα παραπάνω 3 στελέχη ανιχνεύτηκαν ακολούθως σε κρότωνες του γένους *Dermacentor* στο Ευρωπαϊκό τμήμα της Ρωσίας, στην Ισπανία και στην Κροατία. Ακολούθως, τα παραπάνω στελέχη απομονώθηκαν από Ρωσία και στην Γαλλία, χαρακτηρίστηκαν πλήρως και το νέο είδος, στο οποίο ανήκουν ονομάστηκε *Rikettsia raoultii* (307).

Τα τελευταία έτη στο Εργαστήριο Βακτηριολογίας Παρασιτολογίας Ζωονόσων και Γεωγραφικής Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης φαίνεται ότι ερευνάται η ύπαρξη ενός νέου είδους ρικέτσιας

(*Rickettsia Species* Strain Tselenti). Η νέα αυτή ρικέτσια βρέθηκε σε κρότωνες στην Κύπρο (*Hyalomma anatolicum excavatum* και *Rhipicephalus turanicus*). (347)

3.10.17 Ρικέτσιες πιθανής ή αγνώστου παθογενετικότητας

Ένας μεγάλος αριθμός ρικετσιών έχουν απομονωθεί ή ανιχνευτεί, η παθογενετικότητα των οποίων είτε πιθανολογείται είτε παραμένει έως σήμερα 117 άγνωστη. Άλλες έχουν επαρκώς ταυτοποιηθεί, άλλες εντάσσονται στην κατάσταση Candidatus και άλλες δεν έχουν ταυτοποιηθεί. Επαρκώς ταυτοποιημένα είδη: *R.asiatica, R.bellii, R.canadensis, R.montanensis, R.peakockii, R.rhipicephali, R.tamurae status Candidatus*: *R.amblyommii, R.andeanae, R.tarasevichiae, R.davousti* κ.α.

Disease	Species	Geographic Distribution	Clinical Symptoms
Rickettsiosis	*Rickettsia aeschlimannii*	Africa, Mediterranean region	Fever, eschar, maculopapular rash
African tick- bite fever	*Rickettsia africae*	Sub-Saharan Africa, West Indies	Fever, eschar, maculopapular rash
Queensland tick typhus	*Rickettsia australis*	Australia, Tasmania	Fever, eschar, regional adenopathy, rash on extremities
Mediterranean spotted fever or Boutonneuse fever	*Rickettsia conorii*‡	Mediterranean region and Africa to Indian subcontinent	Fever, eschar (usually single), regional adenopathy, maculopapular rash on extremities
Far eastern spotted fever	*Rickettsia heilongjiangensis*	Northern China, Eastern Asia	Fever, eschar, maculopapular rash, regional adenopathy
Aneruptive fever	*Rickettsia helvetica*	Central and northern Europe	Fever, headache, myalgia
Flinders Island spotted fever, Thai tick typhus	*Rickettsia honei*	Australia, Thailand	Mild spotted fever, eschar and adenopathy are rare
Japanese spotted fever	*Rickettsia japonica*	Japan	Fever, eschar(s), regional adenopathy, rash on extremities
Australian spotted fever	*Rickettsia marmionii* subspecies	Australia	Fever, eschar, maculopapular or vesicular rash, adenopathy
***Rickettsia massiliae* rickettsioses**	*Rickettsia massiliae*	France, Greece, Spain, Portugal, Switzerland, Sicily, Central Africa and Mali	Fever, maculopapular rash, necrotic eschar
Rocky Mountain spotted fever, febre maculosa, Sao Paulo exanthematic typhus, Minas Gerais exanthematic typhus, Brazillian spotted fever	*Rickettsia rickettsii*	North, Central and South America	Fever, headache, abdominal pain, maculopapular rash progressing into papular or petechial rash (generally originating on extremities)
North Asian tick typhus, Siberian tick typhus	*Rickettisa sibirica*	Broadly distributed through north Asia	Fever, eschar(s), regional adenopathy, maculopapular rash
Lymphangitis associated rickettsiosis	*Rickettsia sibirica mongolotimonae*	Southern France, Portugal, China, Sub-saharan Africa	Fever, multiple eschars, regional adenopathy and lymphangitis, maculopapular rash
Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA), *Dermacentor*-borne necrosis and lymphadenopathy (DEBONEL)	*Rickettsia slovaca*	Southern and eastern Europe, Asia	Necrosis erythema, cervical lymphadenopathy and enlarged lymph nodes, rare maculopapular rash

Πίνακας.2 Γεωγραφική κατανομή, κλινική εικόνα και είδη των κυριότερων ρικετσιώσεων

4 ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4.1 ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

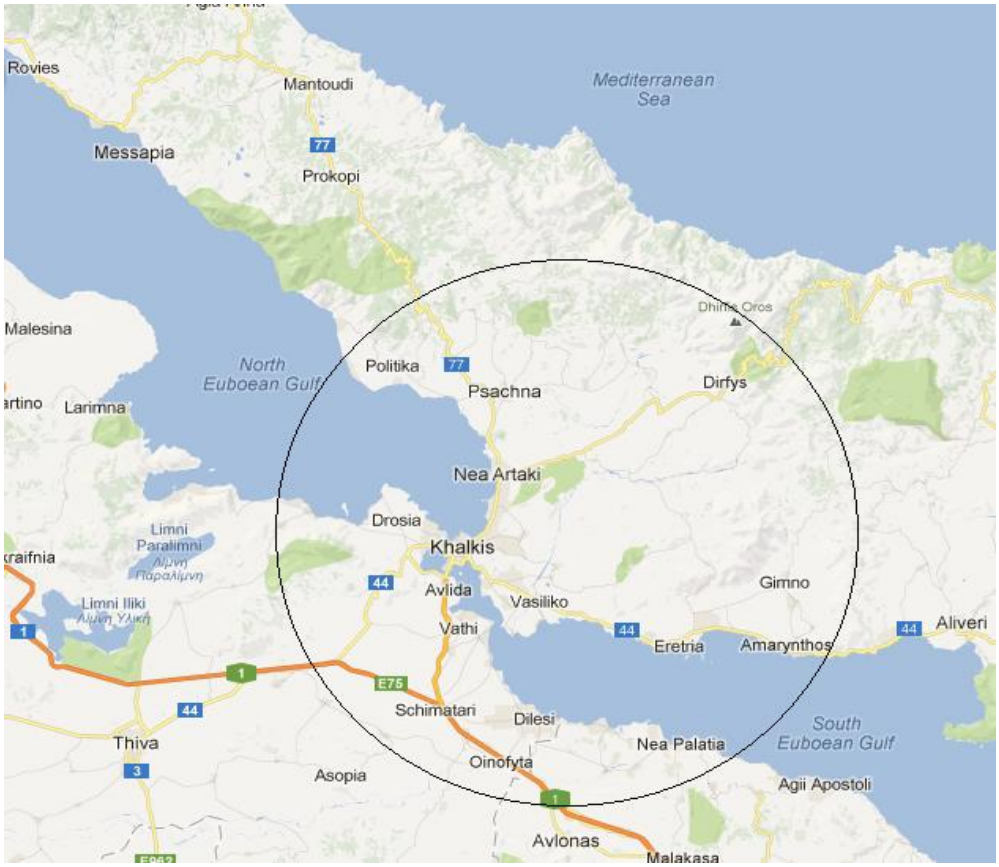
i. Η πληρέστερη καταγραφή των κλινικών και εργαστηριακών ευρημάτων και η περιγραφή της συμπτωματολογίας και γενικά της κλινικής εικόνας των επιπλοκών και της θεραπευτικής αντιμετώπισης των ασθενών με ρικετσίωση στην περιοχή της Χαλκίδας.

ii. Η επιδημιολογική διερεύνηση των κρουσμάτων των παραγόντων κινδύνου μετάδοσης της νόσου καθώς και η επικινδυνότητα των διαφόρων περιοχών της Εύβοιας.

iii. Διερεύνηση των ρικετσιών που είναι υπεύθυνες για τη νόσο στην υπό έρευνα περιοχή της Χαλκίδος.

iv. Μελέτη ζώων που εμπλέκονται στην μετάδοση της νόσου και ανευρίσκονται στο περιβάλλον των ασθενών.

v. Έλεγχος κροτώνων, ψύλλων που παρασιτούν σε ζώα και αναζήτηση ρικετσιών σε αυτούς.



εικ. 29 Χάρτης και κυκλική οριοθέτηση της υπό μελέτη περιοχής

4.2 Πρωτόκολλο μελέτης

Η μελέτη διεξήχθη κατά τα έτη 1999 έως 2005 στην ευρύτερη περιοχή της Χαλκίδας, στην κεντρική Εύβοια και στη γειτονική Βοιωτία, στην οποία από παλαιότερες μελέτες είχαμε τεκμηριώσει την εμφάνιση περιστατικών ενδημικού τύφου. Έγινε καταγραφή στους ύποπτους για ρικετσίωση ασθενείς όλων των στοιχείων που θα βοηθούσαν στη διερεύνηση, όπως δημογραφικά στοιχεία, επιδημιολογικά κλινικά, όλα τα σχετικά εργαστηριακά, αιματολογικά και βιοχημικά ευρήματα καθώς και η ανταπόκριση στη θεραπευτική αγωγή.

4.2.1 Καταγραφή δεδομένων

- **Δημογραφικά και επιδημιολογικά δεδομένα**: καταγραφή φύλου, ηλικίας, ημερομηνία και έτος έναρξης των συμπτωμάτων και της νόσου, διαμονή, πρόσφατα ταξίδια, επαγγελματική ενασχόληση, εργασία στην ύπαιθρο, επαφή με ζώα και πτηνά καθώς και η έκθεση σε κρότωνες και ψύλλους ή άλλα αρθρόποδα.

- **Κλινικά στοιχεία**: Στοιχεία ατομικού αναμνηστικού και αναζήτηση χρόνιων νόσων που προκαλούν ανοσοκαταστολή (φάρμακα, κακοήθεια, διαβήτης). Συμπτωματολογία με έμφαση στα πρόδρομα συμπτώματα όπως πυρετός, τρόπος εισβολής (αιφνίδια, προοδευτικά, διάρκεια πριν και μετά την έναρξη της αγωγής, συνοδά συμπτώματα του πυρετού, ρίγος , κακουχία, κεφαλαλγία (εντόπιση, ένταση), άλλου τύπου βλάβη, εξάνθημα και χαρακτηριστικά του εξανθήματος, κηλιδώδες, κηλιδοβλατιδώδες, πετεχειώδες βλατίδα, φυσαλιδώδες, εντόπιση-επέκταση, εξέλιξη- διάρκεια, περιγραφή των στοιχείων του εξανθήματος ,πυκνότητα, διάμετρος,, υπεραιμία μαλθακής υπερόας, επιπεφυκότων, λεμφαδενική διόγκωση (εντόπιση ευαισθησία, μέγεθος), λεμφαγγείτιδα από το σημείο του δήγματος, μέχρι τους σύστοιχους λεμφαδένες. Άλλα συνοδά συμπτώματα όπως μυαλγίες, αρθραλγίες, συμπτώματα και σημεία από το αναπνευστικό σύστημα (βήχας παραγωγικός ή όχι), πλευριτικό άλγος, δύσπνοια, ακροαστικά ευρήματα, , ευρήματα θώρακος, συμπτωματολογία του πεπτικού, ηπατομεγαλία, σπληνομεγαλία, καρδιακή συχνότητα ανάλογα με τον πυρετό, διαταραχές του καρδιακού ρυθμού, οίδημα, διαταραχές κεντρικού νευρικού συστήματος. Επίσης, έγινε προσπάθεια χρονικής συσχέτισης των κλινικών στοιχείων μεταξύ τους και καταγραφή τυχόν επιπλοκών.

- **Θεραπευτικά δεδομένα**: Έγινε αναζήτηση και καταγραφή προηγηθείσης της λήψης των αντιβιοτικών, χρόνος έναρξης των αντιβιοτικών θεραπείας σε σχέση με την έναρξη της νόσου,

χρόνος απυρεξίας και υφέσεως συμπτωματολογίας, τυχόν παρενέργειες της θεραπείας και τυχόν υποτροπή της νόσου.

4.2.2 Εργαστηριακά ευρήματα

Γενικός εργαστηριακός έλεγχος: Στους ασθενείς έγιναν όλες οι απαραίτητες εξετάσεις που γίνονταν σε ασθενείς, που εισέρχονται στην παθολογική κλινική.

i. **Απεικονιστικός έλεγχος:** ακτινογραφία θώρακος, υπερηχογράφημα κοιλίας, ΗΚΓ. Περαιτέρω εξετάσεις εφόσον υπάρχει κλινική ένδειξη

ii. **Αιματολογικός έλεγχος**: Γεν. αίματος (λευκά τύπος, Ht, Hb, αιμοπετάλια, ταχύτητα καθηζήσεως ερυθρών (ΤΚΕ), χρονος προθρομβίνης (PT), χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης και περαιτέρω έλεγχος εφόσον υπάρχει ειδική ένδειξη.

iii. **Βιοχημικός έλεγχος**: σάκχαρα , ουρία , κρεατινίνη, ηλεκτρολύτες (Κ, Να), χολερυθρίνη ολική άμεση, ηπατικά ένζυμα (SGOT, SGPT , γ-GT, Αλκ. Φωσφατάση, LDH, ολικά λευκώματα, αλβουμινή σφαιρίνη, CPK, CRP, γεν ούρων (ερυθρά, λευκά λεύκωμα)

4.2.3 Ειδικός εργαστηριακός έλεγχος

4.2.3.1 Ορολογίκος έλεγχος

Σε όλους του ασθενείς έγινε λήψη δείγματος ορού κατά την είσοδο, δεύτερο δείγμα μία εβδομάδα μετά, τρίτο δείγμα τρεις εβδομάδες από το δεύτερο δείγμα. Οι οροί διατηρούνταν σε θερμοκρασία -80 ^{o}C και εν συνεχεία μεταφέρονταν στο εργαστήριο, Βακτηριολογίας, Παρασιτολογίας, Ζωονόσων και Γεωγραφίκης Ιατρική του πανεπιστημίου Κρήτης όπου έγινε έλεγχος με έμμεσο ανοσοφθορισμό (IFA) για ανίχνευση IgG, IgA και IgM αντισωμάτων έναντι ρικετσιών *R.typhi* και *R.conorii*. Στις περιπτώσεις που υπήρχε υψηλός τίτλος και στις δύο ρικέτσιες γινόταν επιπλέον έλεγχος για επτά επιπλέον ρικέτσιες (*R.mongolotimonae, R.aeschlimannii, R.felis, R.slovaca, R.massiliae, R.israelensis, R.helvetica*) και ο υψηλότερος θετικός τίτλος ήταν αυτός που προσδιόριζε το είδος της ρικέτσιας

4.2.3.2 Τεχνικές ελέγχου με έμμεσο ανοσοφθορισμό

Το αντιγόνο βρίσκεται στρωμένο σε αντικειμενοφόρες πλάκες, προστίθεται ο ορός του ασθενούς σε διαδοχικές αραιώσεις υποδιπλασιασμού και τελικά προστίθεται διάλυμα με Fluorescein- labeled

antihuman conjugate. Το kit είναι της biomeriux (France). Η αρχική αραίωση του ορού ήταν 1/60 για το Ig G και 1/25 για το IgM και το IgA. Η εξέταση των αντικειμενοφόρων πλακών έγινε σε μικροσκόπιο φθορισμού με μεγέθυνση *100. Θετικά θεωρήθηκαν τα δείγματα με σαφή, έντονο φθορισμό (χρώμα πράσινου μήλου). Ένας αριθμός δειγμάτων, που από την κλινική του εικόνα ή από τον ορολογικό τους έλεγχο υπήρχε αμφιβολία για το είδος της υπεύθυνης ρικέτσιας, εστάλη στο εργαστήριο Unite de Recherché en Maladies, Infectieuses et Tropical Emergentes , WHO Collaborative Centre for Rickettsial and Arthropond-born Bacterial Diseases, Faculte de Medecine, Marseille France . Ο έλεγχος στο συγκεκριμένο εργαστήριο γινόταν με τη χρήση 8 αντιγόνων ρικετσιών της ΟΚΠ(*R.conorii, R.slovaca, R.helvetica, R.massiliae, R.conorii, R.israelensis, R.sibirica mongoltimore, R.felis* και από την ΟΤ η *R.typhi*. Ο συγκεκριμένος έλεγχος έγινε λόγω της ύπαρξης των συγκεκριμένων ρικετσιών σε χώρες της Μεσογειακής λεκάνης. Θετικό θεωρείται το δείγμα που παρουσιάζει τίτλο για IgG > 1/128 ή και IgM 1/64 έναντι της *R.conorii* ή τίτλος IgG > 1/64 και IgM > 1/32 έναντι των άλλων ρικετσιακών αντιγόνων. Σε περίπτωση που υπήρχαν διασταυρούμενες αντιδράσεις, θετικό για τη νόσο ήταν το ρικετσιακό αντιγόνο που θεωρούνταν ότι αντιπροσώπευε τον υπεύθυνο παράγοντα, εάν οι τίτλοι των IgG και IgM αντισωμάτων έναντι αυτού του αντιγόνου ήταν τουλάχιστον 2 φορές υψηλότερη των IgG και IgM αντισωμάτων έναντι των άλλων ρικετσιών.

4.2.3.3 PCR Μοριακός έλεγχος

Με την είσοδο του ασθενούς στο νοσοκομείο γινόταν λήψη αίματος σε σωληνάρια με αντιπηκτικό (ηπαρίνη) και ακολούθως παρέμεινε ακίνητο μέχρι να καθιζήσουν τα ερυθρά μαζί με τα κυκλοφορούντα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η στιβάδα των λευκών φυλάσσονταν στο ψυγείο (κατάψυξη -80°C) και εν συνεχεία, αφού συγκεντρώνονταν ικανοποιητικός αριθμός μεταφέρονταν με ξηρό πάγο στο εργαστήριο. Από τη στιβάδα των λευκών έγινε εξαγωγή DNA με τη χρήση DNA blot mini kit της 21a gen (Hilten Γερμανία) σύμφωνα με τις οδηγίες της παρασκευάστριας εταιρείας. Με τη μέθοδο PCR έγινε προσπάθεια για ανίχνευση τμήματος των γονιδίων glt A και Omp A των ρικετσιών της ομάδας των κηλιδώδων πυρετών. Για την ανίχνευση τμήματος του γονιδίου glt A της κιτρικής συνθετάσης χρησιμοποιήθηκαν ως εναρκτές (primers) RpCw 877p 5’GGG-CTG-CTC-ACG-GCG-G-3’ και Rpcs 1258 5’-ATT-GCA-AAA-AGT-GCA-TTC-GCT-CCC-CCT-3’.

Όλοι οι γονιδιακοί πολλαπλασιασμοί πραγματοποιήθηκαν στο ίδιο PCR cycler DNA, My cycler (BIORAD), ενώ σαν αρνητικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε αποσταγμένο νερό.

4.2.3.4 Αλληλουχιση (sequencing analysis)

Όσα από τα προϊόντα της PCR ήταν θετικά καθαρίστηκαν χρησιμοποιώντας το kit Q 1 Aquich PCR product purification kit σύμφωνα με τις οδηγίες της εταιρείας κατασκευής. Η αλληλούχιση πραγματοποιήθηκε με μηχάνημα sequencer CEQ8000 Beckman Coulter (Bioanalytica, Γενότυπος, Αθήνα). Οι εξαχθείσες ακόλουθες συγκρίθηκαν με τη βάση δεδομένων της βιβλιοθήκης GenBank/GMBLC http://blast.ncbi.nlm.nih.gov.blast.cgi)

4.2.3.5 Καλλιέργεια απομόνωση

Για την καλλιέργεια και την απομόνωση των ρικετσιώναπό τα δείγματα λευκοκυτταρικής στιβάδας χρησιμοποιήθηκε κυτταροκαλλιέργεια με την τεχνική των Shell-vials. Για την καλλιέργεια χρησιμοποιήθηκαν σειρές κυττάρων VERO (νεφρικοί ινοβλάστες από τον πράσινο αφρικανικό πίθηκό) (African green monkey kidney fibroblasts, CCL-81, ATCC) σε θάλαμο κάθετης νηματικής ροής τύπου2 (class 2 hood), μέσα σε εργαστήριο αρνητικής πίεσης επιπέδου 3 βιοασφάλειας (Biosafety level 3) λαμβάνοντας όλα τα μέτρα ασφαλείας, όπως ορίζονται από τα διεθνή πρότυπα.

4.2.3.6 Χρώση Gimenez

Το 1964 ο Gimenez περιέγραψε μέθοδο σύμφωνα με την οποία στελέχη από την οικογένεια των Rickettsiales χρωματίζονται με βασική φουξίνη (1%w/v, φουξίνη, 1,125% w/v φαινόλη, 10% v/v αιθανόλη σε νερό, ενώ το κύτταρο ξενιστής χρωματίζεται σε πράσινο μαλαχίτη (0,8 w/v οξαλικών μαλαχίτη σε αποσταγμένο νερό). Η παρατήρηση των πλακών γινόταν σε απλό οπτικό μικροσκόπιο με μεγέθυνση x100.

4.2.3.7 Άμεσος ανοσοφθορισμός

Με την τεχνική αυτή γίνεται άμεση ανίχνευση των ρικετσιών σε μολυσμένες καλλιέργειες. Για το σκοπό αυτό δείγματα από τον τάπητα των κυτταροκαλλιεργειών, που έχουν μολυνθεί, τοποθετούνται σε πλάκες μικροσκοπίου και μονιμοποιούνται σε κάθε δείγμα 10μl ορού αντισωμάτων του αντίστοιχου παθογόνου από δείγμα ορού ασθενούς με πολύ υψηλό τίτλο αντισωμάτων στο συγκεκριμένο παθογόνο. Στη συνέχεια,επωάζονται με antihuman IgG συνδεδεμένα με τη φθορίζουσα ουσία FITC σε PBS ως αντι-αντίσωμα. Όλες οι αντικειμενοφόρες πλάκες διαβάζονται σε μικροσκόπιο φθορισμού, όπως περιγράφεται παραπάνω.

4.3 Ορισμός κρούσματος ρικετσιώσης (case definition)

Για τον ορισμό χρησιμοποιήθηκαν τα κριτήρια που έχουν προταθεί από το D.Rault για τον ΜΚΠ και τα πρόσθετα του 2010 του CDC για τις ρικετσιώσεις της ομάδος των κηλιδώδων πυρετών καθώς και η εμπειρία από την παρούσα μελέτη.

4.3.1 Κριτήριο Rault

Το 1992 ο D.Rault καθόρισε σύστημα βαθμονόμησης για τη διάγνωση του ΜΚΠ βασισμένο σε επιβεβαιωμένα περιστατικά που αντιμετωπίσθηκαν στη Γαλλία, όταν παρουσιάσθηκαν 2 από τα 3 κύρια κλινικά ευρήματα, δηλαδή πυρετό εσχάρα, εξάνθημα σε συνδυασμό με ορολογικό τίτλο αντισωμάτων *R.conorii* > 1/128 ή όταν είχαν 1 από τα παραπάνω κριτήρια σε συνδυασμό με ορομετατροπή ή τετραπλασιασμό τίτλου αντισωμάτων έναντι της *R.conorii*.

Διαγνωστική βαθμολόγηση Μεσογειακού Κηλιδώδους Πυρετού (D. Raoult)	
Επιδημιολογικά κριτήρια	**Βαθμοί**
Διαβίωση ή πρόσφατο ταξίδι σε ενδημική περιοχή	2
Έναρξη μεταξύ Μαΐου και Σεπτεμβρίου	2
Επαφή με κρότωνα σκύλου	2
Κλινικά κριτήρια	
Πυρετός μεγαλύτερος των 39°C	5
Εσχάρα	5
Κηλιδοβλατιδώδες ή πορφυρικό εξάνθημα	5
Δύο από τα τρία κλινικά κριτήρια	3
Και τα τρία κλινικά κριτήρια μαζί	5

Μη ειδικά βιολογικά κριτήρια	
Αιμοπετάλια < 150000	1
Ηπατικά ένζυμα > 50 IU/l	1
Βακτηριολογικά κριτήρια	
Απομόνωση της R. conoriii από το αίμα	25
Ανίχνευση της R. conoriii στο δέρμα με IFA	25
Ορολογικά κριτήρια	
Μοναδικό δείγμα με ολική Ig≥1/128	5
Μοναδικό δείγμα με IgG ≥1/128 και IgM ≥1/64	10
Τετραπλασιασμός του τίτλου Ab σε 2 εβδομάδες	20
Συνολική βαθμολογία μεγαλύτερη του 25 θεωρείται επιβεβαιωτική διάγνωσης ΜΚΠ	

Πίνακας 3: Διαγνωστική βαθμολόγηση Μεσογειακού Κηλιδώδους Πυρετού (D. Raoult)

4.3.2 Κριτήρια CDC (2010)

Κλινική ένδειξη ρικετσίωσης της ΟΚΠ με την παρουσία πυρετού σε συνδυασμό με ένα ή περισσότερα από τα παρακάτω: εξάνθημα, εσχάρα, κεφαλαλγία, μυαλγία, αναιμία, θρομβοπενία, αύξηση οποιασδήποτε εκ των τρανσαμινασών.

Εργαστηριακά επιβεβαιωμένη τη διάγνωση όταν:

- Υπάρχει τετραπλάσια μεταβολή του τίτλου των IgG αντισωμάτων έναντι ρικέτσιας της ομάδας των ΚΠ μεταξύ 2 δειγμάτων ορού, ένα εκ των οποίων λαμβάνεται κατά την πρώτη εβδομάδα της νόσου και το δεύτερο 2-4 εβδομάδες μετά το πρώτο, ή
- Όταν ανιχνεύεται ρικετσιακό DNA σε κλινικό δείγμα με PCR ή
- Όταν αποδεικνύεται η παρουσία ρικετσιακού αντιγόνου σε βιοψία με ανοσοϊστοχημική μέθοδο ή
- ΄Οταν απομονώνεται ρικέτσια από κλινικό δείγμα με κυτταροκαλλιέργεια.

Θεωρεί εργαστηριακά πιθανή τη διάγνωση:

Όταν υπάρχουν αυξημένα IgG ή IgM αντισώματα έναντι ρικέτσιας της ομάδας των ΚΠ με τις μεθόδους IFA ή ELISA ή dot-ELISA ή συγκολλητινοαντίδραση latex. Το CDC θεωρεί ότι τα IgM αντισώματα λόγω χαμηλής ειδικότητας και παρατεταμένης παρουσίας τους, δεν υποστηρίζουν ισχυρά την διάγνωση κατά την οξεία φάση της νόσου και έτσι δεν προτείνει την χρησιμοποίησή τους ως διαγνωστική μέθοδο ρουτίνας.

Επιδημιολογικά κριτήρια

Νύγμα αρθροπόδου (κρότωνα, ψύλλου ή ψείρας) κατά τις προηγούμενες 21 ημέρες πριν την έναρξη των συμπτωμάτων.

Εργαστηριακά διαγνωστικά κριτήρια

A. <u>Εργαστηριακά επιβεβαιωμένο κρούσμα</u>

i. Το κρούσμα στο οποίο έχουμε απομόνωση της υπεύθυνης ρικέτσιας σε βιολογικό υλικό από τον ασθενή (αίμα- buffy coat ή βιοψία δέρματος) με κυτταροκαλλιέργεια.

ii. Το κρούσμα, όπου έχουμε ανίχνευση ρικετσιακού DNA σε βιολογικό υλικό ασθενούς με μεθόδους μοριακής βιολογίας (PCR).

iii. Το κρούσμα στο οποίο υπάρχει τετραπλάσια μεταβολή του τίτλου των ειδικών IgG αντισωμάτων έναντι της *R.conoriii* ή άλλων ρικετσιών της ομάδας τωνΚηλιδωδών Πυρετών ή έναντι της *R.typhi* με την μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού (IFA) μεταξύ δύο διαδοχικών δειγμάτων ορού, το πρώτο κατά την οξεία φάση της νόσου και το δεύτερο κατά την φάση ανάρρωσης (2 - 4 εβδομάδες μετά το πρώτο δείγμα).

iv. Το κρούσμα στο οποίο υπάρχει ορομετατροπή για τα IgG αντισώματα μεταξύ των δύο διαδοχικών δειγμάτων, με αρνητικό τίτλο αντισωμάτων του πρώτου δείγματος και τίτλο των IgG αντισωμάτων στο δεύτερο δείγμα ≥ 1/128, δηλαδή τουλάχιστον διπλάσιο της cut off τιμής (1/64).

B. <u>Εργαστηριακά πιθανό κρούσμα</u>

Το κρούσμα που ορολογικά παρουσιάζει μονήρη ή σταθερό τίτλο IgG αντισωμάτων ≥ 1/240 έναντι ρικέτσιας.

Ταξινόμηση κρουσμάτων

i. Επιβεβαιωμένο κρούσμα με κλινική ή επιδημιολογική ένδειξη ρικετσίωσης και σύγχρονη εργαστηριακή επιβεβαίωση

ii. Πιθανό κρούσμα με κλινική επιδημιολογική ένδειξη ρικετσίωσης και συγχρόνως ορολογικό αποτέλεσμα πιθανού κρούσματος (IgG>240)

iii. Ύποπτο θεωρείται κρούσμα με κλινική ή επιδημιολογική ένδειξη ρικετσίωσης χωρίς δυνατότητα εργαστηριακή τεκμηρίωσης και χωρίς άλλη συγκεκριμένη διάγνωση.

4.3.3 Προσαρμογή κριτηρίων

Από την εμπειρία μας κατά τη διάρκεια αυτής της μελέτης, επειδή πολλές φορές δημιουργούνται σε χαμηλότερους τίτλους διαστραυρούμενες αντιδράσεις, θεωρήσαμε σαν θετικό για την διάγνωσης της *R.Typhi* τίτλο IgG> 1/960 ή IgM> 1/400 και/'η τετραπλασιασμό του τίτλου μεταξύ δύο μετρήσεων θεωρήθηκε ισχυρό κριτήριο οξείας λοίμωξης. Επιβεβαιωμένα περιστατικά όπου καθοριστήκαν τα ύποπτα κριτήρια των περιστατικών και είχαν εργαστηριακή επιβεβαίωση για μόλυνση από *R.typhi*. Πραγματοποιήθηκε ορολογικό έλεγχος στο Εργαστήριο Κλινικής βακτηριολογίας, Παρασιτολογίας, Ζωονόσων και Γεωγραφικής Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης. Ως προς τις επιδημιολογικές ενδείξεις λάβαμε υπόψη την εποχή του έτους, το επάγγελμα και την κατοικία του ασθενούς, την επαφή με ζώα και την γεωγραφική περιοχή που διέμενε στην Εύβοια. Ως προς τα κλινικά κριτήρια, εστιάσαμε στα κλασσικά κριτήρια των ρικετσιώεων όπως τα περιγράψαμε, πυρετός, κεφαλαλγία, εξάνθημα, κηλιδώδες, κηλιδοβλατιδώδες, πετεχειώδες ή πορφυρικό, μυαλγίες, αρθραλγίες, θρομβοπενία και τρανσαμινασαιμία.

4.4 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ

4.4.1 Έλεγχος περιβάλλοντος και συνθηκών διαβίωσης των ασθενών

Έγιναν επισκέψεις στις οικίες και το εργασιακό περιβάλλον των ασθενών για την καταγραφή των συνθηκών που πιθανόν να ευνοούν τη νόσο (ύπαρξη ζώων και παρασίτων σε αυτά).

4.4.2 Αναζήτηση ρικετσιών σε μεταβιβαστές

Από τις περιοχές που ζούσαν οι ασθενείς έγινε συλλογή τρωκτικών *Rattus norvegicus*, γάτες ψύλλων και κροτώνων από αυτά. Έγινε αιμοληψία από μερικά τρωκτικά για ορολογικό και μοριακό έλεγχο PCR

4.4.3 Έλεγχος αρθρόποδων-μεταβίβαστών (κρότωνες-ψύλλοι)

Μετά την ταυτοποίηση ως προς το είδος των παρασίτων αυτά χωρίζονται σε αποστηρωμένα σωληνάρια ως προς την προέλευσή τους, απολυμαίνονται με χρήση αιθανόλης 70% και γίνεται τεμαχισμός σε διάλυμα 200μl PBS και αποθηκεύονται στους -20°C μέχρι την εξαγωγή του DNA. Τα υπόλοιπα σωληνάρια με τα αρθρόποδα αποθηκεύονται στους -80°C για απομόνωση του παθογόνου.

4.5 Υλικά και Μέθοδοι

Κατά τα έτη 1999-2005 ελέγχτηκαν 174 ασθενείς από την περιοχή της Χαλκίδας, από τις γειτονικές περιοχές της Βοιωτίας και την ευρύτερη περιοχή της Χαλκίδας σε ακτίνα περίπου 30 km γύρω από αυτήν. Οι ασθενείς νοσηλεύθηκαν στο νοσοκομείο Χαλκίδας 200 κλινών το οποίο εξυπηρετεί 200.000 κατοίκους συνολικά. Ο πληθυσμός αναφοράς ήταν ενήλικες > 18 ετών με κλινική υποψία ΜΤ που εισήχθησαν στο νοσοκομείο Χαλκίδος κατά τα έτη 1999-2005. Το ελάχιστο κριτήριο υποψίας τους για τύφο ήταν η παρουσία πυρετού, με κεφαλαλγία, εξάνθημα και απουσία άλλων ευρημάτων που θα μπορούσαν να προσδιορίσουν κάποια άλλη λοίμωξη (π.χ κοινή πνευμονία, ουρολοίμωξη ή λοίμωξη γαστρεντερικού) . Έγινε λήψη τριών δειγμάτων ορού από κάθε ασθενή που είχε υποψία της νόσου (ΜΤ), 1° δείγμα μετά την εισαγωγή, 2° δείγμα μία εβδομάδα μετά και εν συνεχεία ένα 3° δείγμα τρεις εβδομάδες αργότερα. Τα δείγματα ελεγχθήκαν με έμεσο ανοσοφθορισμό IFA για ανίχνευση αντισωμάτων έναντι *R.typhi* και *R.conorii*. Θετικοί για τη νόσο θεωρούνταν όσοι είχαν τίτλο αντισωμάτων IgG > 1:960 ή IgM > 140 ή τετραπλασιασμό του τίτλου σε δύο διαδοχικές μετρήσεις. Όσοι ασθενείς είχαν ένα από τα ανωτέρω κριτήρια θεωρήθηκαν ότι είχαν εργαστηριακά τεκμηριωμένη οξεία λοίμωξη από *R.typhi* ή *R.conorii*.

Από του ασθενείς συγκεντρώθηκαν δεδομένα δημογραφικά, επιδημιολογικά χαρακτηριστικά όπως ηλικία, φύλο, επάγγελμα, τόπος διαμονής συμπτώματα, κλινική σημασία και επιπλοκές κατά τη διάρκεια της νοσηλείας, τα εργαστηριακά γενικά ευρήματα, βιοχημικά και ακτινολογικά καθώς και η θεραπευτική ανταπόκριση, απυρεξία και η έξοδος από το νοσοκομείο.

Από τον αριθμό των ασθενών αυτών, κατά τα έτη 1999-2003 σε 20 ηλικιωμένους ασθενείς που πληρούσαν τα κριτήρια διάγνωσης της νόσου ΕΤ, έγινε πλήρης καταγραφή της συνολικής τους πορείας, κλινικής πορείας, θεραπευτικής ανταπόκρισης, επιπλοκών και επιδημιολογικών δεδομένων.

Επίσης, σε 90 ασθενείς ηλικίας 18 ετών και άνω, όπου νοσηλεύτηκαν στο νοσοκομείο μεταξύ των ετών 2001 και 2005 και πληρούσαν τα διαγνωστικά κριτήρια του ενδημικού τύφου, έγινε και εδώ πλήρης καταγραφή της κλινικής τους πορείας, θεραπευτικής ανταπόκρισης των επιπλοκών και των επιδημιολογικών στοιχείων.

Εκτός των ανωτέρω ομάδων των ασθενών, από την μελέτη των αρχικών περιστατικών σε 6 περιστατικά, έγινε απομόνωση *Coxiella burnetii*, στα οποία η νόσος επιβεβαιώθηκε και ορολογικά με τον ανοσοφθορισμό.

Σε μία ομάδα 32 ασθενών, οι οποίοι ορολογικά παρουσίαζαν υψηλούς τίτλους και στις 2 ρικέτσιες *R.conorii* και *R.typhi*, τα δείγματα εστάλησαν στο εργαστήριο Unite de recherché en maladies, infectieuses et Tropical Emergentes, WHO collaborative centre for rickettsial and Arthropondborn Bacterial Diseases, Faculte de Medecine, Marseille France. Στο συγκεκριμένο εργαστήριο, όπως προαναφέρθηκε έγινε ο έλεγχος για 9 ρικετσιακά αντιγόνα, 8 για την ομάδα του κηλιδώδους πυρετού και 1 για τη *R.typhi*. Από το περιβάλλον των ασθενών, έγινε συλλογή 54 αρουραίων *Rattus norvegicus* από τους οποίους αφού αναισθητοποιήθηκαν με αιθέρα σε διαφανείς σάκους, έγινε αιμοληψία και συγκεντρώθηκαν 36 ψύλλοι συνολικά. Επίσης, από το περιβάλλον των ασθενών που υπήρχαν γάτες, με την βοήθεια και των ιδίων, έγινε συλλογή 23 ψύλλων *Ctenocephalidec felis*. Για τη σύληψη των αρουραίων χρησιμοποιήθηκαν παγίδες ψαριών από εμπειρία από προηγούμενη μελέτη και δόλωμα διάφορες οικιακές τροφές, ενώ για τη σύληψη των ψύλλων *Ctenocephalides felis* χρησιμοποιήθηκαν διαφανείς μεγάλες σακούλες που τοποθετήθηκαν σε χώρους που συχνάζουν γάτες και μέσα σε αγροτικές αποθήκες και στη συνέχεια αφού έκλειναν οι σακούλες αναισθητοποιούντο με αιθέρα και τοποθετούνταν σε σωληνάρια και διατηρούνταν στη κατάψυξη μεχρι να μεταφερθούν στο εργαστήριο.

Από τους 54 αρουραίους *Rattus norvegicus*, με την μέθοδο PCR-RFLP έγινε απομόνωση *R.typhi* από 5 αρουραίους. Από τα 7 shellvial με στοιβάδα λευκών των αρουραίων, δεν έγινε απομόνωση. Από

τους 36 ψύλλους *X.cheopis* έγινε απομόνωση 3 ρικετσιών *R.typhi*. Από τους 23 ψύλλους *Ctenocephalides felis*, έγινε απομόνωση 3 ρικετσιών, ρικέτσιες *R.felis*.

Από την πολυγονιδιακή ανάλυση των δειγμάτων στην Γαλλία, τρια ήταν θετικά ως προς την *R. felis,* 1 θετικό ως προς την ρικέτσια *R.molgontimonae* και τα υπόλοιπα όλα ήταν θετικά ως προς την *R. typhi*.

Επίσης, σαφώς θετικό ορολογικό έλεγχο για *R.typhi*, είχαν οι 20 ηλικιωμένοι ασθενείς και οι 90 ενήλικες που περιγράφονται κατωτέρω, στις μελέτες που ακολουθούν.

4.6 Αποτελέσματα

4.6.1 Γενικά

Από την επεξεργασία των στοιχείων των 90 ασθενών, που είχαν πλήρη εργαστηριακό και κλινικό έλεγχο και σαφή ορολογική τεκμηρίωση *R.typhi,* έγινε επεξεργασία και στατιστική ανάλυση όλων των στοιχείων και δημοσιεύτηκε η σχετική μελέτη (Chaliotis G. et. al., 2012) και ακολουθεί πλήρης ανάλυση του στη συνέχεια. Ομοίως, από 20 ηλικιωμένους ασθενείς που και σε αυτούς τεκμηριώθηκε ορολογικά η νόσος, έγινε επεξεργασία και στατιστική ανάλυση των στοιχείων τους, τα αποτελέσματα των οποίων ανακοινώθηκαν στο διεθνές συνέδριο ρικετσιώσεων το 2011, στο Ηράκλειο της Κρήτης.

Από τα υπόλοιπα στοιχεία, προκύπτουν τα εξής: Από τους 32 ασθενείς, οι οποίοι παρουσίαζαν διασταυρούμενες αντιδράσεις μεταξύ *R.typhi* και *R.conorii*, και εστάλησαν στην Γαλλία, για έλεγχο με 8 αντιγόνα για τις ρικέτσιες *R.conorii, R.slovaca, R.helvetica, R.massiliae, R.aeschlimannii ,R.israelensis, R.mongoltimonae, R.felis* και *R.typhi*, οι οποίες υπάρχουν στον Ευρωπαϊκό και Μεσογειακό χώρο. Αποτέλεσμα αυτού του ελέγχου ήταν να βρεθούν θετικά τρία περιστατικά για *R.felis* και ένα περιστατικό για *R.mongoltimonae*.Τα υπολοιπα 29 περιστατικά ηταν θετικά για την *R.typhi*.

Από τον έλεγχο των τρωκτικών και των ψύλλων, προέκυψαν τα ακόλουθα. Από 54 αρουραίους σε 5 αρουραιους *R.norvegicus*, απομονώθηκε *R.typhi* από τη στιβάδα των λευκών, με PCR-RFLP. Από τα shel vials δεν έγινε δυνατή η απομόνωση της. Από 36 ψύλλους *Xenopsylla cheopis*, έγινε απομόνωση της *R.typhi* από 3 ψύλλους. Από 23 *Ctenocephalides felis*, έγινε απόμωνση τριών ρικετσιών *R.felis*. Ο ορολογικός έλεγχος (IFA) στους αρουραίους έδειξε 93% θετικός στη *R.Typhi* σε τίτλο > 1 **:** 80 .

4.6.2 Τρία περιστατικά με *R.felis*

i. Το πρώτο περιστατικό, αφορούσε άντρα πακιστανικής καταγωγής, ο οποίος ήταν εργάτης σε αγροτικές εργασίες και κατοικούσε σε περιοχή δυτικά της Χαλκίδος, σε απόσταση 12 χλμ. Ασθένησε τον Σεπτέμβρη του 1999 με υψηλό πυρετό, ο οποίος άρχισε 5 ημέρες πριν την εισαγωγή του, με ρίγος, κεφαλαλγία μετωπιαία, διάρροιες, εμέτους και καταβολή. Παρουσίαζε αραιό κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα στον θώρακα και στην κοιλιά. Επίσης είχε και επιπεφυκίτιδα. Εργαστηριακός έλεγχος. Από την ακτινογραφία θώρακος, διήθηση αριστεράς πνευμονική βάσης. Από την γενική αίματος, λευκά φυσιολογικά, θρομβοπενία, αύξηση τρανσαμινασών, ήπια υπονατριαιμία και υπολευκοματιναιμία. Ο ασθενής, λόγω έντονης κλινικής υποψίας ρικετσιώσεως, έλαβε άμεσα αγωγή με δοξικυκλίνη και μετά από νοσηλεία 7 ημερών, εξήλθε από το νοσοκομείο, με πλήρη βελτίωση κλινική και εργαστηριακή. Ο πυρετός έπεσε την τέταρτη μέρα μετά την θεραπεία. Το μέγιστο ύψος του πυρετού ήταν 40.5. Στο περιβάλλον που ζούσε υπήρχαν άφθονα ποντίκια και γάτες. Ο ασθενής δεν παρουσίασε εσχάρα στο δέρμα, είχε όμως ήπια λεμφαδενίτιδα στο δεξί μηρό. Ο ασθενής παρουσίασε επίσης ηπατοσπληνομεγαλία.

ii. Το δεύτερο περιστατικό, αφορούσε άντρα 49 ετών, ο οποίος διέμενε στην ίδια περιοχή με τον πρώτο, και παρουσίασε και αυτός υψηλό πυρετό 5 μέρες πριν την εισαγωγή του, κεφαλαλγία μετωπιαία και διάρροιες. Από τον εργαστηριακό έλεγχο, είχε αύξηση των τρανσαμινασών, αυξημένη LDH, λευκοπενία, αυξημένη γGt, υπολευκοματιναιμία. Στην ακτινογραφία θώρακος είχε πνευμονικές διηθήσεις των βάσεων αμφότερα. Επίσης, ανέφερε αρθραλγίες και έντονη καταβολή. Νοσηλεύτηκε για 4 μέρες έλαβε αγωγή με δοξυκυκλίνη και ο πυρετός υποχώρησε σε 3 μέρες. Μετά την έξοδο του υπήρξε πλήρης εργαστηριακή και κλινική βελτίωση.

iii. Το τρίτο περιστατικό, αφορούσε γυναίκα 42 ετών, η οποία διέμενε σε αγροτικό χωριό 18 χλμ βορειοδυτικά της Χαλκίδος. Εισήχθη στο νοσοκομείο τον Σεπτέμβριο του 1999 λόγω εμπυρέτου από επταημέρου, εμέτων και διαρροιών. Ανέφερε επίσης κεφαλαλγία. Από τον εργαστηριακό έλεγχο η ακτινογραφία θώρακος ήταν φυσιολογική, τα λευκά φυσιολογικά, αυξημένες τρανσαμινάσες, γGt και είχε αναιμία. Επίσης, παρουσίαζε ήπιο κηλιδώδες εξάνθημα, ανέφερε καταβολή, κακουχία, μυαλγίες, έλαβε θεραπεία με δοξυκυκλίνη, ο πυρετός υποχώρησε σε 3 μέρες και εξήλθε του νοσοκομείου την τέταρτη μέρα με κλινική και εργαστηριακή βελτίωση. Επιπλέον, παρουσίασε κατά τη διάρκεια της νοσηλείας του αραιό κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα στον κορμό, καθώς και ηπατοσπληνομεγαλία.

Το περιστατικό που αφορούσε ασθενή θετική με *R.mongoltimonae*, ήταν μία γυναίκα 68 ετών, η οποία διέμενε σε αγροτική περιοχή 25 χλμ βορειοδυτικά της Χαλκίδος, και ασχολείτο με αγροτικές εργασίες. Ο λόγος εισαγωγής της στο νοσοκομείο ήταν πυρετός και αρθραλγίες, κεφαλγία και εμέτους από 6ημέρου. Από τον κλινικό και εργαστηριακό έλεγχο παρουσίαζε λευκοπενία, αναιμία, ήπια θρομβοπενία. Ακτινογραφία θώρακος φυσιολογική, αραιό κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα στον κορμό και ήπια λεμφαδενίτιδα στο δεξιό μηρό. Δεν ανέφερε δείγμα από κρότωνα, ούτε παρουσίαζε εσχάρα. Επίσης παρουσίαζε ηπατομεγαλία και σπληνομεγαλία. Ετέθη και αυτή λόγω κλινικής υποψίας σε αγωγή με δοξυκυκλίνη ο πυρετός υποχώρησε σε 4 μέρες και την Πέμπτη μέρα εξηλθε του νοσοκομείου. Επιδημιολογικά, στο περιβάλλον της ασθενούς υπήρχαν γάτες, ποντίκια αλλά και παραγωγικά ζώα, αιγοπρόβατα. Κοντά στη περιοχή, βρίσκεται και υδροβιότοπος σταθμός μεταναστευτικών πτηνών και ο μήνας Σεπτέμβριος του 2001 που ασθένησε είναι μήνας επιστροφής μεταναστευτκών πουλιών από την Αφρική.

Ως προς την επιδημιολογία των τριών περιστατικών με την *R.fel*is, από ψύλλους που είχαν συλλεγεί από την περιοχή τους, *Ctenocephalides felis* έγινε απομόνωση της *R.felis*. Και τα τρία περιστατικά, ομοιάζουν κλινικά και εργαστηριακά, με αυτά που έχουν δημοσιευτεί σχετικά με την ίδια ρικέτσια.

Οι ασθενείς που ήταν θετικοί στην *R.mongoltimonae*, παρά την απουσία εσχάρας ενοφθαλμισμού, η κλινική τους πορεία συμφωνεί απόλυτα με τα περιστατικά που έχουν περιγραφεί διεθνώς και επιδημιολογικά τόσο η παρουσία των παραγωγικών ζώων, όσο και η γειτνίαση σε υδροβιότοπο σταθμό μεταναστευτικών πουλιών, αποτελούν ισχυρά επιδημιολογικά στοιχεία λοίμωξης με *R.mongoltimonae*.

4.7 Μελέτες

4.7.1 Ο μυικός τύφος σε 20 ηλικιωμένους ασθενείς

Από το σύνολο των ασθενών κατά τα έτη 1999-2003 διαχωρίσθηκαν για τη μελέτη ηλικωμένοι ασθενείς (είκοσι στον αριθμό) και συγκρίθηκε η κλινική τους πορεία, η θεραπευτική ανταπόκριση τους και οι επιπλοκές. Συγκεκριμένα έγινε καταγραφή του φύλου, της ηλικίας του επαγγέλματος, κατοικίας και η τυχόν επαφή με ζώα που πιθανόν να ενοχοποιούνται για την μετάδοση της νόσου. Έγινε καταγραφή της κλινική τους πορεία, πυρετός, εξάνθημα, προηγηθείσα λήψη αντιβιοτικών, καταγραφή συνοδών νόσων, θεραπευτική ανταπόκριση από χορηγηθέντα αντιβιοτικά, των επιπλοκών και έγινε σύγκριση του ποσοστού των επιπλοκών με το γενικό πληθυσμό και βρέθηκε σημαντικά αυξημένη. Φαίνεται λοιπόν ότι οι ηλικιωμένοι έχουν μεγαλύτερη διάρκεια νοσηλείας και αυξημένο αριθμό επιπλοκών. Φαίνεται επίσης

ότι η θνητότητα λόγω της έγκαιρης υποψίας της νόσου και της κατάλληλης αγωγής και ανταπόκρισης σε αυτή, παρέμεινε μηδενική.

Ο μυϊκός τύφος είναι συνήθης σε θερμές και υποτροπικές περιοχές κατά τη διάρκεια των θερμών εποχών του έτους. Ενδημεί κυρίως σε περιοχές με κακές συνθήκες υγιεινής και συχνή επαφή μεταξύ ποντικών και ανθρώπων. Παρά την παγκόσμια κατανομή και εξάπλωση η διάγνωση του ενδημικού τύφου συχνά διαφεύγει και αυτό οφείλεται στη μη ειδική κλινική εικόνα και την συνήθως ήπια κλινική πορεία (Gikas *et al*. 2002).

Στην ευρύτερη περιοχή της Χαλκίδας με κυκλική ακτίνα 30 km γύρω από αυτήν ο μυϊκός τύφος θεωρείται ενδημική νόσος και η νόσος έχει διερευνηθεί και δημοσιευθεί (Tselentis 1994, 1992). Παρόλο που η *R.typhi* και ο μυϊκός τύφος έχουν περιγραφεί στη διεθνή βιβλιογραφία κυρίως σε μελέτες που αφορούν ενήλικες και παιδιά (Gikas 2002 και σε αυτή τη μελέτη περιγράφονται τα χαρακτηριστικά της *R.typhi* σε 20 ηλικιωμένους ασθενείς και συγκρίνουμε αυτά με τα χαρακτηριστικά της ίδιας νόσου σε άλλες ηλικιακές ομάδες ασθενών.

4.7.2 Μεθοδολογία

Σε μια περίοδο 5 ετών 1999-2003 ένα σύνολο 20 ασθενών ηλικίας > 65 ετών νοσηλεύθηκαν στο Γεν. Νοσοκ. Χαλκίδος , Εύβοια και με διάγνωση οξείας λοίμωξης από *R.typhi*. Η διάγνωση έγινε με έμμεσο ανοσοφθορισμό όταν ο τίτλος των ειδικών αντισωμάτων IgM και IgG αντισωμάτων ήταν > IgG> 1/960 ή IgM> 1/400 και/ή τετραπλασιασμό αντίστοιχα ή όταν υπήρχε τετραπλασιασμός του τίτλου σε δύο διαδοχικά δείγματα κατά την οξεία φάση της παρακολούθησης.

Όπως προαναφέρθηκε συγκεντρώθηκαν πληροφορίες από τους ασθενείς και καταγράφηκαν για το φύλο την ηλικία, το προηγούμενο ιστορικό, τόπο διαμονής επάγγελμα, επαφή με ζώα, εργαστηριακές διαταραχές, επιπλοκές, έκβαση, θεραπεία. Επίσης η παρακολούθηση των ασθενών ήταν συνεχής από την έξοδο τους από το νοσοκομείο.

4.7.3 Αποτελέσματα

Η μέση ηλικία των ασθενών ήταν 70,8 (εύρος 65-82) ετών και 12 ασθενείς (60%) ήταν άνδρες. Οι σύνοδες νόσοι ήταν αρτηριακή υπέρταση (10/20, 50%), σακχαρώδης διαβήτης (6/20, 30%) και

καρδιακή ανεπάρκεια (4/20, 20%). Όλοι οι ασθενείς που νοσηλεύθηκαν είχαν ελεύθερο ιστορικό από νευρολογική ή νεφρική νόσο. Όλοι οι ασθενείς ήταν κάτοικοι της ευρύτερης περιοχής της Χαλκίδος και είχαν καθημερινές δραστηριότητες στο ύπαιθρο. Οι ίδιοι ανέφεραν επαφή με οικόσιτα ζώα όπως γάτες, σκυλιά και κοτόπουλα και κουνέλια. Επίσης η ύπαρξη τρωκτικών *Rattus norvegicus* στην περιοχή είναι καλά τεκμηριωμένη από παλαιότερη έρευνα (Chaniotis B 1994). Οι ασθενείς δεν ανέφεραν ή δεν παρατήρησαν νύγμα από κρότωνα ή ψύλλους.

4.7.4 ΚΛΙΝΙΚΑ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ

Τα κύρια ευρήματα όπως εμφανίζονται και στο σχετικό πίνακα ήταν πυρετός 20/20-100%, μειωμένη λήψη τροφής και υγρών στους ασθενείς με επιπλοκές από το κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) (7/20 ασθενείς 35%). Ο πυρετός ήταν υψηλός 39-40 σε 17 ασθενείς (85%) και μέχρι 38,5 σε τρεις ασθενείς (15%). Κεφαλαλγία είχαν 18/20 (90%) η οποία εντοπιζόταν στη μετωπιαία περιοχή, το εξάνθημα υπήρχε σε 14/20 ασθενείς, 70% ήταν κηλιδοβλατιδώδες και εντοπιζόταν στο θώρακα, κυρίως στην πρόσθια επιφάνεια, λιγότερο στα άκρα και απουσίαζε από τα πέλματα και τις παλάμες. Φαίνεται λοιπόν πως η τριάδα των συχνότερων συμπτωμάτων ήταν πυρετός 100%, κεφαλαλγία 90% και εξάνθημα 70%. Επίσης μυαλγίες και αδυναμία ανέφεραν 14/20 ασθενείς 70% και μάλιστα ιδιαίτερα έντονη. Σοβαρή λοίμωξη με επιπλοκές παρατηρήθηκε σε 11 ασθενείς (55%). Ειδικότερα 5 ασθενείς παρουσίασαν στον ύπνο λήθαργο 25%, 3 ασθενείς οξεία νεφρική ανεπάρκεια με αύξηση κρεατινίνης και λευκοματουρία, 2 (10%) παρουσίασαν κώμα και 1 ασθενής 5% μη διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (DIC). Ένας ασθενής είχε εστιακά νευρολογικά σημεία με πυραμιδική συνδρομή, ωστόσο η αξονική ακτινογραφία εγκεφάλου ήταν αρνητική. Στην πορεία της νόσου με την ανάρρωση υπήρξε πλήρης βελτίωση και αποκατάσταση της νευρολογικής σημειολογίας. Σε 5 ασθενείς έγινε οσφυονωτιαία παρακέντηση ΟΝΠ, έδειξε μικρή αύξηση των λευκών. 8-26 λευκοκύτταρα και μικρή αύξηση του λευκώματος. Τα υπόλοιπα στοιχεία όπως το σάκχαρο ήταν εντός φυσιολογικών ορίων. Η υπόλοιπη κλινική συμπτωματολογία και σημειολογία ήταν μη παραγωγικός βήχας (6/20, 30%), σπληνομεγαλία (5/20, 25%), επιπεφυκίτης (3/20, 15%), οσφυαλγία 3/20. Από τους 6 ασθενείς με σημειολογία από το αναπνευστικό 1 είχε πύκνωση, 2 πνευμονικές διηθήσεις και 1 είχε πλευρίτιδα, τα οποία με την θεραπεία είχαν κλινική βελτίωση και πλήρη υποχώρηση των παθολογικών ευρημάτων.

εικ.30 Εξάνθημα σε ασθενή της μελέτης από *R.typhi*

εικ.31 Εξάνθημα σε ασθενή της μελέτης από *R.typhi*

4.7.5 Εργαστηριακός έλεγχος και πορεία

Οι κυριότερες διαταραχές ήταν αύξηση των τρανσαμινασών Ast Alt από διπλάσιες και άνω. 20/20-100%. Μικροσκοπική αιματουρία, 11/20-55% θρομβοπενία, 8/20 -40% υποαλβουμιναιμία, 8/20-40% λευκοπενία,7/20 άσηπτη πυουρία, 7/20 πρωτεϊνουρία, 6/20 υπονατριαιμία, 6/20 αύξηση γGt, 4/20 αύξηση ALP, 4/20 λευκοκυττάρωση, αύξηση LDH 13/20. Στην πορεία της νόσου με την ανάρρωση υπήρξε πλήρης βελτίωση και αποκατάσταση της νευρολογικής σημειολογίας. Όπως προαναφέρθηκε σε 5 ασθενείς έγινε οσφυονωτιαία παρακέντηση ΟΝΠ. Τα υπόλοιπα στοιχεία όπως το σάκχαρο ήταν εντός φυσιολογικών ορίων. Η υπόλοιπη κλινική και συμπτωματολογία και σημειολογία ήταν μη παραγωγικός βήχας (6/20, 30%), σπληνομεγαλία (5/20, 25%), επιπεφυκίτης (3/20, 15%), οσφυαλγία (3/20). Από τους 6 ασθενείς με σημειολογία από το αναπνευστικό 1 είχε πύκνωση, 2 είχαν πνευμονίτιδα και 1 είχε πλευρίτιδα το οποίο μετά την θεραπεία και την κλινική βελτίωση είχε πλήρη υποχώρηση των παθολογικών συμπτωμάτων.

Από την περαιτέρω μελέτη της σημειολογίας σε σχέση με τη διάρκεια της νόσου προέκυψαν τα ακόλουθα. Εξάνθημα εμφάνισαν οι 9 στους 12 άνδρες 75% και οι 5 στις 8 γυναίκες 62,5%. Ο χρόνος εμφάνισης του εξανθήματος ήταν από 3 έως 5 ημέρες από την έναρξη του πυρετού και η διάρκειά του από 2 έως 4 ημέρες. Η διάρκεια του πυρετού ήταν από 3 έως 5 ημέρες από την έναρξη της αγωγής. Κεφαλαλγία είχαν 11 στους 12 άνδρες 91,66% και 7 από τις 8 γυναίκες 87,5% εμφάνιση της κεφαλαλγίας. Εμφάνιση του πυρετού και διάρκεια από 4 έως 6 ημέρες. Όπως φαίνεται από τα ανωτέρω από διαταραχές των βιοχημικών εξετάσεων συχνότερη ήταν η αύξηση των τρανσαμινασών (100%). Οι τίτλοι των αντισωμάτων κυμαίνονταν από 1:50-1:600 και από 1:240 έως 1:7680 για το IgM και IgG αντίστοιχα.

4.7.6 Θεραπεία και πορεία της νόσου

Όλοι οι ασθενείς θεραπεύτηκαν με δοξυκυκλίνη 100gr 2 φορές ημερησίως. Σε ασθενείς με αδυναμία κατάποσης και ενδεχόμενο μη ικανοποιητικής κλινικής ανταπόκρισης χορηγήθηκε ofloxacin 400mgr ενδοφλεβίως 2 φόρες την ημέρα, συνολικά σε 5 από τους ασθενείς. δύο φορές ημερησίως. Η μέση διάρκεια της απυρεξίας μετά την χορήγηση των αντιβιοτικών ήταν 3,8 ημέρες για τη δοξυκυκλίνη και 4,2 ημέρες για την ofloxacin. Παράλληλα με την αντιβιοτική αγωγή όλοι οι ασθενείς έλαβαν ενυδάτωση με IV κυρίως N/S ορούς και η έκβασή τους παρά τη σοβαρότητα της κατάστασης ήταν καλή. Όλα τα κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα παρουσίασαν ύφεση μετά τη πτώση του πυρετού, εκτός από την υποαλβουμιναιμία και τα αυξημένα ηπατικά ένζυμα τα οποία παρέμειναν για περισσότερο από 2

μήνες. Όσο για τους τίτλους των αντισωμάτων παρατηρήθηκε μία αύξηση μέχρι τις 3 εβδομάδες μετά την εμφάνιση της νόσου η οποία ακολουθήθηκε από ελάττωση, μόνο οι Ig G παρέμειναν > 1:400 ενώ το IgA και IgM παρουσίασαν σταδιακή πτώση μετά τις 3 εβδομάδες.

4.7.7 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο ενδημικός τύφος είναι ένα εμπύρετο νόσημα που μεταφέρεται στον άνθρωπο από τα τρωκτικά διά μέσου των ψύλλων. Η πορεία της νόσου είναι συνήθως ήπια και χωρίς επιπλοκές αλλά κυρίως σε πιο σοβαρές περιπτώσεις, οι επιπλοκές αυξάνουν όταν η προτεινόμενη θεραπεία έχει καθυστερήσει (Adgenium 2010).

Στην παρούσα μελέτη παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά του ενδημικού τύφου σε μια σειρά από 20 ασθενείς ηλικία > 65 χρονών. Επίσης έχουν συγκεντρωθεί στοιχεία από μελέτες που αφορούν παιδιά και ενήλικες και τα συγκρίνουμε με δικά μας ευρήματα. Επτά μελέτες που αφορούν ευρήματα (πίνακας 3) περιλαμβάνονται για σύγκριση με τα ευρήματα της παρούσας μελέτης (GIKAS 2002, DULEMJIS 1999…….). Σε μερικές από αυτές τις μελέτες περιλαμβάνονται παιδιά αλλά ήταν μικρός ο αριθμός των περιπτώσεων και για αυτό το λόγο δεν αναφέρονται χωριστά (Taybe 1986……). Επίσης, 6 μελέτες που αφορούν τον μυϊκό τύφο σε παιδιά περιλαμβάνονται προκειμένου να γίνει σύγκριση (Fergie 2000……Gikas 2009). Τα κυριότερα κλινικά σημεία από του ασθενείς ήταν πυρετός 100%, κεφαλαλγία (90%), κακουχία (70%) και εξάνθημα 70%.

Παρόλο που στα παιδιά η συχνότητα της κλασσικής τριάδας του πυρετού, εξανθήματος και κεφαλαλγίας ποικίλλει μεταξύ των μελετών, φαίνεται ότι ο πυρετός και το εξάνθημα μαζί παρατηρήθηκαν περίπου στα 2/3 των δημοσιευθέντων σειρών. Περισσότερες μελέτες σε παιδιά δείχνουν μεγαλύτερη συχνότητα από ηπατομεγαλία (40-100%) (Winnwford 2001….) το οποίο είναι πολύ μεγαλύτερο από τις σειρές των ενηλίκων και κυρίως από την παρούσα μελέτη (35%) ενώ γαστρεντερικές διαταραχές (κοιλιακό άλγος, ναυτία,εμετός, ανορεξία) είναι όμοια με τα άλλα κλινικές ομάδες και εμφανίζονται περίπου στο μισό των περιπτώσεων.

Η συχνότητα των κυριότερων συμπτωμάτων από όλους τους ασθενείς (πυρετός, κεφαλαλγία, κακουχία και εξάνθημα) είναι συγκρίσιμα με αυτά των ενηλίκων (Gikas 2002….). Άλλα συνήθη συμπτώματα περιλαμβάνουν μυαλγία, ανορεξία, ναυτία και έμετο. Μόνο μικρές διαφορές μπορούν να σημειωθούν στη συγκεκριμένη μελέτη συγκρινόμενη με τις άλλες σειρές ενηλίκων όπως η ένταση της μυϊκής αδυναμίας όπως περιγράφεται από τους ασθενείς ή η συχνότατα εμφανιζόμενη αρθραλγία (40%) και η απουσία της διάρροιας. Συνήθη κλινικά σημεία που περιγράφονται σε προηγούμενες σειρές από την Ελλάδα (Gika 2002, Tselentis 1992..) περιλαμβάνουν μετωπιαία κεφαλαλγία σε ποσοστό 70% στην

παρούσα μελέτη, συγκρινόμενη με 80% και 71% αντιστοίχως, ενώ η επιμήκυνση ήταν μικρότερης συχνότητας 15% στην παρούσα μελέτη συγκρινόμενη με το 25% και 45% αντίστοιχα άλλα ήταν όμοια με πρόσφατη μελέτη στο Texas (Algenia 2010).

Η χαμηλότερη επί τοίς εκατό εμφάνιση του εξανθήματος σε άλλες μελέτες είχε αποδοθεί αφενός μεν στο περισσότερο μελαμψό δέρμα των ασθενών των άλλων περιοχών (Phoganus 2006…) και αφετέρου στη μικρότερη κλινική υποψία των ιατρών που δεν το ψάχνουν επισταμένα. (Dulepsi 1991). Ιδιαίτερα αξιοσημείωτη είναι η παρουσία του κηλιδωβλατιδώδους εξανθήματος σε 19 από τους ασθενείς της μελέτης. Οι εργαστηριακές διαταραχές στις σειρές της παρούσας μελέτης ήταν όμοιες με τις άλλες μελέτες. Μία μικρή αύξηση των ηπατικών ενζύμων είναι στερεότυπο εύρημα σε όλες τις περιπτώσεις μυικού τύφου ανεξάρτητα από την ηλικία και αφορά το 70% έως το 100% όλων των σειρών. Επιπλέον, παρατηρείται ήπια αναιμία και υποπρωτεινοναιμία (Gikas 2002…) ,ενώ αιματουρία και πρωτεινουρία παρατηρούνται στο 1/3 έως το ½ των ασθενών (Dauj 2002…) Όπως και στην παρούσα μελέτη χαμηλός αριθμός αιμοπεταλίων παρατηρήθηκε συχνά σε μερικές μελέτες ενηλίκων αλλά ήταν ασύνηθες , μόνο 4/137 ασθενείς σε μελέτη από την Thailand… 1993). Υποαλβουμιναιμία, χαμηλά αιμοπετάλια και ηπονατριαιμία παρατηρούνται συχνά σε παιδιά σε ποσοστό από 1/3 έως 2/3 του συνόλου των ασθενών.

Στα παιδιά οι επιπλοκές είναι σπάνιες (0-12%) και περιλαμβάνουν το ΚΝΣ, σε αντίθεση με το ποσοστό των επιπλοκών στις περισσότερες σειρές των ενηλίκων το οποίο ήταν υψηλότερο (2-27%) και περιλαμβάνουν νεφρική ανεπάρκεια, νευρολογικές διαταραχές όπως σύγχυση, αταξία, πνευμονικές διαταραχές αναπνευστική ανεπάρκεια και ευρήματα ακτινολογικά από το θώρακα, ίκτερο και διαταραχές πήξης. Οπωσδήποτε η νόσος στην παρούσα μελέτη ήταν ιδιαίτερα σοβαρή όπως φαίνεται και από το υψηλό ποσοστό επιπλοκών ανεξάρτητα από το χρόνο χορήγησης του κατάλληλου αντιβιοτικού. Επιπλέον η επιμονή της συμπτωματολογίας ήταν μεγαλύτερη στους ασθενείς που ελάμβαναν IV ofloxacin.

Αυτό το ποσοστό των επιπλοκών ήταν σημαντικά υψηλότερο από αυτά που αναφέρονται σε διάφορες μελέτες, ακόμα και σε μελέτες όπου η χορήγηση της κατάλληλης φαρμακευτικής αγωγής είχε καθυστερήσει λόγω μειωμένης κλινικής υποψίας. Ειδικότερα το ποσοστό των επιπλοκών ήταν 35% στις σειρές της παρούσας μελέτης, ποσοστό σημαντικά υψηλότερο από αυτό που αναφέρεται στη διεθνή βιβλιογραφία. Η υπονατριαιμία σε αυτούς τους ασθενείς ήταν σχετικά ήπια και δεν μπορούσε να δικαιολογήσει την εμφάνιση αυτών των διαταραχών από το ΚΝΣ. Η συχνότητα των νευρολογικών διαταραχών ήταν υψηλότερη (15%) συγκρινόμενη με τις προηγούμενες μελέτες από την Ελλάδα (Gikas 2002…) 2% και 3% αντίστοιχα αλλά όμοια με μελέτη από το Texas 15 και 21% αντίστοιχα. (Damlers 1991).

Ένα επιπλέον εύρημα που προσδιορίζει τη σοβαρότητα της λοίμωξης στις σειρές της παρούσας μελέτης είναι η μέση διάρκεια της απυρεξίας (3,8 ημέρες για τη δοξυκυκλίνη και 4,2 ημέρες για την ofloxacin. Αυτή η περίοδος είναι μεγαλύτερη από αυτή που αναφέρεται στην Ελλάδα, 3 ημέρες για την Τετρακυκλίνη, στο Τέξας 3 ημέρες για την Τετρακυκλίνη ή χλωραμφαινικόλη και στην Ταϋλάνδη απυρεξία σε 2 ημέρες στο 79% των ανθρώπων που πήραν τη μοναδική δόση τετρακυκλίνης και στο 69% των ανθρώπων που πήραν την χλωραμφαινικόλη (TSOLEBRIL 1992…..). Παρά την ύπαρξη των επιπλοκών σε περισσότερους από τους μισούς ασθενείς και την μεγαλύτερη διάρκεια των συμπτωμάτων, όλες τις κλινικές και εργαστηριακές διαταραχές και δεν εμφανίσθηκε κανένα θανατηφόρο περιστατικό. Αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί στην έγκαιρή χορήγηση των αντιβιοτικών λόγω κλινικής υποψίας ή στη χαμηλή τοξικότητα της *R.typhi*. Μονολότι αναφέρονται περιπτώσεις αυτοπεριοριζόμενες και αυτοιώμενες σε προγενέστερες μελέτες που πήραν καθυστερημένη ή μη χορήγηση θεραπείας, συνδέονται με μεγαλύτερο διάστημα συμπτωμάτων (DUMLER 1993…). Επιπλέον ο κίνδυνος των επιπλοκών φαίνεται ότι αυξάνεται ανάλογα με την ηλικία και κατά συνέπεια οι ασθενείς που ήταν άνω των 65 ετών ήταν πιο επιρρεπείς στην ανάπτυξη σοβαρότερων επιπλοκών (DUMLER 1991). Φαίνεται ότι η ενδεικνυόμενη θεραπεία πρέπει να χορηγείται έγκαιρα άλλες ηλικωμένους ασθενείς με κλινική υποψία μυϊκού τύφου. Αυτή είναι η πρώτη μελέτη που αφορά τη λοίμωξη από *R.typhi* σε ηλικιωμένους ασθενείς. Παρά την μη ύπαρξη θανατηφόρων περιστατικών η κατάλληλη θεραπευτική αγωγή πρέπει να χορηγείται έγκαιρα καθώς ο μυϊκός τύφος εμφανίζεται με βαρύτερη κλινική εικόνα άλλες ηλικιωμένους σε σχέση με άλλες ομάδες.

Μηνιαία Κατανομή των Ασθενών	
Ιανουάριος	0
Φεβρουάριος	0
Μάρτιος	0
Απρίλιος	0
Μάιος	1
Ιούνιος	3

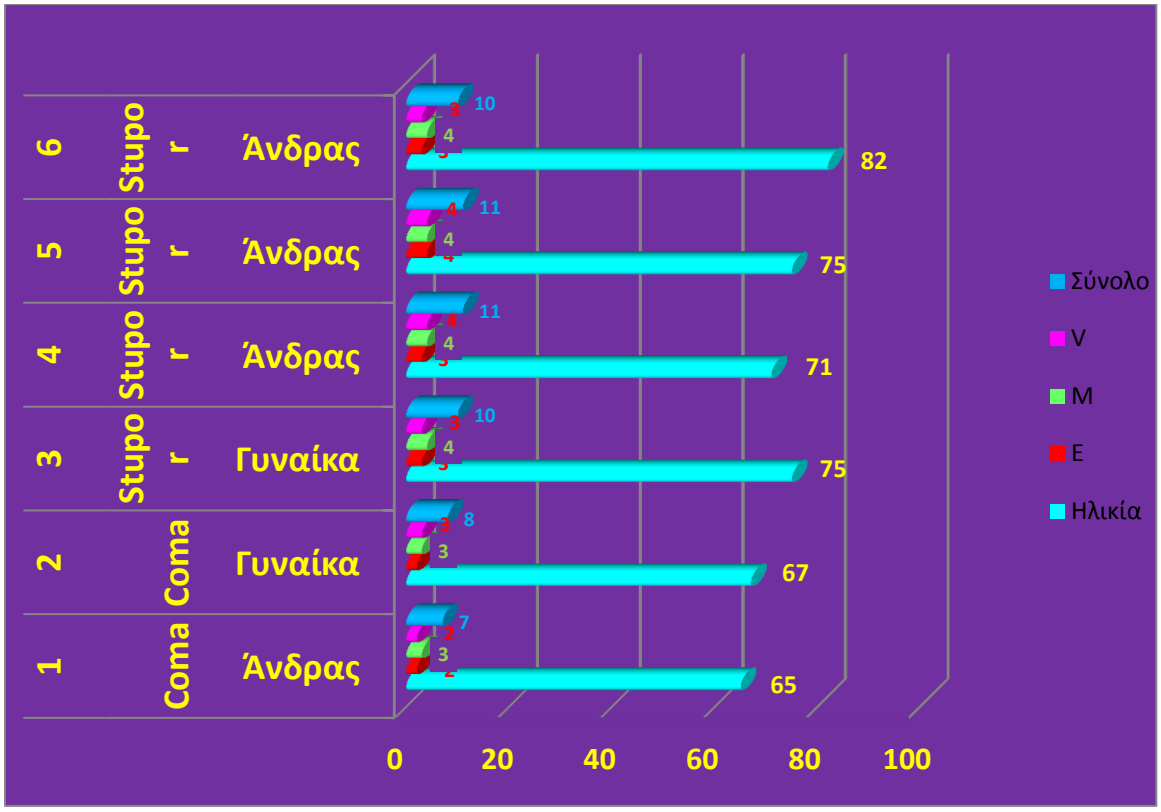
Ιούλιος	5
Αύγουστος	6
Σεπτέμβριος	3
Οκτώβριος	2
Νοέμβριος	0
Δεκέμβριος	0

Πίνακας 4: Μηνιαία Κατανομή των Ασθενών

Έγινε ΟΝΠ σε 5 αρρώστους με νευρολογικές επιπλοκές. Έδειξε μικρή αύξηση των κυττάρων 8-26 (λευκοκυττάρων) και μικρή του λευκώματος. Τα λοιπά στοιχεία (ζάχαρο κτλ) ήταν φυσιολογικά.

Κλίμακα Γλασκώβης							
Α/Α	**Κατάσταση**	**Φύλο**	**Ηλικία**	**Ε**	**Μ**	**V**	**Σύνολο**
1	Coma	Άνδρας	65	2	3	2	**7**
2	Coma	Γυναίκα	67	2	3	3	**8**
3	Stupor	Γυναίκα	75	3	4	3	**10**
4	Stupor	Άνδρας	71	3	4	4	**11**
5	Stupor	Άνδρας	75	4	4	4	**11**
6	Stupor	Άνδρας	82	3	4	3	**10**
7	**Stupor**	**Γυναίκα**	**77**	**4**	**4**	**4**	**12**

Πίνακας 5:Κλίμακα Γλασκώβης σε ηλικιωμένους ασθενείς της μελέτης με επιπλοκές από το Κ.Ν.Σ.



Διάγραμμα 3:Κλίμακα Γλασκώβης σε ηλικιωμένους ασθενείς της μελέτης με επιπλοκές από το Κ.Ν.Σ.

Clinical features	Number of patients	Percentage (%)
Fever	20/20	100
Chills	18/20	90
Headache	18/20	90
Perspiration	17/20	85
Malaise – muscle weakness	14/20	70
Rash	14/20	70
Myalgia	12/20	60
Anorexia	12/20	60
Arthralgia	8/20	40

Nausea-vomiting	7/20	35
Hepatomegaly	7/20	35
Central nervous system involvement*	7/20	35
Stupor	5/20	25
Coma	2/20	10
Non-productive cough	6/20	30
Splenomegaly	5/20	25
Acute renal failure*	3/20	15
Conjuctivitis	3/20	15
Back pain	3/20	15
Disseminated intravascular coagulation (DIC)*	1/20	5

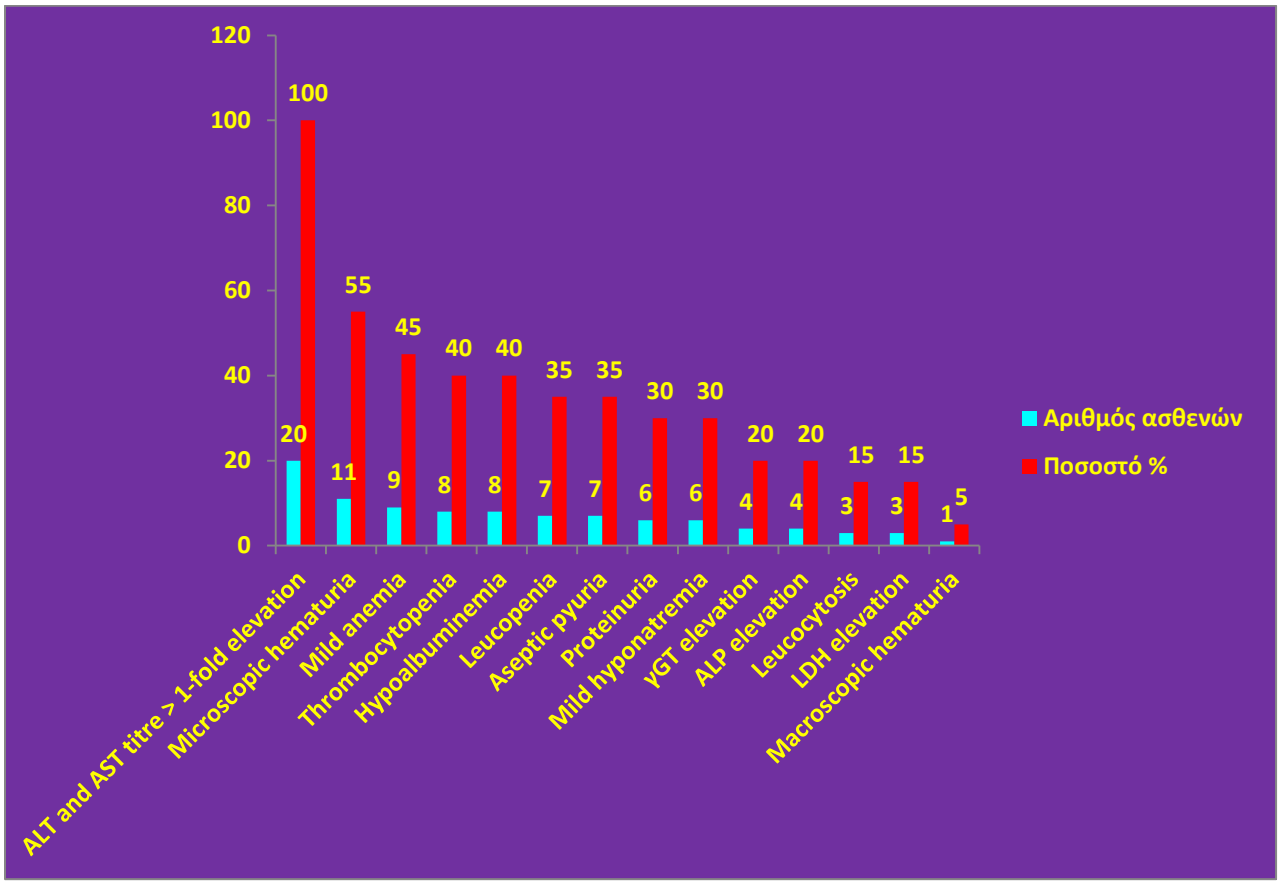
*Indicating severe infection.**Πίνακας 6**:Κλινική συμπτωματολογία των ηλικιωμένων ασθενών της μελέτης

Laboratory abnormality	Number of patients	Percentage
ALT and AST titre > 1-fold elevation	20/20	100
Microscopic hematuria	11/20	55
Mild anemia	9/20	45
Thrombocytopenia	8/20	40
Hypoalbuminemia	8/20	40
Leucopenia	7/20	35
Aseptic pyuria	7/20	35
Proteinuria	6/20	30

Mild hyponatremia	6/20	30
γGT elevation	4/20	20
ALP elevation	4/20	20
Leucocytosis	3/20	15
LDH elevation	3/20	15
Macroscopic hematuria	1/20	5

AST: aspartate aminotransferase levels; ALT: alanine aminotransferase; ALP: alkaline phosphatase; LDH: lactate dehydrogenase.

Πίνακας 7: Εργαστηριακά ευρήματα της μελέτης των 20 ηλικιωμένων ασθενών



Διάγραμμα 4: Εργαστηριακά ευρήματα των 20 ηλικιωμένων ασθενών της μελέτη

Study, n	Gikas et al, 2002. n=83	Adjemian et al, 2010. n=33	Dumler et al, 1991. n=80	Silpapojakul et al, 1993. n=137	Tselentis et al, 1992. n=49	Phongmany et al, 2006. n=41	Taylor et al, 1986. n=200
Main clinical symptoms	Fever (100%), headache (88%), chills (87%), rash (80%), malaise (55%), anorexia (53%), myalgia (45%)	Fever (100%), malaise (76%), headache (73%), chills (61%), myalgia (61%), anorexia (58%), nausea (52%), rash (46%)	Fever (98%), headache (75%), chills (66%), rash (54%), myalgia (46%)	Fever (100%), myalgia (44.5%), headache (41.6%), nausea-vomiting (30.7%), hepatomegaly (24.1%), rash (20.4%)	Fever (100%), chills (92%), headache (90%), rash (71%), myalgia (71%), conjunctivitis (45%), back pain (43%)	Fever (100%), headache (95%), myalgia (85%), palpable liver (73%), nausea (45%), abdominal pain (43%), back pain (38%)	**Fever (100%), headache (77.8%), malaise (65.6%), rash (58.1%), anorexia (44.9%), nausea (44.3%), myalgia (34.3%),**
Triad (fever, rash, headache) present	Not specified but all 3 were observed in a high percentage	Not specified but rash was at a low percentage	Not specified but rash was at a low percentage	Not specified but rash was at a low percentage	Not specified but all 3 were observed in a high percentage	Not specified but rash was at a low percentage	**Not specified**
Main laboratory findings	AST and ALT>1-fold (86&64%), elevated LDH (82%),	Impaired liver function (70%)	Impaired liver function (90%), anemia (~75%), hyponatremia	Impaired liver function and elevated ALP in most of 52 tested	Impaired liver function (90%), Pyuria (47%),	Median serum AST was >1-fold above normal, raised	**Not reported**

	hypoalbuminemia (82%), low platelets (51%)		(60%), low platelets (48%)	patients	Hematuria (45%)	CPK (63%)	
Complications	Acute renal failure (5%), pulmonary infiltrates (5%), pleural effusion (2%)	9 (27%) required ICU (pneumonia, coagulopathy, acute renal failure%)	Neuropsychiatric abnormalities (7.5%), renal insufficiency (6.3%), CNS involvement (5%), respiratory failure (3.8%), jaundice (2.5%), hematemesis (1,3%)	Jaundice (10.9%), altered consciousness (2.2%), seizures (2.2%)	Acute renal failure (2%)	Dyspnea (12.5%), meningism (5.1%)	**Not specified, but 2 fatalities are reported**
Treatment	All treated. Doxycycline (33.7%), Doxycycline & Ciprofloxacin (27.7%), Ciprofloxacin (15.7%)	51% treated. Doxycycline (39.4%)	69/69 patients (100%) with available information were treated with Doxycycline or Chloramphenicol	Records available in 119/137 patients. Doxycycline in 52/119 (43.7%), Chloramphenicol in 9/119 (7.6%), supportive treatment no antibiotics in	Tetracyclines (100%)	Not specified	**Tetracycline (76%), Chloramphenicol (9%, both (3%), Inappropriate antibiotics (6%), no antibiotics (4.5%).**

				13/119 (10.9%) patients			
Mean time to apyrexia after treatment	Not specified	Not specified	Median 3 (-3-13) days	Apyrexia within 2 days: Doxycycline (79%), Chloramphenicol (67%), supportive (29%)	3 days	Not specified	**Not specified**
Deaths due to infection	0	0	2 (2.5%)	2 (1.5%)		0	**2 (1.0%)**
Comments		**Fever was an inclusion criterion.**	**Most tests were not performed for all patients**	**20 (15%) were younger than 14 years.**	**Fever was an inclusion criterion. Seven (14.3%) were younger than 19 years.**	**Fever was an inclusion criterion.**	**44 patients (22%) were younger than 19 years.**

AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; ICU, intensive care unit; ALP, alkaline phosphatase;

Πίνακας 8: Χαρακτηριστικά ασθενών με μυϊκό τύφο από προηγούμενες μελέτες

Study, n	Gikas et al, 2009. n=41	Whiteford et al, 2001. n=97	Koliou et al, 2007. n=21	Fergie et al, 2000. n=30	Bitsori et al, 2000. n=9	Silpapojakul et al, 1991. n=10
Main clinical symptoms	Fever (100%), rash (63.4%), hepatomegaly (61%), chills (60%), pulmonary involvement (53.7%), perspiration (48.8%), anorexia (41.5%)	Fever (100%), headache (76%), rash (63%), malaise (62%), anorexia (46%), vomiting (45%), hepatomegaly (61%), chills (60%), pulmonary involvement (53.7%), perspiration (48.8%)	Fever (100%), rash (57%), chills (43%), lymphadenopathy (37%), splenomegaly (24%)	Fever (100%), anorexia (83%), rash (80%), headache (77%), abdominal pain (60%), malaise (57%), myalgia (57%), vomiting (43%), cough (40%), diarrhoea (40%)	Fever (100%), lymphadenopathy (100%), hepatomegaly (100%), splenomegaly (100%), rash (55.6%)	**Fever (100%), rash (40%), hepatomegaly (40%), cough (40%), myalgia (40%)**
Triad (fever, headache, rash) present	12.2%	49%	29%	Not specified but all 3 symptoms were observed in a high percentage	Not specified but reported as very low	**Not specified**
Main laboratory findings	AST and ALT >1-fold (73 and 65.6%), low platelets (39%), leucopenia (24.4%)	Hypoalbuminemia (87%), elevated AST (82%), hyponatremia (58%), elevated ALP (38%), leucopenia (37%)	AST and ALT >1-fold (86 and 81%), low platelets (28%)	Elevated ESR (75%), elevated AST and ALT (67%), hyponatremia (66%), low	Elevated AST and ALT (100%), elevated ESR (67%)	**Not specified**

				platelets (60%), anemia (57%)		
Complications	Confusion (2.3%)	Pneumonitis (12%), CNS involvement (10%), one patient required ICU, 1 infection relapsed	CNS involvement (meningitis) (5%)	Lethargus and required ICU (6.7%)	0	**0**
Treatment	All treated on admission. Doxycycline (46.3%), Chloramphenicol (29.3%), Fluoroquinolones (12.2%), Cotrimoxazole & b-lactams (4.9%)	96% treated. Tetracycline (71.9%), Chloramphenicol (14.6%), both (2.3%), other (11.3%)	Tetracycline (52.4%), Chloramphenicol (33%), both (14.6%)	Doxycycline (70%,) Tetracycline (6.7%)	88.9% treated. Doxycycline 33%.	**Not specified**
Mean time to apyrexia after treatment (range)	4.9 (2-12) days	Median Tetracycline 2 (0-6) days, Chloramphenicol 2.5 (0-11) days, Other 6 (1-14) days	Not specified	Doxycycline & Tetracycline: 35 (4-66) hours	Not specified	**Not specified for cases of murine typhus**
Deaths due to infection	0	0	0	0	0	**0**
Comments		**Most tests were not**				**Fever was an**

		performed for all patients				**inclusion criterion**

AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; ICU, intensive care unit; CNS, central nervous system; ALP, alkaline phosphatase;

Πίνακας 9: Χαρακτηριστικά μυϊκού τύφου σε παιδιά

4.8 ΚΥΡΙΟ ΑΡΘΡΟ

4.8.1 Ο Τύφος στους 90 ασθενείς στην Κεντρική Ελλάδα

Ο μυϊκός τύφος είναι μια νόσος που μεταδίδεται από τους ψύλλους και έχει αιτιολογικό παράγοντα έναν αποκλειστικά ενδοκυττάριο οργανισμό που διαβιώνει στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων του ξενιστή. Ο κλασσικός κύκλος μετάδοσης για τον ΜΤ είναι αρουραίος-ψύλλος –αρουραίος με συνηθέστερα είδη τον *R.norvegicus* και *R.rattus* και τους ψύλλους αυτών *Xenospylla cheopis*, τα οποία αποτελούν την κύρια δεξαμενή και ξενιστή αντίστοιχα. Οι ποντικοί επίσης διατηρούν σαν ξενιστές την *R.typhi* στο αίμα τους και την έχουν διαθέσιμη για τους ψύλλους οι οποίοι μεταδίδουν τον μικροοργανισμό με το νύγμα τους σε άλλα τρωκτικά. Οι άνθρωποι είναι περιστασιακοί ξενιστές οι οποίοι μολύνονται όταν κόπρανα ψύλλου είναι μολυσμένα με *R. typhi* και έρχονται σε επαφή με την κνησμώδη πληγή του δήγματος του ψύλλου ή τον επιπεφυκότα του ξενιστή ή το αναπνευστικό σύστημα μέσω εισπνοής σκόνης που περιέχει μολυσμένο υλικό. Για μετάδοση μέσω διαφορετικού είδους ψύλλου (π.χ ψύλλου της γάτας) αλλά και από διαφορετικούς ξενιστές (οικιακές γάτες και σκύλους) έχουν αναφερθεί μερικές καλά τεκμηριωμένες περιπτώσεις. Η κλινική υποψία του ΜΤ είναι δυσχερής, διότι η νόσος παρουσιάζεται με πολλά μη ειδικά συμπτώματα και σημεία και η τεκμηρίωση με ορολογικό έλεγχο μπορεί να καθυστερήσει και να είναι πολύ αργά για να ληφθεί κλινική απόφαση αντιμετώπισης. Η κλινική εικόνα ποικίλλει από ήπια συμπτώματα τα οποία δεν απαιτούν νοσηλεία σε νοσοκομείο έως και βαριά κλινική εικόνα που μπορεί να καταλήξει στο θάνατο. Η σοβαρότητα της κλινικής εικόνας της νόσου έχει συνδυαστεί με τη μεγάλη ηλικία, καθυστερημένη διάγνωση και έναρξη θεραπείας, έλλειψη ενζύμου G-6-PD, ηπατική και νεφρική ανεπάρκεια, διαταραχές του κεντρικού νευρικού συστήματος και διαταραχές των πνευμόνων. Πάνω από το 10% των ενηλίκων με ΜΤ μπορεί να χρειασθούν μονάδα εντατικής για νοσηλέια και η θνητότητα αν και χαμηλή με τη χρήση του κατάλληλου αντιβιοτικού (1%) μπορεί να φθάσει και το 4% σε περιπτώσεις που απουσιάζει η ειδική αντιμετώπιση και θεραπεία. Ο ΜΤ εμφανίζεται σε περιοχές με ζεστό και υγρό, έως κρύο και ορεινό, αλλά το πλέον σύνηθες είναι σε ζεστές περιοχές, ιδίως πόλεις, λιμάνια και παράκτιες αγροτικές περιοχές, όπου μεγάλος αριθμός τρωκτικών υπάρχει. Ενδημικές περιοχές ΜΤ παραμένουν στην περιοχή της Μεσογείου, στις Νότιες Πολιτείες των ΗΠΑ, ΝΑ Ασία και δυτική Αυστραλία. Σποραδικές περιπτώσεις ΜΤ έχουν αναφερθεί σε διάφορα μέρη του κόσμου και συχνά αφορούν ταξιδιώτες που επιστρέφουν από ενδημικές περιοχές. ΜΤ έχει επίσης αναφερθεί σε ενδημικές περιοχές παλαιότερες και φαίνεται πρόσφατα η επανεμφάνισή του σε περιοχές που δεν ήταν γνωστές ενδημικές της νόσου.

Ο ΜΤ επανεμφανίζεται στην Ελλάδα μετά από 4 δεκαετίες όταν 49 περιπτώσεις της νόσου αναφέρθηκαν στη νήσο της Εύβοιας, στην Κεντρική Ελλάδα το 1985. Ο αριθμός των ασθενών με ΜΤ που νοσηλέυθηκαν στο τοπικό νοσοκομείο, προοδευτικά ελαττώθηκε και η ασθένεια σχεδόν ξεχάστηκε. Νέες περιπτώσεις ΜΠ επανεμφανίσθηκαν στην Εύβοια το 1998. Γι αυτό το σκοπό έγινε μια 5ετής μελέτη βασισμένη στη νοσηλέια στο Γενικό Νοσοκομείο Χαλκίδας προκειμένου να επαναξιολογηθούν τα επιδημιολογικά και θεραπευτικά χαρακτηριστικά του ΜΤ στην περιοχή και να προκληθεί αφύπνιση των ιατρών και των τοπικών αρχών που ασχολούνται με τη δημόσια υγεία για την επανεμφάνιση και παρουσία της νόσου στην Κεντρική Ελλάδα.

4.8.2 Υλικά και μέθοδοι

4.8.2.1 Πληθυσμός μελέτης

Σχεδιάσθηκε μια 5 ετής μελέτη που αφορούσε περιπτώσεις ασθενών στο Γ.Ν.Ν.Χαλκίδος 200 κλινών τριτοβάθμιας φροντίδας το οποίο εξυπηρετεί ένα πληθυσμό πάνω από 200.000 ανθρώπους του νησιού της Εύβοιας στην Κεντρική Ελλάδα.

Ο πληθυσμός της μελέτης περιλαμβάνει ασθενείς > 18 ετών , ενήλικες με κλινική υποψία ΜΤ που νοσηλεύθηκαν στο νοσοκομείο μεταξύ των ετών 2001-2005.

Τα ελάχιστα κριτήρια για υποψία μυϊκού τύφου ήταν η παρουσία πυρετού > 38,2, κεφαλαλγία και εξάνθημα και η απουσία άλλων εμφανών αιτιών του πυρετού, π.χ. πνευμονία, ουρολοίμωξη και γαστρεντερικές λοιμώξεις. Τρία δείγματα ορού ελήφθησαν από κάθε ασθενή που υπήρχε κλινική υποψία νοσήσεως από ΜΤ, ένα δείγμα με την εισαγωγή ένα δείγμα μία εβδομάδα αργότερα και ένα τρεις εβδομάδες αργότερα και εξετάσθηκαν για την ύπαρξη αντισωμάτων έναντι της *R.typhi* με τον έμμεσο ανοσοφθορισμό (IFA) test. Τίτλοι IgG αντισωμάτων έναντι της *R.typhi* >1:960, ή τίτλοι 1:400 για IgM ή τετραπλασιασμός του τίτλου των αντισωμάτων μεταξύ δύο διαδοχικών μετρήσεων θεωρήθηκαν ισχυρή ένδειξη οξείας λοίμωξης. Τεκμηριωμένες περιπτώσεις μυικού τύφου θεωρήθηκαν αυτές που είχαν τα απαραίτητα κλινικά κριτήρια και ορολογική τεκμηρίωση για *R.typhi*. Ο ορολογικός έλεγχος έγινε στο εργαστήριο Κλινικής Βακτηριολογίας , Παρασιτολογίας και Ζωονόσων και Γεωγραφικής Ιατρικής στο Πανεπιστήμιο της Κρήτης.

Τα δεδομένα συγκεντρώθηκαν για κάθε τεκμηριωμένη περίπτωση συμπεριλαμβανομένων δημογραφικών και επιδημιολογικών στοιχείων (ημερομηνία εισαγωγής στο νοσοκομείο, ηλικία, φύλο, επάγγελμα και περιοχή διαμονής), συμπτωματολογία, κλινικά σημεία και επιπλοκές κατά τη διάρκεια της

νόσου. Ο συνήθης εργαστηριακός έλεγψχος με την εισαγωγή του ασθενούς, τα δεδομένα της θεραπείας(αντιβιοτικό που χορηγήθηκε και χρόνος απυρεξίας και η έκβαση.

4.8.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.8.3.1 Δημογραφικά κ επιδημιολογικά ευρήματα

Από 174 ασθενείς για τους οποίους υπήρχε υποψία για ΜΤ κατά την 5 ετή περίοδο 90 ασθενείς (51,7%) τεκμηρίωσαν τα κριτήρια για τη νόσο και συμπεριλήφθησαν στη μελέτη. Η μέση ηλικία ήταν 43 έτη (10, 24) με εύρος τιμών 18-89 ετών και 61 ασθενείς 61,7% ήταν άνδρες. Η επίπτωση της νόσου ήταν 0,43 περιπτώσεις ανά 100 ενήλικες με οξύ εμπύρετο νόσημα που εισήχθησαν για νοσηλεία την περίοδο της μελέτης. Η νόσος εμφανίζεται καθόλη τη διάρκεια του έτους αλλά βρέθηκε εποχιακή αύξηση της συχνότητας κατά το τρίτο τρίμηνο του έτους (Σχ.1). Όλοι οι ασθενείς προήρχοντο από απόσταση μέχρι και 30 km γύρω από την πόλη της Χαλκίδας, οι περισσότεροι διέμεναν σε αγροτικές περιοχές (52,2%) και ημιαστικές περιοχές (34,4%). Μεγάλο ποσοστό ασθενών ήταν αγρότες (40%) εργάτες αγροτικών εργασιών, εργάτες οικοδομών (14,4%) ή νοικοκυρές (17,8%).

4.8.3.2 Κλινικά δεδομένα

Το πλέον συχνό κλινικό συμβάν που εμφανιζόταν συχνότερα σε όλες τις περιπτώσεις ήταν ο πυρετός συχνά συνοδευμένος από ρίγος (91,1%). Ο πυρετός ήταν συνεχής και άρχιζε κατά μέσο όρο 3 ημερές πριν την εισαγωγή. Η μέγιστη θερμοκρασία που καταγράφηκε κατά την παρακολούθηση ήταν από 38-41°C με μέσο όρο 39,5 ^{o}C. Η μέγιστη συνολική διάρκεια του πυρετού ήταν 7 ημέρες. Μετωπιαία κεφαλαλγία είχε σημειωθεί σε 79 ασθενείς, άρχιζε κατά μέσο όρο 2 ημέρες μετά την εισβολή του πυρετού και διαρκούσε κατά μέσο όρο 4 ημέρες. Εξάνθημα παρατηρήθηκε σε 62 ασθενείς, ήταν κηλιδώδες και κηλιδοβλατιδώδες με κεντρική κατανομή και απουσίαζε από πέλματα και παλάμες. Άρχιζε κατά μέσο όρο 4 ημέρες μετά την εισβολή του πυρετού και διαρκούσε κατά μέσο όρο 3 ημέρες. Η κλασσική τριάδα πυρετός κεφαλαλγία και εξάνθημα υπήρχαν σε 58 ασθενείς κατά τη διάρκεια της νόσου. Σε 25 ασθενείς συνυπήρχαν 2 από τα 3 σημεία και 7 ασθενείς είχαν μόνο πυρετό. Άλλα συμπτώματα όπως κακουχία, μυαλγία, αρθραλγία, ναυτία, έμετος, ήταν λιγότερο συνήθη και φαίνονται στον πίνακα Ι. 16 ασθενείς είχαν σπληνομεγαλία και ηπατομεγαλία ενώ 13 παρουσίασαν σπληνομεγαλία και 7 ηπατομεγαλία. Επιπλοκές παρουσίασαν 23 ασθενείς οι οποίοι παρουσίασαν συνολικά 34 επιπλοκές. Οι 15 παρουσίασαν πνευμονολογικές επιπλοκές, 10 παρουσίασαν επιπλοκές από το ΚΝΣ, 7 παρουσίασαν οξεία νεφρική ανεπάρκεια και διάχυτη ενδαγγειακή πήξη 2 ασθενείς. Οι ασθενείς που παρουσίασαν

αυτές τις επιπλοκές ήταν αξιοσημείωτα μεγαλύτερης ηλικίας από αυτούς που δεν παρουσίασαν επιπλοκές, ενώ δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στο φύλο των ασθενών.

Τα εργαστηριακά ευρήματα κατά την εισαγωγή φαίνονται περιληπτικά στον πίνακα 2. 28 ασθενείς 31,1% είχαμ αναιμία κατά την εισαγωγή τους. Μόνο 4 ασθενείς (4,4%) είχαν λευκοκυττάρωση και λευκοπενία είχαν 29 ασθενείς (32,2), θρομβοκυττοπενία παρατηρήθηκε σε 73 ασθενείς (81,1%). Υψηλή ταχύτητα καθιζήσεως παρατηρήθηκε σε 84 ασθενείς (93,3%). Τα πιο συχνά εργαστηριακά ευρήματα κατά την εισαγωγή ήταν αλβουμιαναιμία σε 73 ασθενείς (81,1%) και αύξηση > 1 της ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης και της αλανινικής αμινοτρανσφεράσης σε 76 (84,4%) και 79 (87,8%) αντιστοίχως. Επίσης αξιοσημείωτες ήταν οι διαταραχές στους ηλεκτρολύτες του ορού. Παρατηρήθηκε υπονατριαιμία σε 32 ασθενείς (35,6%) και υποκαλιαιμία σε 13 (14,4%) ασθενείς.

Τα δείγματα του ανοσοφθορισμού (IFA) ελήφθησαν σε 3 δείγματα α) κατά την εισαγωγή (κατά μέσο όρο 3 μέρες με εύρος 2-6 ημέρες μετά την εισβολή του πυρετού, β) μια εβδομάδα μετά την εισαγωγή και γ) 3 εβδομάδες αργότερα (Πίνακας 3).

Τα ορολογικά κριτήρια για ΜΤ ήταν θετικά για 14 ασθενείς(15,6%) στο πρώτο δείγμα και στους 90 ασθενείς (100%) με το δεύτερο δείγμα και σε 69 ασθενείς (76,7%) με το τρίτο δείγμα. Όταν τα ορολογικά δεδομένα εξετάσθηκαν με την ηλικία, κανένας ηλικωμένος >65 ετών δεν είχε IgG και IgM τίτλο που να ξεπερνά το cut off όριο κατά την πρώτη εβδομάδα της νόσου, σε αντίθεση με το 20% των νεότερων ασθενών που είχαν ορολογική τεκμηρίωση κατά τη διάρκεια της πρώτης εβδομάδας της νόσου. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην κινητική των αντισωμάτων στο δεύτερο και στο τρίτο δείγμα ορού που να σχετίζονται με την ηλικία των ασθενών. Επίσης δεν παρατηρήθηκε συσχετισμός μεταξύ των τίτλων του ανοσοφθορισμού και των επιπλοκών.

4.9 ΑΠΑΝΤΗΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΗ

Όλοι οι ασθενείς πήραν ειδική θεραπεία αμέσως μετά την εισαγωγή τους 73 ασθενείς (81,1%) θεραπεύθηκαν με δοξυκικλύνη, 11 (12,2%) με ofloxacin και 6 (6,7%) έλαβαν θεραπεία με δοξυκυκλύνη και ofloxacin.. Οι μέσοι χρόνοι μεταξύ της εισβολής του πυρετού και της έναρξης της θεραπείας ήταν ίδιοι και για τις τρεις ομάδες θεραπείας, 3 ημέρες για τη δοξυκικλύνη (2-6 μέρες), 3 μέρες για την ofloxacin (2-5 μέρες) και 3,5 ημέρες (2-4 μέρες) για τη δοξυκυκλίνη μαζί με ofloxacin (p=0.216). Ο πυρετός επέστρεψε στο φυσιολογικό κατά μέσο όρο επίπεδο, δηλαδή σε 3 ημέρες για τη δοξυκυκλίνη

(95%), 4 ημέρες για την ofloxacin 95%) και 4 ημέρες για δοξυκυκλίνη μαζί με ofloxacin (95%, 3,6-4,4 ημέρες). Σύγκριση μεταξύ των διαφόρων ομάδων χρησιμοποιείται για την ανάλυση Kaplan Meier survival ανάλυση (Σχ2), έδειξε ότι ο χρόνος απυρεξίας ήταν αξιοσημείωτα μικρότερος στη ομάδα των ασθενών που θεραπεύονταν με δοξυκικλίνη συγκρινόμενα με αυτά που έλαβαν ofloxacin (P=0,01) ή με αυτούς που θεραπεύθηκαν με δοξυκυκλίνη και ofloxacin (P=0,09).

Η έκβαση ήταν καλή για όλους τους ασθενείς και καμιά αναζωπύρωση ή θάνατος δεν παρατηρήθηκε σε διάστημα 6 μηνών από τη έξοδο τους από το νοσοκομείο.

4.10 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο μυϊκός τύφος έχει μια κοσμοπολίτικη διασπορά και ενδημικές εστίες της νόσου διατηρούνται σε όλο τον κόσμο. Οπωσδήποτε κλινικές μελέτες για το ΜΤ που να περιλαμβάνουν μεγάλο αριθμό ασθενών παραμένουν σπάνιες (324). Η νόσος προφανώς υποδιαγιγνώσκεται και ευθέως υποαναφέρεται παγκοσμίως και αυτό οφείλεται στο ότι είναι συχνή η ήπια κλινική εικόνα η οποία είναι μη ειδική, υπάρχει οριακά μικρή επαγρύπνιση από τους ιατρούς και επειδή συχνά δεν συμπεριλαμβάνεται στη λίστα των διαφόρων κρατών για υποχρεωτική αναφορά με συνέπεια να μην καταγράφεται υποχρεωτικά (312-316).

Η παρούσα μελέτη είναι από τις μεγαλύτερες μελέτες περιστατικών ΜΤ που αναφέρονται μέχρι σήμερα και ήταν βασισμένη σε νοσοκομειακά στοιχεία με ενεργή επίβλεψη περιστατικών ΜΤ, ο οποίος επανεμφανίσθηκε σε μια γνωστή από το παρελθόν ενδημική περιοχή στο νησί της Εύβοιας. Ο κλασικός κύκλος μετάδοσης της *R.typhi* έχει τεκμηριωθεί σε προηγούμενες μελέτες, στη συγκεκριμένη περιοχή της μελέτης και η ρικέτσια έχει προσδιορισθεί και στο αίμα των αρουραίων και στους ψύλλους τους (329, 330). Ένα ευνοϊκό περιβάλλον για την ανάπτυξη των τρωκτικών και του πληθυσμού των ψύλλων και η αποτυχία στον έλεγχο των τρωκτικών είναι οι πλέον συνήθεις συνθήκες που συναντώνται για την επανεμφάνιση του ΜΤ στην περιοχή. Πράγματι περιπτώσεις εμφανίζονται κατά τη διάρκεια του έτους με εποχική έξαρση στη συχνότητά τους στο τέλος του καλοκαιριού σ’αυτή τη μελέτη, καθώς οι κλιματικές συνθήκες στη περιοχή ήταν περισσότερο ευνοϊκές για την ανάπτυξη του αριθμού των τρωκτικών λόγω των ανθρώπινων δραστηριοτήτων. Σε άλλες μελέτες η μεγαλύτερη επίπτωση παρατηρήθηκε των Μάιο και τον Ιούνιο (315, 324, 327) και θεωρείται ότι οι κλιματικές συνθήκες ήταν ο κύριος παράγοντας που

ρύθμιζε τις διαφορετικές εποχιακές διακυμάνσεις των περιστατικών ΜΤ σε ανθρώπους σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές.

Παρόλο που ο ΜΤ έχει περιγραφεί σαν νόσος κυρίως αγροτικών περιοχών και λιμανιών (312, 314, 317) πάρα πολλές περιπτώσεις στην παρούσα μελέτη εμφανίσθηκαν σε αγροτικές (52%) και ημιαστικές περιοχές (34%) με περιφερειακή κατανομή γύρω από την περιοχή της Χαλκίδας. Επιπλέον οι περισσότεροι ασθενείς ήταν άνδρες οι οποίοι είχαν απασχόληση που αφορούσε εξωτερικές εργασίες στο ύπαιθρο ή απασχόληση με αγροτικές εργασίες και έτσι ήταν υψηλού κινδύνου για επαφή με τρωκτικά.

Αλλαγές στην οικολογία του ξενιστή που αναφέρονται σε περιβαλλοντικές και ανθρώπινες δραστηριότητες μπορεί να αφορούν την εξάπλωση της *R.typhi* σε υπαίθριες περιοχές (331).

Οροεπιδημιολογικές μελέτες στην Ισπανία έδειξαν ότι η οροθετικότητα της *R.typhi* δεν ήταν υψηλότερη σε υπαίθριες περιοχές (332, 333) και ένας περιοικιστικός κύκλος που συμπεριλαμβάνει σκυλιά και άγρια τρωκτικά και τους ψύλλους τους, υποτέθηκε ότι είχε σχέση με την εξάπλωση στο ύπαιθρο της *R.typhi* (334, 335). Οπωσδήποτε δεν υπάρχουν δεδομένα που να δείχνουν ότι αυτός ο περιοικιακός κύκλος έχει σχέση με την μετάδοση της νόσου στην περιοχή της Χαλκίδας.

Ελήφθησαν τρία δείγματα ορού από κάθε ασθενή σε διαφορετικές στιγμές μετά την εισβολή της νόσου τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για να δείξουν την κινητικότητα των αντισωμάτων κατά τον πρώτο μήνα μετά την εισβολή της νόσου. Κατά την πρώτη εβδομάδα της νόσου οι τίτλοι των αντισωμάτων (IgM και IgG) ήταν χαμηλοί και τεκμηρίωναν τη διάγνωση στο 12% και 13% αντίστοιχα. Αντιθέτως, σχεδόν όλοι οι ασθενείς είχαν IgM και IgG υψηλούς θετικούς τίτλους που τεκμηρίωναν την δεύτερη εβδομάδα από την εισβολή της νόσου.

Οι τίτλοι και των δύο αντισωμάτων μειώθηκαν την 4^{η} εβδομάδα από την εισβολή της νόσου αλλά το ποσοστό των υψηλών τίτλων που τεκμηρίωναν την διάγνωση στους ασθενείς ήταν 38% έναντι 74% αντιστοίχως.

Αυτά τα δεδομένα δείχνουν ότι ο ανοσοφθορισμός δεν προσφέρει βοήθεια για τη διάγνωση του ΜΤ νωρίς με την έναρξη της νόσου και τα IgM αντισώματα φαίνεται ότι δεν προσφέρουν κάποιο επιπλέον πλεονέκτημα σε σχέση με τα IgG στην τεκμηρίωση της διάγνωσης. Επιπλέον μια καθυστέρηση στην άνοδο του τίτλου των αντισωμάτων παρατηρήθηκε στους ηλικωμένους ασθενείς σε αυτή τη μελέτη και δείχνει ότι η διάγνωση της νόσου (ΜΤ) νωρίς αναμένεται από τον ανοσοφθορισμό.

Τα κλινικά ευρήματα που παρατηρήθηκαν σε αυτή τη μελέτη συμφωνούν με αυτά που παρατηρήθηκαν σε άλλες μελέτες (324-328, 336-337) όπου πυρετός, κεφαλαλγία και εξάνθημα, τα οποία είναι τα πλέον συχνά συμπτώματα και σημεία. Η συχνότητα του εξανθήματος στους ασθενείς της μελέτης ήταν 69% και ήταν όμοια με αυτή που είχε βρεθεί σε προγενέστερη μελέτη στη ίδια περιοχή 71%) (323) και παρόμοια συχνότητα που έχει ανακοινωθεί σε άλλες μελέτες σε Ελλάδα, Ισπανία, Κροατία και στις ΗΠΑ (62-80%) (326-328, 336, 338). Το εξάνθημα εμφανίστηκε κατά μέσο όρο σε τρεις ημέρες. Γι ΄αυτό το λόγο το εξάνθημα, η εμφάνιση και τα χαρακτηριστικά του μπορούν να βοηθήσουν στην έγκαιρη διάγνωση του ΜΤ. Το εξάνθημα ήταν κηλιδώδες, κηλιδοβλατιδώδες με φυγόκεντρη διασπορά στο θώρακα των ασθενών και απουσίαζε από τις παλάμες και τα πέλματα. Πετεχειώδες βλάβες που έχουν σπάνια αναφερθεί στη βιβλιογραφία (326, 327) στους ασθενείς της παρούσας μελέτης δεν παρατηρήθηκαν.

Η χρησιμότητα της κλασικής τριάδας πυρετού, κεφαλαλγίας και εξανθήματος είναι ότι αποτελεί ένα διαγνωστικό εργαλείο για τον ΜΤ, όπως έχει αναφερθεί και από άλλους ερευνητές (327). Οπωσδήποτε οι ασθενείς της παρούσας μελέτης παρουσίαζαν συνεχή πυρετό με απότομη εισβολή που συνοδευόταν από μετωπιαία κεφαλαλγία και εν συνεχεία εμφανιζόταν το εξάνθημα με μεσοδιάστημα δύο ημερών στην εμφάνιση κάθε συμπτώματος.

Η κλινική τριάδα υπήρχε στο 64% των περιπτώσεων κατά τις δύο πρώτες ημέρες της εισαγωγής τους. Γι ΄αυτό τα δεδομένα της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι η κλασική τριάδα των συμπτωμάτων είναι πολύτιμη στην έγκαιρη διάγνωση του ΜΤ.

Πολλές οφθαλμικές επιπλοκές που σχετίζονται με τον μυϊκό τύφο έχουν αναφερθεί προσφάτως στη Τυνησία (339). Επίσης παρατηρήθηκε επιπεφυκίτιδα στο 21% των ασθενών. Φαίνεται λοιπόν ότι η πλήρης οφθαλμολογική εξέταση σε ασθενείς με υποψία ΜΤ μπορεί επίσης να είναι χρήσιμη για την γρήγορη διάγνωση της νόσου.

Σε συμφωνία με άλλες μελέτες (324, 326, 336, 337) βρέθηκε ότι οι αυξημένες τρανσαμινάσες και η υποαλβουμιναιμία ήταν οι κυριότερες βιοχημικές διαταραχές που εμφανίσθηκαν στους περισσότερους ασθενείς. Υπονατριαιμία, η οποία ποικίλλει ως προς το ποσοστό εμφάνισης σε διάφορες μελέτες από 18% έως 66% (324, 327, 328, 336, 337) παρατηρήθηκε σε ποσοστό 36% στην παρούσα μελέτη. Η *R.typhi* προκαλεί συστηματική αγγειίτιδα, η οποία επιτρέπει την εξαγγείωση πρωτεϊνών και ηλεκτρολυτών προκαλώντας υποαλβουμιναιμία. Η αύξηση των τρανσαμινασών προφανώς οφείλεται σε ηπατοκυτταρική φλεγμονή και χολαγγειακή βλάβη λόγω της φλεγμονής των μικροαγγείων (327).

Οι κυριότερες αιματολογικές διαταραχές που παρατηρήθηκαν σε αυτή τη μελέτη ήταν επίσης σύμφωνες με αυτές που παρατηρήθηκαν σε άλλες μελέτες (326, 327, 336, 337) παρόλα αυτά η αναφερόμενη συχνότητα ποικίλλει στη βιβλιογραφία (30). Οι ασθενείς μας παρουσίαζαν κυρίως φυσιολογικά λευκά (63%), θρομβοπενία καθώς και λευκοπενία (81%) και υψηλή ταχύτητα καθίζησης (93%). Θρομβοπενία καθώς και λευκοπενία θεωρείται ότι προκαλούνται από την κατανάλωση αιμοπεταλίων και λευκών στη θέση των φλεγμενόντων μικρών αγγείων (313).

Γενικά ο ΜΤ θεωρείται ήπια νόσος. Οπωσδήποτε ένα αξιοσημείωτο ποσοστό από τους ασθενείς μας παρουσιάζει μία ή περισσότερες επιπλοκές σε διαφορετικά όργανα. Ομοίως αξιόλογα υψηλή συχνότητα έχει αναφερθεί σε ασθενείς στο Τέξας (27%) (340). Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι ο ΜΤ έχει τη δυνατότητα να προκαλέσει αξιόλογη θνητότητα. Πνευμονικές διαταραχές που συνήθως αφορούσαν διάμεσες πνευμονικές διηθήσεις παρατηρήθηκαν στο 17% των ασθενών το οποίο ήταν ηψηλότερο από το σύνηθες (6-12%) (326, 341). Οι διηθήσεις αυτές στην ακτινογραφία θώρακος θα μπορούσαν να οφείλονται σε διαφυγή ορού από τα κατώτερα τριχοειδή αγγεία λόγω της προσβολής τους από *R. typhi* (313).

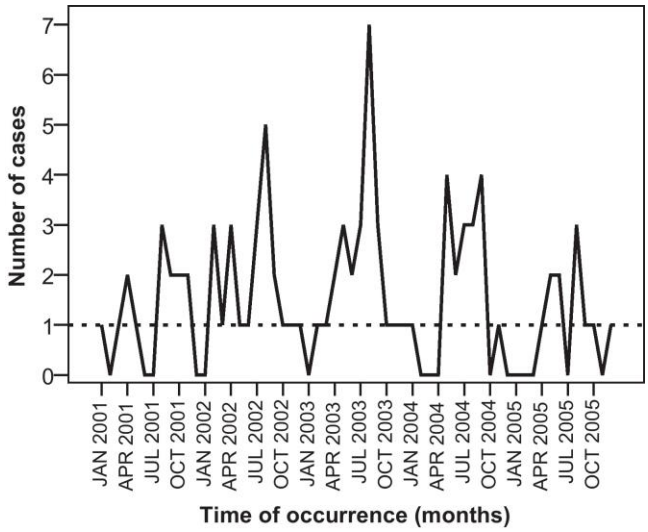
Νευρολογικές διαταραχές έχουν αναφερθεί σε ποσοστό 15-45% σε ενήλικες ασθενείς(324-327). Σε αυτή τη μελέτη 11% από τους ασθενείς παρουσίασαν λήθαργου κώμα. Άηπτη μηνιγγίτιδα και μηνιγγοεγκεφαλίτις τα οποία έχουν σπανίως αναφερθεί σαν όψιμες επιπλοκές του ΜΤ (342) δεν παρατηρήθηκαν στους ασθενείς της παρούσας μελέτης. Γι ΄αυτό πάντα ο ΜΤ θα πρέπει να θεωρείται πιθανή διάγνωση σε ασθενείς με πυρετό, εξάνθημα και νευρολογικές διαταραχές σε ενδημικές περιοχές.

Οξεία νεφρική ανεπάρκεια σε είναι συνήθης σε ασθενείς με ΜΤ (328,337,340) και 8% από τους ασθενείς είχαν νεφρολογικές διαταραχές. Η νεφρική ανεπάρκεια θα μπορούσε να οφείλεται σε νεφρική υποδιήθηση, δευτεροπαθή οφειλόμενη σε απώλεια ενδοαγγειακού όγκου λόγω αυξημένης αγγειακής διαπερατότητας ή σε περιαγγειακή εστιακή νεφρίτιτδα (313).

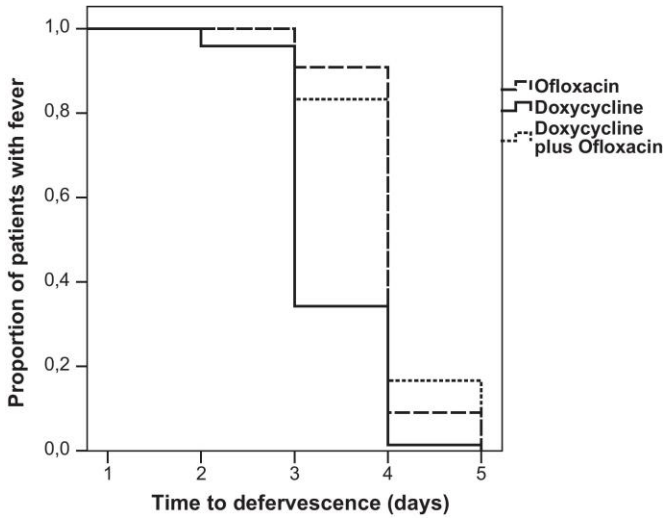
Η δοξυκυκλίνη είναι το φάρμακο εκλογής για το ΜΤ σε ενηλίκους και παιδιά εξαιρουμένων εγκύων (312-316). Μεγάλες κλινικές σειρές από Ελλάδα και Ηνωμένες Πολιτείες έδειξαν ότι η δοξυκικλύνη είχε μέσο χρόνο απυρεξίας τριών ημερών (324-328) ένα εύρημα το οποίο επιβεβαιώνεται και σε αυτή τη μελέτη. Η χλωραμφαινικόλη θεωρείται ότι είναι δραστική σαν εναλλακτικό αντιβιοτικό εάν η δοξυκυκλίνη αντενδείκνυται (312-316) είναι λιγότερο αποτελεσματική ως προς τη διάρκεια του χρόνου απυρεξίας (343) και συχνά αναζοπύρωση της νόσου έχει αναφερθεί (344). Οι κινολόνες θεωρούνται ,επίσης, αποδεκτό αντιβιοτικό (312-315) εναλλακτικά. Οπωσδήποτε, η σιπροφλοξασίνη έχει

βρεθεί ότι είναι λιγότερο δραστική από την δοξυκυκλίνη σε σχέση με τη διάρκεια του πυρετού. Σε αυτή τη μελέτη η οφλοξασίνη έχει βρεθεί ότι είναι λιγότερο δραστική από την δοξυκυκλίνη. Επιπλέον φτωχή απάντηση στη σιπροφλοξασίνη έδειξαν ασθενείς με ΜΤ (345) και η θεραπεία με κινολόνες πρόσφατα περιγράφεται ότι έχει τοξική επίδραση στη θεραπεία άλλων ρικετσιακών νόσων(346). Συνδυασμός με δοξυκυκλίνη και χλωραμφαινικόλη ή σιπροφλοξασίνη έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί στην κλινική πράξη αλλά δεν φαίνεται να υπερέχουν σε δραστικότητα από τη δοξυκυκλίνη (343). Ομοίως σε αυτή η οφλοξασίνη σε συνδυασμό με τη δοξυκυκλίνη δεν έδειξε να υπερέχει από τη δοξυκυκλίνη μόνη της ως προς τη διάρκεια του πυρετού.

Ο ΜΤ, παρουσιάζεται στην περιοχή της Εύβοιας κυρίως με την κλινική τριάδα πυρετός κεφαλαλγία και εξάνθημα σε συνδυασμό με τρανσαμιναιμία, θρομβοπενία, φυσιολογικό τύπο λευκών, αυξημένη ταχύτητα καθίζησης ερυθρών, υποαλβουμιναιμία και υπονατριαιμία. Ο ανοσοφθορισμός δε βοηθάει στη διάγνωση του ΜΤ νωρίς στην έναρξη της νόσου και ο τίτλος των Ig M αντισωμάτων δεν φαίνεται να προσφέρει κάποιο πλεονέκτημα έναντι των IgG στην τεκμηρίωση της διάγνωσης. Υψηλό ποσοστό επιπλοκών (πνευμονολογικές, νεφρικές και νευρολογικές) παρατηρήθηκαν κυρίως σε ηλικιωμένους ασθενείς, οι οποίοι βελτιώθηκαν μετά από ειδική θεραπεία. Ο συνδυασμός δοξυκυκλίνης και οφλοξασίνης δεν φαίνεται να υπερέχει από την δοξυκυκλίνη μόνη της σε σχέση με τη διάρκεια του πυρετού. Τα ευρήματα σε αυτή τη μελέτη δείχνουν με σαφήνεια την κλινική πορεία και αντιμετώπιση του ΜΤ, αυξάνουν την δυνατότητα των κλινικών γιατρών να προσδιορίζουν και να διαγιγνώσκουν τη ζωονόσο η οποία υποδιαγνώσκεται. Επαγρύπνηση για τη νόσο και έγκαιρη χορήγηση της δραστικής θεραπείας αποτελούν το κλειδί της πρόληψης της πιθανότητα σοβαρών επιπλοκών.



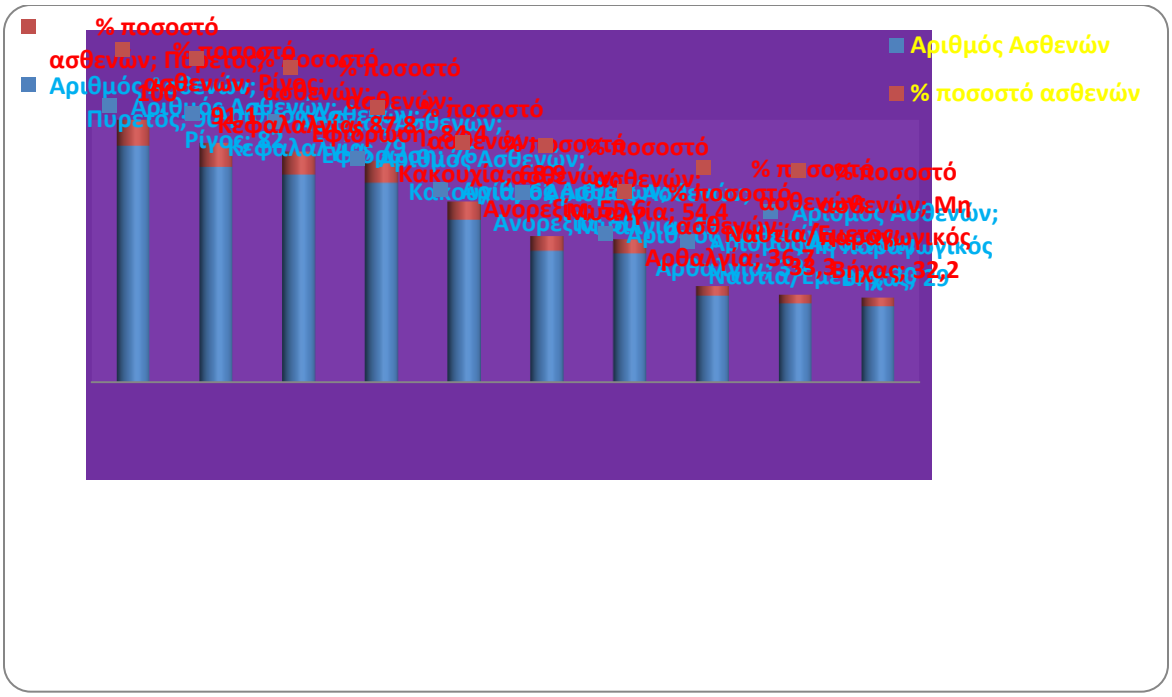
Διάγραμμα 5: Μηνιαία κατανομή των 90 ασθενών της μελέτης



Διάγραμμα 6: Χρόνος απυρεξίας των 90 ασθενών της μελέτης σε σχέση με την χορηγηθείσα θεραπεία

Οι κλινικές εκδηλώσεις σε 90 ασθενείς με τύφο ποντικού στην Ελλάδα	
Κλινικές Εκδηλώσεις	No. (%) of patients
Συμπτωματολογία	
Πυρετός	90 (100)
Ρίγος	82 (91.1)
Κεφαλαλγία	79 (87.8)
Εφίδρωση	76 (84.4)
Κακουχία	62 (68.9)
Ανορεξία	50 (55.6)
Μυαλγία	49 (54.4)
Αρθραλγία	33 (36.7)
Ναυτία / Εμετός	30 (33.3)
Μη παραγωγικός βήχας	29 (32.2)
Κλινική Σημειολογία	
Εξάνθημα	62 (68.9)
Ηπατομεγαλία	29 (32.2)
Σπληνομεγαλία	23 (25.6)
Επιπεφυκίτιδα	19 (21.1)
Επιπλοκές	
Πνευμονική συμμετοχή	15 (16.7)
Συμμετοχή Κ.Ν.Σ.	10 (11.1)
Οξεία Νεφρική Ανεπάρκεια	7 (7.8)
Διάχυτη Ενδαγγειακή Πήξη	2 (2.2)

Πίνακας 11: Κλινικές εκδηλώσεις από τους 90 ασθενείς της μελέτης

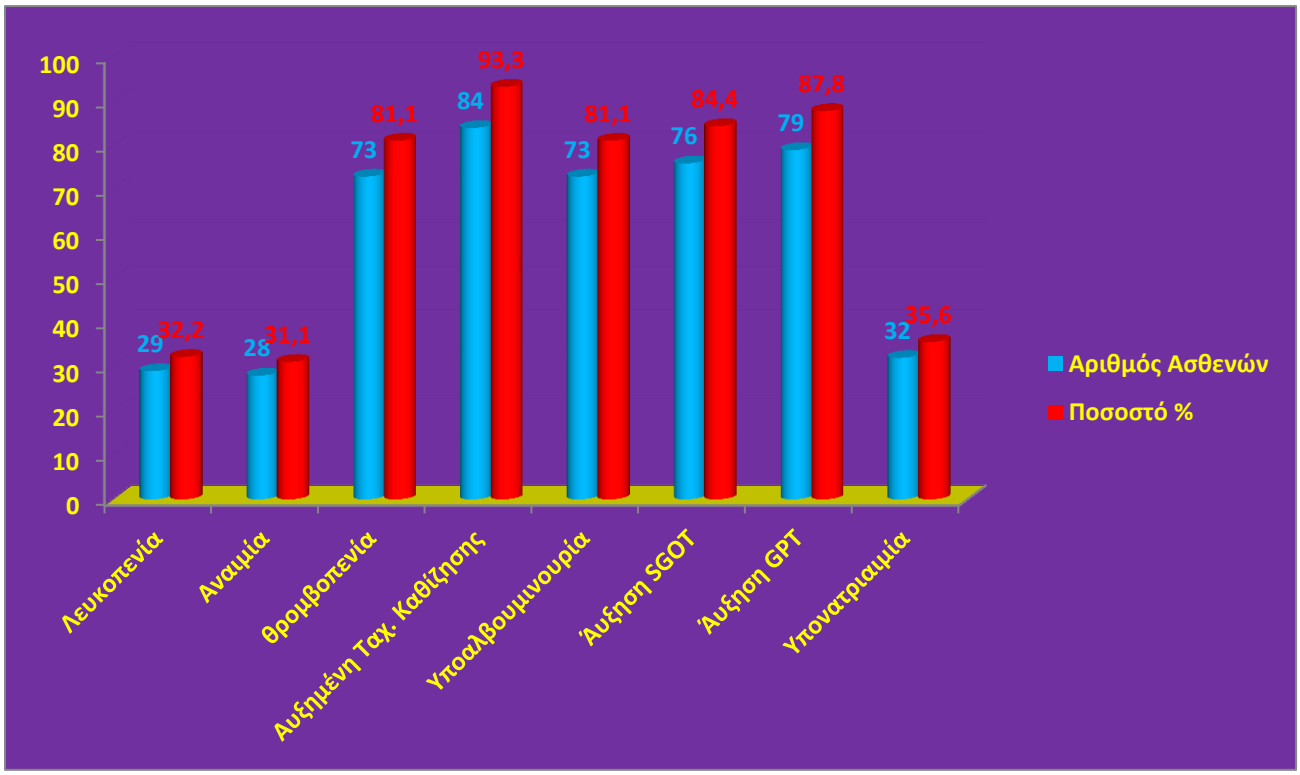


Διάγραμμα 7: Κλινικές εκδηλώσεις από τους 90 ασθενείς της μελέτης

Οι κλινικές εκδηλώσεις σε 90 ασθενείς με τύφο ποντικού στην Ελλάδα				
Κλινικά ευρήματα	Median (IQR)	Range	Reference cut-offa	
			Value	No. (%)
Αιματολογικός έλεγχος				
Λευκά Αιμοσφαίρια (Ã— 109/l)	4.6 (3.8-6.2)	1.7-13.0	<4	29 (32.2)
Αιμοσφαιρίνη (g/dl)	12.3 (11.5-13.7)	8.7-16.3	<12	28 (31.1)
Αιμοπετάλια (Ã— 109/l)	126.5 (97-146)	34-510	<150	73 (81.1)
Ταχύτητα καθίζησης ερυθρών (mm/h)	38 (32-52)	15-110	>20	84 (93.3)
Βιοχημικές εξετάσεις				
Λευκωματίνη (mg/dl)	3.4 (3.2-3.6)	2.7-4.6	<38	73 (81.1)
Κρεατινίνη (mg/dl)	1.1 (0.9-1.2)	0.6-3.7	>1.3	12 (13.3)

Κρεατινική φωσφοκινάση (U/l)	145.5 (128-176)	56-317	>170	28 (31.1)
Γαλακτική Αφυδρογονάση (U/l)	283 (230-373)	132-1386	>420	19 (21.1)
Ασπαρτική Αμινοτρανσφεράση (U/l)	52 (46-66)	21-253	>38	76 (84.4)
Αμινοτρανσφεράση Αλανίνης (U/l)	69 (56-87)	2.5-285	>41	79 (87.8)
Î³-Glutamyl transferase (U/l)	57.5 (42-76)	13-397	>61	44 (48.9)
Ολική χολερυθρίνη (mg/dl)	0.9 (0.7-1.2)	0.3-3.4	>0.6	79 (87.8)
Άμεση χολερυθρίνη (mg/dl)	0.3 (0.2-0.4)	0.0-3.1	>0.2	66 (73.3)
Ολική πρωτεΐνη (g/dl)	6.2 (5.9-6.4)	3.9-6.9	<6	32 (35.6)
Κάλιο (mmol/l)	3.8 (3.6-4.2)	2.9-6.2	<3.6	13 (14.4)
Νάτριο (mmol/l)	136 (134-138)	127-146	<135	32 (35.6)

Πίνακας 12: Εργαστηριακά ευρήματα στους 90 ασθενείς της μελέτης



Διάγραμμα 8: Εργαστηριακά ευρήματα στους 90 ασθενείς της μελέτης

Indirect fluorescent antibody test results in 90 patients with murine typhus in central Greecea						
	First serum sample	Second serum sample	Third serum sample			
	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG
Summary statistic:b						
Geometric mean (GSD)	134.7 (3.1)	321.6 (2.5)	620.5 (2.4)	2437.9 (2.4)	280.7 (1.8)	1045.2 (1.9)
Range	0-12 800	120-7680	200-12 800	480-61 440	50-3200	240-7680
No. (%) of patients with titers:						
Above the cut-off valuec	11 (12.2)	12 (13.3)	83 (92.2)	89 (98.9)	34 (37.8)	67 (74.4)
Below the cut-off value<comma> but four-fold increase in titers	-	-	3 (3.3)	1 (1.1)	0 (0)	0 (0)

Πίνακας 13: Έμμεσος ανοσοφθορισμός (τίτλοι αντισωμάτων) των 90 ασθενών της μελέτης

Ενενήντα ήταν οι ασθενείς που παρακολουθήθηκαν με μυϊκό τύφο το χρονικό διάστημα που αναφέρουμε στο Νομαρχιακό Νοσοκομείο Χαλκίδας ανεξαρτήτου ηλικίας το χρονικό διάστημα 1998-2002

Η αλλαγή του αντιβιοτικού από doxycycline σε ofloxacin έγινε λόγω βαριάς γενικής κατάστασης υπερπυρεξίας και αδυναμία λήψης per os 24-48 ώρες από την εισαγωγή τους

Νεφρική ανεπάρκεια (τιμές κρεατινίνης-εξέλιξη κρεατινίνης)

1) Cr: 1,8-2,7-3,4-2,1-1,4 (15 ημέρες)

2) Cr: 1,6-2,9-3,6-2,4-1,2 (15 ημέρες)

3) Cr: 2,1-3,8-4,3-2,6-1,3 (15 ημέρες)

4.11 Γενικά Συμπεράσματα

Σε διάστημα 5 ετών, παρακολουθήθηκαν συστηματικά 128 ασθενείς, που είχαν κλινική εικόνα και εργαστηριακά ευρήματα ύποπτα ρικετσίωσης. Όλοι ήταν κάτοικοι της Χαλκίδας και της ευρύτερης περιοχής της Εύβοιας με ακτίνα περίπου 30Km κυκλικά γύρω απ τη Χαλκίδα.

Από αυτούς τους ασθενείς στους 90 υπήρχε πλήρης καταγραφή και ορολογικός έλεγχος με τρία δείγματα κατά την εισαγωγή, 1 εβδομάδα μετά και 1 μήνα μετά την εισαγωγή. Και οι 90 είχαν διαγνωστικό τίτλο για ρικέτσια *R.typhi* σύμφωνα με τα διαγνωστικά κριτήρια που είχαν τεθεί. Στο μεγαλύτερο αριθμό των ασθενών απαιτείται και δεύτερο δείγμα κατά την ανάρρωση για να οριστικοποιηθεί η διάγνωση οριστικά. Η μακροχρόνια παρακολούθηση επιβεβαίωσε την πεποίθηση που υπήρχε ότι η ρικέτσια *R.typhi* υπάρχει μόνο στην περιοχή της Χαλκίδας και όχι σε άλλα τμήματα της Εύβοιας. Φαίνεται ότι ο επιδημιολογικός κύκλος είναι ο γνωστός με την παρουσία ποντικών *Rattus norvegicus* σε αφθονία στην περιοχή και του ψύλλου *Xenopsylla cheopis* που κατά τη διάρκεια της μελέτης αυτής και σε παλαιότερη μελέτη απεδείχθη η ύπαρξη της *R.typhi* στου ψύλλους *Xenopsylla cheopis* που συλλέχθηκαν από τα τρωκτικά. Επίσης επιδημιολογικά στην περιοχή φαίνεται ότι η παρουσία δύο εμπορικών λιμανιών με διεθνή κίνηση αποτελούν, όπως αναφέρεται και στη διεθνή βιβλιογραφία, τις πύλες εισόδου και διατήρησης της ρικέτσιας στην περιοχή.

Στο σύνολο των διερευνηθέντων ασθενών βρέθηκαν και 6 ασθενείς στους οποίους απομονώθηκε στο baffy coat η *Coxiella burnetii* και εξαιρέθηκαν της περεταίρω μελέτης.

Επίσης με πολλαπλή αντιγονική εξέταση στον ορό των ασθενών βρέθηκαν 3 ασθενείς με *R.felis* και 1 ασθενής με *R.mongolotimonae*. Από το οικιακό περιβάλλον των πρώτων ασθενών σε ψύλλους έγινε απομόνωση σε *R.felis*.

Στην παρούσα μελέτη επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη κυρίως της *R.typhi* στην περιοχή της Χαλκίδας, ανέδειξε την ύπαρξη 2 νέων ρικετσιών για την περιοχή. Από την ολοκληρωμένη μελέτη των 90 περιστατικών με ΜΤ έγινε μία λεπτομερής κλινικοεργαστηριακή μελέτη με πλήρη καταγραφή και παρατήρηση της κλινικής εικόνας και συμπτωματολογίας της σειράς εμφάνισης και ύφεσης των συμπτωμάτων και ευρημάτων καθώς και της θεραπευτικής αντιμετώπισης σε όλους τους ασθενείς με αποτέλεσμα η παρούσα μελέτη να αποτελεί μία από τις μελέτες με το μεγαλύτερο αριθμό ασθενών στη σύγχρονη βιβλιογραφία.

Η ύπαρξη των νέων ρικετσιών αποτελεί ένα σημαντικό έναυσμα για τη συνέχιση της έρευνας σε όλα τα επίπεδα για την περεταίρω διερεύνηση μιας κατηγορίας μικροοργανισμών που η αρχή της δημιουργίας τους φαίνεται ότι είναι πολύ μακρινή στην ιστορία της δημιουργίας του κόσμου και εξελίσσεται μέχρι τη σύγχρονη εποχή μας. Πολλές φορές παίρνει τη μορφή κοσμοπολίτικης νόσου με την εμφάνισή της σε σημαντικές Μεσογειακές πόλεις και σε άλλα μέρη του κόσμου. Παρόλες τις σημαντικές μελέτες και προσπάθειες που έγιναν και γίνονται οι ρικετσιώσεις εξακολουθούν να υποδιαγιγνώσκονται και πολλοί άνθρωποι του ιατρικού χώρου τις θεωρούν σπάνιες και απίθανες. Στην ανατροπή αυτής της αντίληψης, με τη μελέτη αυτήν υπήρξε μια σημαντική συμβολή αποδεικνύοντας ότι δεν είναι σπάνια νόσος, υπάρχει στην Εύβοια και στην Ελλάδα και σε άλλα μέρη του κόσμου και όταν υπάρχει υποψία η θεραπεία είναι απλή, αποτελεσματική και οδηγεί σε καλή έκβαση με αποτροπή των επιπλοκών και μείωση της θνητότητας της νόσου η οποία ακόμα και σήμερα αναφέρεται σημαντική.

Η γεωμορφολογία της Εύβοιας και της περιοχής της Χαλκίδας καθώς και η ενασχόληση των κατοίκων με γεωργικές και υπαίθριες εργασίες είναι σημαντική και σε μεγαλύτερες ηλικίες ασθενών με αποτέλεσμα να προσβάλλονται σε σημαντικό ποσοστό και ηλικιωμένοι από την νόσο, στους οποίους οι επιπλοκές είναι περισσότερες και σοβαρότερες. Παρόλα αυτά, όμως, αποδείχθηκε με τη 2^{η} μελέτη ότι η έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία συμβάλλει και στην καλή θεραπευτική έκβαση των ασθενών. Επίσης, φαίνεται ότι οι μετεωρολογικές συνθήκες παίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην ετήσια διακύμανση της νόσου. Μάλιστα επειδή τα τελευταία χρόνια μερικά φαινόμενα έχουν γίνει έντονα, η περιοχή της Χαλκίδας επλήγη το 2006 και 2009 από έντονες καταστροφικές πλημμύρες και τα επόμενα 2 έτη η νόσος μηδενίστηκε. Μία εξήγηση γι αυτό αποτελεί το γεγονός ότι πέραν της φυσικής μυοκτονίας λόγω πνιγμού έγινε και έκπλυση της σκόνης στο έδαφος που αποτελεί σημαντικό παράγοντα μετάδοσης της νόσου.

Η παρακολούθηση της νόσου και των ρικετσιώσεων στην περιοχή μας συνεχίζεται και μετά τις μελέτες αυτές σε μια προσπάθεια να γίνει αφύπνιση και ενημέρωση της εθνικής αλλά και της διεθνούς ιατρικής κοινότητας, καθώς και του κοινού και να αποδειχθεί ότι οι ρικέτσιες οι οποίες υπάρχουν από τα προϊστορικά χρόνια μέχρι σήμερα, δημιουργούν έντονη νοσηρότητα και θνητότητα στον άνθρωπο αλλά με έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία αντιμετωπίζονται αποτελεσματικά και μηδενίζεται η θνητότητα τους. Με αυτό το στόχο, ο οποίος έχει επιστημονικό – ανθρωποκεντρικό χαρακτήρα όπως είναι σήμερα η σύγχρονη θεώρηση της ιατρικής, η παρούσα μελέτη είχε μία μικρή αλλά καλά τεκμηριωμένη συμβολή τόσο σε εθνικό όσο και σε διεθνές επίπεδο. Επίσης η παρούσα μελέτη αποτελεί μία παρακαταθήκη στις νεότερες γενιές ότι η ιατρική έρευνα μπορεί όταν υπάρχει θέληση και διάθεση να γίνεται και από μικρά

επαρχιακά νοσοκομεία σε συνεργασία με Πανεπιστημιακά κέντρα και να έχει επιτυχή αλλά και σημαντικά αποτελέσματα.

5.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Walker D., Sousa R. Reply to Fournier and Raoult, J Inf. Dis. 2009; 199(7): 1098-1099
2. Norio Ohashi, Masahiro Fukuhara, Masahiko Shimada, Akira Tamura Phylogenetic position of Rickettsia tsutsugamushi and the relationship among its antigenic variants by analyses of 16s rRNA gene sequences FEMS Microbiology Letters 1995; 125 : 299-304
3. Ngwamidiba M., Blanc G., Raoult D. and Fournier P. Sca1, a previously undescribed paralog from autotransporter proteinencoding genes in Rickettsia species BMC Microbiology 2006; 6:12
4. Dasch G. Isolation of Species-Specific Protein Antigens of Rickettsia typhi and Rickettsia prowazekii for Immunodiagnosis and Immunoprophylaxis J. Clin. Microb. Sept. 1981; 14 (3): 333-341
5. Li H., Walker D. rOmpA is a critical protein for the adhesion of Rickettsia rickettsii to host cells Microbial Pathogenesis 1998; 24: 289–298
6. Uchiyama T. Adherence to and Invasion of Vero Cells by recombinant Escherichia coli Expressing the Outer Membrane Protein rOmpB of Rickettsia japonica Ann. N.Y. Acad. Sci. 2003; 990: 585–590
7. Amano K., Williams J, Dasch G. Structural Properties of Lipopolysaccharides from Rickettsia typhi and Rickettsia prowazekii and Their Chemical Similarity to the Lipopolysaccharide from Proteus vulgaris OX19 Used in the Weil-Felix Test. Inf. Immun,Mar. 1998; 66(3): 923–926
8. Fodorova M., Vadovic P., Skultety L., Slaba K., Toman R. Structural Features of Lipopolysaccharide from Rickettsia Typhi The Causative Agent of Endemic Typhus Ann. N.Y. Acad. Sci. 2005; 1063: 259–260
9. Amano K., Fujita M., Suto T. Chemical Properties of Lipopolysaccharides from Spotted Fever Group Rickettsiae and Their Common Antigenicity with Lipopolysaccharides from Proteus Species. Infect. Immun., Oct. 1993; 61 (10): 4350-4355
10. Riley S, Goh K, Hermanas T, Cardwell M, Chan Y, Martinez J. The Rickettsia conorii Autotransporter Protein Sca1 Promotes Adherence to Nonphagocytic Mammalian Cells. Infect. Immun., May 2010; 78 (5): 1895–1904
11. Cardwell M, Martinez J. The Sca2 Autotransporter Protein from Rickettsia conorii Is Sufficient to Mediate Adherence to and Invasion of Cultured Mammalian Cells. Infect. Immun., Dec. 2009; 77(12) 5272–5280
12. Martinez J, Seveau S, Veiga E, Matsuyama S, Cossart P. Ku70, a Component of DNA-Dependent Protein Kinase, Is a Mammalian Receptor for Rickettsia conorii Cell 2005; 123: 1013–102
13. Renesto P, Ogata H, Audic S, Claverie J, Raoult D. Some lessons from Rickettsia genomics FEMS Microb. Rev. 2005; 29:99–117
14. Frank A, Alsmark C, Thollesson M, Andersson S. Functional Divergence and Horizontal Transfer of Type IV Secretion Systems Mol. Biol. Evol. 2005; 22(5):1325–1336

15. McLeod M, Qin X, Karpathy S, at al Complete Genome Sequence of Rickettsia typhi and Comparison with Sequences of Other Rickettsiae J. Bact., Sept. 2004; 186 (17): 5842–5855
16. Hayes SF, Burgdorfer W. Reactivation of Rickettsia rickettsii in Dermacentor andersoni ticks: an ultrastructural analysis. Infect Immun. 1982 Aug;37(2):779-85.
17. Munderloh U, Hayes S, Cummings J, Kurtti T. Microscopy of Spotted Fever Rickettsia Movement through Tick Cells. Microsc. Microanal. 1998; 4:2:115-121
18. Silverman D, Wisseman C, Waddell A. In Vitro Studies of Rickettsia-Host Cell Interactions: Ultrastructural Study of Rickettsia prowazekii-Infected Chicken Embryo Fibroblasts. Infect. Immun., Aug. 1980; 29(2) 778-790
19. Silverman D. Rickettsia rickettsii-Induced Cellular Injury of Human Vascular Endothelium In Vitro. Infect. Immun. June 1984; 44(3): 545-553
20. Andersson S, Zomorodipour A, Andersson A, et al, The genome sequence of Rickettsia prowazekii and the origin of mitochondria, Nature 1998; 396: 133-143
21. Sicheritz-Ponten T, Kurland C, Andersson S. A phylogenetic analysis of the cytochrome b and cytochrome c oxidase I genes supports an origin of mitochondria from within the Rickettsiaceae. Bioch. Bioph. Acta 1998;1365: 545-551
22. Emelyanov V. Evolutionary relationship of Rickettsiae and mitochondria. FEBS Letters, 2001; 501: 11-18
23. Andersson J, Andersson S. Genome Degradation is an Ongoing Process in Rickettsia. Mol. Biol. Evol 1999; 16(9):1178–1191
24. Ogata H, et al. Mechanisms of Evolution in Rickettsia conorii and R. prowazekii Science 2001; 293: 2093-2098
25. Amiri H, Davids W, and Andersson S. Birth and Death of Orphan Genes in Rickettsia Mol. Biol. Evol. 2003; 20(10):1575–1587
26. Renesto P, Raoult D. From Genes to Proteins In Vitro Expression of Rickettsial Proteins. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2003; 990:642–652
27. Davids W, Amiri H, Andersson S. Small RNAs in Rickettsia: are they functional? Trends in Genetics 2002 18 (7): 331-334
28. Walker D, and Xue-Jie Yu. Progress in Rickettsial Genome Analysis from Pioneering of Rickettsia prowazekii to the Recent Rickettsia typhi. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2005; 1063: 13–25
29. Claverie J. Ogata H .The insertion of palindromic repeats in the evolution of proteins. TRENDS in Biochemical Sciences 2003; 28(2): 75-80
30. Ogata H, Audic S, Barbe V, Artiguenave F, Fournier P, Raoult D, Claverie J. Selfish DNA in Protein-Coding Genes of Rickettsia. SCIENCE 2000; 290: 347-350

31. Ogata H, Audic S, Aberge C, Fournier P, Claverie J. Protein Coding Palindromes Are a Unique but Recurrent Feature in Rickettsia. Genome Research 2002; 12:808–816
32. Anderson B, McDonald G, Jones D, Regnery R. A Protective Protein Antigen of Rickettsia rickettsii Has Tandemly Repeated, Near-Identical Sequences Infect. Immun. Sept. 1990, 58(9) p. 2760-2769
33. Koonin E, Makarova K, Aravind L. Horizontal Gene Transfer in Procaryotes: Quantification and Classification. Annu. Rev. Microbiol. 2001; 55:709–42
34. Frank A, Alsmark C, Thollesson M, and Andersson S. Functional Divergence and Horizontal Transfer of Type IV Secretion Systems. Mol. Biol. Evol. 2005; 22(5):1325–1336
35. Gillespie J, Brayton K, Williams K, Quevedo Diaz M, Brown W, Azad A, Sobral B. Phylogenomics Reveals a Diverse Rickettsiales Type IV Secretion System Infect. Immun. May 2010; 78(5): 1809–1823
36. Carmichael J, Fuerst P. A Rickettsial Mixed Infection in a Dermacentor Variabilis Tick from Ohio. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2006; 1078: 334–337
37. Eremeeva M, Warashina W, Sturgeon M. Rickettsia typhi and R. felis in Rat Fleas (Xenopsylla cheopis), Oahu, Hawaii. Emerg. Inf. Dis. 2008; 14(10): 1613-1615
38. Hacker J, Kaper J. Pathogenicity islands and the evolution of microbes. Annu. Rev. Microbiol. 2000; 54:641–79
39. Baldridge G, Burkhardt N, Felsheim R, Kurtti T, Munderloh U. Transposon Insertion Reveals pRM, a Plasmid of Rickettsia monacensis Appl. Env. Microb. Aug. 2007, 73(15): 4984–4995
40. Baldridge G, Burkhardt N, Felsheim R, Kurtti T, Munderloh U. Plasmids of the pRM/pRF Family Occur in Diverse Rickettsia Species, Appl. Env. Microb. Feb. 2008; 74(3). 645–652
41. Baldridge G, Burkhardt N, Labruna M, et al, Wide Dispersal and Possible Multiple Origins of Low-Copy-Number Plasmids in Rickettsia Species Associated with Blood-Feeding Arthropods, Appl. Env. Microb. Mar. 2010; 76(6): 1718–1731
42. Kleba B, Clark T, Lutter E, Ellison D, Hackstadt T. Disruption of the Rickettsia rickettsii Sca2 Autotransporter Inhibits Actin-Based Motility Infect. Immun. May 2010; 78(5): 2240–2247
43. Rehacek J. Rickettsia slovaca, the organism and its ecology. Acta Sci. Brno, 1984; 18:1-50
44. Wells G, Woodward T, Fiset P, Hornick R. Rocky Mountain Spotted Fever Caused by Blood Transfusion, JAMA 1978; 239:2763-2765
45. George F, Brouqui P, Boffa MC, Mutin M, Drancourt M, Brisson C, Raoult D, Sampol J. Demonstration of Rickettsia conorii-induced endothelial injury in vivo by measuring circulating endothelial cells, thrombomodulin, and von Willebrandfactor in patients with Mediterranean spotted fever Blood, 1993; 82(7): 2109-2116
46. Wolbach S, Boston MD. The etiology of Rocky Mountain Spotted Fever. J. Med. Res. 1916; 19(6): 121-126

47. Silverman D, Bond S. Infection of Human Vascular Endothelial Cells by Rickettsia rickettsii, J. Infect. Dis 1984; 149 (2): 201-206
48. Rydkina E, Sahni A, Silverman D, Sahni S. Rickettsia rickettsii Infection of Cultured Human Endothelial Cells Induces Heme Oxygenase 1 Expression Infect. Immun., Aug. 2002, 70(8): 4045–4052
49. Valbuena G, Feng H, Walker D. Mechanisms of immunity against rickettsiae. New perspectives and opportunities offered by unusual intracellular parasites, Microbes and Infection 2002; 4: 625–633
50. Valbuena G, Walker D. Changes in the adherens junctions of human endothelial cells infected with spotted fever group rickettsiae. Virchows Arch 2005; 446: 379–382
51. Davidson MG, Breitschwerdt EB, Walker DH, Levy MG, Carlson CS, Hardie EM, Grindem CA, Nasisse MP Vascular permeability and coagulation during Rickettsia rickettsii infection in dogs. Am J Vet Res. 1990 Jan;51(1):165-70
52. Woods M, Gary Wen G, and Juan P. Olano. J. Nitric Oxide as a Mediator of Increased Microvascular Permeability during Acute Rickettsioses Ann. N.Y. Acad. Sci. 2005; 1063: 239–245
53. Rydkina E, Sahni A, Baggs R, Silverman D, Sahni S. Infection of Human Endothelial Cells with Spotted Fever Group Rickettsiae Stimulates Cyclooxygenase 2 Expression and Release of Vasoactive Prostaglandins Infect. Immun. Sept. 2006; 74(9): 5067–5074
54. Woods M, Olano J. Host Defenses to Rickettsia rickettsii Infection Contribute to Increased Microvascular Permeability inHuman Cerebral Endothelial Cells. J. Clin. Immunol. 2008; 28:174–185
55. Rachek L, Tucker A, Winkler H, Wood D. Transformation of Rickettsia prowazekii to Rifampin Resistance J. Bacter., Apr.1998; 180(8): 2118–2124
56. Troyer J, Radulovic S, Azad A. Green Fluorescent Protein as a Marker in Rickettsia typhi Transformation Infect. Immun. July 1999; 67(7):3308–3311
57. Renestoa P, Gouinb E, Raoult D. Expression of green fluorescent protein in Rickettsia conorii, Microbial Pathogenesis 2002; 33: 17-21
58. Walker T, Winkler H. Penetration of Cultured Mouse Fibroblasts (L Cells) by Rickettsia prowazeki. Infect. Immun. Oct. 1978; 22(1): 200-208
59. 107.Walker T. Rickettsial Interactions with Human Endothelial Cells In Vitro: Adherence and Entry. Infecy. Immun. May 1984; 44(2): 205-210
60. Martinez J, Cossart P. Early signaling events involved in the entry of Rickettsia conorii into mammalian cells. J. Cell Sci. 2004; 117: 5097-5106
61. Chan Y, Cardwell M, Hermanas T, Uchiyama T, Martinez J. Rickettsial outer-membrane protein B (rOmpB) mediates bacterial invasion through Ku70 in an actin, c-Cbl, clathrin and caveolin 2-dependent manner. Cell. Microb. 2009; 11(4): 629–644
62. Renesto P, Dehoux P, Gouin E, Touqui L, Cossart P, Raoult D. Identification and Characterization of a Phospholipase D – Superfamily Gene in Rickettsiae, J. Infect. Dis. 2003;188:1276-83

63. .Whitworth T, Popov V, Xue-Jie Yu, Walker D, Bouyer D. Expression of the Rickettsia prowazekii pld or tlyC Gene in Salmonella enterica Serovar Typhimurium Mediates Phagosomal Escape Infect. Immun. Oct. 2005; 73(10): 6668–6673
64. Teysseire N. et al, 1992 Intracellular movements of Rickettsia conorii and R. Typhi based on actin polymerization, Res. Microb., 1992; 143:821-829
65. Heinzen R, Grieshaber S, Kirk L, Devin C, Dynamics of Actin-Based Movement by Rickettsia rickettsii in Vero Cells, Infect. Immun. 1999; 67(8):4201–4207
66. .Walker T, Mellot G. Rickettsial Stimulation of Endothelial Platelet-Activating Factor Synthesis. Infect. Immun. May 1993; 61(5): 2024-2029
67. Teysseire N, Arnoux D, George F, Sampol J, Raoult D. von Willebrand Factor Release and Thrombomodulin and Tissue Factor Expression in Rickettsia conorii- Infected Endothelial Cells. Infect. Immun. Oct. 1992; 60(10):4388-4393
68. Drancourt M, Alessi M, Levy P, Vague I, Raoult D. Secretion of Tissue-Type Plasminogen Activator and Plasminogen Activator Inhibitor by Rickettsia conorii- and Rickettsia rickettsii- Infected Cultured Endothelial Cells Infect. Immun. Aug.1990; 58(8):2459-2463
69. Dignat-George F, Teysseire N, Mutin M, Bardin N, Lesaule G, Didier Raoult D, aSampol J. Rickettsia conorii Infection Enhances Vascular Cell Adhesion Molecule-1- and Intercellular Adhesion Molecule-1-Dependent Mononuclear Cell Adherence to Endothelial Cells, J. Infect. Dis. 1997;1 75:1142-5
70. Walker D, Xue-Jie Yu. Progress in Rickettsial Genome Analysis from Pioneering of Rickettsia prowazekii to the Recent Rickettsia typhi Ann. N.Y. Acad. Sci. 2005; 1063: 13–25
71. Rydkina E, Silverman D, Sahni S. Activation of p38 stress-activated protein kinase during Rickettsia rickettsii infection of human endothelial cells: role in the induction of chemokine response. Cell. Microb. 2005; 7(10): 1519–1530
72. Kaplanski G, Teysseire N, Famarier C. IL-6 and IL-8 Production from Cultured Human Endothelial Cells Stimulated by Infection with Rickettsia conorR via a Cell-associated IL-Ia-dependent Pathway. J. Clin. Invest. December 1995; 96:2839-2844
73. Rydkina E, Sahni A, Silverman D, Sahni S. Comparative analysis of host-cell signalling mechanisms activated in response to infection with Rickettsia conorii and Rickettsia typhi, J. Medical Microb. 2007; 56: 896–906
74. Rajshekhar S. Alli, Ashok Khar, Interleukin-12 secreted by mature dendritic cells mediates activation of NK cell function, FEBS Letters 2004; 559: 71-76
75. Billings A, Hui-Min Feng, Olano J, Walker D. Rickettsial infection in murine models actvates an early anti-rickettsial effect mediated by NK cells and associated with prodaction of gamma interferon. Am. J. Trop. Med. Hyg.,2001; 65(1): 52–56

76. Quevedo-Diaz MA, Song C, Xiong Y, Chen H, Wahl LM, Radulovic S, Medvedev AE, Involvement of TLR2 and TLR4 in cell responses to Rickettsia akari J Leukoc Biol. 2010 Oct;88(4):675-85
77. Jordan J, Woods M, Soong L, Walker D., Rickettsiae stimulate dendritic cells through TLR4, leading to enhanced NK cell activation in vivo J Infect Dis. 2009 January 15; 199(2): 236–242
78. Jerrells TR, Geng P., The role of tumor necrosis factor in host defense against scrub typhus rickettsiae. II. Differential induction of tumor necrosis factor-alpha production by Rickettsia tsutsugamushi and Rickettsia conorii, Microbiol Immunol.1994;38(9):713-9
79. Feng HM, Walker DH, Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha exert their antirickettsial effect via induction of synthesis of nitric oxide, Am J Pathol. 1993 Oct;143(4):1016-23
80. Feng H, Walker D. Mechanisms of Intracellular Killing of Rickettsia conorii in Infected Human Endothelial Cells, Hepatocytes, and Macrophages, Infect. Immun. Dec. 2000;68(12): 6729–6736
81. Radulovic S, Price P, Beier M, Gaywee J, Macaluso J, Azad A. Rickettsia-Macrophage Interactions: Host Cell Responses to Rickettsia akari and Rickettsia typhi . Infect. Immun. May 2002, 70(5): 2576–2582
82. Sousa R, Ismail N, Nobrega S. Intralesional Expression of mRNA of Interferon-γ, Tumor Necrosis Factor–α, Interleukin-10, Nitric Oxide Synthase, Indoleamine-2,3-Dioxygenase, and RANTES Is a Major Immune Effector in Mediterranean Spotted Fever Rickettsiosis, J. Infect. Dis. 2007; 196:770–81
83. Walker D, Olano J, Feng H, Critical Role of Cytotoxic T Lymphocytes in Immune Clearance of Rickettsial Infection, Infect. Immun. 2001; 69(3): 1841–1846
84. Feng H, Whitworth T, Olano J, Popov V, Walker D. Fc-Dependent Polyclonal Antibodies and Antibodies to Outer Membrane Proteins A and B, but Not to Lipopolysaccharide, Protect SCID Mice against Fatal Rickettsia conorii Infection, Infect. Immun. Apr. 2004;72(4): 2222–2228
85. Feng H, Whitworth T, Popov V, Walker D, Effect of Antibody on the Rickettsia-Host Cell Interaction, Infect. Immun. June 2004; 72(6): 3524–3530
86. Valbuena G, Jordan J, Walker D. T Cells Mediate Cross-Protective Immunity between Spotted Fever Group Rickettsiae and Typhus Group Rickettsiae, J. Infect. Dis. 2004; 190:1221–7
87. Fang R, Ismail N, Shelite T, Walker D. CD4+ CD25+ Foxp3- T-Regulatory Cells Produce both Gamma Interferon and Interleukin-10 during Acute Severe Murine Spotted Fever Rickettsiosis, Infect. Immun. Sept. 2009; 77(9):. 3838–3849
88. Vitale G, Mansueto S, Gambino G, The Acute Phase Response in Sicilian Patients with Boutonneuse Fever Admitted to Hospitals in Palermo, 1992–1997, J. Infect. 2001; 42: 33–39
89. Papa A, Dalla V, Petala A, Maltezou H, Maltezos E. Fatal Mediterranean spotted fever in Greece. Clin Microbiol Infect 2010; 16: 589–592
90. Harrell G, Aikawa J. Pathogenesis of Pathogenesis of circulatory failure in Rocky Mountain Spotted Fever. Arch Intern Med. 1949;83(3):331-347

91. Paulo Sérgio Gonçalves da Costa, Marcos Emilio Brigatte, Atypical Fulminant Rickettsia rickettsii Infection (Brazilian Spotted Fever) Presenting as Septic Shock and Adult Respiratory Distress Syndrome. Braz. J. Infect. Dis. 2002;6(2):91-96
92. Walker DH, Parks FM, Betz TG, Taylor JP, Muehlberger JW. Histopathology and immunohistologic demonstration of the distribution of Rickettsia typhi in fatal murine typhus. Am J Clin Pathol. 1989 Jun;91(6):720-4.
93. Roggli VL, Keener S, Bradford WD, Pratt PC, Walker DH. Pulmonary pathology of Rocky Mountain spotted fever (RMSF) in children. Pediatr Pathol. 1985;4(1-2):47-57
94. Walker DH, Crawford CG, Cain BG. Rickettsial infection of the pulmonary microcirculation: the basis for interstitial pneumonitis in Rocky Mountain spotted fever. Hum Pathol. 1980 May;11(3):263-72
95. Botelho-Nevers E, Foucault C, Lepidi H, Brouqui P. Cerebral infarction: An unusual complication of Mediterranean spotted fever. Eur. J. Intern. Med. 16 (2005) 525 – 527
96. Walker DH, Paletta CE, Cain BG. Pathogenesis of myocarditis in Rocky Mountain spotted fever. Arch Pathol Lab Med. 1980 Apr;104(4):171-4.
97. Doyle A, Bhalla K, Jones J, Ennis D. Myocardial Involvement in Rocky Mountain Spotted Fever: A Case Report and Review. Am J Med Sci 2006;332(4):208–210
98. Adams JS, Walker DH. The liver in Rocky Mountain spotted fever. Am J Clin Pathol. 1981 Feb;75(2):156-61
99. Silpapojakul K, Mitarnun W, Ovartlarnporn B, Chamroonkul N and Khow-Ean U. Liver involvement in murine typhus. QJ Med 1996; 89:623-629
100. Guardia J, Martinez-Vazquez M, Moragas A. The liver in boutonneuse fever. Guf 1974; 15:549-51
101. Walker DH, Staiti A, Mansueto S, Tringali G. Frequent occurrence of hepatic lesions in boutonneuse fever. Acta Tropica 1986; 43:175-81
102. Montenegro MR, Mansueto S, Hegarty BC, Walker DH. The histology of "taches noires" of boutonneuse fever and demonstration of Rickettsia conorii in them by immunofluorescence. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol. 1983; 400(3):309-17.
103. Walker D. et al Pathogenesis of rickettsial eschars - the tache noire of boutonneuse fever. Hum. Pathol. 1988; 19(12): 1449- 1454
104. Kao GF, Evancho CD, Ioffe O, Lowitt MH, Dumler JS. Cutaneous histopathology of Rocky Mountain spotted fever. J Cutan Pathol. 1997 Nov; 24(10):604-10
105. Barker S, Murrell A. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. Parasitol. 2004; 129, S15–S36
106. Peterkva K, Vancova I, Hajnicka V, et al. Immunomodulatory arsenal of nymphal ticks. Med. Veter. Entom. 2008; 22: 167– 171

107. Dantas-Torres F. Biology and ecology of the brown dog tick, Rhipicephalus sanguineus. Parasit. Vect. 2010; 3:26
108. Gilot B, Laforge ML, Pichot J, Raoult D. Relationships between the Rhipicephalus sanguineus complex ecology and Mediterranean spotted fever epidemiology in France. Eur J Epidemiol. 1990 Dec;6(4):357-62
109. Al-Asgah. Seasonal dynamics of Rhipicephalus turanicus (Acari: Ixodidae) on sheep and goats in the Al-Sarawat Mountains of Makkah Province, Saudi Arabia. Bull. Inst. Zool, Acad. Sin 1990; 29 (2): 113-120
110. Mohamed S. Al-Khalifa, Galila M. Khalil and Fathi M. Diab. Two Years Study of Ticks infesting Goats and Sheep in Abha, Saudi Arabia. Saudi J. Biol. Sci. 2007; 14(1): 83-91
111. Ouhelli H, Pandey VS, Benzaouia T, Belkasmi A.. Seasonal prevalence of Rhipicephalus turanicus on sheep in Morocco. Trop Anim Health Prod. 1982 Nov;14(4):247-8.
112. Blanc G, Caminopetros J. Epidemiological and experimental studies on Boutonneuse fever done at the Pasteur Institute in Athens. Arch Inst Pasteur Tunis 1932; XX(343):394
113. Zemtsova G, Killmaster L, Mumcuoglu K, Levin M. Co-feeding as a route for transmission of Rickettsia conorii israelensis between Rhipicephalus sanguineus ticks. Exp Appl Acarol. 2010
114. PHILIP C. Some Epidemiological Considerations in Rocky Mountain Spotted Fever. Public Health Reports, 1959; 74(7):595-600
115. Kurtti T, Simser J, Baldridge G, Palmer A, Munderloh U. Factors influencing in vitro infectivity and growth of Rickettsiapeacockii (Rickettsiales: Rickettsiaceae), an endosymbiont of the Rocky Mountain wood tick, Dermacentor andersoni (Acari, Ixodidae). J. Invert. Pathol. 2005; 90: 177–186
116. Rovery C, La M, Robineau S, Matsumoto K, Renesto P, Raoult D. Preliminary Transcriptional Analysis of spoT GeneFamily and of Membrane Proteins in Rickettsia conorii and Rickettsia felis. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2005; 1063: 79–82
117. Moore JJ. Time relationship of the wood-tick in the transmission of Rocky Mountain spotted fever. J Infect Dis 1911; 8:339– 347. 90. Spencer RR, Parker RR. Rocky Mountain spotted fever: infectivity of fasting and recently fed ticks. Public Health Rep 1923; 38:333–339
118. Spencer R. R., Parker R. R. (1930). Studies in Rocky Mountain Spotted Fever. Washington, DC: National Health Service, Hygienic Library Bull. No. 154, US Government Printing Office
119. Hayes S, Burgdorfer W. Reactivation of Rickettsia rickettsii in Dermacentor andersoni Ticks: an Ultrastructural Analysis. Infect. Immun. Aug. 1982; p. 779-785
120. Carmichael J, Fuerst P. A Rickettsial Mixed Infection in a Dermacentor Variabilis Tick from Ohio. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2006; 1078: 334–337
121. Macaluso KR, Sonenshine DE, Ceraul SM, Azad AF. Rickettsial infection in Dermacentor variabilis (Acari: Ixodidae) inhibits transovarial transmission of a second Rickettsia. J Med Entomol. 2002 Nov;39(6):809-13

122. Socolovschi C, Mediannikov O, Raoult D, Parola P. The relationship between spotted fever group Rickettsiae and Ixodid ticks. Vet. Res. 2009; 40:34

123..Macaluso KR, Mulenga A, Simser JA, et al. Differential expression of genes in uninfected and Rickettsia-infected Dermacentor variabilis ticks as assessed by differential-display PCR. Infect Immun 2003; 71:6165–6170

124..Choi YJ, Lee EM, Park JM, Lee KM, Han SH, Kim JK, Lee SH, Song HJ, Choi MS, Kim IS, Park KH, Jang WJ. Molecular detection of various rickettsiae in mites (acari: trombiculidae) in southern Jeolla Province, Korea. Microbiol Immunol. 2007; 51(3):307-12

125. Pei-Yi Tsui, Kun-Hsien Tsai, Ming-Hui Weng, Yao-Wen Hung et al. Molecular Detection and Characterization of Spotted Fever Group Rickettsiae in Taiwan. Am. J. Trop. Med. Hyg., 2007; 77(5): 883–890

126. Reeves W, Loftis A, Szumlas D, Abbassy M, Helmy I, Hanafi H, Dasch G. Rickettsial pathogens in the tropical rat mite Ornithonyssus bacoti (Acari: Macronyssidae) from Egyptian rats (Rattus spp.). Exp Appl Acarol 2007; 41:101–107

127. Houhamdi L, Fournier P, Fang R, Raoult D. An Experimental Model of Human Body Louse Infection with Rickettsia typhi. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2003; 990: 617–627.

128.Houhamdi L, Raoult D. Experimentally infected human body lice (pediculus humanus humanus) as vectors of Rickettsia rickettsii and Rickettsia conorii in a rabbit model. Am. J. Trop. Med. Hyg., 2006; 74(4): 521–525

129. Fuller HS, Murray ES, Snyder JC. Studies of human body lice, Pediculus humanus corporis. I. Amethod for feeding lice through a membrane and experimental infection with Rickettsia prowazekii, R. mooseri, and Borrelia novyi. Publ Health Rep 1949; 64:1287

130..Gaon J, Murray E. The Natural History of Recrudescent Typhus (Brill-Zinsser Disease) in Bosnia. Bull. Org. mond. Sante.1966; 35: 133-141

131..Houhamdi L, Fournier P, Fang R, Lepidi H, Raoult D. An Experimental Model of Human Body Louse Infection with Rickettsia prowazekii, The Journal of Infectious Diseases 2002;1 86:1639-46

132. Azad F. Epidemiology of murine typhus. Annu. Rev. Entomol. 1990; 35:553-9

133. Farhang-Azad A, et al. Rickettsia mooseri infection in the fleas Leptopsylla segnis and Xenopsylla cheopis. Am J Trop Med Hyg. 1983 Nov;32(6):1392-400

134..Farhang Azad A, Traub R. Transmission of murine typhus rickettsiae by Xenopsylla cheopis, with notes on experimental infection and effects of temperature. Am J Trop Med Hyg. 1985 May;34(3):555-63

135. Whiteford S, Taylor J, Dumler S. Clinical, Laboratory, and Epidemiologic Features of Murine Typhus in 97 Texas Children, Arch Pediatr Adolesc Med. 2001;155:396-400

136..Drancourt M, Raoult D, Harle J, Gallais H. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1990; Part III. Pathobiology

137.Perine P, Chandler B, Krause D. A Clinico-Epidemiological Study of Epidemic Typhus in Africa. Clin. Inf. Dis.1992;14:1149-58

138..Cascio A, Dones P, Romano A, Titone L. Clinical and laboratory findings of boutonneuse fever in Sicilian children. Eur J Pediatr. 1998; 157: 482-486

139. Raoult D, de Micco C, Gallais H, Toga M. Laboratory Diagnosis of Mediterranean Spotted Fever by Immunofluorescent Demonstration of Rickettsia conorii in Cutaneous Lesions. J. Infect. Dis. 1984; 150(1)

140.Walker DH, Cain BG, Olmstead PM. Laboratory diagnosis of Rocky Mountain spotted fever by immunofluorescent demonstration of Rickettsia in Cutaneous lesions. Am J Clin Pathol. 1978 Jun;69(6):619-23

141.Dumler JS, Gage WR, Pettis GL, Azad AF, Kuhadja FP. Rapid immunoperoxidase demonstration of Rickettsia rickettsii in fixed cutaneous specimens from patients with Rocky Mountain spotted fever. Am J Clin Pathol. 1990 Mar; 93(3):410-4.

142..La Scola B, Raoult D. Laboratory Diagnosis of Rickettsioses: Current Approaches to Diagnosis of Old and New Rickettsial Diseases. J. Clin. Microb. Nov. 1997, p. 2715–2727

143.Shepard C, Redus M, Tzianabos T, Warfield D. Recent Experience with the Complement Fixation Test in the Laboratory Diagnosis of Rickettsial Diseases in the United States. J. Clin. Microb. Sept. 1976, p. 277-283

144..Newhouse VF, Shepard CC, Redus MD, Tzianabos T, McDade JE. A comparison of the complement fixation, indirect fluorescent antibody, and microagglutination tests for the serological diagnosis of rickettsial diseases. Am J Trop Med Hyg. 1979 Mar;28(2):387-95

145..Osterman J, Eisemann C. Rickettsial Indirect Hemagglutination Test: Isolation of Erythrocyte-Sensitizing Substance. J. Clin. Microb. Aug. 1978, p. 189-196

146..Hechemy K, Raoult D, Eisemann C, Han Y, Fox J. The Journal of Infectious Diseases, 1986; 153(1): 132-135

147..Keysary A, Strenger C. Use of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Techniques with Cross-Reacting Human Sera in Diagnosis of Murine Typhus and Spotted Fever. J. Clin. Microb. Apr. 1997, p. 1034–1035

148. Raoult D, Dasch G. Line Blot and Western Blot Immunoassays for Diagnosis of Mediterranean Spotted Fever. J. Clin. Microb. Sept. 1989, p. 2073-2079

149. Jensenius M, Fournier P, Vene S, Ringertz S, Myrvang B, and Raoult D. Comparison of Immunofluorescence, Western Blotting, and Cross-Adsorption Assays for Diagnosis of African Tick Bite Fever, Clin. Diagn. Lab. Immun. July 2004, p. 786–788

150.Anacker R, Mann R, Gonzales C. Reactivity of Monoclonal Antibodies to Rickettsia rickettsii with Spotted Fever and Typhus Group Rickettsiae. J. Clin. Microb. Jan. 1987, p. 167-171

151. Hechemy K, Raoult D, Fox J, Han Y,. Elliot B, Rawlings J. Cross-reaction of immune sera from patients with rickettsial diseases, J. Med. Microbiol. 1989; 29: 199-202
152. Ormsbee R, Peacock M, Philip R, Casper E, Plorde J, Gabre-Kidan T, Wright L. Antigenic relationships between the typhus and spotted fever groups of rickettsiae. Am J Epidemiol. 1978 Jul;108(1):53-9
153. Kantsø B, Svendsen C, Jørgensen C, Krogfelt K. Evaluation of serological tests for the diagnosis of rickettsiosis in Denmark. J. Microb. Meth. 2009; 76: 285–288
154. Graham J, Baden L, Tsiodras S, Karchmer A. Q Fever Endocarditis Associated with Extensive Serological Cross-Reactivity. Clin. Infect. Dis. 2000; 30:609–10
155. Bernabeu-Wittel M, Pacho´n J, Alarco´n A, Murine Typhus as a Common Cause of Fever of Intermediate Duration. Arch Intern Med. 1999;159:872-876
156..Teysseire N, Raoult D. Comparison of Western Immunoblotting and Microimmunofluorescence for Diagnosis of Mediterranean Spotted Fever. J. Clin. Microb. Feb. 1992, p. 455-460
157. .La scola B, Rydkina L, Ndihokubwayo JB, Vene S, Raoult D. Serological Differentiation of Murine Typhus and Epidemic Typhus Using Cross-Adsorption and Western Blotting. Clin. Diagn. Labor. Immun. July 2000, p. 612–616
158. .Marrero M, Raoult D. Centrifugation shell vial technique for rapid detection of Mediterranean Spotted Fever rickettsia in blood culture. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1989; 40(2): 197-199
159. Rose H. The experimetal and clinical evaluation of terramycin against rickettsia akari (rickettsialpox). Annals New York Academy of Sciences 1950; 385-394
160. Breitschwerdt E, Papich M, Hegarty B, Gilger B, Hancock S, Davidson M. Efficacy of Doxycycline, Azithromycin, or Trovafloxacin for Treatment of Experimental Rocky Mountain Spotted Fever in Dogs. Antimicrob. Agents Chem., Apr.1999; 43(4): 813–821
161. .Raoult D, Roussellier P, Vestris G, Tamalet J. Susceptibility of Rickettsia conorii and R. rickettsii to pefloxacin, in vitro and in ovo. J Antimicrob Chemother. 1987 Mar;19(3):303-5
162..Ives T, Manzewitsch P, Regnery R, Butts J, Kebede M. In Vitro Susceptibilities of Bartonella henselae, B. quintana, B.elizabethae, Rickettsia rickettsii, R. conorii, R. akari, and R. prowazekii to Macrolide Antibiotics as Determined by Immunofluorescent- Antibody Analysis of Infected Vero Cell Monolayers. Antimicrob. Agents Chem. Mar. 1997; 41(3):578–582
163. Rolain J, Stuhl L, Maurin M, Raoult D. Evaluation of Antibiotic Susceptibilities of Three Rickettsial Species Including Rickettsia felis by a Quantitative PCR DNA Assay. Antimicrob. Agents Chem. Sept. 2002; 46(3): 2747–2751
164. Wisseman C, Waddell A. In Vitro Sensitivity of Rickettsia rickettsii to Doxycycline. J. Infect. Dis. 1982; 145(4):584
165. Wisseman C, Ordonez S. Actions of Antibiotics on Rickettsia rickettsii. J. Infect. Dis. 1986;153(3): 626-628

166. .Maurin M, Raoult D. In Vitro Susceptibilities of Spotted Fever Group Rickettsiae and Coxiella bumetii to Clarithromycin. Antimicrob. Agents Chem. Dec. 1993; 37(12): 2633-2637
167. Drancourt M, Raoult D. In Vitro Susceptibilities of Rickettsia rickettsii and Rickettsia conorii to Roxithromycin and Pristinamycin. Antimicrob. Agents Chem. Dec. 1989; 33(12): 2146-2148
168. Rolain J, Maurin M, Vestris G, Raoult D. In Vitro Susceptibilities of 27 Rickettsiae to 13 Antimicrobials. Antimicrob. Agents Chem. July 1998; 42(7): 1537–1541
169. Ives T, Marstonb E, Regnery R , Butts J. In vitro susceptibilities of Bartonella and Rickettsia spp. to fluoroquinolone antibiotics as determined by immunofluorescent antibody analysis of infected Vero cell monolayers. Int. J. Antimicrob. Ag. 18:217–222
170. Botelho-Nevers E, Rolain JM, Espinosa L, Raoult D. Statins limit Rickettsia conorii infection in cells. Int. J. Antimicrob. Ag. 2008; 32:344–348
171. .Drancourt M, Raoult D. Characterization of Mutations in the rpoB Gene in Naturally Rifampin-Resistant Rickettsia Species. Antimicrob. Agents Chem. Oct. 1999; 43(10):2400–2403
172. .Rolain J, Raoult D. Prediction of resistance to erythromycin in the genus Rickettsia by mutations in L22 ribosomal protein. J. Antimicrob. Chem. 2005; 56: 396–398
173. Ross S, McLendon P, Davis H. Para-aminobenzoic acid in the treatment of Rocky Mountain Spotted Fever. Pediatr. 1948; 2(2):163-174
174. Pincoffs M, Guy E, Lister L, Woodward T. The treatment of Rocky Mountain Spotted Fever with chloromycetin. October 1, 1948; 29(4): 656-66
175. Rose H. The experimentan and clinical evaluation og terramycin against rickettsia akari (rickettsialpox). Annals New York Academy of Sciences 1950
176. .Huis J. Treatment of epidemic typhus. A comparative study. Trans. R. S. Trop. Med. Hyg.1973; 67(5): 718-721
177. Purvis, JulietT J. Et al. Doxycycline use for rickettsial disease in pediatric patients. Ped. Inf. Dis. J. September 2000; 19(9): 871-874
178. Gikas A, Doukakis A, Pediaditis J, Kastanakis S, Manios A, Tselentis Y. Comparison of the effectiveness of five different antibiotic regimens on infection with Rickettsia typhiQ Therapeutic data from 87 cases. Am. J. Trop. Med. Hyg., 2004; 70(5): 576–579
179. Holman R, Paddock C, Curns A, Krebs J, McQuiston J, Childs J. Analysis of Risk Factors for Fatal Rocky Mountain Spotted Fever: Evidence for Superiority of Tetracyclines for Therapy. J. Inf. Dis. 2001;184:1437–44
180. Segura-Porta F, Font-Creus B, Espejo-Arenas E, Bella-Cueto F. New Trends in Mediterranean Spotted Fever. Eur. J. Epid. 1989; 5(4): 438-443
181. Twartz J, Shirai A, Selvaraju G, Saunders J, Huxsoll D, Groves M. Doxycycline Prophylaxis for Human Scrub Typhus. J. Inf. Dis. 1982; 146(6): 811-818

182..Shaked Y, Samra Y, Maier MK, Rubinstein E. Relapse of rickettsial Mediterranean spotted fever and murine typhus after treatment with chloramphenicol. J Infect. 1989 Jan;18(1):35-7

183..Muñoz-Espin T, López-Parés P, Espejo-Arenas E, Font-Creus B, Martinez-Vila I, Travería-Casanova J, Segura-Porta F, Bella-Cueto F. Erythromycin versus tetracycline for treatment of Mediterranean spotted fever. Arch Dis Child. 1986 Oct;61(10):1027-9

184. Cascio A, Colomba C, Antinori S, Paterson D, Titone L. Clarithromycin Versus Azithromycin in the Treatment of Mediterranean Spotted Fever in Children: A Randomized Controlled Trial. Clin. Infect. Dis. 2002; 34:154–8

185. 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. 2001; 33:409–11

186.Colomba C, et al. Mediterranean spotted fever: clinical and laboratory characteristics of 415 Sicilian children. BMC Infect. Dis. 2006; 6:60

187.Romdhane F, Loussaief C, Toumi A, Yahia S, Khaiyrallah M, Bouzouaıa N Chakroun M. Mediterranean spotted fever: a report of 200 cases in Tunisia. CMI, 15 (Suppl. 2), 209–210

188. Bella F, Font B, Uriz S, Munoz T, Espejo E, Traveria J, Serrano J, Segura F. Randomized Trial of Doxycycline versus Josamycin for Mediterranean Spotted Fever. Antimicrob. Agents Chem. May 1990; 34(5): 937-938

189. Mouffok N, Parola P, Lepidi H, Raoult D. Mediterranean spotted fever in Algeria - new trends. Intern. J. Infect. Dis. 2009; 13: 227—235

190. Benabdellaha, N. Mouffoka, M. Bensaada, A. Belkadi Kouieda, F. Razikb, D. Raoul. Mediterranean-spotted fever: clinical and laboratory characteristics of 34 children in Oran (Algeria). Pathologie Biologie 2007; 55:539–542

191. .Dzelalija B, Morovic M, Avsic-Zupanc T. Azithromycin in the prevention of Mediterranean spotted fever. Lijec Vjesn. 1997 Nov;119(10):270-2

192..DuPont H, Hornick R, Dawkins A, Heiner G, Fabrikant I, Wisseman C, Woodward TE. Rocky Mountain Spotted Fever: A Comparative Study of the Active Immunity Induced byInactivated and Viable Pathogenic Rickettsia rickettsii. J. Infect. Dis. 1973; 128(3): 340-344

193. Driskell L, Xue-jie Yu, Lihong Zhang, Yan Liu, et al. Directed Mutagenesis of the Rickettsia prowazekii pld Gene Encoding Phospholipase D. Infect. Immun. Aug. 2009, p. 3244–3248

194. Coker C, Majid M, Radulovic S. Development of Rickettsia prowazekii DNA Vaccine Cloning Strategies. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2003; 990: 757–764

195. .Ormsbee R, Peacock M, Philip R, Casper E, Plorde J, Gabre-Kidan T. Antigenic relationships between the typhus and spotted fever groups of rickettsiae. Am. J. Epidemiol. 1978; 108(1): 53-59

196. .Jiggins F. Adaptive Evolution and Recombination of Rickettsia Antigens. J Mol Evol. 2006 January ; 62(1): 99–110.

197. Sumner JW, Sims KG, Jones DC, Anderson BE. Protection of guinea-pigs from experimental Rocky Mountain spotted fever by immunization with baculovirus-expressed Rickettsia rickettsii rOmpA protein. Vaccine. 1995 Jan; 13(1):29-35

198. Yanmei Jiao, Bohai Wen, Meiling Chen, et al. Analysis of Immunoprotectivity of the Recombinant OmpA of Rickettsia heilongjiangensis. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2005; 1063: 261–265

199. Dasch GA, Bourgeois AL, Rollwagen FM, 1999. The surface protein antigen of Rickettsia typhi: in vitro and in vivo immunogenicity and protective efficacy in mice. Raoult D, Brouqui P, eds. Rickettsiae and Rickettsial Diseases at the Turn of the Third Millenium. Paris: Elsevier, 116–122.

200. Wenbin Xu and D. Raoult. Distribution of Immunogenic Epitopes on the Two Major Immunodominant Proteins (rOmpA and rOmpB) of Rickettsia conorii among the Other Rickettsiae of the Spotted Fever Group. Clin. Diagn. Lab. Immun. Nov. 1997; 4(6): 753–763

201. Vishwanath S. Antigenic relationships among the rickettsiae of the spotted fever and typhus groups. FEMS Microbiol Lett. 1991 Jul 1;65(3):341-4.

202. .Feng H, Walker D. Cross-protection between distantly related spotted fever group rickettsiae. Vaccine 2003; 21:3901–3905

203. Walker D. The realities of biodefense vaccines against Rickettsia. Vaccine. 2009 November 5; 27(Suppl 4)

204. .Alibek K, Handelman K. Biohazard: The Chilling True Story of the Largest Covert Biological Weapons Program in the World Trade From the Inside by the Man Who Ran It, 1999 New York, NY: Random Hause.

205. Harris S. Japanese biological warfare research on humans: a case study of microbiology and ethics. Ann N Y Acad Sci. 1992 Dec 31;666:21-52

206. .Bozeman M, Masiello S, Williams M, Elisberg B. Epidemic typhus rickettsiae isolated from flying squirrels. Nature 1975; 255:545 - 547

207. Duma R, et al. Epidemic Typhus in the United States Associated With Flying Squirrels. JAMA 1981; 245(22):2318-2323

208. .Mary G. Reynolds et al. Flying Squirrel–associated Typhus, United States. Emerging Infectious Diseases • Vol. 9, No. 10, October 2003

209. .Chapman A, et al. Cluster of Sylvatic Epidemic Typhus Cases Associated with Flying Squirrels, 2004–2006. Emerg. Infect. Dis. 2009; 15(7):1005-1011

210. McQuiston J, et al. Brill-Zinsser Disease in a Patient Following Infection with Sylvatic Epidemic Typhus Associated with Flying Squirrels. Clin. Infect. Dis. 2010; 51(6):712–715

211. Peter L. Perine, A Clinico-Epidemiological Study of Epidemic Typhus in Africa. Clinical Infectious Diseases 1992;14:1149- 58

212. Bise G, Coninx R. Epidemic typhus in a prison in Burundi. TRANS. R. S. TROPIC. MED. HYG. 1997; 91:133-134

213. .Raoult D, et al. Jail Fever (Epidemic Typhus) Outbreak in Burundi. Emerg. Infect. Dis. 1997; 3(3): 357-360

214. Raoult D, Ndihokubwayo J B, Tissot-Dupont H, Roux V, Faugere B, Abegbinni R, Birtles R J. Outbreak of epidemic typhus associated with trench fever in Burundi. Lancet 1998; 351: 353–58

215.Tarasevich I, Rydkina E, Raoult D. Outbreak of epidemic typhus in Russia. Lancet 1998; 352: 1151

216. Netesov S., Conrad J L. Emerging Infectious Diseases in Russia, 1990-1999. Emerg. Infect. Dis. 2001; 7(1): 1-5

217. .Raoult D, Birtles R, Montoya M, Perez E et al. Survey of Three Bacterial Louse-Associated Diseases among Rural Andean Communities in Peru: Prevalence of Epidemic Typhus, Trench Fever, and Relapsing Fever. Clin. Infect. Dis. 1999; 29(2):

218. Niang M, Brouqui P, Raoult D. Epidemic Typhus Imported from Algeria, Emerg. Infect. Dis. 1999; 5(5): 716-718

219. Zanetti G, Francioli P, Tagan D, Paddock C, Zaki S. Imported epidemic typhus. Lancet 1998; 352:1709

220. Badiaga S, Brouqui P, Raoult D. Autochthonous epidemic typhus assosiated with Bartonella quintana bacteremia in a homeless person. Am. J. Trop. Med. Hyg., 72(5), 2005, pp. 638–639

221. .Mooser H. On the Nomenclature of the Agent of Murine Typhus. Am. J. Trop. Med., 1948; 28(6): 841-843

222. Christou C, Psaroulaki A, Antoniou M, Toumazos P, Ioannou I, Mazeris A, Chochlakis D, Tselentis Y. Rickettsia typhi and Rickettsia felis in Xenopsylla cheopis and Leptopsylla segnis Parasitizing Rats in Cyprus. Am. J. Trop. Med. Hyg., 2010; 83(6): 1301–1304

223. Wei-T'ung Liu, Samuel H. Zia. Studies on the Murine Origin of Typhus Epidemics in North China I. Murine Typhus Rickettsia Isolated from Bod y Lice in the Garments of a Sporadic Case1 Am. J. Trop. Med., 1941; 21(4): 507-523

224. Zinsser H: The rickettsial diseases. Varieties, epidemiology and geographical distribution. Am J Hyg 1937; 25:430-463

225..Zinsser H, Castaneda MR: On the isolation from a case of Brill's disease of a typhus strain resembling the European type. New Eng J Med, 1933; 209:815-819

226. Adams W., Emmons R., Brooks J. The chaning ecology of murine (endemic) typhus in Southern California. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1970; 19(2): 311-318

227. Traub R., Wisseman CL, Farhang-Azad A. The ecology of murine typhus a critical review. Trop. Dis. Bull. 1978; 75: 237 317.

228. Azad A, Traub R. Experimental transmission of murine typhus by Xenopsylla cheopis flea bites. Med. Veter. Entomol. 1989; 3:429-433

229. Azad A. Epidemiology of murine typhus. Annu. Rev. Entomol. 1990; 35:553-9

230. Sorvillo F et al. A Suburban Focus of Endemic Typhus in Los Angeles County: Association with Seropositive Domestic Cats and Opossums. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1993; 48(2): 269-273

231. .Civen R, Ngo V. Murine Typhus: An Unrecognized Suburban Vectorborne Disease. Clin. Infect. Dis. 2008; 46:913–8

232. Adjemian J, et al. Murine Typhus in Austin, Texas, USA, 2008. Emerg. Infect. Dis. 2010; 16(3): 412-417

233. .Williams S, et al. Typhus and Typhuslike Rickettsiae Associated with Opossums and Their Fleas in Los Angeles County, California. J. Clin. Microb. 1992; 30(7): 1758-1762

234. Chaniotis B, Psarulaki A, Chaliotis G, Gozalo Garcia G, Gozadinos T, Tselentis Y. Transmission cycle of murine typhus in Greece. Ann Trop Med Parasitol. 1994 Dec;88(6):645-7

235. .Tselentis Y, Psaroulaki A, Maniatis J, Spyridaki I, Babalis T. Genotyptc identification of murine typhus rickettsia in rats and their fleas in an endemic area of Greece by the polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorohism. Am. J. Trop. Med. Hyg.. 1996; 54(4): 413-417

236. .Gikas A, Doukakis S, Pediaditis J, Kastanakis S, Psaroulaki A, Tselentis Y. Murine typhus in Greece: epidemiological, clinical, and therapeutic data from 83 cases. Trans. R. S. Trop. Med. Hyg. 2002; 96:250-253

237. Gikas A, Kokkini S, Tsioutis C, Athenessopoulos D, Balomenaki E, Blasak S, Matheou C, Tselentis Y, Psaroulaki A. Murine typhus in children: clinical and laboratory features from 41 cases in Crete, Greece. Clin. Microb. Infect. 2009; 15(Suppl. 2): 211-212

238. .Whiteford S, Taylor J, Dumler J S. Clinical, Laboratory, and Epidemiologic Features of Murine Typhus in 97 Texas Children. Arch Pediatr Adolesc Med. 2001;155:396-400

239. Ilan Ben-Zvi et al. A Case of Murine Typhus Associated With Large Vessel Infarct of the Spleen. Am. J. Med. Sci. June 2008; 335(6): 502-503

240. .Dumler JS, Taylor JP, Walker DH. Clinical and laboratory features of murine typhus in south Texas, 1980 through 1987. JAMA. 1991 Sep 11;266(10):1365-70

241. Suputtamongkol Y, et al. Epidemiology and Clinical Aspects of Rickettsioses in Thailand. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2009; 1166: 172–179

242. .Hernández-Cabrera M, et al. Murine Typhus with Renal Involvement in Canary Islands, Spain. Emerg. Infect. Dis. 2004; 10(4):740-743

243. .Angelakis E, et al. Murine Typhus as a Cause of Fever in Travelers From Tunisia and Mediterranean Areas. Journal of Travel Medicine 2010; 17(5):310–315

244..Galanakis E, Gikas A, Bitsori M, Sbyrakis S. Rickettsia typhi infection presenting as subacute meningitis. J Child Neurol. 2002 Feb;17(2):156-7

245. .Wilson L, Chowning W. Studies in Pyroplasmosis Hominis.("Spotted Fever" or "Tick Fever" of the Rocky Mountains.) J. Infect. Dis.1904; 1(1): 31-57

246. Demma L, Eremeeva M, Nicholson W. An Outbreak of Rocky Mountain Spotted Fever Associated with a Novel Tick Vector, Rhipicephalus sanguineus, in Arizona, 2004. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2006; 1078: 342–343

247. Nicholson W, Paddock C, et al. Rocky Mountain Spotted Fever in Arizona: Documentation of Heavy Environmental Infestations of Rhipicephalus sanguineus at an Endemic Site. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2006; 1078: 338–341

248. .Raoult, D, Paddock C. Rickettsia parkeri Infection and Other Spotted Fevers in the United States. N Engl J Med, 2005; 11:353-6

249. .Buckingham S, et al. Clinical and Laboratory Features, Hospital Course, and Outcome of Rocky Mountain Spotted Fever in Children. J Pediatr. 2007 Feb;150(2):180-4

250. Angerami R, et al. Brazilian Spotted Fever: A Case Series from an Endemic Area in Southeastern Brazil Clinical Aspects. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2006; 1078: 252–254

251. Helmick C, Bernard K, D'Angelo L. Rocky Mountain Spotted Fever: Clinical, Laboratory, and Epidemiological Features of 262 Cases. J. Infect. Dis.1984; 150(4): 480-488

252. .Zhu Y, Fournier P, Eremeeva M, Raoult D. Proposal to create subspecies of Rickettsia conorii based on multi-locus sequence typing and an emended description of Rickettsia conorii. BMC Microb. 2005, 5:11

253..Walker D, Rita de Sousa . Reply to Fournier and Raoult. J. Infect. Dis. 2009; 199:1098 –9

254. .Rovery C, Brouqui P, Raoult D. Questions on Mediterranean Spotted Fever a Century after Its Discovery. Emerg. Infect. Dis. 2008; 14(9): 1360-1367

255..R. Ruiz-Beltrán, J. I. Herrero-Herrero, A. M. Martín-Sanchez, L. A. Criado-Gutiérrez. Role of Lagomorpha in the Wild Cycle of Rickettsia conorii in Salamanca (Spain). Eur. J. Epid. 1992; 8(1): 136-139

256. .Kelly PJ, Matthewman LA, Mason PR, Courtney S, Katsande C, Rukwava J. Experimental infection of dogs with a Zimbabwean strain of Rickettsia conorii. J Trop Med Hyg. 1992 Oct;95(5):322-6

257. .Solano-Gallego L, et al. Febrile Illness Associated with Rickettsia conorii Infection in Dogs from Sicily. Emerg. Infect. Dis. 2006 12(12): 1985-1988

258..Psaroulaki A, Ragiadakou D, Kouris G, Papadopoulos B. Chaniotis B, Tselentis Y. Ticks, Tick-Borne Rickettsiae, and Coxiella burnetii in the Greek Island of Cephalonia. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2006; 1078: 389–399

259. .Psaroulaki A, Spyridaki I, Ioannidis A, Babalis T, Gikas A, Tselentis Y. First Isolation and Identification of Rickettsia conorii from Ticks Collected in the Region of Fokida in Central Greece . J. Clin. Microb. July 2003, 41(7): 3317-3319

260. .Shazberg G, et al. Family Outbreak of Rickettsia conorii Infection. Emerg. Infect. Dis. 1999; 5(5): 723-724

261..Keysary A. et al. Clusters of Mediterranean spotted fever in Israel. Vector Borne Zoonotic Dis. 2007 Summer;7(2):143-6.

262. .Kuloglu F, Rolain J, Celik A, Akata F, Tugrul M, Raoult D. Prospective evaluation of rickettsioses in the Trakya (European) Region of Turkey in 2005. CMI, 2009; 15 (Suppl. 2): 220–221

263. .Brouqui P,. et al. Spotless Boutonneuse Fever. Clin. Infect. Dis. 1992; 14:114-6

264. .Bacellar F, Sousa R, Santos A, Santos-Silva M, Parola P. Boutonneuse fever in Portugal: 1995–2000. Data of a statelaboratory. Eur. J. Epid. 2003; 18: 275–277.

265. .MERT A, et al. Mediterranean spotted fever: A review of fifteen cases. J. Derm. 2006; 2: 103–107

266. .Khairallah M, et al. Posterior Segment Manifestations of Rickettsia conorii Infection. Ophthalmology 2004; 111(3): 529-534

267. .Bellissima P. et al. Complications of mediterranean spotted fever. Infez Med. 2001 Sep;9(3):158-62

268. .R´emy Demeester, et al. Diversity of Life-Threatening Complications due to Mediterranean Spotted Fever in Returning Travelers. J. Travel Med. 2010; 17 (2): 100–104

269. .Alexiou-Daniel S, Tea A, Ilonidis G, Antoniadis A. A case of pleurisy associated with antibodies to Rickettsia conorii. Clin Microbiol Infect 2003; 9: 437–440

270..Bougteba A, Basir A, Charradi N. Meningoencephalitis caused by Rickettsia conorii in a young infant. Rev Neurol (Paris). 2011 Feb;167(2):173-176.

271. .Tzavella K, Hatzizisis I, Vakali A, Mandraveli K, Zioutas D, Alexiou-Daniel S. Severe case of Mediterranean spotted fever in Greece with predominantly neurological features. J. Med. Microb. 2006; 55: 341–343

272..Papa A, Dalla V, Petala A, Maltezou H, Maltezos E. Fatal Mediterranean spotted fever in Greece. Clin Microbiol Infect 2010; 16: 589–592

273..Schmulewitz L, et al. Splenic Rupture and Malignant Mediterranean Spotted Fever. Emerg. Infect. Dis. 2008; 14(6): 995-996

274..Sousa R. et al. Host and microbial risk factors and pathophysiology of fatal Rickettsia conorii infection in Portuguese patients. J Infect Dis. 2008 August 15; 198(4): 576–585.

275..Sousa R, et al . Mediterranean Spotted Fever in Portugal Risk Factors for Fatal Outcome in 105 Hospitalized Patients. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2003; 990: 285–294

276..Raoult D et al. Incidence, clinical observations and risk factors in the severe form of Mediterranean spotted fever among patients admitted to hospital in Marseilles 1983-1984. J Infect. 1986 Mar;12(2):111-6

277..Tarasevich I, Mediannikov O. Rickettsial Diseases in Russia. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2006; 1078: 48–59

278. .Raoult D, Brouqui P, Roux V. A new spotted-fever-group rickettsiosis. Lancet. 1996 Aug 10;348(9024):412

279..Parola P, et al. Detection and Identification of Spotted Fever Group Rickettsiae and Ehrlichiae in African Ticks. Emerg. Infect. Dis. 2001;7(6): 1014-1017

280..Walker J. A review of the Ixodid ticks (Acari, Ixodidae) occurring in southern Africa. Onderstepoort J Vet Res 1991;58:81– 105

281. .Pretorius A, Birtles R. Rickettsia mongolotimonae Infection in South Africa. Emerg. Infect. Dis. 2004; 10(1):125-126

282..Sexton D, et al. Spotted Fever Group Rickettsial Infections in Australia. Clin Infect Dis. 1991; 13(5): 876-886

283..Baird R et al. Genetic Variation in Australian Spotted Fever Group Rickettsiae. J. Clin. Microb. June 1996; 34(6): 1526–1530

284..Birch T, Muller M. Severe Queensland tick typhus complicated by diabetes in south-eastern Queensland. MJA 2009; 191 (5): 290-291

285..McBride W, et al. Severe Spotted Fever Group Rickettsiosis, Australia. Emerg. Infect. Dis. 2007; 13(11): 1742-1744

286..Sexton D, King G, Dwyer B. Fatal Queensland Tick Typhus. J. Infect. Dis. 1990; 162(3): 779-780

287..Bennett S, et al. Serologic evidence of a Rickettsia akari-like infection among wild-caught rodents in Orange County and humans in Los Angeles County, California. J Vector Ecol. 2007 Dec;32(2):198-201

288. Comer JA, Vargas MC, Poshni I, Childs JE. Serologic evidence of Rickettsia akari infection among dogs in a metropolitan city. J Am Vet Med Assoc. 2001 Jun 1;218(11):1780-2

289..Zavala-Castro JE. A dog naturally infected with Rickettsia akari in Yucatan, México. Vector Borne Zoonotic Dis. 2009 Jun;9(3):345-7

290..Uchida T, et al. Rickettsia japonica sp, nov, the Etiological Agent of Spotted Fever Group Rickettsiosis in Japan. Int. J. Syst.Bacter. 1992; 42(2): 303-305

291..Mahara F. Rickettsioses in Japan and the Far East. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2006; 1078: 60–73

292..Mahara F. Japanese Spotted Fever: Report of 31 Cases and Review of the Literature. Emerg. Infect. Dis. 1997; 3(2): 105-111

293..Kodama K, et al. Clinical study of Japanese spotted fever and its aggravating factors. J Infect Chemother 2003; 9:83–87

294..Graves S, Stenos J. Rickettsia honei A Spotted Fever Group Rickettsia on Three Continents. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2003; 990: 62–66

295..Raoult D, Berbis Ph, Roux V, Xu W, Maurin M. A new tick-transmitted disease due to Rickettsia slovaca. Lancet 1997; 350:112-113

296..Sekeyova Z, Roux V, Xu W, Rehatek J, Raoult D. Rickettsia slovaca sp. nov., a member of the spotted fever group rickettsiae. Intern. J. S. Bacteriol. 1998; 48: 1455-1462

297..Angelakis E, et al. Scalp Eschar and Neck Lymphadenopathy Caused by Bartonella henselae after Tick Bite. Clin. Infect.Dis. 2010; 50:549–51

298..Adams J, Schmidtmann E, Azad A. Infection of colonized cat fleas, Ctenocephalides Felis (Bouché), with a Rickettsia-like Microorganism. Am. J. Trop. Med. Hyg., 43(4), 1990, pp. 400-409

299..Raoult D, et al. A Flea-Associated Rickettsia Pathogenic for Humans. Emerg. Infect. Dis. 2001; 7(1): 73-81

300..Znazen A, et al. Rickettsia felis Infection, Tunisia. Emerg. Infect. Dis. 2006; 12(1): 138-140

301..Bouyer D, et al. Rickettsia felis: molecular characterization of a new member of the spotted fever group. Int. J. S. Evol. Microb. 2001; 51: 339–347

302..Beati L. et al. Rickettsia aeschlimannii sp. nov., a New Spotted Fever Group Rickettsia Associated with Hyalomma marginatum Ticks. Int. J. Syst. Bacteriol. 1997; 47(2): 548-554

303..Pretorius A, Birtles R. Rickettsia aeschlimannii: A New Pathogenic Spotted Fever Group Rickettsia, South Africa. Emerg. Infect. Dis. 2002; 8(8): 874

304..García-García J. C. et al. Case Report: A Patient from Argentina Infected with Rickettsia massiliae. Am. J. Trop. Med. Hyg., 2010; 82(4): 691–692

305..Jado I, et al. Rickettsia monacensis and Human Disease, Spain. Emerg. Infect. Dis. 2007; 13(9): 1405-1407

306..Rydkina E et al. New Rickettsiae in Ticks Collected in Territories of the Former Soviet Union. Emerg. Infect. Dis. 1999;5(6): 811-814

307..Mediannikov O, et al. Rickettsia raoultii sp. nov., a spotted fever group rickettsia associated with Dermacentor ticks in Europe and Russia. Int. J. Syst. Evol. Microb. 2008; 58:1635–1639

308..Rolain J. M., et al. “Candidatus Rickettsia kellyi,” India. Emerg. Infect. Dis. 2006; 12(3): 483-485

309..Burgdorfer W, Aeschlimann A, Peter O, Hayes SF, Philip RN. Ixodes ricinus: vector of a hitherto undescribed spotted fever group agent in Switzerland. Acta Trop. 1979 Dec;36(4):357-67

310..Beati L, et al. Confirmation that Rickettsia helvetica sp. nov. Is a Distinct Species of the Spotted Fever Group of Rickettsiae. Intrn. J. Syst. Bact. 1993; 43(3): 521-526

311..Nilsson K. Septicaemia with Rickettsia helvetica in a patient with acute febrile illness, rash and myasthenia. J. Infect. 2009; 58: 79e82

312. Azad AF. Epidemiology of murine typhus. Annu Rev Entomol 1990;35:553-69.

313. Tselentis Y, Gikas A. Murine Typhus. In: Raoult D, Parola P, editors. Rickettsial Diseases, London: Informa Healthcare; 2007, p. 37-49.

314. Bitam I, Dittmar K, Parola P, Whiting MF, Raoult D. Fleas and flea-borne diseases. Int J Infect Dis 2010;14:e667-76.

315. Civen R, Ngo V. Murine typhus: an unrecognized suburban vectorborne disease. Clin Infect Dis 2008;46:913-8.

316. Blanco JR, Oteo JA. Rickettsiosis in Europe. Ann N Y Acad Sci 2006;1078:26-33.

317. Parola P, Vogelaers D, Roure C, Janbon F, Raoult D. Murine typhus in travelers returning from Indonesia. Emerg Infect Dis 1998;4:677-80.

318. O'Connor LF, Kelly HA, Lubich JM, Lindsey RJ, McComish MJ. A cluster of murine typhus cases in Western Australia. Med J Aust 1996;165:24-6.

319. Bacellar F, Lencastre I, Filipe AR. Is murine typhus re-emerging in Portugal? Euro Surveill 1998;3:18-20.

320. Parola P, Miller RS, McDaniel P, Telford SR 3rd, Rolain JM, Wongsrichanalai C, et al. Emerging rickettsioses of the Thai-Myanmar border. Emerg Infect Dis 2003;9:592-5.

321. Sakaguchi S, Sato I, Muguruma H, Kawano H, Kusuhara Y, Yano S, et al. Reemerging murine typhus, Japan. Emerg Infect Dis 2004;10:964-5.

322. Simon NG, Cremer PD, Graves SR. Murine typhus returns to New South Wales: a case of isolated meningoencephalitis with raised intracranial pressure. Med J Aust 2011;194:652-4.

323. Tselentis Y, Babalis TL, Chrysanthis D, Gikas A, Chaliotis G, Raoult D. Clinicoepidemiological study of murine typhus on the Greek island of Evia. Eur J Epidemiol 1992;8:268-72.

324. Dumler JS, Taylor JP, Walker DH. Clinical and laboratory features of murine typhus in south Texas, 1980 through 1987. JAMA 1991;266:1365-70.

325. Silpapojakul K, Chayakul P, Krisanapan S, Silpapojakul K. Murine typhus in Thailand: clinical features, diagnosis and treatment. Q J Med 1993;86:43-7.

326. Bernabeu-Wittel M, Pachón J, Alarcón A, López-Cortés LF, Viciana P, Jiménez-Mejías ME, et al. Murine typhus as a common cause of fever of intermediate duration: a 17-year study in the south of Spain. Arch Intern Med 1999;159:872-6.

327. Whiteford SF, Taylor JP, Dumler JS. Clinical, laboratory, and epidemiologic features of murine typhus in 97 Texas children. Arch Pediatr Adolesc Med 2001;155:396-400.

328. Gikas A, Doukakis S, Pediaditis J, Kastanakis S, Psaroulaki A, Tselentis Y. Murine typhus in Greece: epidemiological, clinical, and therapeutic data from 83 cases. Trans R Soc Trop Med Hyg 2002;96:250-3.

329. Chaniotis B, Psarulaki A, Chaliotis G, Gozalo Garcia G, Gozadinos T, Tselentis Y. Transmission cycle of murine typhus in Greece. Ann Trop Med Parasitol 1994;88:645-7.

330. Tselentis Y, Psaroulaki A, Maniatis J, Spyridaki I, Babalis T. Genotypic identification of murine typhus Rickettsia in rats and their fleas in an endemic area of Greece by the polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism. Am J Trop Med Hyg 1996;54:413-7.

331. Azad AF, Radulovic S, Higgins JA, Noden BH, Troyer JM. Flea-borne rickettsioses: ecologic considerations. Emerg Infect Dis 1997;3:319-27.

332. Nogueras MM, Cardeñosa N, Sanfeliu I, Muñoz T, Font B, Segura F. Evidence of infection in humans with Rickettsia typhi and Rickettsia felis in Catalonia in the Northeast of Spain. Ann N Y Acad Sci 2006;1078:159-61.

333. Lledó L, Gegúndez MI, Saz JV, Beltrán M. Prevalence of antibodies to Rickettsia typhi in an area of the center of Spain. Eur J Epidemiol 2001;17:927-8.

334. Lledó L, Gegúndez MI, E.Ruiz, L. Rodriguez, F. Bacellar, J. V. Saz, “Rickettsia typhi infection in wild rodents from central spain” Annals of Tropical Medicine and Parasitology, vol. 97, pp 411-414, 2003.

335. L. Liedo, M. I. Gegundez, J. L. Serrano, J. V. Saz, M. Beltran, “A sero-epidimiological study of Rickettsia typh i infection in dogs from Soria province, central Spain” Annals of Tropical Medicine and Parasitology, vol. 97, pp 861-864, 2003

336. Fergie JE, Purcell K, Wanat D. Murine typhus in South Texas children. Pediatr Infect Dis J 2000;19:535-8.

337. Hernández Cabrera M, Angel-Moreno A, Santana E, Bolaños M, Francès A, Martín-Sánchez MS, et al. Murine typhus with renal involvement in Canary Islands, Spain. Emerg Infect Dis 2004;10:740-3.

338. Punda-Polić V, Luksić B, Capkun 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.

339. Khairallah M, Ben Yahia S, Toumi A, Jelliti B, Loussaief C, Romdhane FB, et al. Ocular manifestations associated with murine typhus. Br J Ophthalmol 2009;93:938-42.

340. Adjemian J, Parks S, McElroy K, Campbell J, Eremeeva ME, Nicholson WL, et al. Murine typhus in Austin, Texas, USA, 2008. Emerg Infect Dis 2010;16:412-7.

341. Zimmerman MD, Murdoch DR, Rozmajzl PJ, Basnyat B, Woods CW, Richards AL, et al. Murine typhus and febrile illness, Nepal. Emerg Infect Dis 2008;14:1656-9.

342. Masalha R, Merkin-Zaborsky H, Matar M, Zirkin HJ, Wirguin I, Herishanu YO. Murine typhus presenting as subacute meningoencephalitis. J Neurol 1998;245:665-8.

343. Gikas A, Doukakis S, Pediaditis J, Kastanakis S, Manios A, Tselentis Y. Comparison of the effectiveness of five different antibiotic regimens on infection with Rickettsia typhi: therapeutic data from 87 cases. Am J Trop Med Hyg 2004;70:576-9.

344. Shaked Y, Samra Y, Maier MK, Rubinstein E. Relapse of rickettsial Mediterranean spotted fever and murine typhus after treatment with chloramphenicol. J Infect 1989;18:35-7.

345. Laferl H, Fournier PE, Seiberl G, Pichler H, Raoult D. Murine typhus poorly responsive to ciprofloxacin: a case report. J Travel Med 2002;9:103-4.

346. Botelho-Nevers E, Rovery C, Richet H, Raoult D. Analysis of risk factors for malignant Mediterranean spotted fever indicates that fluoroquinolone treatment has a deleterious effect. J Antimicrob Chemother 2011;66:1821-30.

347. Vassilios Sandalakis, Dimosthenis Chochlakis, Ioannis Ioannou, and Anna PsaroulakiShort Report: Identification of a Novel Uncultured Rickettsia Species Strain (Rickettsia Species Strain Tselenti) in Cyprus*Laboratory of Clinical Bacteriology, Parasitology, Zoonoses and Geographical Medicine, Medical School, University of Crete, Heraklion, Crete, Greece; Veterinary Services, Nicosia, CyprusAm. J. Trop. Med. Hyg., 88(4), 2013, pp. 698–700 doi:10.4269/ajtmh.11-0508

Σημαντική βοήθεια στη συγγραφή του παρόντος προσέφεραν και οι Διδακτορικές Διατριβές που εκπονήθηκαν στο Εργασηριο Βακτηριολογίας Παρασιτολογίας Ζωονόσων και Γεωγραφικής Ιατρικής του Ιατρικού Τμήματος Του Πανεπιστημίου Κρήτης 1) Της κ. Αννας ψαρουλάκη με *τιτλο «Ο Ενδημικός Τύφος σε Περιοχές της Ελλάδας και στη Κυπρο»* 1998, 2) Του κ. Στέφανου Δουκάκη με τίτλο

«Κλινικοεπιδημιολογική Μελέτη του Ενδημικού Τύφου στο Νομό Χανίων» 2003 και 3) Του κ. Αντώνη Γερμανάκη με τίτλο *«Οικογεωγραφική μελέτη των Ρικετσιών στην περιοχή της Σητειας»,* 2011