

Tularemie na 60 jaar terug in Nederland?

Stand van zaken naar aanleiding van een jongeman met tularemie en een besmette haas

Tularaemia back in The Netherlands after 60 years? The Dutch situation in connection with a patient with tularemia and an infected hare.

Dr. A.C.A.P. Leenders¹, A.H.P.M. Essink², dr. D.W. Notermans³, M.G.J. Koene⁴, B. Schimmer⁵, C.M. Swaan⁶, A. Rietveld⁷

Samenvatting

Na 60 jaar afwezigheid werd in de afgelopen jaren in Nederland *Francisella tularensis* weer vaker aangetoond, zowel bij humane cases als in dieren. Wij beschrijven een eerste humane casus waarvan besmetting met grote zekerheid in Nederland is opgelopen. Aan de hand van deze casus worden diagnostiek, epidemiologie en gevolgen voor de openbare gezondheidszorg beschreven. Hoewel er vooralsnog sprake is van een gering aantal infecties dient tularemie in de differentiaaldiagnose meegenomen te worden indien er sprake is van een passend klinisch beeld en een mogelijk contact met een bron. Door de diagnostiek centraal uit te blijven voeren en door actieve melding aan de GGD, kan er een goed beeld ontstaan over een eventuele verdere herintroductie van tularemie in Nederland.

(Tijdschr Infect 2015;10(6):194-9)

Summary

After 60 years, *Francisella tularensis* has been isolated again in both human and animal cases in The Netherlands. We describe a first human case in which with great certainty the infection has been contracted in The Netherlands. On basis of this case we describe diagnostics, epidemiology and consequences for public health. Although currently there are few cases of tularaemia diagnosed, the infection should be present in the differential diagnosis in clinically compatible cases that have had contact with a possible source. If diagnostics are performed centrally and cases are reported to the municipal health care authorities, we can get a clear picture of the possible reintroduction of tularaemia in The Netherlands.

Inleiding

Tularemie is een zoönotische infectie veroorzaakt door *Francisella tularensis*, een Gram-negatieve, staafvormige bacterie die zuurstof nodig heeft voor zijn groei. De bacterie kan in zowel zoogdieren, vogels als insecten worden gevonden. Overdracht op mensen vindt plaats door direct contact met geïnfecteerde dieren, via insecten-

¹Arts-microbioloog, Regionaal Laboratorium Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Jeroen Bosch Ziekenhuis, 's-Hertogenbosch ²Kinderarts, afdeling Kindergeneeskunde, Jeroen Bosch Ziekenhuis, 's-Hertogenbosch ³Arts-microbioloog, Centrum Epidemiologie en Surveillance van Infectieziekten, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), Bilthoven ⁴Veterinair microbioloog, Centraal Veterinair Instituut (CVI) van Wageningen UR, Lelystad ⁵Medisch epidemioloog, Centrum Epidemiologie en Surveillance van Infectieziekten, RIVM, Bilthoven ⁶Arts Maatschappij en Gezondheid, Centrum Infectieziektebestrijding, RIVM, Bilthoven ⁷Arts Maatschappij en Gezondheid, GGD Hart voor Brabant, 's-Hertogenbosch, Regionaal Arts Consulent Zeeland-Brabant, RIVM, Bilthoven.

Correspondentie richten aan: dr. A.C.A.P. Leenders, arts-microbioloog, Regionaal Laboratorium Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Henri Dunantstraat 1, 5223 GZ 's-Hertogenbosch, tel.: 073-5532093, e-mailadres: A.Leenders@jzbz.nl.

Belangenconflict/financiële ondersteuning: geen gemeld.

Trefwoorden: tularemie, *Francisella tularensis*, zoönose, lymfadenitis.

Keywords: tularaemia, *Francisella tularensis*, zoonosis, lymfadenitis.

Ontvangen 22 juni 2015, geaccepteerd 14 augustus 2015.





Figuur 1. Linkerlies van patiënt waarbij duidelijke roodheid en zwelling zichtbaar zijn.

beten of door contact met de bacterie in stof of water uit de omgeving waar besmette dieren hebben geleefd. De ziekte wordt in Nederland incidenteel vastgesteld bij patiënten besmet in het buitenland.¹ Nadat in 1953 voor het laatst een endemische infectie was vastgesteld, werd in oktober 2011 een patiënt gezien die mogelijk in Nederland was besmet via verschillende insectenbeten die hij opliep tijdens een boottochtje in een gebied niet ver van de Duitse grens.^{2,3} Omdat hij regelmatig op veiligen kwam waarbij bloemen van over heel de wereld verhandeld werden, kon de bron van besmetting niet met zekerheid worden vastgesteld als Nederlands. Wij beschrijven een nieuwe casus waarbij de patiënt de besmetting hoogstwaarschijnlijk in Nederland heeft opgelopen. Daarnaast wordt de stand van zaken beschreven van onderzoek door verschillende instanties op zoek naar Nederlandse bronnen van de infectie en de consequenties hiervan voor de openbare gezondheidszorg.

Ziektegeschiedenis

Op 31 juli kwam een 16-jarige, voorheen gezonde, jongen op de polikliniek kindergeneeskunde omdat hij sinds twee dagen koorts tot boven 39^o Celsius, lymfklierzwelling in de linkerlies en hoofdpijn had. Normaliter had patiënt zelden last van hoofdpijn en niet in de mate zoals nu. Er was sprake van anorexie, sinds een dag ook diarree, maar hij had niet gebraakt.

Hij vertelde dat hij door zijn hobby als vogelaar vaak in bossen en andere natuurgebieden kwam en op 27 juli op diverse plaatsen in armen en benen was gestoken door dazen en mogelijk ook muggen. In mei was hij in Spanje geweest, waar geen ziekte was opgetreden. Hij woonde op een veeteeltbedrijf, waar ook veel katten waren, maar hij was in de voorafgaande twee maanden niet gekrabbd.

Bij lichamelijk onderzoek was in de linkerlies een opvallend drukk pijnlijke, licht vergrote lymfeklier palpabel. Op het linker onderbeen was een kleine papuleuze tot pustuleuze laesie met rode rand aanwezig. Verder werden geen afwijkingen gevonden; er was geen sprake van meningeale prikkeling en lymfeklieren elders, lever en milt waren niet vergroot. Aanvullend bloedonderzoek liet een leukocytenaantal van $10,3 \times 10^9/l$ en een C-reactieve proteïne (CRP) van 56 mg/l zien. Een bloedkweek bleef steriel en serologisch onderzoek op *Borrelia burgdorferi* en *Bartonella henselae* was negatief. Echografie van de linkerlies liet een klier van 9 x 8 mm zien met een geïnfilteerde, hypervasculaire omgeving met daaromheen enkele niet vergrote reactieve klieren.

In de dagen hierna ging de pustuleuze laesie open en verschenen twee soortgelijke afwijkingen aan de benen. De lymfadenitis breidde zich uit over het linker bovenbeen (zie *Figuur 1*). Een wonduitstrijk van een van de laesies liet groei van huidflora zien. De klachten verbeterden niet op amoxicilline met clavulaanzuur. Er ontstonden hoestklachten, zonder dat er afwijkingen werden gevonden op de X-thorax. Na overleg met de arts-microbioloog werd onderzoek gedaan naar *Staphylococcus aureus*-dragerschap en naar cytomegalovirus, hiv, *Mycoplasma*, *Toxoplasma* en *Leishmania*, welk onderzoek geen diagnose opleverde. Nieuw bloedonderzoek twee weken later liet leukocyten zien van $18,2 \times 10^9/l$ (neutrofielen $13,0 \times 10^9/l$, lymfocyten $4,2 \times 10^9/l$) bij een gelijkblijvend CRP. De mantoux was negatief. Ook clindamycine had geen effect op dit beloop. Een uitgebreidere differentiaal diagnose werd opgesteld, gericht op de forse lymfadenitis in de lies, die zelfs leidde tot bewegingsbeperking bij het fietsen, en de nog steeds niet volledige genezen huidafwijkingen ter plaatse van de eerdere insectenbeten bij een relatief weinig zieke patiënt. Differentiaaldiagnostisch werd gedacht aan tularemie, een infectie met atypische mycobacteriën en sporotrichose en na verdere toename van de lymfadenitis werd op 24 augustus gestart met ciprofloxacine. Serum werd verstuurd naar het Centraal Veterinair Instituut (CVI) voor onderzoek op antistoffen tegen *F. tularensis*. Het CVI voerde hiertoe een agglutinatie-test in microtiter format uit, waarbij gebruik wordt gemaakt van Becton Dickinson antigeen (BD Difco™ BBL™ 241050, Breda, Nederland). Er werd een hoge titer (≥ 640) antistoffen (totaal immuunglobulines) vastgesteld die sterk indicatief was voor een infectie met *F. tularensis*. In verband met mogelijke kruisreacties met *Brucella*-antigenen, werd het serum aanvullend (negatief) getest op aanwezigheid van antilichamen hiertegen. Er werd gevraagd om confirmatie door middel van PCR dan wel kweek van lymf-

kliermateriaal. Onder ciprofloxacine-behandeling werd op 6 september materiaal verkregen via een spontaan geabcedeerde klier. De kweek bleef steriel, maar DNA van *F. tularensis* werd aangetoond. Hiertoe werd de *Francisella* TaqMan real-time PCR assay gebruikt, gericht op het FTT0376-gen, specifiek voor de meest relevante pathogene subspecies van *F. tularensis* (subspecies *tularensis*, *holarctica* en *mediasiatica*).⁴

Met deze diagnose en de verbeterende kliniek werd de ciprofloxacine voortgezet. Hierop verbeterde de algemene conditie en nam de pijnlijkheid van de lymklierzwellingen langzaam af. Tot halverwege de maand september ontlastten zich nog lymflieren, maar uiteindelijk was er sprake van een volledig klinisch herstel.

Openbare gezondheidszorg

Tularemie is niet meldingsplichtig, maar vanwege de bijzonderheid van de bevinding werd er een melding gedaan aan de regionale GGD die later ook contact opnam met de GGD in de regio waar de patiënt vermoedelijk de infectie heeft opgelopen. De GGD benaderde de patiënt om inzicht te krijgen in de mogelijke bron van besmetting middels een uitgebreid interview aan huis. Hieruit bleek dat patiënt, omdat hij vogelaar is, vaak in Nederlandse natuurgebieden komt. Hij had op 27 juli een natuurgebied in Limburg aan de grens met Duitsland bezocht. Daar had hij door het struikgewas gelopen en was meerdere keren op armen en benen door dazen en mogelijk door muggen gestoken. Tegen zijn gewoonte in droeg hij die dag géén lange broek. Hij had geen dode dieren gezien of aangeraakt, had niet door water of modder gelopen en was niet door teken gebeten. De dag na dit bezoek ontwikkelde hij de eerste klachten. In de voorafgaande weken had patiënt andere natuurgebieden in Nederland bezocht maar was hierbij beslist niet door teken, muggen of dazen gebeten. In dit hele jaar is hij drie keer, één keer in het voorjaar en twee keer eind augustus (dus na zijn ziekte), gebeten door een teek, waarbij hij deze steeds dezelfde dag verwijderde. Uit de anamnese bleek verder dat hij in juli als vakantiewerker in een plantenkas bij een kweker had gewerkt. Hier kwamen geen planten vanuit het buitenland binnen en was er geen sprake van insectenbeten. In mei was hij voor het laatst in het buitenland geweest, voor een korte vakantie in Spanje. Conclusie was dat de besmetting het meest waarschijnlijk heeft plaatsgevonden tijdens zijn bezoek op 27 juli aan het Limburgs natuurgebied. Naar aanleiding hiervan heeft de GGD Limburg-Noord navraag gedaan bij artsen-microbioloog in haar verzorgingsgebied naar andere mogelijke casussen. Hieruit kwamen geen andere patiënten naar voren.

In de week na het bekend worden van de serologische uitslag werd in het signaleringsoverleg van het Centrum Infectieziektebestrijding melding gemaakt van tularemie bij een haas in Limburg.⁵ Vanaf juli 2011 worden jaarlijks enkele tientallen hazen die aan het Dutch Wildlife Health Centre van de Faculteit Diergeneeskunde (DWHC) zijn aangeboden voor onderzoek naar de ziekte- en doodsoorzaak, door het CVI getest op aanwezigheid van *F. tularensis*. Het eerste positieve resultaat binnen deze monitoring betrof een haas die in mei 2013 werd ingestuurd.⁵ Naar aanleiding van deze bevinding en de hier beschreven patiënt is door het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM) in Noord-Limburg wateronderzoek uitgevoerd in het betreffende natuurgebied aan de grens met Duitsland, waarbij geen *F. tularensis* kon worden aangetoond (niet gepubliceerd onderzoek RIVM). Het Centrum Infectieziektebestrijding van het RIVM, de Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA), DWHC en CVI hebben vervolgens een eerste risico-inventarisatie opgesteld met een overzicht van de huidige kennislacunes over het voorkomen van tularemie bij mensen en dieren in Nederland. Hierin zijn aanbevelingen gedaan voor het verhogen van alertheid onder medici en dierenartsen. De specifieke voorlichting voor risicogroepen zoals jagers is in 2014 gecontinueerd.

Typering

Gezien de overeenkomst tussen de vindplaats van de haas en de plaats van infectie van de patiënt, werd genotypering uitgevoerd in het Swedish Defence Research Agency (FOI) in Umeå, een laboratorium met expertise op allerlei chemische, biologische en radiologische/nucleaire (CBRN) stoffen en mogelijke bedreigingen. Resultaten toonden aan dat beide genotypen behoren tot eenzelfde groep B.6 (voorheen B.IV), subgroep B.6/11 van *F. tularensis* subspecies *holarctica*. Dit wordt ook wel de 'Iberian clone' genoemd, de meest prevalentie stam in westelijk en centraal Europa (Spanje, Frankrijk, Duitsland, Zwitserland).^{6,7} *F. tularensis* subspecies *holarctica*-stammen zijn fylogenetisch sterk verwant aan relatief weinig genetische variatie. Om te kunnen zeggen of het om identieke stammen gaat, is typering vereist met een groter discriminerend vermogen, zoals hogere resolutie SNP-markers of sequentieanalyse. Aangezien de kweken bij de patiënt negatief waren was dit, bij gebrek aan bacteriestammen, niet mogelijk, net zo min als een vergelijking met de patiëntenstam die in 2011 was gevonden.⁸

Discussie

F. tularensis kent vier subspecies: *tularensis*, *holarctica*, *mediasiatica* en *novicida*. Infecties met subspecies *tula-*



Figuur 2. De laesie aan het linker onderbeen die zich later nog verder ontwikkelde tot een erythemateuze verhevenheid met donker centrum en te zien is als een eschar.

rensis hebben de hoogste mortaliteit maar komen minder vaak voor (beperkt tot Noord-Amerika) dan infecties met subspecies *holartica* die minder virulent is.^{9,10} De andere subspecies zijn relatief zeldzame verwekkers van humane ziekte. Mensen en vele diersoorten kunnen door *F. tularensis* besmet worden. Vooral haasachtigen en knaagdieren blijken gevoelig voor besmetting en kunnen hier dood aan gaan.

Bij de mens worden verschillende klinische beelden van tularemie beschreven afhankelijk van de transmissieroute van de bacterie.^{11,12} Wondtularemie (ulceroglandulaire infectie) komt het meest voor, ongeveer 80%, en deze treedt op na direct contact met een besmet dier of via een insectenbeet. Vooral na een insectenbeet of bij besmetting via een niet-intacte huid kan de incubatieperiode kort zijn. Vanaf één dag na besmetting kunnen al de eerste huidafwijkingen ontstaan. Daarbij is een eschar een typische presentatie en retrospectief is bij onze patiënt de laesie aan het linker onderbeen, die zich later ontwikkelde tot een erythemateuze verhevenheid met donker centrum, te zien als zo'n eschar (zie *Figuur 2*). Deze afwijkingen worden met name op niet door kleding bedekte huddelen gezien. Veelal in aansluiting ontstaan regionale klierzwellingen. Bij kinderen komt deze vorm relatief vaker voor dan bij volwassenen. Naast ulceroglandulaire tularemie bestaan er onder andere glandulaire, oculoglandulaire, intestinale en pulmonale vormen, allen met hun eigen transmissieroute. Glandulaire tularemie lijkt veel op de ulceroglandulaire vorm, waarbij het huidbeeld ontbreekt. Waarschijnlijk is de ontstaanswijze echter gelijk; het stellen van de diagnose uiteraard moeilijker. Pulmonale tularemie kan typisch ontstaan na het maaien van grasland met daarin besmette dode dieren; een bekend fenomeen in de Verenigde Staten.¹¹ De ziekte kan echter ontstaan na iedere inhalatie

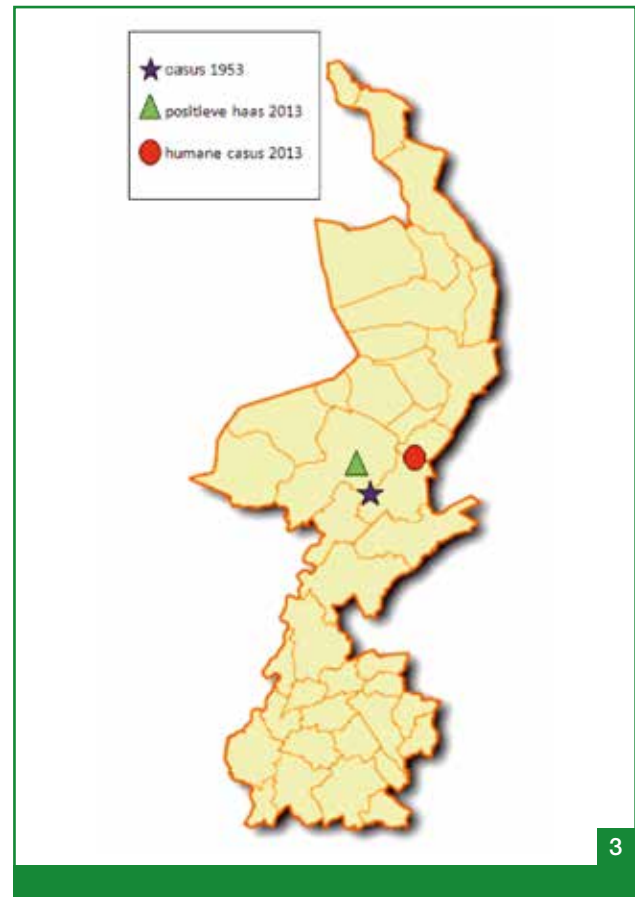
van *F. tularensis*. Na een specifiek griepachtig ziektebeeld staan longklachten met hoesten op de voorgrond. Het beeld ontstaat een enkele keer ook na hematogenen verspreiding vanuit andere vormen van tularemie. De diagnose heeft een hoge mate van vooraf verdenking nodig omdat de bacterie in een algemene sputumkweek niet gevonden zal worden. Bij oculoglandulaire en bij intestinale tularemie, beide zeldzame vormen, zorgt besmetting via het oog of via de darm voor lokale ulcera met bijbehorend klachtenpatroon.

Tussen 1953 en 2011 zijn in Nederland geen humane of dierlijke gevallen van tularemie gezien waarbij de infectie in Nederland was opgelopen; in deze periode was de ziekte tussen 1975 en 1999 meldingsplichtig. In het annual epidemiological report 2013 van het European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) blijkt dat tularemie in veel Europese landen wel voorkomt met als koploper Zweden.¹³ In dit land loopt de belangrijkste transmissieroute via muggenbeten. In Zweden is in bepaalde regio's ook aangetoond dat de bacterie zich weet te handhaven in natuurlijke waterbronnen, ook in jaren waarin geen uitbraken worden gerapporteerd. Ook in ons omringende landen als Duitsland en België komt tularemie voor. Recent werd in het noorden van Duitsland de bacterie vastgesteld bij 3% van de dood gevonden hazen. In 2011 is een geval beschreven bij een haas in België. In Frankrijk komt tularemie bij hazen verspreid over het land voor. De kans om tularemie op te lopen in Nederland is zeer klein. In 2011 is voor het eerst in 60 jaar tularemie vastgesteld bij een Nederlandse patiënt die niet in het buitenland was geweest en geen contact met wild had gehad.³ Daarvoor werd voor het laatst in 1953 in Nederland tularemie aangetoond toen enkele leden van een gezin ziek werden na het eten van een besmette haas.² Wij beschrijven hier een eerste in Nederland endemische humane casus waarbij de besmetting vanuit een in Nederland besmet dier zeer aannemelijk is. Besmetting tijdens de vakantie in Spanje werd uitgesloten vanwege de ruime overschrijding van de incubatietijd die maximaal 21 dagen betreft, maar meestal veel korter is. Verder is het feit dat de dode haas, de besmetting van de patiënt en de vindplaats van de haas in 1953 binnen een straal van 10 km van elkaar liggen opmerkelijk (zie *Figuur 3*). Gezien de lange tijd tussen deze bevindingen is een direct verband niet erg waarschijnlijk, maar zijn goede leefcondities voor de haas in deze regio een mogelijke verklaring dat hier de infectie kon worden opgelopen. Inmiddels is tularemie in Nederland in 2014 bij nog drie patiënten vastgesteld: één persoon in Zeeland besmet door het villen van een haas

die besmet bleek met *F. tularensis*, en twee personen in Groningen, die beiden ook hazen hadden gehanteerd (de hazen waren niet meer beschikbaar voor onderzoek). Al deze personen waren niet in het buitenland geweest tijdens hun incubatieperiode. Het is nog onduidelijk of deze casussen duiden op herintroductie van de bacterie in Nederland, of op verhoogde alertheid en verbeterde diagnostiek. De actuele stand van zaken is te zien via de website van het CVI (<http://www.wageningenur.nl/nl/Expertises-Dienstverlening/Onderzoeksinstituten/Central-Veterinary-Institute/show/Update-tularemie-hazenpest-.htm>). Inmiddels zijn er meldingen uit zeven provincies bekend. Wij raden vooralsnog aan dat eventueel vastgestelde cases gemeld worden aan de regionale GGD.

Het risico op een besmetting is in te perken door het nemen van hygiënische maatregelen. De basis hiervan is het beperken van contact met mogelijk besmette dieren. Het belangrijkste reservoir voor *F. tularensis* bevindt zich in de wilde fauna, waarbij met name haasachtigen en knaagdieren bekend staan om hun gevoeligheid voor deze bacterie. Risicogroepen voor dit contact zoals jagers en personen die beroepsmatig in contact komen met hazen kunnen de risico's beperken door het nemen van een aantal voorzorgsmaatregelen gebaseerd op de bekende transmissieroutes, zoals het dragen van rubberen/latex handschoenen en een mondkapje bij het ontweiden en na contact met zieke en dode dieren. Zieke en dood gevonden dieren mogen niet ontweidt en geconsumeerd worden. Deze kunnen voor onderzoek worden aangeboden aan DWHC.

De diagnostiek van tularemie bij mensen en dieren berust op het aantonen van de bacterie in klinisch materiaal of het aantonen van antistoffen ertegen. Verschillende methoden zijn hiervoor geschikt waaronder de bacteriële kweek, serologie en moleculaire diagnostiek met behulp van PCR.¹⁴ De bacteriële kweek dient alleen plaats te vinden onder BSL-3 condities. Dit is uiteraard alleen mogelijk indien er een hoge a priori verdenking op de diagnose bestaat. In eerdere beschreven cases kwam de diagnose min of meer per toeval aan het licht, doordat in een kweek *F. tularensis* werd gevonden. Hierbij zijn geen BSL-3 condities gehanteerd, maar ook geen besmettingen van personeel opgetreden. In onze casus werd bewust gezocht naar de diagnose, maar was in eerste instantie geen materiaal voor kweek beschikbaar. Daarom werd gebruik gemaakt van andere diagnostische methoden als serologie en later, bij wel beschikbaar komen van direct materiaal, van moleculaire detectie en kweek. Beide in de tekst uitgebreid beschreven technieken zijn



Figuur 3. Provincie Limburg waarin aangeduid de vindplaats van de haas besmet met *Francisella tularensis* in relatie tot de plaatsen waar de beschreven humane casussen waarschijnlijk de besmetting opliepen.

beschikbaar bij het CVI. PCR is ook beschikbaar op het RIVM, waarbij direct het betreffende subspecies kan worden bepaald.

Conclusie

Na 60 jaar afwezigheid, is de afgelopen jaren in Nederland *F. tularensis* weer een aantal maal gevonden, zowel bij humane cases als in dieren. Vooralsnog zijn dit spaarzame bevindingen maar de hier beschreven casus toont aan dat tularemie in de differentiaaldiagnose dient te worden meegenomen indien er sprake is van een passend klinisch beeld en een mogelijk contact met een bron. Door de diagnostiek centraal uit te voeren en door actieve, niet verplichte, melding aan de GGD, kan er een goed beeld ontstaan over eventuele herintroductie van tularemie in Nederland.

Referenties

1. Limper M, Roest HJ, van Gorp ECM. Een patiënt met koorts en een eschar door tularemie. Ned Tijdschr Geneesknd 2009;153:B84.
2. Hemmes GD. [Tularemia at Horn]. Ned Tijdschr Geneesknd 1953;97(16):990-2.

Aanwijzingen voor de praktijk

- 1. Na 60 jaar lijkt tularemie terug in Nederland.**
- 2. Tularemie wordt veroorzaakt door de bacterie *Francisella tularensis*.**
- 3. Denk bij lymfadenopathie en de aanwezigheid van een relevante mogelijke bron aan tularemie.**
- 4. Tularemie is niet meldingsplichtig, maar melding aan de GGD wordt sterk aanbevolen**

3. Maraha B, Hajer G, Sjödin A, et al. Indigenous Infection with *Francisella Tularensis* in The Netherlands. *Case Rep Infect Dis* 2013;2013:916985.

4. Mitchell JL, Chatwell N, Christensen D, et al. Development of real-time PCR assays for the specific detection of *Francisella tularensis* ssp. *tularensis*, *holarctica* and *mediaasiatica*. *Mol Cell Probes* 2010;24:72-6.

5. Rijks J, Kik M, Koene M, et al. Tularaemia in a brown hare (*Lepus europaeus*) in 2013: first case in the Netherlands in 60 years. *Euro Surveill* 2013;18 (49).

6. Dempsey MP, Dobson M, Zhang C, et al. Genomic deletion marking an emerging subclone of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* in France and the Iberian Peninsula. *Appl Environ Microbiol* 2007;73:7465-70.

7. Karlsson E, Svensson K, Lindgren P, et al. The phylogeographic pattern of *Francisella tularensis* in Sweden indicates a Scandinavian origin of Eurosiberian tularemia. *Environ Microbiol* 2013;15:634-45.

8. Coolen JP, Sjödin A, Maraha B, et al. Draft genome sequence of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* BD11-00177. *Stand Genomic Sci* 2013;8(3):539-47.

9. Petersen JM, Schriefer ME. Tularemia: Emergence/re-emergence. *Vet Res* 2005;36(3):455-67.

10. Oyston, P. *Francisella tularensis*: unravelling the secrets of an intracellular pathogen. *J Med Microbiol* 2008;57:921-30.

11. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Tularemia - Missouri, 2000-2007. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009;58:744.

12. Foley JE, Nieto NC. Tularemia. *Vet Microbiol* 2010;140:332-8.

13. [Http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/annual-epidemiological-report-2013.pdf](http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/annual-epidemiological-report-2013.pdf), 118-9.

14. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, et al. *Manual of clinical microbiology*, 9th ed. Washington DC:ASM Press, Washington, DC, 2007.