
DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL TULAREMIEI

Tularemia este o zoonoză cauzată de *Francisella tularensis*. Primar boală a rozătoarelor și altor animale, se transmite la om și afectează ganglionii limfatici cu generalizare septicemică, stare toxemică și leziuni granulomatoase diseminate visceral.

19.1. DATE GENERALE

19.1.1. O minidefiniție

Genul *Francisella* reunește cocobacilii gramnegativi, imobili, oxidazonegativi și slab catalazopozitivi. Strict aerobi, necesită pentru creștere cistină și cisteină. Atacă zaharurile oxidativ, lent.

19.1.2. Repere taxonomice

Genul *Francisella* este format din două specii: *F. tularensis*, agentul etiologic al tularemiei, și *F. philomiragia*, semnalată în S.U.A. drept cauză a unor infecții sistemice ale omului.

F. tularensis are patru biovaruri:

- *F. tularensis* *neartica*, cel mai patogen pentru om, cu circulație în America de Nord.
- *F. tularensis* *holarctica*, mai puțin virulent pentru om, cu circulație în Europa, America de Nord și Asia.
- *F. tularensis* *centro-asiatică*, identificată de microbiologii ruși, are patogenitate intermediară între biovarurile *neartica* și *holarctica*.
- *F. tularensis* *novicida*, izolată în S.U.A., provoacă imbolnăviri asemănătoare tularemiei.

19.1.3. Habitat

Franciselele sunt găzduite de rozătoare variate de la o regiune geografică la alta. A fost izolată și de la alte specii ca vulpea, nevăstuica, pisica etc. Din aceste surse infecția se transmite la om prin vectori biologici (câpușe, tăuni, jânjari), prin contact direct sau

mediat de elemente contaminate ale mediului (apă, aer, alimente) în care franciselele supraviețuiesc săptămâni sau luni.

19.1.4. Factori de patogenitate

Francisella tularensis este un organism facultativ intracelular. Principalii factori de patogenitate sunt substanța capsulară de supra- și endotoxină.

19.1.5. Receptivitatea la tularemie

Receptivitatea omului la tularemie este generală. Dintre animale cele mai receptive sunt rozătoarele, în special șoarecii.

19.1.6. Tularemia

Gravitatea și forma clinică a infecției variază cu poarta de intrare și virulența tulpinii infectante:

- *Forma ulceroganglionară* este cea mai frecventă. La poarta de intrare, abraziune minimă a tegumentului mâinii sau înțepătura unui artropod hematofag, apare o papulă, care se transformă în pustulă și, în scurt timp, se ulcerează. Apar trenee de limfangită și adenită regională, bubonul tularemic.

- *Forma ganglionară* evoluează cu adenită tributară porții de intrare, dar fără leziune vizibilă la acest nivel.

- *Forma oculoganglionară* are poartă de intrare conjunctiva și evoluează ca o conjunctivită severă unilaterală cu adenită preauriculară.

- *Forma anginoganglionară* este asemănătoare cu angina Vincent sau cu cea difterică, fiind însoțită de adenită cervicală.

Forme grave, septicemice sunt: cea tifoidică sau abdominală, cu poartă de intrare digestivă, și cea pulmonară, cu poartă de intrare respiratorie.

19.2. INVESTIGAȚIA ETIOLOGICĂ A TULAREMIEI

19.2.1. Diagnosticul microbiologic

19.2.1.1. Prelevate patologice

În funcție de forma clinică a bolii, se examinează: exsudat din ulcerul cutanat, aspirat din bubonul tularemic, exsudate conjunctival și faringian, spută, hemoculturi.

19.2.1.2. Microscopie directă

Microscopia directă a prelevatelor de la om colorate uzual rămâne negativă. Numai examenul frotiurilor colorate imunofluorescent depistează și identifică rapid *F. tularensis*.

19.2.1.3. Izolarea și identificarea

Izolarea și identificarea *F. tularensis* sunt rezervate laboratoarelor specializate (din cauza riscului infecției de laborator). Izolarea de la bolnav direct pe mediile de cultură artificiale rămâne cel mai frecvent negativă.

Mult mai sensibilă este izolarea prin injectarea prelevatelor patologice la șoarece sau cobai intraperitoneal (sânge, aspirate necontaminate, omogenat de organe), subcutan sau percutan (prelevatele contaminate). Animalele inoculate sunt urmărite 10—15 zile. Dacă animalele infectate nu mor în acest interval, se fac pasaje oarbe cu omogenat din splină și ficat.

La necropsia animalelor bolnave se constată noduli necrotici ganglionari, hepatici și splenici. La șoareci boala evoluează mai rapid și se constată macroscopic numai hipertrofia ganglionară, splenică și hepatică. La cobai moartea survine lent și se observă noduli necrotici albi-gălbui, mai ales în ficat.

Pe amprentele de organe colorate Giemsa se observă cocobacili uniformi, capsulați, aglomerați în mari cantități în nodulii necrotici. Colorația imunofluorescentă permite identificarea directă, dar este mai puțin accesibilă.

Omogenatul de ficat și splină este însămânțat pe medii special îmbogățite: Francis (geloză nutritivă îmbogățită cu sânge, glucoză și cistină) sau Mac Coy (mediu cu gălbenuș de ou coagulat în pantă), pe care *F. tularensis* formează, după 48—72 ore de incubare aerobă la 37°C, colonii mici, transparente, lucioase.

Identificarea izolatelor se face biochimic, urmărind producerea de H₂S, fermentarea glucozei și maltozei. Fermentarea glicerolului și producerea de citrulinureidază diferențiază biovarurile. Decisivă în identificare este însă aglutinarea cu ser anti-*F. tularensis* și patogenitatea experimentală.

19.2.2. Diagnosticul indirect

După cca 5 zile de boală apare sensibilizarea la tularină; iar din zilele 6—7 de boală pot fi depistați anticorpii serici. Diagnosticul indirect al tularemiei este metoda de elecție pentru majoritatea laboratoarelor.

19.2.2.1. Diagnosticul serologic

Se efectuează reacția de aglutinare. La diluții duble ale serului suspect, efectuate în volume de 0,5 ml de la 1:10 la 1:1280, se adaugă 0,5 ml antigen tularemic (suspensie de germeni omorâți prin fenol sau alcool). După incubarea tuburilor 2 ore în baie de apă la 40°—50°C și menținerea apoi peste noapte la +4°C, se citește reacția urmărind clarificarea supernatantului cu apariția unui depozit, care se disociază prin agitare în granule fine de germeni aglutinați.

Semnificative diagnostic sunt titruri de cel puțin 1:80, care cresc de minimum patru ori în cursul bolii, putând depăși 1:1280. În convalescență titrurile scad progresiv și se mențin la valori de 1:40—1:60 chiar 15—20 ani. Uneori se observă fenomen de prozonă cu absența aglutinării la diluțiile mici de ser. La persoanele vaccinate titrul aglutininelor este mai mic decât la bolnavi.

Serul bolnavilor de tularemie poate reacționa încrucișat cu suspensii de *Brucella* sau, invers, serul bolnavilor de bruceloză poate reacționa cu antigenul tularemic. Pentru a clarifica asemenea situații recurgem la absorbția aglutininelor, urmărirea titrurilor în dinamică și i.d.r. cu tularină și brucelină.

Teste mai sensibile, dar mai puțin accesibile, pentru serodiagnosticul tularemiei, sunt: reacția de *hemaglutinare indirectă* și *ELISA*.

19.2.2.2. Testul intradermic cu tularină

Se injectează intradermic pe fața anterioară a unui antebraț 0,1 ml tularină (vezi tabelul 11.1), iar la antebrațul opus soluție salină glicerinată 3%. Se citește reacția după 48 ore. O papulă infiltrativ-eritematoasă cu diametrul de cel puțin 10 mm, în absența oricărei reacții la martor, semnifică un test pozitiv. La pacienții intens sensibilizați pot să apară vezicule în centrul leziunii sau reacție ganglionară. I.d.r. la tularină este pozitivă și la convalescenți sau vaccinați.

19.2.3. Biopreparate folosite pentru diagnosticul și profilaxia tularemiei

- Tularină (vezi tabelul 11.1).
- Suspensie omorâtă de *F. tularensis* cu 2 miliarde germeni/ml pentru reacții de aglutinare.
- Suspensie de hematii sensibilizate cu antigen *F. tularensis* sau imunoglobuline antitularemice.
- Vaccin viu atenuat anti-*F. tularensis*.