

**ОБЗОРИ  
REVIEWS**
**ТУЛАРЕМИЯ**
**К. Маринов**

Научноизследователска лаборатория по микробиология, Военномедицинска академия – София

**TULAREMIA**
**K. Marinov**

Microbiological Research Laboratory, Military Medical Academy – Sofia

|   |  |
|---|--|
| <p><b>Резюме:</b></p> <p><b>Ключови думи:</b></p> <p><b>Адрес за кореспонденция:</b></p>  | <p>Туларемията е зоонозна инфекция, причинявана от <i>Francisella tularensis</i>. При човека протича под различни клинични форми в зависимост от входната врата на инфекцията. В България за последните 10 г. са диагностицирани над 300 случая. Целта на този обзор е да представи накратко различните аспекти на туларемията. Улцерогландуларната и гландуларната туларемия са най-разпространените форми на болестта и обикновено са следствие от ухапване от кърлеж или контакт с контаминирани материали. Белодробната и тифоидната форма са редки, но протичат тежко и понякога летално. Диагнозата на туларемията не е безпроблемна. Култивирането на <i>F. tularensis</i> е трудно, а работата с този бактериален вид крие риск от заразяване. Използват се серологични методи и откриване на бактериите в клинични материали чрез полимеразноверижна реакция и имунофлуоресцентен метод. Средства на избор при лечението на туларемията са аминогликозидите и флуорхинолоните. Представени са и някои данни от проучвания върху туларемията в България.</p> <p>туларемия, <i>F. tularensis</i>, разпространение, форми, диагноза, лечение, биологично оръжие</p> <p><i>Д-р Кръстю Маринов, Научноизследователска лаборатория по микробиология, Военномедицинска академия, бул. „Св. Г. Софийски” № 3, 1606 София, тел. 922 64 25, GSM 0887 30 90 52, e-mail: krustju_marinov@yahoo.com</i></p>  |
| <p><b>Summary:</b></p> <p><b>Key words:</b></p> <p><b>Address for correspondence:</b></p> | <p>Tularemia is a zoonotic infection, caused by the bacterium <i>Francisella tularensis</i>. In humans, tularemia is manifested by different clinical forms, in dependence on the infection route. More than 300 cases were diagnosed in Bulgaria in the last 10 years. The aim of this review is to describe in brief the different aspects of tularemia. Ulceroglandular and glandular tularemia are the most common forms of the infection and are usually a consequence of a tick bite or handling of contaminated materials. The pulmonary and typhoid forms of the disease occur rarely. They are severe and occasionally fatal. The diagnosis of tularemia is not straightforward. <i>F. tularensis</i> is difficult to culture, and the handling of this bacterium poses a significant risk of infection. Serological assays are used to detect specific antibody response. PCR and immune fluorescence microscopy are used to detect bacteria in clinical samples. Aminoglycosides and fluoroquinolones are drugs of choice in the treatment of tularemia. Some data from studies on tularemia in Bulgaria are presented.</p> <p>tularemia, <i>F. tularensis</i>, dissemination, forms, diagnosis, treatment, biological weapon</p> <p><i>Krustyu Marinov, M. D., Microbiological Research Laboratory, Military Medical Academy, 3, Sv. G. Sofiiski Blvd., Bg – 1606 Sofia, tel. +359 2 922 64 25, GSM +359 887 30 90 52, e-mail: krustju_marinov@yahoo.com</i></p> |

## Увод

В края на 1997 г. и началото на 1998 г. в района на гр. Сливница бяха диагностицирани болни от туларемия. Последва епидемия в същия район. През следващите години бяха регистрирани различен брой заболявания. Втора епидемия имаше в с. Мещица, Пернишко през 2003 г. До края на 2007 г. бяха съобщени над 300 случая, главно в Софийска и Пернишка област. Отделни случаи имаше в сравнително отдалечени райони – областите Видин, Монтана, Враца, Русе и др. Клиничните лекари и микробиолозите в България имат малък опит с тази инфекция. Цел на направения обзор е систематизирано представяне на съвременните възгледи по проблемите на туларемията и данни от изследвания през последните 10 г. върху това заболяване в България в помощ на българските лекари.

## ЕПИДЕМИОЛОГИЧНИ И ЕКОЛОГИЧНИ ДАННИ

### *Разпространение на туларемията*

Туларемията е разпространена само в северното полукълбо. Някои райони са ендемични за тази инфекция, като периодично се съобщават и епидемии. В Европа това са Скандинавските страни, Чехия и Словакия. През 1997 г. заболяването се появява за първи път в Испания, като е регистрирана голяма епидемия [8]. На Балканския полуостров през последните 10 години туларемия има в Турция [34], Косово [30] и Сърбия.

В България, преди появата на огнището през 1998 г., през шестдесетте години на XX в. са изолирани туларемийни щамове и са съобщени случаи на туларемия в района на резервата Сребърна (Готев, Динев).

### *Резервоари и източници на инфекцията и механизми на заразяване*

Туларемията е зооноза. *F. tularensis* е изолирана от над 90 вида бозайници, над 125 вида гръбначни и от над 80 вида безгръбначни – членестоноги, червеи и др. [4]. Основен резервоар и източник на инфекцията са мишевидни гризачи, диви зайци и кърлежи.

При много видове гризачи е характерно силно обсеменяване на паренхимните органи, тежка бактериемия (над  $10^9$  кл./g тъкан или ml кръв) и излъчване на бактерии с телесните екскрети ( $10^5$ - $10^6$  кл./ml урина) [4]. Това обуславя интензивен епизоотичен процес, в който важна роля играят кръвосмучещи паразити. Установена е близка географска и хронологична зависимост на заболяемостта от туларемия както от епизоотията, така и от числеността на популациите на

гризачите и зайците [61, 80]. *Dermacentor* и *Ixodes* се считат за основен резервоар сред кърлежите [4]. В огнището в Западна България е установен висок процент на заразеност на гризачите [13], а щамове *F. tularensis* са изолирани от кърлежи *Dermacentor* и *Ixodes* [1, 2, 43].

Комарите и бълхите са спорни като резервоар на инфекцията. Не са изолирани туларемийни бактерии от комари при проучване в Чехия, при установена заразеност на кърлежите в същия район [36]. Макар и рядко потенциален източник на инфекцията може да бъдат някои хищници – котки и др. При епидемия в Испания има заболявания след обработка на речни раци, в които е установено носителство на *F. tularensis* [7].

Като резервоар на инфекцията се обсъждат и протозоите. Първото съобщение в периодичната литература за ролята на протозоите (персистиране в кокултури с *Tetrahyena pyriformis*) е на български автори [44]. По-късно е установено вътреклетъчно размножаване и персистиране на *F. tularensis* в кокултури със свободно живеещи амеби [1, 5, 31].

Заразяването при човека се осъществява при попадане на бактерии върху наранена кожа или лигавица (включително микроскопични лезии), поглъщане на контаминирани храни и вода, вдъшване на прах и аерозоли или след ухапване от заразени кръвосмучещи паразити. Не е установено предаване на инфекцията от човек на човек.

Кърлежите имат водещо значение при трансмисивното предаване. Смята се, че заразяване се осъществява при попадане на изпражнения от кърлежа в зона на нарушена цялост на кожата и по-рядко – с бактерии от слюнчените им жлези [4]. В някои географски райони обаче комарите може да бъдат най-значимият трансмисивен вектор [21]. В България не е правено проучване за значението на комарите като трансмисивен вектор на *F. tularensis*.

Данните за значението на отделните механизми на заразяване варират според типовете огнища и географското им положение.

### *Туларемийни огнища*

Вследствие на епизоотичния процес и съхранението на бактериите в кръвосмучещи паразити, протозои и др. при определени географски и екологични условия персistirат природни огнища на туларемия. От значение за съществуването им е съотношението на природните фактори, защото видът е разпространен от страни със субтропичен климат до тундрата. Огнищата може да бъдат от степен, езерно-блатен, горски тип и др. Те имат променлива

активност, но са териториално устойчиви. Проучвания в Чехия и Швеция показват, че районите на естествените огнища не са се променили съществено [55]. Макар и сравнително рядко, нови огнища на туларемия се появяват в неендемични страни. Такива примери са огнищата в България и Испания, появили се в края на деветдесетте години на XX в.

### ОСОБЕНОСТИ НА ПРИЧИНИТЕЛЯ

Според съвременната класификация на бактериите род *Francisella* включва два вида – *Francisella tularensis* и *Francisella philomiragia*. *F. tularensis* е разделен на 4 подвида: *tularensis*, *holarctica*, *mediasiatica* и *novicida* [68]. Туларемия при човека причиняват 3 от подвидовете – *tularensis*, *holarctica* и *mediasiatica*. Подвид *tularensis* е значително по-вирулентен от останалите. В Северна Америка са разпространени подвид *tularensis* и подвид *holarctica*, а в Европа – само подвид *holarctica*. Четвъртият подвид, *novicida*, се счита за непатогенен за човека.

Туларемийните бактерии са къси заоблени пръчици, овоидни или кокоидни. Имат среден размер 0,3-0,5  $\mu\text{m}$ , но могат да бъдат и по-дребни – 0,1  $\mu\text{m}$ . Покрити са с капсулоподобен слой с относително отчетливи граници. При вирулентните щамове капсулата е по-дебела. *F. tularensis* е облигатен аероб. Разгражда въглехидратите с образуване на киселина, без газ. Вискателен микроорганизъм е. За култивирането му са необходими богати на белтък хранителни среди. Задължително се добавя цистеин, като източник на –SH групи.

Главният антиген на *F. tularensis* е цялостният липополизахарид (ЛПЗ) на външната бактериална мембрана [17]. Капсулоподобната обвивка има гликолипиден състав и също има имуногенни и антигенни свойства – С антиген.

Главните фактори на вирулентността на *F. tularensis* са капсулата и няколко протеина, осигуряващи вътреклетъчно размножаване във фагоцитиращи клетки. Наличието на капсулоподобен слой е свързано с потенциала за дисеминация. Безкапсулните щамове са невирулентни. Неимунен човешки серум има бактерициден ефект за тях. Той се осъществява чрез активиране на комплемента по класическия път поради присъствието на естествени IgM [62]. Наличието на капсула обаче вероятно има малко значение за вътреклетъчното развитие на бактериите, характерно за цитопатогенезата при туларемията. Безкапсулните щамове имат потенциал за вътреклетъчна персистенция [62].

При *F. tularensis* комплексът от 23 kDa протеина IgIc и негови регулатори е вторият основен фактор на вирулентността. Той има водещо значение за предотвратяване лизирането на бактериите в макрофагите. Мутанти без експресия на IgIc не остават жизнеспособни след фагоцитиране [48, 52]. ЛПЗ на *F. tularensis* също има значение за патогенетичния потенциал. Изолиран и пречистен ЛПЗ обаче няма качества на ендотоксин [63].

За вида е характерна силна генетична хомогенност, установена чрез секвениране на 16S рРНК гена [28] и сравнителна ДНК хибридизация [10]. При пълното секвениране на *F. tularensis* subsp. *Tularensis*-Schu S4 са установени голям брой генетични промени, водещи до прекъсване на метаболитни пътища [50]. Загубата на биосинтезни пътища насочва към идеята, че при естествения си жизнен цикъл *F. tularensis* е облигатен вътреклетъчен паразит.

Туларемийните бактерии са сравнително устойчиви в естествени условия. Според Олсуфиев и Дунаева [4], разпространеният в Европа подвид *holarctica* остава жизнеспособен до 10 месеца в лед, до 9 мес. в речна вода (1° C), до 6 мес. в зърно, слама и замръзнали трупове на животни, до 60 дни във вода (25° C). Експериментално е установено, че при неблагоприятни условия бактериите могат да преминават в некултивируема форма [25].

### ПАТОГЕНЕЗА

Смята се, че заразяващата доза при подкожно и аерогенно заразяване с подвид *tularensis* е съотв. 10 кл. и 25 кл. и малко по-голяма при заразяване с подвид *holarctica* [77]. При аерозолно заразяване на маймуни (*Macaca mulatta*) с подвид *holarctica* се разболяват 70% от животните, заразени с 10 кл., и 100% от заразните със 100 кл. [67].

Патогенезата на туларемията е основана на размножаване в мононуклеарни фагоцитиращи клетки в близост до входната врата на инфекцията и дисеминиране на причинителя.

Първостепенно значение при цитопатогенетичния процес има модулацията на биогенезата на фагозомите, съдържащи бактерии. Те не се сливат с лизозоми, литичният процес е възпрепятствен, фагозомалната мембрана се разкъсва и бактериите попадат в цитоплазмата, където се размножават [15, 64]. Следва апоптоза на клетките (до 10-24 ч след заразяването) и некроза [35, 49]. Ерадикацията на интрацелуларните бактерии предотвратява апоптозата [49]. Тези свойства на *F. tularensis* се свързват с участък

от около 30 kb от бактериалната хромозома, свързан с патогенността. Той кодира протеини, необходими за интрацелуларния растеж в макрофаги [56]. Франциселите са адаптирани към вътреклетъчен растеж и се размножават успешно, въпреки дългото им генерационно време – 3-6 ч при размножаване в перитонеални макрофаги [26] и 8 ч в алвеоларни макрофаги [59].

Хистопатологично се наблюдава неспецифичен възпалителен инфилтрат или инфекциозен гранулом.

Неспецифичната и придобитата имунна защита обикновено предотвратяват дисеминацията, локализируют и неутрализират причинителя и патологичните промени. При случаи на дисеминация, защитните механизми имат частична ефективност и без лечение леталитетът е висок.

В патогенезата на туларемията са включени и други фактори, вероятно с второстепенно значение, като част от процесите не са свързани с жизнеспособността на бактериите.

#### КРАТКО КЛИНИЧНО ОПИСАНИЕ НА ТУЛАРЕМИЯТА

Туларемията е остра, фебрилна, грануломатозна инфекция. Засяга най-често лимфните възли на входната врата на инфекцията, далака и черния дроб. Понякога засяга белия дроб или червата, рядко и други органи. Подразделя се на тип А и тип В туларемия. Тип А се причинява от разпространения само в Северна Америка подвид *tularensis*. Протича по-тежко и с повече усложнения. Разпространеният в Европа подвид *holarctica* причинява тип В туларемия, която протича по-леко.

Инкубационният период е средно 7 дни. Според проучване на 1300 болни в Япония при 75 % от болните той е до 7 дни, но може да бъде от 1 до 30 дни [57]. Началото е неспецифично, с общи инфекциозно-токсични симптоми: неразположение, фебрилитет, главоболие, болки в мускулите и ставите и др. Последващата разгърната симптоматика при част от болните включва хепатоспленомегалия, левкоцитоза и в някои случаи лимфоцитоза, но зависи от входната врата на инфекцията и развитието на съответната клинична форма. Туларемията има 6 основни клинични форми – улцерогландуларна, glandуларна, орофарингеална, окулогландуларна, белодробна и тифоидна.

Улцерогландуларната и glandуларната форма са преобладаващи, което е свързано с главните механизми на заразяване – контактен и трансмисивен. Обикновено са следствие от ухапване от кърлеж или контакт със заразен материал. Характеризират се с регионална лим-

фаденопатия в зоната на входната врата. Лимфните възли са уголемени и болезнени. Възможно е да фистулизират спонтанно. При улцерогландуларната форма има кожна лезия в зоната на входната врата. Появява се папула, която най-често за 2-4 дни преминава в язва.

Орофарингеалната форма се наблюдава при хранително заразяване. Характеризира се с регионален лимфаденит и възпалителни изменения в гърлото, със или без улцеративни лезии.

Окулогландуларната форма е обособена като отделна форма поради специфичната локализация на развитието на патологичните изменения, характерни за туларемията – лимфаденит със или без първичен афект. Входна врата е конюнктивата.

Белодробната форма може да бъде първична или вторична. Освен общоинфекциозни симптоми болните имат непродуктивна кашлица. Симптомите, свързани със засягане на дихателната система, може да са слабо изразени или даже да липсват. Кръвната картина често е нормална. Рентгенологично най-често се установяват хилусна лимфаденопатия и перибронхиални инфилтрати, които без лечение прогресират до бронхопневмония. При епидемия в Испания през 1997 г. белодробна форма е диагностицирана при 3,5% от болните [8], а при епидемия в Швеция през 2000 г. – при 5% от болните. В САЩ над 10% от случаите на туларемия протичат с пневмония [29], като през 2000 г. имаше епидемия от белодробна туларемия [24]. През Втората световна война в бившия СССР са наблюдавани епидемии с преобладаване на белодробна туларемия.

Тифоидната форма също протича тежко, със засягане на регионалните лимфни възли и разнообразни симптоми от страна на гастроинтестиналния тракт. Тя е сравнително рядка, но при определени епидемични обстоятелства заболяемостта от тази форма се увеличава и може да достигне 18% от болните [61]. При епидемията в Испания през 1997 г. тифоидната форма е диагностицирана при 14% от случаите.

Инфекцията рядко протича генерализирано, с бактериемия [32].

Описани са и случаи с нетипични клинични изяви или първична локализация – остър или хроничен менингит [6, 18], септицемия с миозит [22], ендокардит [76], перитонит. Има съобщения за туларемия при трансплантирани болни [45, 51, 65].

При заболелите от туларемия през последните 10 г. в България преобладава орофарингеалната форма – над 95% от случаите [14, 43].

При възможностите на съвременното анти-бактериално лечение смъртните случаи при наблюдаваната в Европа тип В туларемия са рядкост. При тип А в САЩ смъртността е 1-3% [77]. Без лечение смъртността достига 15%, главно за сметка на случаите с белодробна и тифоидна туларемия. При белодробната тя достига 30%, а при тифоидната – 30-60% [29, 61].

### **МИКРОБИОЛОГИЧНА ДИАГНОЗА**

Тя е водеща поради широката диференциална диагноза при лимфаденопатиите. Прави се в специализирани лаборатории и се прилага следният подход:

I. Серологично изследване.

II. Изследване на клинични материали за откриване на причинителя чрез имунофлуоресцентен метод (ИФМ) и полимеразноверижна реакция (PCR).

III. Изолиране и идентификация на причинителя.

### **Серологична диагностика**

Серологичното изследване е водещият метод при лабораторната диагностика на туларемията. Използват се главно реакция аглутинация (Видал и микроаглутинация), пасивна хемаглутинация и ELISA.

Реакция аглутинация е ефективен и лесен за изпълнение метод. Чувствителността и специфичността на метода са почти 100% [60]. Реакцията се отчита като положителна при титър на антителата 1:80-1:160 и такива стойности обикновено потвърждават клиничната диагноза. 7 дни след началото реакцията е положителна при 12% от болните, след втората седмица при 62%, след третата при 81% и след четвъртата при 93%. За сигурно потвърждение се приема четирикратното повишаване на титъра на антителата в динамика. В много случаи обаче такава динамика не може да бъде установена, най-често поради антибактериално лечение.

Реакция пасивна хемаглутинация има подобни възможности. Кантарджиев и съавт. съобщават за един серонегативен случай от 285 болни от туларемия [43].

Изследване с ELISA се прави в различни модификации, според използваните антигени. Възможностите му са близки до аглутинацията. Има чувствителност 95-97% и специфичност 96-99% [60, 66].

Кръстосани реакции се наблюдават най-вече с *Brucella* spp., но разликата в титрите обикновено е убедителна. Кръстосаните реакции се дължат на общи епитопи в капсулния антиген. При оценка на резултатите трябва да се имат пред-

вид дългото задържане (10-20 г.) на специфични антитела в серума на голяма част от преболедалите [9] и присъствието на антитела с диагностичен титър при малка част (до 0,7%) от клинично здравите хора, без данни за минала инфекция [46]. При рисковите групи (ловци и др.) този процент може да бъде по-висок [40].

### **Доказване на причинителя в клинични материали чрез ИФМ и PCR**

При микроскопско изследване на патологични материали (пунктат от лимфен възел и др.) туларемийните бактерии може да бъдат открити чрез ИФМ. Методът е бърз и с почти 100% специфичност.

Чрез PCR се изследват главно материали от лимфни възли и язви. Доказват се генът на 16S рРНК или на 17 kDa липопотеина на *F. tularensis* [73], който присъства във всички изследвани щамове, включително и *F. tularensis* subsp. *novicida* [72]. Ефективността на PCR още не е достатъчно проучена. Като цяло методът е по-малко ефективен от серологичното изследване. Обикновено се съобщават случаи на диагностициране на малък брой болни или отделни случаи. Статистически значимите изследвания са малко. При болни с улцерогландуларна туларемия и изследване на проби от язви, взети с тампон, PCR е положителна при 73% от болните със серологично потвърдена туларемия [71]. PCR е ценен метод при дагностицирането на болни с клинично подозирана туларемия, при които серологичното изследване е отрицателно [41].

### **Изолиране и идентификация на причинителя**

*F. tularensis* се култивира на богати на протеин среди, към които задължително се добавя цистеин, при 35-37° С. Според нашия опит кръвен агар с 5% човешка кръв, 1% глюкоза и 0,05% цистеин е ефективна среда. Културите се проследяват до 7 дни.

Изолирането е сравнително трудно. Причинителят може да бъде изолиран от кожни лезии, лимфни възли, бронхиален секрет, плеврална течност, кръв, очен секрет и др. При изследване на материал от кожни язви изолиране се постига при 60 % от болните [41].

Метод с почти 100% чувствителност е биологичната проба. При заразяването на бели мишки и морски свинчета, наличието на 10-100 клетки в инокулума води до летален изход до 10 дни. Бактериите се наблюдават в препарати от далак чрез ИФМ. При посявка чрез отпечатък от далак се изолира чиста култура.

Изолираните щамове се идентифицират въз основа на културалните им характеристики, серологични методи и PCR. Класическо подвидово диференциране се прави чрез биохимични тестове (продуциране на киселина от глицерол и глюкоза и цитрулиназна активност) и определяне на вирулентността за зайци [68]. Тези методи също са бавни, трудни и не много сигурни [53]. Разработен е метод за подвидово диференциране чрез PCR [10], който се прилага и в България [3].

### ЛЕЧЕНИЕ

*F. tularensis* има устойчив модел на чувствителност към антибактериални средства – чувствителност към аминогликозиди, тетрациклини, флуорохинолони и хлорамфеникол и резистентност към бета-лактами. Чувствителността/резистентността към макролиди е биотипово определящ белег и е свързана с географското разпространение [44].

Класическо средство на избор при лечението на туларемията са аминогликозидите. При тяхното използване се наблюдават най-висок процент на добър клиничен отговор и най-малко релапси [23]. Прилагат се Gentamicin – 5 mg/kg дневно, на 2 приема, или Streptomycin – 2 g дневно, на 2 приема, i. m. за 10 дни, при тежки случаи – до 14 дни.

През последните години се прилагат и флуорохинолони поради подходящите им фармакокинетични свойства и ниски минимални инхибиращи концентрации [37, 75]. При изследване на български изолати *F. tularensis* за чувствителност на Ciprofloxacin, бяха намерени минимални инхибиращи концентрации в рамките на 0,004-0,047 mg/L [53]. Някои изследвания в Европа, където е разпространен само тип В туларемия, съобщават за много добри резултати при използване на флуорохинолони [54, 58], включително при имунокомпрометирани болни [51] и деца [42]. Прилагат се 800-1000 mg Ciprofloxacin дневно, на 2 приема, i. m. или p. o. Може да бъдат използвани и Ofloxacin или Levofloxacin. При деца под 10 г. с улцерогландуларна форма се съобщава много добър ефект при орално приложение на Ciprofloxacin, 15-20 mg/kg дневно, на 2 приема, за 14 дни [42].

Цефалоспорините са неефективни [19] въпреки чувствителността на някои щамове *in vitro*.

Няма общоприет стандартен метод за тестване *in vitro*. Антибиограми не се правят рутинно поради сравнително рядкото изолиране на причинителя от клинични материали и установените лечебни режими. Повечето данни са получени от експериментални изследвания. Добри ре-

зултати с практическо значение се получават при използване на тест ленти с градиент на антибиотика (E-тест) и отчитане на минимални инхибиращи концентрации [37].

### ИМУНИТЕТ

Имунният отговор при инфекция с *F. tularensis* е пример за Т-клетъчно медиран отговор. Проявява се чрез активирани макрофаги и е медиран от Francisella-специфични Т-клетки и лимфокини. Неспецифичният имунитет има водеща функция в първите 48 ч на инфекцията [69]. Неутрофилните гранулоцити ограничават дисеминацията до развиване на специфичен имунен отговор [70]. Специфичният имунитет е асоцииран с CD4 и CD8 Т-клетъчен отговор срещу мозайка от протеини [33], като не е намерен имунодоминантен протеин [78]. Преодоляването на инфекцията с размножаващите се в макрофагите бактерии е свързано със силно активиране на фагоцитните им функции. Интрацелуларното лизиране на бактериите зависи от интерферон-гамма-индуцираната активност на клетките.

Изработването на специфични антитела има важно, но не водещо значение [27, 74]. Те са насочени срещу ЛПЗ антиген на *F. tularensis* [17].

Преболедувалите от туларемия изграждат траен имунитет, свързан главно с Т-клетки на имунната памет, специфични за имуногенните протеини на *F. tularensis*. Установено е и дългогодишно запазване на специфични антитела [9]. Повторните инфекции са много редки.

На базата на атенюиран щам е създадена жива туларемийна ваксина [16]. Имунизацията позволява изграждането на ефективен, дълготраен, главно клетъчен имунитет. Ваксината обаче не е лицензирана и не дава високо ниво на защита при респираторно заразяване [38].

### Ф. TULARENSIS КАТО ВЪЗМОЖЕН АГЕНТ НА БИОЛОГИЧНО ОРЪЖИЕ

Възможността за използването на *F. tularensis* като биологично оръжие се обсъжда от 1950 г. Този вид е бил оценен като биологичен агент и някои страни са съхранявали запаси [39]. Новите реалности наложиха разглеждането на *F. tularensis* в нов аспект – като вероятен биологичен агент, при биотероризъм, извършван от терористични организации, престъпници или психично нездравни хора. Вероятните поражения са съизмерими с използването на антракс или чума. Причините за това са много, като една от тях е ниската заразяваща доза. Не трябва да се пренебрегва и фактът, че вече са публикувани

методи за генетично манипулиране на *F. Tularensis*, които са свързани със създаването на резистентни щамове.

През 1994 г. туларемията е изключена от листата на национално мониторираните заболявания в САЩ, но през 2000 г. е възстановена поради съображения за потенциалната употреба на причинителя като биологично оръжие [11].

През 2002 г. работна група, включваща експерти от медицински академични центрове и държавни институции на САЩ, изработи в Центъра за контрол и превенция на болестите, Форт Колинс, САЩ, препоръки за мерките при употреба на *F. tularensis* като биологично оръжие срещу цивилно население [20]. Според тях разпространението като аерозол ще доведе вероятно до епидемия от неспецифично фебрилно заболяване, с начална пневмония, плеврит и хилусен лимфаденит. Лабораторното потвърждение може да бъде забавено. Без терапия заболяването ще прогресира до дихателна недостатъчност, шок и смърт [20]. Масовото заразяване не е само хипотеза. То е възможно и в естествени условия. По време на Втората световна война, през 1940-42 г., в СССР от туларемия заболяват между 10 000 и 100 000 души годишно.

#### Библиография

1. Маринов, К. Микробиологично проучване на туларемийното огнище в западна България. Дисертация за присъждане на образователна и научна степен "Доктор", София, 2006, 99-108.
2. Маринов, К., Е. Цветкова, К. Младенов и др. Огнището на туларемия в Западна България. – Медицински преглед, **41**, 2005, № 4, 52-57.
3. Маринов, К., К. Младенов, Е. Цветкова и др. Идентификация чрез PCR, на щамове *F. tularensis* изолирани в България. – Инфектология, **43**, 2006, № 1, 22-24.
4. Олсуфиев, Н. Г. и Т. Н. Дунаева. Природная очаговость, эпидемиология и профилактика туларемии. Москва, "Медицина", 1970, 22-59.
5. Abd, H. et al. Survival and growth of *Francisella tularensis* in *Acanthamoeba castellanii*. – Appl. Environ. Microbiol., **69**, 2003, № 1, 600-606.
6. Alfes, J. C. et L. W. Ayers. Acute bacterial meningitis caused by *Francisella tularensis*. – Pediatr. Infect. Dis. J., **9**, 1990, № 4, 300-301.
7. Anda, P. et al. Waterborne outbreak of tularemia associated with crayfish fishing. – Emerg. Infect. Dis., **7**, 2001, Suppl. 3, 575-582.
8. Bellido-Casado, J. et J. L. Perez-Castrillon. Report on five cases of tularaemic pneumonia in a tularaemia outbreak in Spain. – Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., **19**, 2000, № 3, 218-220.
9. Bevanger, L., J. A. Maeland et A. I. Kvan. Comparative analysis of antibodies to *Francisella tularensis* antigens during the acute phase of tularemia and eight years later. – Clin. Diagn. Lab. Immunol., **1**, 1994, № 2, 238-240.
10. Broekhuijsen, M. et al. Genome-wide DNA microarray analysis of *Francisella tularensis* strains demonstrates extensive genetic conservation within the species but identifies regions that are unique to the highly virulent *F. tularensis* subsp. *tularensis*. – J. Clin. Microbiol., **41**, 2003, № 7, 2924-2931.
11. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Tularemia – United States, 1990-2000. – Morb. Mortal. Wkly Rep., **51**, 2002, № 9, 181-184.
12. Cherwonogrodzky, J. W., M. H. Knodel et M. R. Spence. Increased encapsulation and virulence of *Francisella tularensis* live vaccine strain (LVS) by subculturing on synthetic medium. – Vaccine, **12**, 1994, № 9, 773-775.
13. Christova, I. et T. Gladnishka. Prevalence of infection with *Francisella tularensis* and *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Anaplasma phagocytophilum* in rodents from an endemic focus of tularemia in Bulgaria. – Ann. Agric. Environ. Med., **12**, 2005, № 1, 149-152.
14. Christova, I. et al. Tularemia outbreak in Bulgaria. – Scand. J. Infect. Dis., **36**, 2004, № 11-12, 785-789.
15. Clements, D., B. Y. Lee et M. Horwitz. Virulent and avirulent strains of *Francisella tularensis* prevent acidification and maturation of their phagosomes and escape into the cytoplasm in human macrophages. – Infect. Immun., **72**, 2004, № 6, 3204-3217.
16. Conlan, J. W. Vaccines against *Francisella tularensis* – past, present and future. – Expert Rev. Vaccines, **3**, 2004, № 3, 307-314.
17. Conlan, J. W. et al. Mice intradermally-inoculated with the intact lipopolysaccharide, but not the lipid A or O-chain, from *Francisella tularensis* LVS rapidly acquire varying degrees of enhanced resistance against systemic or aerogenic challenge with virulent strains of the pathogen. – Microb. Pathog., **34**, 2003, № 1, 39-45.
18. Coyle, P. K. Chronic Meningitis. – Curr. Treat. Options Neurol., **2**, 2000, № 4, 375-387.
19. Cross, J. T. et R. F. Jacobs. Tularemia: treatment failures with outpatient use of ceftriaxone. – Clin. Infect. Dis., **17**, 1993, № 6, 976-980.
20. Dennis, D. T. et al. Working Group on Civilian Biodefense. Tularemia as a biological weapon: medical and public health management. – JAMA, **285**, 2001, № 21, 2763-2773.
21. Eliasson, H. et al. The 2000 tularemia outbreak: a case-control study of risk factors in disease-endemic and emergent areas, Sweden. – Emerg. Infect. Dis., **8**, 2002, № 9, 956-960.
22. Eliasson, H. et E. Back. Myositis and septicaemia caused by *Francisella tularensis* biovar holarctica. – Scand. J. Infect. Dis., **35**, 2003, № 8, 510-511.
23. Enderlin, G. et al. Streptomycin and alternative agents for the treatment of tularemia: review of the literature. – Clin. Infect. Dis., **19**, 1994, № 1, 42-47.
24. Feldman, K. A. et al. An outbreak of primary pneumonic tularemia on Martha's Vineyard. – N. Engl. J. Med., **345**, 2001, № 22, 1601-1606.
25. Forsman, M. et al. *Francisella tularensis* does not manifest virulence in viable but non-culturable state. – FEMS Microbiol. Ecol., **31**, 2000, № 3, 217-224.
26. Fortier, A. H. et al. Activation of macrophages for destruction of *Francisella tularensis*: identification of cytokines, effector cells, and effector molecules. – Infect. Immun., **60**, 1992, № 3, 817-825.
27. Fulop, M. et al. Role of antibody to lipopolysaccharide in protection against low- and high-virulence strains of *Francisella tularensis*. – Vaccine, **19**, 2001, № 31, 4465-4472.
28. Garcia Del Blanco, N. et al. Genotyping of *Francisella tularensis* strains by pulsed-field gel electrophoresis, amplified fragment length polymorphism fingerprinting, and 16S rRNA gene sequencing. – J. Clin. Microbiol., **40**, 2002, № 8, 2964-2972.
29. Gill, V. et B. A. Cunha. Tularemia pneumonia. – Semin. Respir. Infect., **12**, 1997, № 1, 61-67.
30. Grunow, R. et E. J. Finke. A procedure for differentiating between the intentional release of biological warfare agents and natural outbreaks of disease: its use in analyzing the tularemia outbreak in Kosovo in 1999 and 2000. – Clin. Microbiol. Infect., **8**, 2002, № 8, 510-521.

31. Gustafson, K. Growth and survival of four strains of *Francisella tularensis* in a rich medium preconditioned with *Acanthamoeba palestinensis*. – *Can. J. Microbiol.*, **35**, 1989, 1100-1104.
32. Haristoy, X. et al. *Francisella tularensis* bacteremia. – *J. Clin. Microbiol.*, **41**, 2003, № 6, 2774-2776.
33. Havlasova, J. et al. Mapping of immunoreactive antigens of *Francisella tularensis* live vaccine strain. – *Proteomics*, **2**, 2002, № 7, 857-867.
34. Helvacı, S. et al. Tularemia in Bursa, Turkey: 205 cases in ten years. – *Eur. J. Epidemiol.*, **16**, 2000, № 3, 271-276.
35. Hrstka R., J. Stulik et B. Vojtesek. The role of MAPK signal pathways during *Francisella tularensis* LVS infection-induced apoptosis in murine macrophages. – *Microbes. Infect.*, **7**, 2005, № 4, 619-625.
36. Hubalek, Z. et J. Halouzka. Mosquitoes (Diptera: Culicidae), in contrast to ticks (Acari: Ixodidae), do not carry *Francisella tularensis* in a natural focus of tularemia in the Czech Republic. – *J. Med. Entomol.*, **34**, 1997, № 6, 660-663.
37. Ikaheimo, I. et al. In vitro antibiotic susceptibility of *Francisella tularensis* isolated from humans and animals. – *J. Antimicrob. Chemother.*, **46**, 2000, № 2, 287-290.
38. Isherwood, K. E. et al. Vaccination strategies for *Francisella tularensis*. – *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **57**, 2005, № 9, 1403-1414.
39. Jensen, W. A. et C. M. Kirsch. Tularemia. – *Semin. Respir. Infect.*, **18**, 2003, № 3, 146-158.
40. Jenzora, A. et al. Seroprevalence study of *Francisella tularensis* among hunters in Germany. – *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, **53**, 2008, № 2, 183-189.
41. Johansson, A. et al. Comparative analysis of PCR versus culture for diagnosis of ulceroglandular tularemia. – *J. Clin. Microbiol.*, **38**, 2000, № 1, 22-26.
42. Johansson, A. et al. Ciprofloxacin for treatment of tularemia in children. – *Pediatr. Infect. Dis. J.*, **19**, 2000, № 5, 449-453.
43. Kantardjiev, T. et al. Tularemia outbreak, Bulgaria, 1997-2005. – *EID*, **12**, 2006, № 4, 678-680.
44. Kantardjiev, T. et T. Velinov. Interaction between protozoa and microorganisms of the genus *Francisella*. – *Probl. Infect. Dis.*, **22**, 1995, 34-35.
45. Khoury, J. A. et al. Tularemia in a kidney transplant recipient: an unsuspected case and literature review. – *Am. J. Kidney Dis.*, **45**, 2005, № 5, 926-929.
46. Koskela, P. et E. Herva. Immunity against *Francisella tularensis* in northern Finland. – *Scand. J. Infect. Dis.*, **14**, 1982, № 3, 195-199.
47. Kudelina, R. I. et N. G. Olsufiev. Sensitivity to macrolide antibiotics and lincomycin in *Francisella tularensis* holarctica. – *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.*, **24**, 1980, № 1, 84-91.
48. Lai, X. H., I. Golovliov et A. Sjostedt. Expression of IgIC is necessary for intracellular growth and induction of apoptosis in murine macrophages by *Francisella tularensis*. – *Microb. Pathog.*, **37**, 2004, № 5, 225-230.
49. Lai, X. H., I. Golovliov et A. Sjostedt. *Francisella tularensis* induces cytopathogenicity and apoptosis in murine macrophages via a mechanism that requires intracellular bacterial multiplication. – *Infect. Immun.*, **69**, 2001, № 7, 4691-4694.
50. Larsson, P. et al. The complete genome sequence of *Francisella tularensis*, the causative agent of tularemia. – *Nat. Genet.*, **37**, 2005, № 2, 153-159.
51. Limaye, A. P. et C. J. Hooper. Clinical treatment of tularemia with fluoroquinolones: two cases and review. – *Infect. Dis.*, **29**, 1999, № 4, 922-924.
52. Lindgren, H. et al. Factors affecting the escape of *Francisella tularensis* from the phagolysosome. – *J. Med. Microbiol.*, **53**, 2004, Pt 10, 953-958.
53. Marinov, K. T. et al. Characterization and genotyping of strains of *Francisella tularensis* isolated in Bulgaria. – *J. Med. Microbiol.*, **58**, 2009, № 1, 82-85.
54. Meric, M. et al. Evaluation of clinical, laboratory, and therapeutic features of 145 tularemia cases: the role of quinolones in oropharyngeal tularemia. – *APMIS*, **116**, 2008, № 1, 66-73.
55. Morner, T. et al. Infections with *Francisella tularensis* biovar palaeartica in hares (*Lepus timidus*, *Lepus europaeus*) from Sweden. – *J. Wildl. Dis.*, **24**, 1988, № 3, 422-433.
56. Nano, F. E. et al. A *Francisella tularensis* pathogenicity island required for intramacrophage growth. – *J. Bacteriol.*, **186**, 2004, № 19, 6430-6436.
57. Ohara, Y. et al. Clinical manifestations of tularemia in Japan – analysis of 1,355 cases observed between 1924 and 1987. – *Infection*, **19**, 1991, № 1, 14-17.
58. Perez-Castrillon, J. L. et al. Tularemia epidemic in northwestern Spain: clinical description and therapeutic response. – *Clin. Infect. Dis.*, **33**, 2001, № 4, 573-576.
59. Polsinelli, T., M. S. Meltzer et A. H. Fortier. Nitric oxide-independent killing of *Francisella tularensis* by IFN-gamma-stimulated murine alveolar macrophages. – *J. Immunol.*, **153**, 1994, № 3, 1238-1245.
60. Porsch-Ozcurumez, M. et al. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay, Western blotting, microagglutination, indirect immunofluorescence assay, and flow cytometry for serological diagnosis of tularemia. – *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **11**, 2004, № 6, 1008-1015.
61. Rohrbach, B. W., E. Westerman et G. R. Istre. Epidemiology and clinical characteristics of tularemia in Oklahoma, 1979 to 1985. – *South. Med. J.*, **84**, 1991, № 9, 1091-1096.
62. Sandstrom, G., S. Lofgren et A. Tarnvik. A capsule-deficient mutant of *Francisella tularensis* LVS exhibits enhanced sensitivity to killing by serum but diminished sensitivity to killing by polymorphonuclear leukocytes. – *Infect. Immun.*, **56**, 1988, № 5, 1194-1202.
63. Sandstrom, G. et al. Immunogenicity and toxicity of lipopolysaccharide from *Francisella tularensis* LVS. – *FEMS Microbiol. Immunol.*, **5**, 1992, № 4, 201-210.
64. Santic, M. et al. The *Francisella tularensis* pathogenicity island protein IgIC and its regulator MglA are essential for modulating phagosome biogenesis and subsequent bacterial escape into the cytoplasm. – *Cell. Microbiol.*, **7**, 2005, № 7, 969-979.
65. Sarria, J. C. et al. Fatal infection caused by *Francisella tularensis* in a neutropenic bone marrow transplant recipient. – *Ann. Hematol.*, **82**, 2003, № 1, 41-43.
66. Schmitt, P. et al. A novel screening ELISA and a confirmatory Western blot useful for diagnosis and epidemiological studies of tularemia. – *Epidemiol. Infect.*, **133**, 2005, № 4, 759-766.
67. Schricker, R. et al. Pathogenesis of tularemia in monkeys aerogenically exposed to *F. tularensis* 425. – *Infect. Immun.*, **5**, 1972, № 5, 734-744.
68. Sjostedt, A. Family XVII, Francisellaceae. Genus I, *Francisella*. – In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd ed., vol. 2. G. M. Garrity (Ed.), New York, Springer-Verlag, 2003, 111-113.
69. Sjostedt, A. Virulence determinants and protective antigens of *Francisella tularensis*. – *Curr. Opin. Microbiol.*, **6**, 2003, № 1, 66-71.
70. Sjostedt, A., J. W. Conlan et R. J. North. Neutrophils are critical for host defense against primary infection with the facultative intracellular bacterium *Francisella tularensis* in mice and participate in defense against reinfection. – *Infect. Immun.*, **62**, 1994, № 7, 2779-2783.
71. Sjostedt, A. et al. Detection of *Francisella tularensis* in ulcers of patients with tularemia by PCR. – *J. Clin. Microbiol.*, **135**, 1997, № 5, 1045-8.
72. Sjostedt, A. et al. The 17 kDa lipoprotein and encoding gene of *Francisella tularensis* LVS are conserved in strains of *Francisella tularensis*. – *Microb. Pathog.*, **13**, 1992, № 3, 243-249.

73. Sjöstedt, A., A. Tarnvik et G. Sandstrom. The T-cell-stimulating 17-kilodalton protein of Francisella tularensis LVS is a lipoprotein. – Infect. Immun., 59, 1991, № 9, 3163-3168.
74. Stenmark, S. et al. Specific antibodies contribute to the host protection against strains of Francisella tularensis sub-species holarctica. – Microb. Pathog., 35, 2003, № 2, 73-80.
75. Syrjala, H., R. Schildt et S. Raisainen. In vitro susceptibility of Francisella tularensis to fluoroquinolones and treatment of tularemia with norfloxacin and ciprofloxacin. – Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 10, 1991, № 2, 68-70.
76. Tancik, C. A. et J. A. Dillaha. Francisella tularensis endocarditis. – Clin. Infect. Dis., 30, 2000, № 2, 399-400.
77. Tarnvik, A. et L. Berglund. Tularaemia. – Eur. Respir. J., 21, 2003, № 2, 361-73.
78. Tarnvik, A. et al. Orchestration of the protective immune response to intracellular bacteria: Francisella tularensis as a model organism. – FEMS Immunol. Med. Microbiol., 13, 1996, № 3, 221-225.
79. Tarnvik, A. et al. Long-lasting cell-mediated immunity induced by a live Francisella tularensis vaccine. – J. Clin. Microbiol., 22, 1985, № 4, 527-530.
80. Tarnvik, A., G. Sandstrom et A. Sjöstedt. Epidemiological analysis of tularemia in Sweden, 1931-1993. – FEMS Immunol. Med. Microbiol., 13, 1996, 201-204.

Постъпил за печат на 16 декември 2008 г.



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ  
ЦЕНТРАЛНА МЕДИЦИНСКА БИБЛИОТЕКА

ул. "Св. Г. Софийски" 1, 1431 София  
(02) 952-23-93, (02) 952-16-45, (02) 952-59-20  
факс: (02) 952-23-93, <http://www.mu-sofia.bg>

**АБОНАМЕНТЕН СПИСЪК – 2009**

| Заглавие   | Периодичност | Годишен абонамент в лв. |
|--|--------------|-------------------------|
| Acta Medica Bulgarica (на англ. език)                    | 2            | 12                      |
| Scripta periodica  | 4            | 16                      |
| Български медицински журнал                              | 4            | 30                      |
| Обща медицина  | 4            | 24                      |
| Медицински преглед                                       | 4            | 30                      |
| <i>и отделните негови серии:</i>                         |              |                         |
| Акупунктура  | 3            | 13,50                   |
| Акушерство и гинекология                                 | 2            | 8                       |
| Алергология и клинична имунология & Клинична лаборатория | 2            | 8                       |
| Гастроентерология  | 2            | 8                       |
| Детски и инфекциозни болести                             | 2            | 12                      |
| Ендокринни заболявания                                   | 2            | 8                       |
| Медицински мениджмънт и здравна политика                 | 3            | 12                      |
| Неврология и психиатрия                                  | 3            | 12                      |
| Сестринско дело  | 4            | 24                      |
| Съвременна стоматология                                  | 3            | 12                      |
| Сърдечно-съдови заболявания                              | 4            | 24                      |
| Хирургични заболявания                                   | 3            | 12                      |