

Francisella tularensis

Nel 1911 McCoy descrisse una malattia simile alla peste che colpiva gli scoiattoli della California e l'agente responsabile fu chiamato *Bacterium tularensis*, dal nome della contea di Tulare. La malattia umana fu descritta da Francis nel 1921 come tularemia e, in suo onore, il batterio fu ribattezzato *Francisella tularensis*. Sono noti due biotipi di *F. tularensis*, il tipo A (*F. tularensis* sottospecie *tularensis/nearctica*) e il tipo B (*F. tularensis* sottospecie *holarctica/palearctica*).

F. tularensis è uno dei batteri con più alta infettività e può causare patologie gravi e mortali nell'uomo. Per alcuni ceppi di tipo A è sufficiente l'inoculazione o l'inalazione di dieci batteri per indurre la malattia. Per questo motivo *F. tularensis* è considerata un potenziale agente di bioterrorismo. L'impatto maggiore sulla popolazione, in termini di morbilità e mortalità, sarebbe ottenuto dall'aerosolizzazione di un ceppo altamente virulento, con conseguente inalazione di particelle infettive e sviluppo di un quadro broncopneumonico o settico.

EPIDEMIOLOGIA

La tularemia è principalmente una malattia degli animali selvatici, soprattutto piccoli mammiferi, che fungono da serbatoio naturale. La malattia è acquisita tramite puntura di zecche, zanzare o mosche oppure direttamente dalla contaminazione ambientale (carcasse infette, acqua, fieno contaminato).

La malattia è endemica in varie parti del mondo: in Europa (soprattutto Nord Europa, Russia, ma anche Spagna, Kosovo, ecc.) e Asia del Nord (soprattutto Giappone) sono state segnalate numerose epidemie dovute al tipo B. Le infezioni da tipo A, più virulente, sono generalmente più gravi, sporadiche e più frequenti in Nord America.

INFEZIONE E MALATTIA

Nell'uomo la tularemia può essere acquisita attraverso la puntura di artropodi infetti, soprattutto nei mesi estivi, oppure attraverso la manipolazione di tessuti animali infetti, l'ingestione di acqua o cibo contaminato, l'inalazione di particelle infettive aerosolizzate, manipolando, ad esempio, fieno infetto.

Il periodo d'incubazione è di 2-10 giorni. I batteri si replicano sulla cute nel sito d'inoculazione dove in genere si forma un'ulcera. Dal sito di inoculazione i batteri sono trasportati dal sistema linfatico ai linfonodi periferici e quindi possono dare luogo a un'infezione generalizzata. Nelle prime fasi della malattia i sintomi sono aspecifici: senso di malessere, brividi, cefalea e febbre.

Nella maggior parte dei casi (45-80%), la tularemia si presenta come una malattia ulceroghiandolare, solo ghiandolare nel 10-25% dei casi e, più raramente (< 5% dei

casi), oculoghiandolare, setticemica, orofaringea o polmonare. L'attacco è improvviso: generalmente il paziente accusa febbre elevata (38-40 °C), accompagnata da brividi, cefalea, dolori generalizzati soprattutto agli arti inferiori, corizza, faringite, tosse e dolore o senso di costrizione toracico.

In assenza di trattamento i sintomi persistono per numerose settimane. Alcune forme di tularemia possono essere complicate da una diffusione sistemica con quadri di polmonite (comune), sepsi (non comune) o meningite (rara). La vasta epidemia che ha colpito il Kosovo dal 1999, e che è tutt'ora in corso, si è manifestata prevalentemente con una forma orofaringea (da ingestione) caratterizzata da febbre, faringite e linfoadenite suppurativa del collo.

TRATTAMENTO E PREVENZIONE

Gli aminoglicosidi (streptomina o gentamicina) sono i farmaci di scelta per le infezioni da *F. tularensis*. Doxiciclina e cloramfenicolo sono alternative accettabili, ma occasionalmente possono dare fallimenti terapeutici o ricadute. Recentemente è stata utilizzata con successo la ciprofloxacina (di scelta per la profilassi). Le penicilline e le cefalosporine non sono efficaci.

Un vaccino vivo attenuato è stato utilizzato dal 1959 per immunizzare il personale di laboratorio a rischio d'infezione e il personale militare, ma questo non è registrato in nessun Paese. Il vaccino è somministrato in unica dose mediante scari-

La tularemia può essere acquisita dall'uomo tramite la puntura di artropodi, l'ingestione di acqua o di cibo contaminati

Ida Luzzi e Annalisa Pantosti

Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica, ISS

ficazione. Studi su volontari hanno dimostrato una parziale protezione contro batteri aerosolizzati.

PRECAUZIONI OSPEDALIERE E DECONTAMINAZIONE

Per la prevenzione della trasmissione di tularemia in ambito ospedaliero sono necessarie solo precauzioni standard, dal momento che la trasmissione uomo-uomo non è stata dimostrata. In corso di autopsia devono essere evitate le procedure che possano causare aerosol.

La decontaminazione delle superfici può essere eseguita con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1%, da rimuovere con etanolo al 70%.

Nell'ambiente esterno *F. tularensis* sopravvive per lunghi periodi in acqua, in terra, nelle carcasse di animali e la sopravvivenza aumenta se la temperatura è bassa. Per quanto riguarda le particelle infettanti disperse artificialmente (per rilascio intenzionale), non è noto per quanto tempo possano sopravvivere all'interno degli edifici o in un centro urbano. I livelli standard di clorazione dell'acqua potabile sono sufficienti a prevenire la contaminazione da *F. tularensis*.

DIAGNOSI DI LABORATORIO

Sierologia

Per la diagnosi di tularemia si utilizza in genere un test sierologico (ELISA). Un aumento di 2-4 volte del titolo anticorpale tra la fase acuta e la fase di convalescenza (2-4 settimane) permette una diagnosi di certezza di tularemia. Un singolo titolo alto può essere suggestivo di malattia. Il test sierologico è però di scarsa utilità per riconoscere rapidamente e contenere un rilascio deliberato di *F. tularensis*. Recentemente un test ELISA di "cattura", che utilizza anticorpi monoclonali diretti verso *F. tularensis*, è stato utilizzato per mettere in evidenza il microrganismo.

Sicurezza in laboratorio

La coltivazione di *F. tularensis* può presentare rischi per l'operatore. *F. tularensis* ha una lunga e conosciuta storia di infezioni tra il personale di laboratorio, almeno prima dell'impiego di cappe di biosicurezza. Il batterio deve essere manipolato solo da personale esperto. Gli operatori di laboratorio debbono evitare ogni manipolazione che possa creare aerosol o dispersione di gocce e seguire tutte le procedure per la protezione personale e dell'ambiente. I campioni clinici devono essere manipolati in condizioni di contenimento almeno del 2° livello e trasferiti appena possibile in un 3° livello di contenimento se si sospetta *F. tularensis*.

Esame batterioscopico diretto

Un esame batterioscopico diretto di campioni e colture mediante colorazione di Gram può suggerire una diagnosi presuntiva. *F. tularensis* si presenta come un piccolo coccobacillo debolmente Gram negativo di 0,2-0,5 µm x 0,7-1,0 µm, pleomorfo, capsulato, disposto singolarmente. Questo aspetto microscopico, che include l'assenza della colorazione bipolare caratteristica di *Yersinia pestis*, unitamente a sintomi clinici compatibili con la tularemia, è fortemente suggestivo per la presenza di *F. tularensis* nel campione.

Coltivazione

F. tularensis cresce molto difficilmente in coltura. Soprattutto per il tipo B, la procedura più efficiente per l'isolamento è l'inoculazione dei topi. Da una revisione della letteratura il microrganismo è stato isolato solo dal 10% dei casi umani di tularemia.

F. tularensis richiede un supplemento di cisteina per una crescita appropriata. Benché in primo isolamento il microrganismo possa crescere anche su agar cioccolato e Thayer-Martin, il terreno migliore per la subcoltura è il CHAB (agar cioccolato cuore-cisteina contenente il 9% di sangue di montone) oppure l'agar glucosio-cisteina. Questi terreni permettono lo sviluppo di colonie dalla morfologia caratteristica, utilizzabile per la diagnosi differenziale di *F. tularensis*. La *Francisella* può crescere anche sul

Il batterio *Francisella tularensis* è altamente virulento e deve essere manipolato solo da personale esperto

terreno per la *Legionella* BCYE, contenente cisteina. *F. tularensis* cresce lentamente a 35-37 °C: colonie tipiche appaiono in genere dopo 48 ore di incubazione in CO₂, ma è buona norma prolungare l'incubazione per 10 giorni. Il microrganismo cresce molto poco a 28 °C, criterio differenziale per distinguerlo da *Y. pestis*. *F. tularensis* non cresce bene in terreno liquido, pertanto il brodo deve essere usato solo in casi particolari. Il terreno consigliato è il brodo tioglicollato contenente cisteina, che deve essere incubato per almeno 10 giorni. La crescita si evidenzia come una banda torbida in prossimità della superficie.

La crescita su CHAB è caratteristica: le colonie misurano 2-4 mm, sono grigio-bianche, dense con consistenza burrosa e hanno una opalescenza caratteristica sulla loro superficie, se esaminate con luce indiretta. Se il tipo di crescita e la colorazione di Gram confermano il sospetto di *F. tularensis* è consigliabile non perseguire l'identificazione del batterio, ma inviare immediatamente il campione o la coltura a un laboratorio di riferimento per la conferma diagnostica.