

# Rickettsiosi del cane: considerazioni sui risultati di sierodiagnosi condotte su cani sintomatici

## RIASSUNTO

In Italia, negli ultimi anni, è stata segnalata la presenza non solo di *Rickettsia conorii*, ma anche di altre rickettsie dello Spotted Fever Group (SFG), e alcuni casi clinici umani sono stati ad esse attribuiti. Nel periodo 2003-2012 sono stati testati con immunofluorescenza indiretta i sieri di 3196 cani, per la ricerca di anticorpi verso *R. conorii* e *R. rickettsii*. Tutte le sierodiagnosi erano state richieste da veterinari liberi professionisti per cani con sintomatologia riportabile a rickettsiosi (linfadenomegalia, anoressia, letargia, febbre). Centosessanta (5,0%) soggetti sono risultati positivi con antigene *R. conorii*, 603 (18,86%) con antigene *R. rickettsii*, 36 (1,12%) hanno reagito con entrambi gli antigeni, per un totale di 763 (23,87%) cani positivi per *Rickettsia* spp. Considerando che *R. rickettsii* non è mai stata isolata, o evidenziata con metodiche molecolari, in Italia, così come nel resto dell'Europa, le positività riscontrate potrebbero essere collegate alle diverse rickettsie dello SFG che circolano sul nostro territorio. Ulteriori indagini sono necessarie per valutare il potere patogeno di questi agenti nei confronti del cane.

## INTRODUZIONE

Le rickettsiosi sono malattie infettive, che rientrano nel gruppo delle *tick-borne diseases*, in quanto trasmesse da zecche, sostenute da batteri intracellulari obbligati appartenenti al genere *Rickettsia*. Quest'ultimo comprende lo Spotted Fever Group (SFG), che include numerose specie, il Typhus Group con le sole specie *R. prowazekii* e *R. typhi*, e un terzo gruppo con *R. bellii* e *R. canadensis*. Inoltre sono stati identificati altri stipti di rickettsia che attualmente non sono inquadrati in nessuna specie riconosciuta.<sup>1</sup>

La rickettsiosi meglio conosciuta in Italia è la Febbre Bottonosa del Mediterraneo (FBM, o *Mediterranean Spotted Fever*, MSF), segnalata nell'uomo per la prima volta nel 1920 nel Lazio e nel 1927 in Sicilia<sup>2</sup>, causata da *Rickettsia conorii*, appartenente allo SFG. Principale vettore di *R. conorii* nel bacino Mediterraneo è la zecca bruna del cane *Rhipicephalus sanguineus*. Nell'uomo la FBM è caratterizzata da febbre alta e altri sintomi simil-influenzali, ma soprattutto dalla comparsa della *tache noire* nel sito di attacco della zecca e di rash cutaneo. Generalmente la FBM è benigna, ma gravi forme possono insorgere se diagnosticata non tempestivamente e qualora siano colpite persone con fattori di rischio, quali l'età avanzata, malattie epatiche croniche, diabete mellito.<sup>1,3,4</sup>

Negli ultimi anni, indagini molecolari, condotte principalmente sulle zecche, hanno permesso di mettere in evidenza la presenza sul territorio Italiano di altre rickettsie appartenenti allo SFG.

*Rickettsia helvetica* è stata identificata per la prima volta in *Ixodes ricinus* e associata a casi di rickettsiosi umana.<sup>5,6,7</sup> *Rickettsia slovaca* è stata trovata in zecche *Dermacentor marginatus* e *Haemaphysalis punctata* raccolte da erbivori in Sicilia, e da zecche *D. marginatus* prelevate da persone in Toscana.<sup>8,9</sup> Tale rickettsia è causa nell'uomo di una patologia chiamata TIBOLA (*tick-borne lymphadenopathy*) o DEBONEL (*dermacentor-borne necrosis-erythema-lymphadenopathy*), in cui sono presenti escara nel sito di attacco della zecca a livello del cuoio capelluto e ingrossamento dei linfonodi cervicali.<sup>4</sup>

*Rickettsia raoultii* è responsabile di un quadro clinico simile a quello osservato in corso di DEBONEL ed è stata evidenziata per la prima volta nel nostro Paese in zecche *D. marginatus* raccolte da cinghiali del centro Italia.<sup>10</sup>

*Rickettsia massiliae* è stata associata ad un caso clinico in Sicilia di una paziente con febbre, rash cutaneo ed epatomegalia.<sup>11</sup> Inoltre è stata trovata in zecche *R. sanguineus* prelevate da cani, anch'essi presenti in Sicilia.<sup>12</sup> Infine altre indagini condotte sempre in Italia hanno permesso l'identificazione di *Rickettsia manacensis* in *I. ricinus*, *Rickettsia aeschlimannii* e *Rickettsia africae* in *Hyalomma marginatum*.<sup>8,13,14,15,16</sup>

In ambito veterinario, la rickettsiosi del cane viene tradizionalmente associata a *R. conorii* e *Rickettsia rickettsii*.

Attualmente non è chiaro se il cane sviluppa malattia in seguito ad infezione con *R. conorii*, sebbene questo batterio sia stato riscontrato in

V.V. Ebani, DVM, PhD

F. Bertelloni, DVM

Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Pisa,  
Viale delle Piagge 2, Pisa

"Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 06/03/2014 ed accettato per la pubblicazione dopo revisione il 29/10/2014".

Italia e in Portogallo, mediante PCR, in cani con sintomatologia sovrapponibile a quella osservata in persone affette da FBM.<sup>17,18</sup>

Per quanto concerne *R. rickettsii*, anch'essa appartenente allo SFG, è la causa di una grave malattia nell'uomo e nel cane conosciuta con il nome Febbre delle Montagne Rocciose (*Rocky Mountain Spotted Fever*, RMSF), generalmente trasmessa da zecche del genere *Dermacentor*, *Rhipicephalus* e *Amblyomma*. La RMSF è segnalata in USA, Canada, Messico, Panama, Costa Rica, Argentina, Brasile e Colombia.<sup>19</sup> In Italia, così come nel resto dell'Europa, sebbene indagini sierologiche abbiano riscontrato valori significativi di prevalenza<sup>20,21</sup>, *R. rickettsii* non è mai stata isolata o identificata mediante metodiche molecolari. Tuttavia, i veterinari, probabilmente sensibilizzati dalla letteratura americana, quando si trovano di fronte a cani con sintomi riportabili a rickettsiosi, così come descritto sui testi, richiedono esami di laboratorio per la ricerca di anticorpi verso *R. conorii* e *R. rickettsii*.

Dal momento che frequentemente veterinari liberi professionisti inviano presso il nostro laboratorio, per la ricerca di anticorpi verso *R. conorii* e *R. rickettsii*, i sieri di cani con sintomatologia a loro avviso imputabile a questi patogeni, abbiamo ritenuto interessante raccogliere e discutere i risultati ottenuti negli ultimi dieci anni.

## MATERIALI E METODI

Nel periodo 2003-2012, sono stati inviati al Laboratorio di Microbiologia Clinica del Dipartimento di Scienze Veterinarie dell'Università di Pisa, i sieri di 3196 cani per la ricerca di IgG verso *R. conorii* e *R. rickettsii*.

Tutti i campioni sono stati inviati da parte di veterinari liberi professionisti che, sulla base di un lo-

ro sospetto di rickettsiosi, richiedevano una diagnosi sierologica di conferma.

I sintomi più frequentemente osservati e riportati dai veterinari nei cani oggetto delle indagini erano: linfadenomegalia, anoressia, letargia, febbre. In un numero più ridotto di soggetti sono stati osservati anche dispnea, edema, rash cutanei (Tabella 1). Non sempre è stato possibile raccogliere, per ciascun animale, i dati relativi a età, sesso, razza e ambiente in cui vivevano. In ogni caso tutti i cani provenivano dalle diverse province della Toscana.

I sieri sono stati testati con immunofluorescenza indiretta (IFI), impiegando due tipi di vetrini disponibili in commercio allestiti rispettivamente con antigene *R. conorii* e antigene *R. rickettsii* (Fuller Laboratories Fullerton, California, USA). Il titolo anticorpale 1:64 è stato considerato come valore soglia<sup>22</sup>; i sieri risultati positivi a tale titolo sono stati testati alle diluizioni successive per definire il titolo anticorpale.

## RISULTATI

Nel corso degli anni presi in considerazione, 160 (5,0%) cani sono risultati positivi con antigene *R. conorii*, 52 con titolo 1:64 e 108 con titolo  $\geq$  1:128. Seicentotré (18,86%) campioni sono risultati positivi con antigene *R. rickettsii*, dei quali 218 al titolo 1:64 e 385 al titolo  $\geq$  1:128. Trentasei (1,12%) sieri sono risultati positivi verso entrambi gli antigeni.

Il numero totale dei cani positivi per *Rickettsia* spp. è stato quindi 763 (23,87%).

I sintomi più frequentemente osservati nei cani risultati sieropositivi verso l'uno o l'altro patogeno considerato erano linfadenomegalia, anoressia, abbattimento e febbre (Tabella 1).

**TABELLA 1**  
Sintomi osservati nei cani sottoposti a diagnosi per la ricerca di anticorpi verso *Rickettsia conorii* e *Rickettsia rickettsii*

Segni clinici	Cani esaminati (%) (Totale 3196)	Cani positivi verso <i>R. conorii</i> (%) (Totale 160)	Cani positivi verso <i>R. rickettsii</i> (%) (Totale 603)
Linfadenomegalia	2845 (89,01)	119 (74,37)	538 (89,22)
Anoressia	2780 (86,98)	108 (67,5)	462 (76,61)
Letargia	1992 (62,32)	97 (60,62)	495 (82,08)
Febbre	1983 (62,04)	91 (56,87)	325 (53,89)
Dispnea	1118 (34,98)	–	–
Edema	575 (17,99)	1 (0,62)	–
Rash cutaneo	447 (13,98)	1 (0,62)	1 (0,16)
Tachicardia	27 (0,84)	–	–
Epato/splenomegalia	25 (0,78)	1 (0,62)	3 (0,49)
Retinite	9 (0,28)	–	–

## DISCUSSIONE

Precedenti indagini sierologiche condotte in popolazioni canine hanno riscontrato valori di sieroprevalenza per *R. conorii* variabili dal 15,5% al 74%, in relazione all'area geografica, tuttavia con valori più alti osservati nell'Italia meridionale.<sup>23,24,25</sup> La percentuale da noi riscontrata appare relativamente bassa se confrontata con tali valori e ciò potrebbe essere messo in relazione alla bassa circolazione di questa rickettsia in Toscana. Del resto, il Ministero della Salute riporta Sardegna, Sicilia, Calabria e Lazio come le regioni con il numero maggiore di casi notificati di infezione umana da *R. conorii*.<sup>26</sup>

La presenza di questo patogeno nel nostro Paese è comunque confermata dalla sua evidenziazione mediante PCR in zecche e campioni biologici animali e umani.<sup>5</sup>

Se il ruolo patogeno di *R. conorii* è ben conosciuto nell'uomo, non lo è altrettanto negli animali. Il cane sembra essere soprattutto un reservoir, infatti esso si infetta tramite la zecca *R. sanguineus* e può trasmettere l'agente ad altre zecche non ancora infette.<sup>27</sup> Recentemente il DNA di *R. conorii* è stato evidenziato in cani che presentavano un quadro clinico caratterizzato da febbre, letargia, linfadenomegalia, trombocitopenia, anemia, ipoalbuminemia.<sup>17</sup> Inoltre, cani infettati sperimentalmente hanno mostrato dolore, eritema ed edema nel sito di inoculo e linfadenopatia regionale.<sup>28</sup>

Le positività riscontrate verso *R. rickettsii* nel 18,86% dei cani da noi testati, molto probabilmente non sono realmente correlate a questo microrganismo, dal momento che non è mai stato identificato in Europa, Italia compresa. Tali reazioni positive potrebbero invece essere dovute all'esposizione dei cani verso altre rickettsie dello SFG presenti sul nostro territorio, quali la stessa *R. conorii*, ma anche *R. helvetica*, *R. massiliae*, *R. slovaca*, *R. monacensis*, *R. aeschlimannii*, *R. raoultii* e *R. africae*.

Del resto, il test IFI, attualmente considerato il *gold standard*<sup>29</sup> nella diagnosi sierologica delle rickettsiosi, non sempre è in grado di distinguere le infezioni dovute alle diverse rickettsie dello SFG. Tale metodica è stata universalmente adottata come test sierologico di riferimento in medicina umana e, in conseguenza, in veterinaria. Infatti l'IFI, rispetto ad altri test sierologici come ad esempio il western blotting, è un test abbastanza economico e di semplice esecuzione, dotato di buona sensibilità. Il suo limite rimane quindi la non eccellente specificità, dovuta alle cross-reazioni tra le diverse rickettsie dello SFG indotte dalla frazione lipopolisaccaridica (LPS).<sup>22</sup>

Accanto a questi aspetti, è da tener presente che, se la diagnosi sierologica è poco specifica, quella diretta presenta alcuni limiti.

Infatti la messa in evidenza delle rickettsie può essere effettuata mediante isolamento, seguito da ti-

pizzazione, PCR, immunoperossidasi, immunofluorescenza diretta. L'esame colturale, che prevede l'impiego di colture cellulari, viene eseguito a partire da campioni biologici, quali sangue, biopsie cutanee (in presenza di lesioni), e per una diagnosi *post mortem*, milza, fegato, meningi, reni, cuore. L'isolamento è tuttavia molto complesso e viene eseguito solo presso i centri di referenza. La PCR è sicuramente più semplice da eseguire; può essere condotta su DNA estratto dagli stessi campioni biologici impiegati per l'isolamento, ma generalmente il sangue è il campione più utilizzato. Al fine di identificare la specie di appartenenza dell'agente eziologico, l'amplificato di *Rickettsia* spp. ottenuto con la PCR deve essere successivamente sottoposto a sequenziamento.

Tuttavia anche la PCR presenta dei limiti, poiché non sempre è in grado di evidenziare le rickettsie nel sangue dei soggetti infetti, dal momento che la fase batteriemia è di breve durata.<sup>22</sup> Infine l'immunoperossidasi così come l'immunofluorescenza diretta, da applicarsi sui tessuti prelevati, sono più frequentemente impiegate in medicina umana.

Attualmente non sono disponibili dati sulla sieroprevalenza delle rickettsiosi emergenti nell'uomo e negli animali.

La presente indagine non ha lo scopo di definire la sieroprevalenza per *Rickettsia* spp. nella popolazione canina italiana, dal momento che riporta soltanto i risultati delle diagnosi sierologiche condotte su cani sintomatici. Tuttavia la percentuale (23,87%) dei soggetti risultati positivi è rilevante e potrebbe essere dovuta all'esposizione verso le diverse SFG rickettsie che circolano sul nostro territorio.

La percentuale più alta dei soggetti risultati sieropositivi verso *R. rickettsii* rispetto a quelli verso *R. conorii* potrebbe far pensare che l'antigene allestito con *R. rickettsii* cross-reagisca più frequentemente con le altre rickettsie dello SFG, anche se mancano studi a tal proposito.

I cani che vivono in ambienti urbani più facilmente possono essere infestati da *R. sanguineus*, zecca che ben si adatta a vivere in luoghi domestici (cucce, anfratti dei muri) e tradizionale vettore di *R. conorii*. Invece, i cani che più frequentemente stanno in ambienti rurali e/o boschivi, sono a maggiore rischio di esposizione a zecche appartenenti a generi diversi, quali *Ixodes*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis* che svolgono il ruolo di vettore per diverse rickettsie dello SFG. Oggi tuttavia, in parte per le variazioni climatiche, in parte per gli spostamenti degli animali, è facile trovare artropodi di diversi generi anche in ambiente urbano, soprattutto giardini e parchi pubblici.

Alcune delle nuove rickettsie dello SFG sono state associate a casi di malattia conclamata nell'uomo, ma ad oggi non si dispone di informazioni su eventuali manifestazioni cliniche nei cani in seguito ad infezione naturale o sperimentale con questi batteri.

Tutti gli animali da noi testati mostravano sintomi. In particolare, i veterinari più spesso riportavano linfadenomegalia, febbre, letargia, anoressia, e in un ridotto numero di casi edema e rash cutanei.

Tuttavia, se da una parte le positività sierologiche possono essere considerate espressione di esposizione degli animali alle rickettsie, dall'altra il quadro clinico rilevato non necessariamente è imputabile all'azione di questi batteri, dal momento che la sintomatologia osservata non ha alcun carattere patognomonico.

Alla luce dei riscontri ottenuti si possono formulare le seguenti considerazioni:

- 1) nel corso degli ultimi anni, l'epidemiologia delle rickettsiosi in Italia è profondamente cambiata in relazione alle variazioni climatiche e, insieme ad esse, alla diffusione dei vettori. Tutto ciò ha comportato la comparsa di nuove specie appartenenti allo SFG, che in alcuni casi sono state associate a casi di malattia nell'uomo.
- 2) I cani, soprattutto quelli che vivono o frequentano ambienti largamente infestati da zecche, sono a rischio di infezione con gli agenti "tick-borne" incluse le varie rickettsie, ma sono necessarie ulteriori indagini per definire il reale ruolo patogeno che questi ultimi microrganismi possono avere nei confronti di tali animali.
- 3) I veterinari clinici che, sospettando di trovarsi di fronte ad un caso di rickettsiosi canina, richiedono i test sierologici per la ricerca di anticorpi verso *R. conorii* e *R. rickettsii*, devono tener presente l'attuale situazione epidemiologica italiana delle rickettsiosi. Dovrebbero infatti aver chiaro che circolano diverse rickettsie dello SFG compresa *R. conorii*, ma che mai è stata segnalata *R. rickettsii*. Inoltre sarebbe auspicabile che i veterinari richiedessero, oltre agli esami sierologici, anche la PCR. Quest'ultima infatti potrebbe fornire maggiori dati per arrivare a formulare una corretta diagnosi, inoltre, là do-

ve il sequenziamento permetta di definire esattamente l'agente eziologico, potrebbero essere acquisite ulteriori informazioni sull'epidemiologia della rickettsiosi.

### Parole chiave

*Rickettsia conorii*; Spotted Fever Group (SFG) rickettsie; immunofluorescenza indiretta; cane.

### ■ Canine rickettsiosis: considerations on the results of serodiagnosis in symptomatic dogs

#### Summary

In Italy, during the last years, rickettsiae of the Spotted Fever Group (SFG), other than *Rickettsia conorii*, have been detected and some human clinical cases have been related to them. During a ten years period, from 2003 to 2012, sera of 3196 pet dogs were tested for antibodies to *R. conorii* and *R. rickettsii* antigens, employing the indirect immunofluorescent antibody test. All serodiagnosis had been requested by veterinarians for dogs with symptoms reportable to rickettsiosis (lymphadenomegaly, anorexia, lethargy, fever). One hundred and sixty (5.0%) animals resulted positive to *R. conorii*, 603 (18.86%) to *R. rickettsii*, 36 (1.12%) reacted to both antigens; the total number of dogs positive to *Rickettsia* spp. was 763 (23.87%). Considering that *R. rickettsii* has never been isolated in Italy and the rest of Europe, the seropositive reactions are probably due to other SFG species which are here circulating. Further studies should be carried out to verify the pathogenicity of these agents for dogs.

#### Key words

*Rickettsia conorii*; Spotted Fever Group (SFG) rickettsiae; indirect immunofluorescent antibody test; dogs.

## BIBLIOGRAFIA

1. Brouqui P, Parola P, Fournier PE, et al. Spotted fever rickettsioses in southern and eastern Europe. *FEMS Immunology Medicine Microbiology* 49: 2-12, 2007.
2. Ingrao GE. La febbre eruttiva-forma special descritta dal Prof. Carducci. *Rivista Medica* 2: 19-20, 1927.
3. Ciceroni L, Pinto A, Ciarrocchi S, et al. Current knowledge of rickettsial diseases in Italy. *Annals of the New York Academy of Science* 1078: 143-149, 2006.
4. Oteo JA, Portillo A. Tick-borne rickettsioses in Europe. *Ticks and Tick-Borne Diseases* 3: 270-277, 2012.
5. Beninati T, Lo N, Noda H, et al. First detection of spotted fever group rickettsiae in *Ixodes ricinus* from Italy. *Emerging Infectious Diseases* 8: 983-986, 2002.
6. Fournier PE, Allombert C, Supputamongkol Y, et al. An eruptive fever associated with antibodies to *R. helvetica* in Europe and Thailand. *Journal of Clinical Microbiology* 42: 816-818, 2004.
7. Floris R, Yurtman AN, Margoni EF, et al. Detection and identification of *Rickettsia* species in the northeast of Italy. *Vector Borne Zoonotic Diseases* 8: 777-782, 2008.
8. Beninati T, Genchi C, Torina A, et al. Rickettsiae in ixodid ticks, Sicily. *Emerging Infectious Diseases* 11: 509-510, 2005.
9. Selmi M, Bertolotti L, Tomassone L, et al. *Rickettsia slovaca* in *Dermacentor marginatus* and tick-borne lymphadenopathy, Tuscany, Italy. *Emerging Infectious Diseases* 14: 817-820, 2008.
10. Selmi M, Martello E, Bertolotti L, et al. *Rickettsia slovaca* and *Rickettsia raoultii* in *Dermacentor marginatus* ticks collected on wild boars in Tuscany, Italy. *Journal of Medical Entomology* 46: 1490-1493, 2009.
11. Vitale G, Mansueto S, Rolain JM, et al. *Rickettsia massiliae* human isolation. *Emerging Infectious Diseases* 12: 174-175, 2006.
12. Trotta M, Nicetto M, Fogliazza A, et al. Detection of *Leishmania infantum*, *Babesia canis*, and rickettsiae in ticks removed from dogs living in Italy. *Ticks and Tick-Borne Diseases* 3: 294-297, 2012.

13. Corrain R, Drigo M, Fenati M, et al. Study on ticks and tick-borne zoonoses in public parks in Italy. *Zoonoses and Public Health* 59: 468-476, 2012.
14. Tomassone L, Grego E, Auricchio D, et al. Lyme borreliosis spirochetes and spotted fever group rickettsiae in ixodid ticks from Pianosa Island, Tuscany Archipelago, Italy. *Vector Borne Zoonotic Diseases* 13: 84-91, 2013.
15. Mura A, Masala G, Tola S, et al. First direct detection of rickettsial pathogens and a new rickettsia, "Candidatus Rickettsia barbariae", in ticks from Sardinia, Italy. *Clinical Microbiology and Infection* 14: 1028-1033, 2008.
16. Maioli G, Pistone D, Bonilauri P, et al. Etiological agents of rickettsiosis and anaplasmosis in ticks collected in Emilia-Romagna. *Experimental and Applied Acarology* 2012; 57: 199-208, 2012.
17. Solano-Gallego L, Kidd L, Trotta M, et al. Febrile illness associated with *Rickettsia conorii* infection in dogs from Sicily. *Emerging Infectious Diseases* 12: 1985-1988, 2006.
18. Alexandre N, Santos AS, Bacellar F, et al. Detection of *Rickettsia conorii* strains in Portuguese dogs (*Canis familiaris*). *Ticks and Tick-Borne Diseases* 2: 119-122, 2011.
19. Dantas-Torres F. Rocky Mountain spotted fever. *The Lancet Infectious Diseases* 7: 724-732, 2007.
20. Furlanello T, Caldin M, Lubas G, et al. Concurrent coinfections in dogs detected by serology during a survey for *Rickettsia rickettsii*: results from 1093 serum samples collected in Italy. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 15: 276, 2001.
21. Baldi L, Mizzoni V, D'Amore M, et al. Diffusione degli anticorpi anti-*Rickettsia rickettsii* nella popolazione canina campana e calabrese. V Congr Naz SIDiLV. Pisa 20-21 novembre 2003; 69.
22. Brouqui P, Parola P, Fournier P, Raoult D. Spotted fever rickettsioses in southern and eastern Europe. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 49: 2-12, 2007.
23. Torina A, Caracappa S. Dog tick-borne diseases in Sicily. *Parassitologia* 48: 145-147, 2006.
24. Trotta M, Fogliazza A, Furlanello T, et al. A molecular and serological study of exposure to tick-borne pathogens in sick dogs from Italy. *Clinical Microbiology and Infection* 15: 62-63, 2009.
25. Pennisi MG, Capri A, Solano-Gallego L, et al. Prevalence of antibodies against *Rickettsia conorii*, *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, and *Anaplasma phagocytophilum* antigens in dogs from the Stretto di Messina area (Italy). *Ticks and Tick-Borne Diseases* 3: 314-317, 2012.
26. Circolare del Ministero della Sanità n.10, 13 luglio 2000.
27. Killmaster LF. Dogs (*Canis familiaris*) as reservoir hosts of *R. conorii*. In: Proceedings 23<sup>rd</sup> Meeting American Society of Rickettsiology, South Carolina, USA, August 15-19, 2009.
28. Kelly PJ, Matthewman LA, Mason PR, et al. Experimental infection of dogs with a Zimbabwean strain of *Rickettsia conorii*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 95: 322-326, 1992.
29. La Scola B, Raoult D. Laboratory diagnosis of rickettsioses: current approaches to diagnosis of old and new rickettsial diseases. *Journal of Clinical Microbiology* 35: 2715-2727.