

**Université de Strasbourg**

**FACULTÉ DE PHARMACIE**



**N° d'ordre :**

**MÉMOIRE DE DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**L'antibiorésistance chez la bactérie *Yersinia pestis* : cause, mécanismes et solutions**

**Présenté par MILBACH Marc**

**Soutenu le 22 septembre 2023 devant le jury constitué de**

**GEORGEL Philippe, Président**

**GEORGEL Philippe, Directeur de thèse**

**BOUREL Line, GODET Julien, BRONNER Jonathan, Autres membres du jury**

**Approuvé par le Doyen et par le Président de l'Université de Strasbourg**



## Liste des enseignants chercheurs de la faculté de pharmacie

### Professeurs :

Philippe	BOUCHER	Physiologie
Nathalie	BOULANGER	Parasitologie
Line	BOUREL	Chimie thérapeutique
Pascal	DIDIER	Biophotonique
Saïd	ENNAHAR	Chimie analytique
Philippe	GEORGEL	Bactériologie, Virologie
Jean-Pierre	GIES	Pharmacologie moléculaire
Béatrice	HEURTAULT	Pharmacie galénique
Esther	KELLENBERGER	Bio-Informatique
Maxime	LEHMANN	Biologie cellulaire
Eric	MARCHIONI	Chimie analytique
Francis	MEGERLIN	Droit et économie pharm.
Yves	MELY	Physique et Biophysique
Jean-Yves	PABST	Droit Economie pharm.
Françoise	PONS	Toxicologie
Valérie	SCHINI-KERTH	Pharmacologie
Florence	TOTI	Pharmacologie
Thierry	VANDAMME	Biogalénique
Catherine	VONTHRON	Pharmacognosie
Pascal	WEHRLÉ	Pharmacie galénique

### Professeurs-praticiens hospitaliers

Jean-Marc	LESSINGER	Biochimie
Bruno	MICHEL	Pharm. clinique santé publique
Pauline	SOULAS-SPRAUEL	Immunologie
Geneviève	UBEAUD-SÉQUIER	Pharmacocinétique

### PAST :

Matthieu	FOHRER	Pharmacie d'officine
Philippe	GALAIS	Droit et économie pharm.
Philippe	NANDE	Ingénierie pharmaceutique
Caroline	WILLER - WEHRLÉ	Pharmacie d'officine

### Maîtres de Conférences :

Nicolas	ANTON	Pharmacie biogalénique
Martine	BERGAENTZLÉ	Chimie analytique
Elisa	BOMBARDA	Biophysique
Aurélie	BOURDERIOUX	Pharmacochimie
Emmanuel	BOUTANT	Virologie et Microbiologie
Véronique	BRUBAN	Physiologie et physio-path.
Anne	CASSET	Toxicologie
Thierry	CHATAIGNEAU	Pharmacologie
Manuela	CHIPER	Pharmacie biogalénique
Guillaume	CONZATTI	Pharmacie galénique
Marcella	DE GIORGI	Pharmacochimie
Serge	DUMONT	Biologie cellulaire
Valérie	GEOFFROY	Microbiologie
Gisèle	HAAN-ARCHIPOFF	Plantes médicinales
Célien	JACQUEMARD	Chémoinformatique
Julie	KARPENKO	Pharmacochimie
Clarisse	MAECHLING	Chimie physique
Rachel	MATZ-WESTPHAL	Pharmacologie
Cherifa	MEHADJI	Chimie
Nathalie	NIEDERHOFFER	Pharmacologie
Sergio	ORTIZ AGUIRRE	Pharmacognosie
Sylvie	PERROTEY	Parasitologie
Romain	PERTSCHI	Chimie en flux
Frédéric	PRZYBILLA	Biostatistiques
Patrice	RASSAM	Microbiologie
Eléonore	REAL	Biochimie
Andreas	REISCH	Biophysique
Ludivine	RIFFAULT-VALOIS	Analyse du médicament
Carole	RONZANI	Toxicologie
Emilie	SICK	Pharmacologie
Maria-Vittoria	SPANEDDA	Chimie thérapeutique
Jérôme	TERRAND	Physiopathologie
Nassera	TOUNSI	Chimie physique
Aurélie	URBAIN	Pharmacognosie
Bruno	VAN OVERLOOP	Physiologie
Maria	ZENIOU	Chimiogénomique

### Maîtres de conférences - praticiens hospitaliers

Julie	BRUNET	Parasitologie
Nelly	ÉTIENNE-SELLOUM	Pharmacologie-pharm. clinique
Julien	GODET	Biophysique - Biostatistiques

### Assistants hospitaliers universitaires

Damien	REITA	Biochimie
--------	-------	-----------

# SERMENT DE GALIEN

**JE JURE,**

en présence des Maîtres de la Faculté,  
des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens  
et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit  
dans les préceptes de mon art et de  
leur témoigner ma reconnaissance en  
restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique,  
ma profession avec conscience et de respecter non  
seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles  
de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne dévoiler à personne les secrets  
qui m'auront été confiés et dont j'aurai eu  
connaissance dans la pratique de mon art.

Si j'observe scrupuleusement ce serment,  
que je sois moi-même honoré  
et estimé de mes confrères  
et de mes patients.

## Remerciements

Je tiens à remercier le Professeur GEORGEL d'avoir accepté de diriger ma thèse ainsi que de sa présence pour répondre à mes questions et interrogations.

Je tiens également à remercier Mme BOUREL et Mr Godet pour avoir accepté de faire partie du jury de ma thèse. Je tiens aussi à remercier BRONNER Jonathan qui a accepté au pied levé de rejoindre le jury.

Je remercie ma famille qui a été présente et m'a soutenu tout au long de mon cursus universitaire.

Je tiens également à remercier une foule d'ami et de proches, Marie, Valentine, Nathan, Alexis, Vincent, François et tant d'autres pour leur présence et leurs conseils.

Enfin un remerciement tout particulier à Raphaël qui, alors que nous dégustions un thé à la menthe, m'a offert le déclic permettant de trouver mon sujet de thèse.

Merci à vous tous.

## Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARN : Acide Ribonucléique

- ARNr : ARN ribosomal

- ARNt : ARN de transfert

CCR5 : C-C chemokine receptor type 5

CDC : Center for Disease Control

DHFR : Dihydrofolate réductase

DL50 : Dose Létale médiane

EFSA : European Food Safety Authority

F1 : Fraction 1

FDA : Food and Drug Administration

FyuA : Ferric yersiniabactin uptake receptor

HPI : High Pathogenicity Island

HSP70(II) : domaine II de la Heat Shock Protein 70

IFN- $\gamma$  : Interféron  $\gamma$

Ig : Immunoglobuline

IL-6 : Interleukine 6

IL-10 : Interleukine 10

IL-12 : Interleukine 12

LcrV : Low-calcium response V

LDL : Low-Density Lipoprotein

LPS : Lipopolysaccharide

- LPS R : LPS Rough

- LPS S : LPS Smooth

NK : Natural Killer

PA : Antigène protecteur

PABA : acide para-aminobenzoïque

PAI-1 : Plasminogen Activator Inhibitor Type-1

PCR : Polymerase Chain Reaction

*pgm* : locus de pigmentation

*Pim* : protéine d'immunité

*pla* : activateur du plasminogène  
PsaA : antigène pH6  
*psn* : pesticine  
Pst<sup>A</sup> : domaine d'activité de la pesticine  
Pst<sup>L</sup> : domaine de liaison de la pesticine  
Pst<sup>T</sup> : domaine de translocation de la pesticine  
RASV : recombinant attenuated Salmonella Typhimurium vaccine  
RCN : virus de la variole du raton laveur  
RDC : République Démocratique du Congo  
rF1 : Fraction 1 recombinant  
*rpsl* : ribosomal protein S12 gene  
rV : Low-calcium response V recombinant  
SST3 : Système de Sécrétion de Type 3  
T4L : lysozyme T4  
TLR4 : Toll-like Receptor 4  
TMV : virus de la mosaïque du tabac  
TNF- $\alpha$  : Tumor Necrosis Factor  $\alpha$   
tPA : tissue-type Plasminogen Activator  
uPA : l'urokinase type Plasminogen Activator  
USAMRIID : United States Army Medical Research Institute of Infectious Diseases  
VME : Vésicule de la Membrane externe  
WT : Wild Type  
YCV : Yersinia Containing Vacuole  
Yop : Yersinia outer protein

## Liste des figures et des tableaux

Figure 1 : Gravure de Paul Fürst de 1656 représentant un médecin durant une épidémie à Rome au XVIIIème siècle. Cet habit, valant au médecin le surnom de « Doctor Schnabel » (« Docteur Bec » en allemand), est reconnaissable par son masque en bec de corbeau et marquera la culture populaire jusqu'à aujourd'hui

Figure 2 : Arbre phylogénétique de la famille bactérienne Yersinia, tiré de « “Add, stir and reduce”: Yersinia spp. as model bacteria for pathogen evolution ». PMN signifie PolyMorphisme Nucléotidique et correspond à la variation d'une paire de base entre deux génomes. On constate une grande proximité entre les bactéries *Y. pseudotuberculosis* et *Y. pestis*.

Figure 3 : Figure illustrant les deux types de lipopolysaccharide, le LPS S (Smooth) possédant une chaîne d'antigène O et le LPS R (Rough) ne possédant pas de chaîne d'antigène O.

Figure 4 : *Xenopsylla cheopis*, vecteur principal de *Y. pestis*

Figure 5 : Illustration du cycle de transmission de la peste chez les animaux (peste sauvage et rurale ou urbaine) ainsi que la transmission à l'Homme puis la transmission interhumaine tirée de « Subir ou lutter contre les ectoparasites dans les populations du passé : l'apport de l'anthropologie biologique ». On constate que *Y. pestis* circule d'abord au sein des populations de rongeurs grâce aux puces avant que celles-ci ne s'attaquent à l'Homme

Figure 6 : A gauche : Bonaparte visitant les pestiférés de Jaffa, tableau d'Antoine Jean Gros peint en 1804 représentant Napoléon Bonaparte à Jaffa touchant le bubon d'un pestiféré ; A droite : Bubon inguinal d'un patient atteint de la peste, image du CDC

Figure 7 : radiographie pulmonaire montrant des infiltrats pulmonaires chez un patient atteint de peste pulmonaire. Dr. Jack Poland via the Public Health Image Library of the Centers for Disease Control and Prevention

Figure 8 : Lieux de découverte des souches 16/95 et 17/95, les villes d'Ampitana et d'Ambalavao., séparées de 85km

Figure 9 : De gauche à droite : photo de rat noir (*Rattus rattus*), de rat brun (*Rattus norvegicus*) et de souris grise (*Mus musculus*), les trois rongeurs commensaux présents dans le monde entier

Figure 10 : A gauche : Photo au microscope électronique de bactériophages infectant une bactérie ; A droite : anatomie d'un bactériophage.

Tableau 1 : tableau synthétisant l'activité des différentes protéines Yops (Yersinia outer proteins) et leurs effets sur la fonction immunitaire

Tableau 2 : ce tableau renseigne le nombre annuel de cas humains et de décès (entre parenthèses) dus à la bactérie Yersinia pestis dans différents pays de 2013 à 2018 tiré de « La peste dans le monde en 2019 » du relevé épidémiologique hebdomadaire de l'OMS

Tableau 3 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques portés par les souches 17/95 et 16/95 de Yersinia pestis tiré de « Yersinia pestis antibiotic resistance: a systematic review »

Tableau 4 : Différences entre les deux souches de Y. pestis résistantes aux antibiotiques découvertes à Madagascar en 1995, les nombreuses différences laissent à penser que ces deux souches ont obtenu leurs résistances séparément

Tableau 5 : tableau tiré du « Manuel de la peste : épidémiologie, répartition, surveillance et lutte » décrivant les avantages et les inconvénients des rodenticides aigus et chroniques. On remarque que les rodenticides chroniques ont plus d'avantages et moins d'inconvénients ce qui explique leur utilisation plus répandue, bien que le risque de résistance aux anticoagulants rende nécessaire l'utilisation de rodenticides aigus

Tableau 6 : tableau extrait de l'article de William R Byrne et al. Décrivant le nombre de souris ayant survécu à une infection par Yersinia pestis ainsi que le taux de survie en fonction du traitement antibiotique appliqué. On peut constater l'efficacité des antibiotiques recommandés ainsi que de certains antibiotiques non recommandés et l'avantage d'un traitement précoce de la maladie

Tableau 7 : Tableau réalisé à partir des données de The Antibody Society décrivant les différents anticorps monoclonaux utilisés en infectiologie humaine, leur cible, le type d'anticorps, l'indication initiale approuvée ainsi que l'année d'approbation

Tableau 8 : mesure du taux de survie à 21 jours et la durée moyenne de survie d'individus auquel on a administré une dose d'anticorps ou de sérum puis contaminés par Y. pestis. On constate que la combinaison des 3 anticorps m252, m253 et m254 montrait des résultats satisfaisants

Tableau 9 : Activité de la pesticine en fonction de la présence de certaines protéines. On constate que la présence de FyuA est nécessaire à l'activité des toxines du fait de leur inactivité vis-à-vis de E. coli FyuA-. On constate également que Pim assure l'immunité des bactéries à la pesticine mais pas à la protéine chimérique Pst-T4L du fait de l'inactivité de la seule pesticine contre Y. pestis KIM6+

## Table des matières

Table des matières .....	9
1. Introduction .....	10
2. Contexte.....	11
a. Rappels historiques.....	11
b. Biologie et classification de <i>Yersinia pestis</i> .....	13
i. La famille des <i>Yersinia</i> .....	13
c. Hôtes et vecteurs de <i>Yersinia pestis</i> .....	16
d. La peste chez l'Homme .....	18
e. <i>Yersinia pestis</i> et le système immunitaire.....	20
f. Diagnostic de la peste .....	23
g. Prophylaxie et traitement par antibiotiques de la peste .....	24
h. Vaccins contre la peste .....	27
i. Epidémiologie.....	27
j. Les plasmides et la conjugaison chez les bactéries .....	30
k. L'antibiorésistance .....	31
l. Plasmides et antibiorésistance/Causes de l'antibiorésistance .....	32
3. L'antibiorésistance chez <i>Yersinia pestis</i> .....	33
a. Résistances portées par des plasmides de résistance .....	33
b. Antibiorésistance associée à une mutation génétique.....	36
4. Outrepasser l'antibiorésistance chez <i>Yersinia pestis</i> .....	36
a. Eradication des vecteurs et des hôtes .....	37
b. Repositionnement thérapeutique d'antibiotiques existants .....	42
c. Mise au point de nouveaux antibiotiques .....	44
d. Anticorps monoclonaux.....	45
e. Phagothérapie .....	48
f. Vaccin.....	51
g. Bactériocines modifiées.....	62
5. Conclusion.....	65

## 1. Introduction

*Yersinia pestis* est une bactérie responsable d'un fléau bien connu dans l'histoire humaine, la peste. Attestée pour la première fois au 6<sup>ème</sup> siècle lors de la pandémie connue sous le nom de « peste de Justinien »[1], la bactérie a ensuite été responsable de deux autres pandémies dont la plus célèbre est la Peste Noire au 14<sup>ème</sup> siècle[2].

La peste est un fléau qui a disparu de nos contrées, par des mesures de santé publique et d'hygiène, tant et si bien que l'on a tendance à la considérer comme une pathologie du passé. Cependant la maladie continue encore de sévir dans le monde entier, notamment en Amérique du Nord, en Afrique et en Asie, où l'on recense de nombreux cas et décès chaque année[3,4].

C'est une infection à potentiel épidémique qui exige une déclaration aux autorités sanitaires, qu'elles soient nationales ou internationales. En France, la peste est une des maladies infectieuses à déclaration obligatoire auprès des agences régionales de santé (Maladie n°21) tant elle est considérée comme potentiellement dangereuse. Chaque cas potentiel nécessite un signalement, permettant au médecin de l'ARS de « mettre en place les mesures de prévention individuelle et collective autour des cas et, le cas échéant, de déclencher des investigations pour identifier l'origine de la contamination et agir pour la réduire ». Vient ensuite, après le signalement et la confirmation du diagnostic, la notification. Les médecins ou biologistes notifient le cas à l'ARS via une fiche spécifique à chaque maladie, permettant « d'analyser et de suivre l'évolution de ces maladies au sein de la population afin de mieux cibler les actions de prévention locales et nationales »[5].

Sans traitement, la peste est une maladie mortelle dans une majorité de cas[6]. Aujourd'hui, le seul traitement efficace des infections de peste est l'antibiothérapie, qui permet une guérison en quelques jours, *Yersinia pestis* étant naturellement sensible à de nombreuses familles d'antibiotiques[7].

L'un des problèmes majeurs de la médecine moderne est l'antibiorésistance. En effet, du fait de l'utilisation massive d'antibiotiques dans la lutte contre les infections bactériennes, et parfois de leur mésusage, certaines bactéries ont spontanément développé des mécanismes de résistance aux antibiotiques, les rendant inefficaces dans le traitement des pathologies bactériennes[8].

La bactérie *Yersinia pestis* est capable en laboratoire de développer des mécanismes de résistance aux antibiotiques. On a également constaté l'apparition spontanée de souches de *Y. pestis* résistantes aux antibiotiques usuels dans des cas de peste humaine[9,10]. Le fait que la bactérie puisse développer des moyens d'échapper à l'arsenal thérapeutique représente un danger sérieux pour la santé

publique. C'est pourquoi de nombreuses recherches ont tenté de percer à jour les mécanismes de mise en place de ces résistances.

Après une présentation de l'épidémiologie des cas de peste, de la biologie de la bactérie *Yersinia pestis* et de la pathologie qu'elle engendre, nous exposerons les mécanismes mis en œuvre par la bactérie pour échapper aux antibiotiques, les causes de l'antibiorésistance et enfin les solutions que l'on peut y apporter.

## 2. Contexte scientifique

### a. Rappels historiques

Selon Florence Dupont « la Peste a donc existé avant la peste »[11]. Durant l'Antiquité, de nombreuses épidémies et fléaux ont frappé le bassin méditerranéen et affecté durement les sociétés humaines. S'il semble, comme le pense Emile Littré, que cette maladie n'ait pas été provoquée par *Yersinia pestis* (mais peut être par le virus de la variole)[12], le terme Peste est tout de même utilisé pour nommer l'épidémie qui frappa la Grèce antique entre 430 et 426 avant JC, la peste d'Athènes.

Le terme de Peste revêt donc un sens plus large dans l'imaginaire collectif que la pathologie aujourd'hui nommée « peste » par les médecins. Si les Grecs utilisaient des mots tels que *epidemios* « sur le peuple » (*epi* et *demos*) ; *nosos* « maladie » ; *phtoros* « ruine, destruction » ; *loimos* « fléau », c'est de la traduction latine de ce dernier mot, *pestis*, qu'est issu le terme de peste[13], bien qu'il revêtît un sens plus général, englobant tout malheur qui touchait la communauté, dont font partie les épidémies. L'utilisation du mot peste, plus d'un millénaire avant la première épidémie de peste causée par la bactérie *Yersinia pestis* montre que cette désignation a été plébiscitée, dans l'Antiquité, pour désigner toute épidémie touchant le monde occidental[11]. Le mot peste a donc un sens qui dépasse celui de la simple pathologie causée par le bacille *Y. pestis*. On peut penser à la peste Antonine qui sévit de 165 à 180 après Jésus-Christ, principalement dans l'empire romain.

### La peste de Justinien

Cependant, en 541, apparaît la première réelle épidémie de peste, la peste de Justinien. Celle-ci se distingue des précédentes « pestes » par le fait qu'elle soit la première épidémie dénommée « peste » qui soit due à la bactérie *Yersinia pestis*[1]. Cette épidémie fera entre 30 et 50 millions de morts sur les deux siècles où elle sévira[14] sur une population mondiale estimée à environ 210 millions d'individus au début du 6<sup>ème</sup> siècle[15], soit entre environ 14 et 24% de la population mondiale. La peste de Justinien est généralement considérée comme la première pandémie de peste.

## La deuxième pandémie de peste

La deuxième pandémie attribuée à *Y. pestis* débute en Europe avec la très connue peste noire[2] qui, en l'espace de cinq ou six ans (1347-1352), tue 30 à 50% de la population européenne, causant entre 25 et 45 millions de morts rien qu'en Europe[16]. Cette pandémie resurgira épisodiquement jusqu'au milieu du XIXème siècle, principalement en Europe et au Moyen-Orient. La pandémie aura un impact majeur, aussi bien en termes démographiques que culturels (Figure 1), ou même génétiques[17].

## La peste de Chine

La peste réémerge en 1855 dans la province chinoise du Yunnan. Ainsi débute la peste de Chine, considérée comme la 3<sup>ème</sup> et dernière pandémie de peste. Cette pandémie sévira principalement en Asie, et fera 15 millions de morts à travers le monde avant de s'éteindre au milieu du XXème siècle[18].

C'est en 1894, au cours de cette pandémie qu'Alexandre Yersin, médecin, bactériologiste et explorateur franco-suisse, alors basé à Hong-Kong et Pasteurien convaincu, découvrira le bacille responsable de cette pathologie, qu'il nommera *Yersinia pestis*.

## Considérations modernes de la peste

*Yersinia pestis* est aujourd'hui considérée par le Center for Disease Control (CDC) comme une arme biologique de catégorie A[19]. Il s'agit de la catégorie d'agents biologiques et de toxines constituant une menace sévère quant à la santé publique et la sûreté de la société[20]. Les craintes particulières liées à *Y. pestis* en tant qu'agent de bioterrorisme comprennent une transmission facile en tant qu'agent aéroporté et sa mortalité élevée en cas d'épidémie, en particulier s'il est armé pour améliorer sa stabilité et la résistance aux antibiotiques[21].

Cette peur est corroborée par certains événements historiques. Du catapultage des cadavres de pestiférés par les Tatars à Caffa, colonie génoise de la Mer Noire, à l'utilisation de la peste par l'armée japonaise en Chine au cours de la Seconde Guerre Mondiale, en passant par l'utilisation de corps de soldats morts de la peste par les lituaniens en 1422 lors du siège de Carolstein, ou alors en 1710 quand



*Figure 1 : Gravure de Paul Fürst de 1656 représentant un médecin durant une épidémie à Rome au XVIIème siècle. Cet habit, valant au médecin le surnom de « Doctor Schnabel » (« Docteur Bec » en allemand), est reconnaissable par son masque en bec de corbeau et marquera la culture populaire jusqu'à aujourd'hui*

les Russes usèrent de la même stratégie pour venir à bout de leurs ennemis Suédois, la peste fut une arme bactériologique de choix qui a fait ses preuves, contribuant à alimenter des craintes légitimes d'une utilisation du bacille comme arme biologique[22]. On peut trouver un exemple dans la culture populaire dans l'épisode 22 de la saison 2 de la série policière NCIS, intitulé « le baiser du tueur » dans lequel un des protagonistes est contaminé par *Y. pestis* en ouvrant une lettre piégée. Une autre source d'inquiétude, qui concerne plus largement toutes les populations bactériennes pathogènes, est la fonte du permafrost qui serait susceptible de libérer de nombreuses bactéries pathogènes quiescentes[23].

## b. Biologie et classification de *Yersinia pestis*

### i. La famille des *Yersinia*

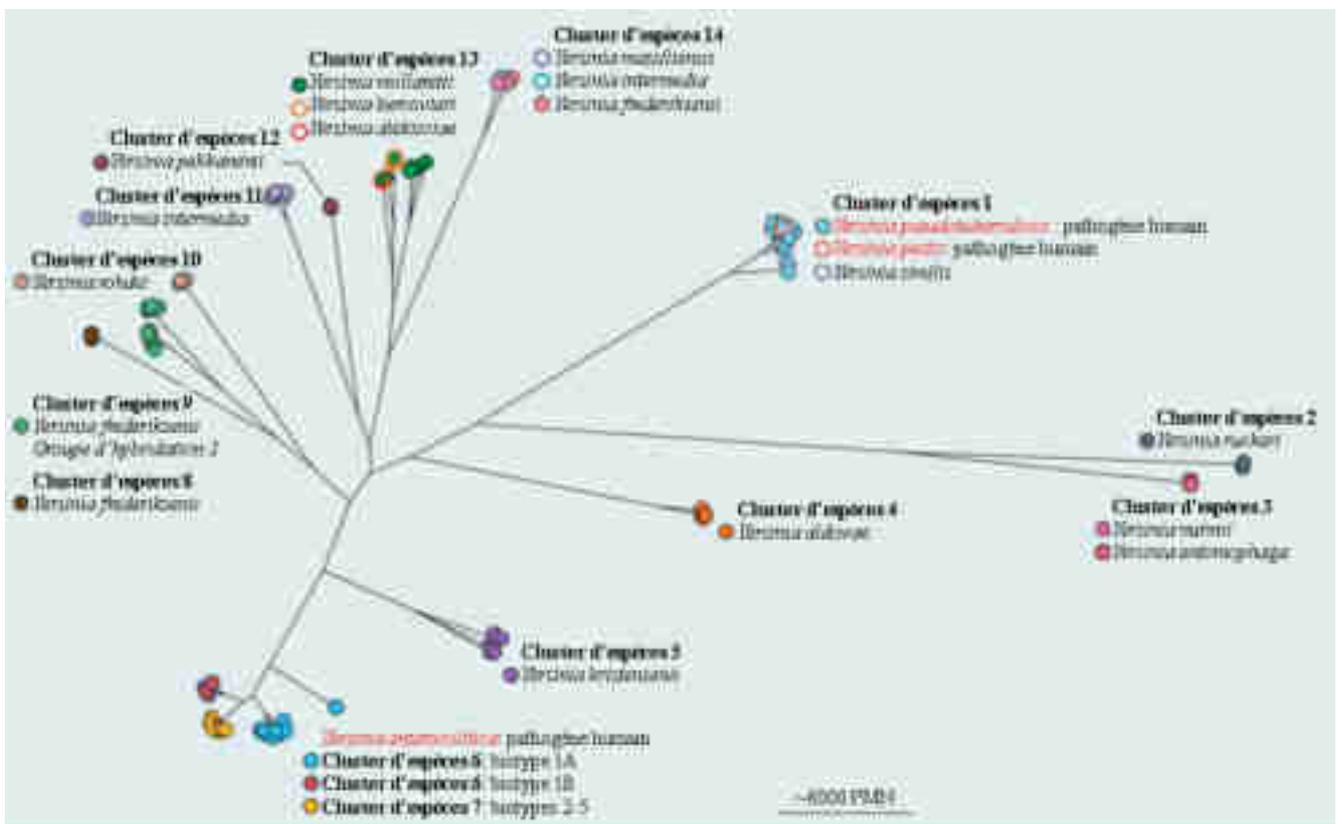


Figure 2 : Arbre phylogénétique de la famille bactérienne *Yersinia*, tiré de « “Add, stir and reduce”: *Yersinia* spp. as model bacteria for pathogen evolution ». PMN signifie PolyMorphisme Nucléotidique et correspond à la variation d'une paire de base entre deux génomes. On constate une grande proximité entre les bactéries *Y. pseudotuberculosis* et *Y. pestis*.

Le genre *Yersinia* fait partie de la famille des *Enterobacteriaceae* et comporte plus de 20 espèces de bactéries dont 3 sont pathogènes pour l'Homme : *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolitica* et *Yersinia pestis*. Les *Yersinia* sont des bacilles à Gram négatifs non capsulés et non sporulés[24]. *Yersinia pestis* semblerait être une lignée très jeune ayant dérivé il y a 1 500 à 20 000 ans de *Yersinia pseudotuberculosis* dont les souches ont une virulence plus faible (Figure 2[25])[26].

L'inactivation ou la délétion de certains gènes chromosomiques, par exemple des toxines qui auraient tué l'insecte hôte servant de vecteur à *Y. pestis*, et certaines fonctions physiologiques qui ont accentué la virulence de *Y. pestis* chez l'homme, ainsi que l'acquisition de deux plasmides semblent avoir été des événements évolutifs majeurs dans l'émergence de *Yersinia pestis*, en permettant par exemple la transmission inter-individuelle par des arthropodes[27].

## ii. *Yersinia pestis*

*Yersinia pestis* est un coccobacille à Gram négatif de 1 à 3µm de longueur pour 0,5 à 0,8µm de largeur. Il n'est pas motile du fait de l'absence de flagelle. Comme toutes les bactéries à Gram négatif, *Y. pestis* possède une membrane externe contenant du lipopolysaccharide (LPS). Le LPS est une molécule constituant la membrane externe des bactéries Gram négatif composée de 3 parties, le lipide A, le core oligosaccharide et l'antigène O. *Y. pestis* possède un LPS de type R (« Rough ») car la chaîne O est tronquée par comparaison au LPS de type S (« Smooth ») où la chaîne O est encore présente (Figure 3)[24,28–30].

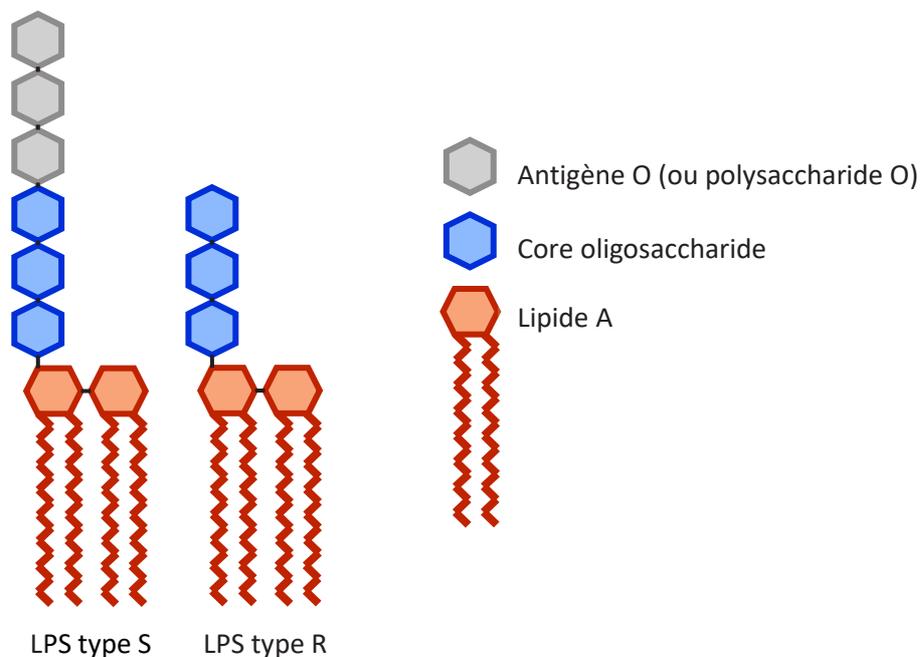


Figure 3 : Figure illustrant les deux types de lipopolysaccharide, le LPS S (Smooth) possédant une chaîne d'antigène O et le LPS R (Rough) ne possédant pas de chaîne d'antigène O.

### Facteurs de virulence

3 plasmides sont hébergés par *Yersinia pestis* et sont associés à son pouvoir pathogène :

- pCD1/pYV (75kb) ; aussi présent chez *Y. pseudotuberculosis* et *enterocolitica*
- pPCP/pPla/pPst (9,5kb) ; spécifique de *Yersinia pestis*
- pMT1/pFra (100-110kb) ; spécifique de *Yersinia pestis*

pCD1 porte un ensemble de gènes formant le système de sécrétion de type III, permettant la sécrétion-translocation, ainsi qu'un ensemble de protéines effectrices appelées Yop (Yersinia outer proteins) dont le rôle est, entre autres, d'interagir avec le système immunitaire de l'hôte[31] (Tableau 1).

pPCP porte le gène *pla* (plasminogen activator = activateur du plasminogène). *Yersinia pestis* est capable de détourner le système plasminogène-plasmine de l'hôte pour passer le premier obstacle à sa dissémination, le revêtement cutanéomuqueux[32]. Il s'agit d'un système composé de proenzymes, d'enzymes, d'activateurs et d'inhibiteurs ayant pour rôle principal la fibrinolyse. Ce système est également impliqué dans l'embryogenèse, la cicatrisation des plaies, l'angiogenèse et les processus pathologiques, par exemple la croissance et la dissémination tumorales[33]. Dans ces différents processus physiologiques il favorise la migration des cellules et/ou la reconstruction des tissus par dégradation des protéines de la matrice extra-cellulaire[34]. Le système fibrinolytique comprend le plasminogène, une proenzyme, la plasmine qui en est la forme active, l'urokinase type Plasminogen Activator (uPA) et la tissue-type Plasminogen Activator (tPA), deux protéases activatrices du plasminogène[33], des inhibiteurs des activateurs comme Plasminogen Activator Inhibitor Type-1 (PAI-1)[35] ainsi que des inhibiteurs de plasmine (ou anti-plasmine)[36]. *Yersinia pestis* possède à sa surface des récepteurs capables de fixer la plasmine ou le plasminogène. Le plasminogène fixé à la bactérie est ensuite transformé en plasmine par l'enzyme Pla produite par *Yersinia pestis*[37].

La bactérie produit une enveloppe glucido-protéique composée d'un antigène similaire à la capsule, la Fraction 1 (F1)[29] codée par le plasmide pMT1[38]. Cette glycoprotéine de surface permet aux bactéries de résister à la phagocytose[39].

pMT1 porte un autre gène codant *Ymt*, une phospholipase D (anciennement toxine murine) permettant au bacille de coloniser le tube digestif de la puce[40] Cette protéine est hautement toxique pour les souris et les rats mais est moins active chez les autres animaux tels que les cochons d'Inde, les lapins, les chiens et les singes. La toxine murine possède une homologie structurale avec les protéines de la superfamille des phospholipases D. Elle semble essentielle à la transmission de *Y. pestis* par les puces[41].

Lors de l'infection de l'Homme ou d'autres mammifères, la bactérie se retrouve en pénurie d'ions ferriques ( $Fe^{3+}$ ) car ils sont séquestrés par les protéines de l'hôte. Pour répondre à ce problème, *Yersinia pestis* possède un sidérophore (=un chélateur d'ions ferriques), la yersiniabactine, codé par un gène chromosomique situé sur un îlot de pathogénicité ou HPI (High Pathogenicity Island)[42].

### iii. Ribotypes

Les souches de *Y. pestis* sont classées avec différentes méthodes. L'une d'elles, le ribotypage, se base sur la séquence et la structure de l'ARNr 16S et permet de retracer l'arbre phylogénétique de la bactérie. Ainsi il est possible de regrouper les souches de *Y. pestis* dans des ribotypes, ce qui permet de d'évaluer le lien de parenté entre 2 souches[43,44].

### c. Hôtes et vecteurs de *Yersinia pestis*

#### Les réservoirs

Les réservoirs animaux de *Yersinia pestis* sont exclusivement des mammifères. Les reptiles, les amphibiens et les oiseaux y sont insensibles[45]. Les réservoirs classiques de la bactérie sont les rongeurs, étant donné leur meilleure résistance à la maladie. Le rat noir (*Rattus rattus*) est le principal réservoir de la peste, bien que de nombreuses autres espèces peuvent être infectées. Les souris sauvages, écureuils, lièvres, lapins, chats, chiens, coyotes ou chiens de prairie sont autant de réservoirs potentiels de la bactérie[46]. Il a par ailleurs été établi que les camélidés et les chèvres peuvent aussi contribuer à la transmission de la peste chez l'Homme[47].

*Yersinia pestis* possède aussi un réservoir tellurique. En effet la bactérie est capable de survivre dans le sol pendant une période de plusieurs mois en conservant sa virulence. Ce phénomène a été nommé peste tellurique ou endogée[48].

#### Les vecteurs

La contamination par la peste se fait entre autres *via* des vecteurs, qui sont les puces. Si toutes les espèces de puces peuvent s'infecter et transmettre la pathologie, la puce du rat, *Xenopsylla cheopis* (Figure 4), est le principal vecteur de la maladie. La transmission se fait lorsque la puce mord un mammifère ; en effet lors de la morsure la puce régurgite la bactérie via la salive, bactérie qui pénètre par la plaie générée par la morsure dans l'animal cible[46].



Figure 4 : *Xenopsylla cheopis*, vecteur principal de *Y. pestis*

La bactérie a d'ailleurs développé des stratégies au fil de son évolution afin de maximiser les chances d'être transmise aux mammifères par l'intermédiaire de la puce. En effet, une fois dans le tractus gastro-intestinal de la puce, *Yersinia pestis* synthétise une coagulase dont l'action se conjugue

avec une enzyme du tractus gastro-intestinal pour coaguler le sang que la puce ingère. Ce sang coagulé forme une matrice fibrino-bactérienne qui obstrue la lumière du tractus gastro-intestinal de la puce en bloquant le proventricule, organe semblable à un sphincter séparant l'estomac de l'œsophage. La puce n'est donc plus en capacité de se nourrir et devient affamée. Elle va donc multiplier ses tentatives de repas sanguin, qui seront toutes infructueuses. Elle mord donc plus d'individus, augmentant les chances de transmission du pathogène[46]. De plus, le blocage du proventricule va l'amener à régurgiter le sang contaminé lors des piqûres, augmentant ainsi le risque de contamination[49,50]

### Cycle de la peste

Les hôtes normaux du bacille de la peste sont les rongeurs sauvages. Occasionnellement la puce peut infecter un rongeur en milieu rural ou urbain[49]. L'équilibre du couple puce-rongeur est très important dans la capacité de la bactérie à se maintenir. Si l'équilibre est rompu, comme dans un contexte de mortalité élevé chez les rongeurs, mortalité parfois même due à une épizoonose de peste, la puce va dès lors être poussée à chercher de nouvelles cibles, comme les humains, entraînant une augmentation du nombre de cas dans la région touchée[46] (Figure 5[49]).

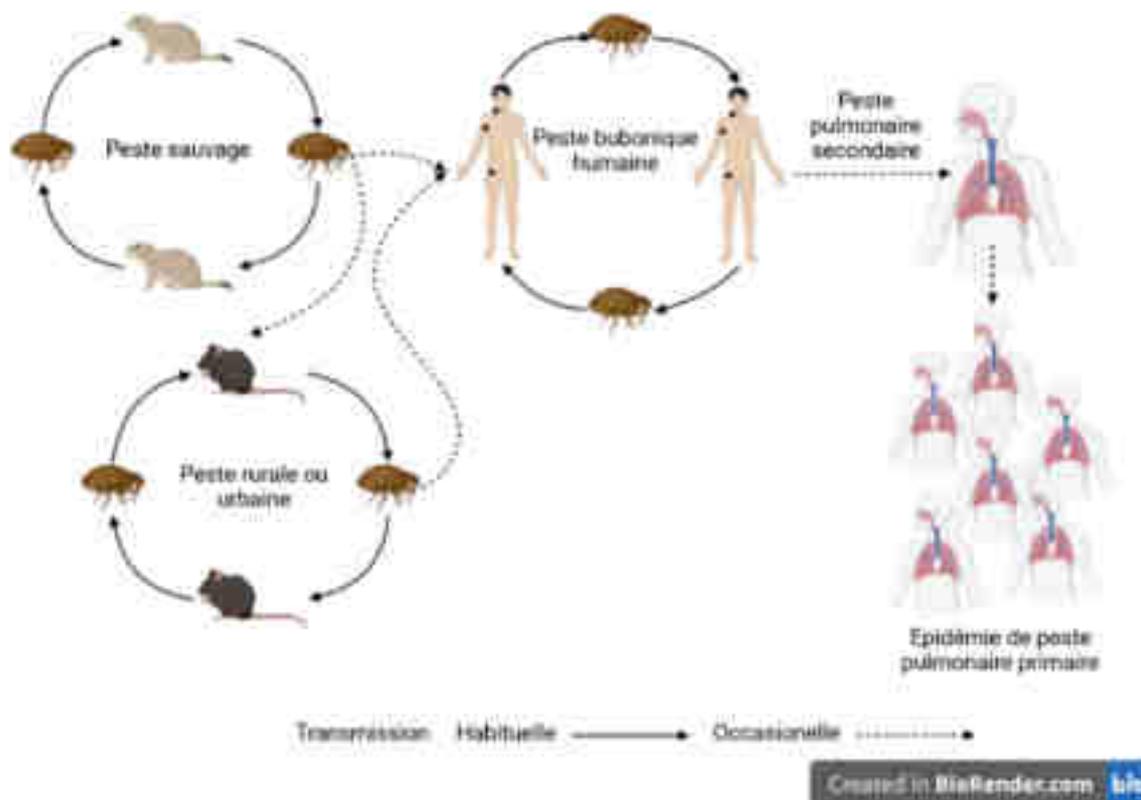


Figure 5 : Illustration du cycle de transmission de la peste chez les animaux (peste sauvage et rurale ou urbaine) ainsi que la transmission à l'Homme puis la transmission interhumaine tirée de « Subir ou lutter contre les ectoparasites dans les populations du passé : l'apport de l'anthropologie biologique ». On constate que *Y. pestis* circule d'abord au sein des populations de rongeurs grâce aux puces avant que celles-ci ne s'attaquent à l'Homme

Ce phénomène est décrit dans le livre « La Peste » d'Albert Camus. En effet au début du roman, on signale dans les journaux une augmentation de la mortalité de la population de rats, avec des légions entières de rats sortant des égouts pour mourir dans les rues de la ville. En conséquence, et face à l'absence de réaction des autorités autre que le déblayage des cadavres de rats, une épidémie se déclare dans la ville.

#### **d. La peste chez l'Homme**

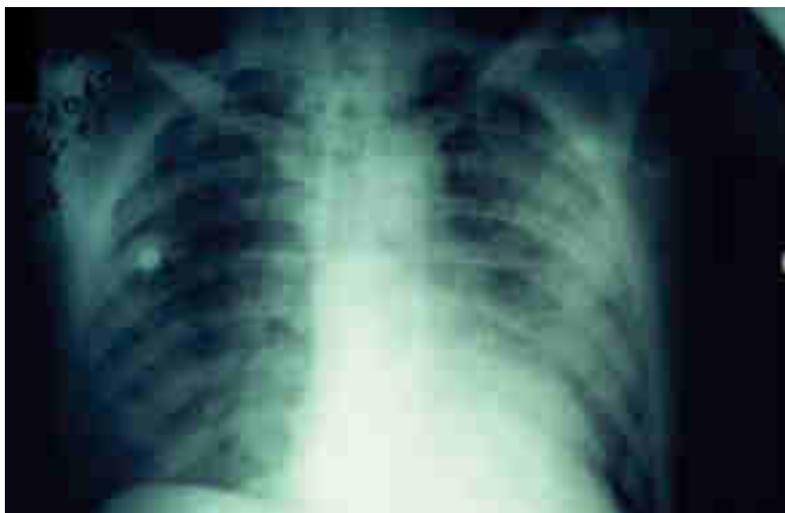
Chez l'Homme, lors d'une contamination par piqure, la bactérie se multiplie au niveau du point d'inoculation, permettant l'apparition d'un ulcère (charbon pestueux) [49,51]. *Yersinia pestis* est phagocytée par les macrophages et les neutrophiles[52]. Les germes survivent dans les macrophages en empêchant la formation de phagolysosomes[53]. Les macrophages transportent les bactéries *Y. pestis* vers les ganglions lymphatiques régionaux du point d'inoculation *via* la circulation lymphatique dans lesquels ils se multiplient[28,52,54]. Les premiers symptômes ressentis par le patient sont une fièvre élevée, des céphalées, des douleurs diffuses ainsi que des malaises[46]. 2 à 5 jours après l'infection, sous l'effet de la réponse inflammatoire, de l'œdème et d'une nécrose hémorragique, apparait une hypertrophie des ganglions lymphatiques qui adoptent une couleur bleutée. Cette forme spécifique de ganglions, propre à la peste, se nomme bubon[28] (Figure 6). Le grossissement des ganglions inguinaux et des membres pousse les patients à plier et étendre leurs extrémités dans le but de soulager la douleur. Cette douleur pulsatile est une caractéristique diagnostique de la peste[46]. Ce déroulement, appelé peste bubonique, est propre à 90% des cas de peste dans le monde[28]. A ce stade, le malade est peu contagieux et peut encore guérir spontanément[49].



Figure 6 : A gauche : Bonaparte visitant les pestiférés de Jaffa, tableau d'Antoine Jean Gros peint en 1804 représentant Napoléon Bonaparte à Jaffa touchant le bubon d'un pestiféré ; A droite : Bubon inguinal d'un patient atteint de la peste, image du CDC

Dans 50 à 90% des cas non traités de peste bubonique, la bactérie passe dans le sang, ce qui aboutit à un tableau clinique de peste septicémique[28]. Durant cette septicémie, un envahissement bactérien suivi d'une inflammation est possible dans tous les organes, particulièrement le foie et la rate. Une coagulation intravasculaire disséminée peut produire des thrombus dans les capillaires sanguins des reins, des glandes surrénales, de la peau et des poumons[46]. Il existe également des cas de peste septicémique primaire, c'est-à-dire un sepsis (passage de la bactérie dans le sang) sans lymphadénopathie, pneumonie ou signes d'une autre forme. Le tableau clinique de cette forme se caractérise par de la fièvre, des symptômes gastro-intestinaux tels que des douleurs abdominales, des nausées, des vomissements ou une diarrhée[55,56].

Le germe peut ensuite se disséminer dans la petite circulation, aboutissant à un tableau clinique de peste pulmonaire secondaire (car dérivant d'une peste bubonique) (Figure 7). Ce tableau est caractérisé par une fièvre, une dyspnée et à la fin une toux avec des expectorations purulentes ou sanglantes (hémoptysie) riches en germes et fortement infectieuses[57–59]. Le contact direct avec des patients conduit, par infection directe aérogène, à une peste pulmonaire primaire. Sans traitement, la peste pulmonaire aboutit à une défaillance respiratoire, un sepsis et une mortalité de 90 à 100%[28,59–61].



*Figure 7 : radiographie pulmonaire montrant des infiltrats pulmonaires chez un patient atteint de peste pulmonaire. Dr. Jack Poland via the Public Health Image Library of the Centers for Disease Control and Prevention*

La transmission directe aérogène *via* une peste pulmonaire est la seule méthode de contamination interhumaine[59].

La peste peut aussi se manifester sous une forme appelée peste méningée. Il s'agit en général d'une complication d'un autre type de peste, mal traité ou traité trop tardivement. Elle se caractérise par de la fièvre, des céphalées, une raideur méningée, une confusion du sujet et la présence du signe de Kernig[56,62]. On retrouve parfois aussi des convulsions ainsi qu'un coma profond[62]

Une contamination de l'oropharynx par du matériel infecté comme de la viande contaminée crue[63,64] ou des ectoparasites infectés écrasés entre les dents lors de l'épouillage[65] peut provoquer

une forme de peste appelée peste pharyngée autrement appelée peste gastro-intestinale ou amygdalienne. Cette forme pourrait aussi être contractée lorsque de grosses particules contenant le bacille provenant d'un cas de peste pneumonique sont filtrées par le nasopharynx et restent dans le tractus respiratoire supérieur[66]. Elle se caractérise par une inflammation pharyngée, de la fièvre, des vomissements, des frissons, des céphalées et une lymphadénopathie submandibulaire[56,67].

#### e. *Yersinia pestis* et le système immunitaire

##### Le système immunitaire

Chez l'Homme la défense contre les agents pathogènes repose sur la réponse précoce médiée par l'immunité innée et sur la réponse tardive médiée par l'immunité adaptative[31].

L'immunité innée est constituée des barrières physicochimiques (épithélium et substances antimicrobiennes), des cellules phagocytaires (macrophages, neutrophiles, lymphocytes (comme les cellules Natural Killer ou NK) et des médiateurs solubles (protéines du complément, cytokines et chémokines))[31].

L'immunité acquise est portée par les lymphocytes B et T qui permettent une protection spécifique à l'hôte et une mémoire immunologique de longue durée. Les lymphocytes déclenchent une réponse immunitaire spécifique grâce à l'expression d'un répertoire de récepteurs très diversifiés qui interagissent avec les antigènes étrangers. Ces antigènes étrangers sont présentés par des cellules présentatrices d'antigènes (monocytes, macrophages, lymphocytes B ou cellules dendritiques) aux lymphocytes naïfs présents dans les tissus lymphoïdes périphériques (ganglions lymphatiques, rate et tissus lymphoïdes associés aux muqueuses). Cette reconnaissance d'antigène et l'activation du lymphocyte qui en résulte permet la formation de cellules mémoires et effectrices[31].

L'hôte n'est capable d'éliminer l'infection que grâce à l'action coordonnée du système immunitaire inné et acquis. Cependant les pathogènes peuvent développer des mécanismes pour échapper à la réponse immunitaire. De tels mécanismes ont été découverts chez *Yersinia pestis*[31].

##### *Y. pestis* et le système immunitaire inné

Après le passage à travers la peau *via* la pique de la puce, le bacille rencontre les phagocytes au site d'injection. Les bactéries phagocytées par les neutrophiles sont tuées, tandis que les bactéries phagocytées par les macrophages survivent[68]. *Y. pestis* est un pathogène intracellulaire facultatif qui va infecter les macrophages *via* la reconnaissance de CCR5 (récepteur à C-C chimiokine de type 5), un récepteur membranaire aux chimiokines[69].

La bactérie est ainsi enfermée dans le phagosome du macrophage. *Y. pestis* va pouvoir survivre dans le phagosome du macrophage en empêchant la fusion phagosome/lysosome et ainsi la formation de phagolysosome dédiés à la lyse bactérienne. Il va aussi modifier le phagosome en le transformant en une vacuole répliquative appelée YCV (Yersinia Containing Vacuole)[53]. La survie de *Y. pestis* dans les macrophages est entre autres médiée par PhoP/PhoQ qui diminue sa sensibilité au stress oxydatif, au bas pH et à une augmentation de l'osmolarité[70].

L'infection des macrophages va protéger le pathogène en empêchant le contact avec d'autres composants de l'immunité, procurer une niche répliquative dans laquelle les bactéries peuvent croître, permettre aux micro-organismes de se rendre au ganglion lymphatique local et enfin éviter la présentation des antigènes aux lymphocytes naïfs, et donc de retarder le développement d'une réponse immunitaire spécifique[71].

L'infection des macrophages est suivie d'une augmentation de l'expression de marqueurs de virulence tels que l'antigène F1 et LcrV[31]. L'expression de F1 va entraîner la formation d'une capsule glucido-protéique qui va protéger de la phagocytose[29,39]. Par ailleurs, lorsque le pH baisse et que la température est supérieure à 34°C, conditions réunies dans le phagosome, *Y. pestis* exprime l'antigène pH6 (PsaA)[72]. Cet antigène de surface se lie ensuite aux LDL (Low-Density Lipoprotein) présentes dans le plasma humain. La liaison de LDL à la surface bactérienne prévient la reconnaissance du pathogène par les défenses de l'hôte[73]. Enfin, dans les macrophages lorsque la température est de 37°C, *Y. pestis* va synthétiser un ensemble de protéines formant le Système de Sécrétion de Type 3 (SST3), un injectosome sécrétant un ensemble de protéines effectrices, les Yops, dans le cytoplasme des cellules eucaryotes[74]. Les effets des Yops sont synthétisés et complétés dans le tableau 1. L'injectosome bactérien est un système spécialisé d'exportation de protéines en forme d'aiguille utilisé par de nombreuses bactéries pathogènes à Gram négatif pour délivrer des protéines de virulence dans les hôtes qu'elles infectent[75].

*Y. pestis* va proliférer dans les macrophages et acquérir un profil de résistance à la phagocytose, via la synthèse de F1 mais aussi via un changement dans la composition de son LPS. Le LPS est reconnu par TLR4 (Toll Like Receptor 4) dont l'activation déclenche une réponse immunitaire[76]. Cette activation va être influencée par la composition des chaînes latérales d'acides gras du lipide A du LPS. Un lipide A hexa-acylé avec une chaîne latérale de 12 à 14 carbones de long va déclencher un signal maximal. Des changements dans la longueur des acides gras attachés vont diminuer la force du signal[77]. Le type de LPS synthétisé par *Y. pestis* dépend de la température de son environnement. Lorsqu'il infecte la puce (21 à 27°C), *Y. pestis* va produire un LPS hexa-acylé engendrant une forte réponse immunitaire médiée par TLR4. Cependant en infectant un hôte mammifère tels que l'Homme (37°C), *Y. pestis* va favoriser la synthèse d'un LPS dont le lipide A est tétra-acylé. Ce LPS,

contrairement au LPS hexa-acylé, n'est pas capable d'induire la production de cytokines pro-inflammatoires (comme le TNF- $\alpha$ , l'IL-6 et l'IL-12) médiée par TLR4[78]. Cette action inhibitrice de la réponse inflammatoire médiée par TLR4 va bloquer l'activation des macrophages et la sécrétion de cytokines, empêchant donc l'activation des cellules dendritiques essentielles pour l'induction de la réponse immunitaire adaptative[31].

Après évation des macrophages, *Y. pestis* transloque des Yops (YopE, YopH, YopT, YopM, YpkA/YopO et YopP/J) dans les cellules immunitaires de l'hôte avec pour conséquence l'inhibition de la réponse immunitaire[79]. YopM entraîne une diminution du nombre de NK ainsi qu'une faible sécrétion d'Interféron  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )[80], entraînant une diminution de la synthèse d'espèces réactives de l'azote par les macrophages[31]. YopE, YopH, YopT et YpkA (YopO) ciblent le cytosquelette en inhibant son dynamisme, contribuant à la résistance de *Y. pestis* à la phagocytose[74]. YopP inhibe la production de Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) et d'Interleukine 8 (IL-8) par les cellules endothéliales et les macrophages[81].

La protéine LcrV, protéine multifonctionnelle impliquée dans la sécrétion de Yop dont l'expression augmente lors de l'infection des macrophages[31], participe à l'inhibition de la réponse immunitaire via l'induction de la production d'interleukine-10 (IL-10) ainsi que la diminution de l'expression de TNF- $\alpha$  et d'IFN- $\gamma$ [82]. LcrV entrave par ailleurs la réponse immunitaire en inhibant la chimiotaxie des neutrophiles[83].

L'inhibition de la synthèse des facteurs proinflammatoires par les Yops, le LPS et LcrV ne réduit pas seulement l'activation des cellules de l'immunité innée mais compromet également l'environnement inflammatoire, essentiel pour la mise en place de la réponse immunitaire adaptative[31].

*Y. pestis* possède par ailleurs la capacité de résister à la destruction dépendante du complément, lui permettant de survivre dans la circulation de l'hôte. Cette protection est médiée par la protéine de la membrane externe *Ail* via un mécanisme qui n'est pas encore expliqué[84].

#### Action de *Y. pestis* sur la jonction entre les systèmes immunitaires inné et acquis

*Y. pestis* cause un réarrangement du cytosquelette qui paralyse les mouvements des cellules dendritiques via l'injection de Yops (YopE, YopH, YopT et YpkA (YopO))[85], empêchant donc la phagocytose[74]. Cette inhibition de la phagocytose par les cellules dendritiques entraîne un défaut de présentation des antigènes de *Y. pestis* par les cellules dendritiques aux cellules adaptatives[31]. *Y. pestis*, via son injectosome, cible plus souvent les macrophages, les cellules dendritiques et les neutrophiles que les lymphocytes B et T. Il apparaît que *Y. pestis* vise spécifiquement ces populations

cellulaires afin d'annihiler la réponse immunitaire de l'hôte durant la peste[86]. En effet les cellules dendritiques représentent un interface clé entre l'immunité innée et adaptative, puisque membres du système immunitaire inné mais contribuant à l'activation des lymphocytes T du système immunitaire acquis[31].

#### *Y. pestis et le système immunitaire acquis*

In vitro, les Yops ont aussi une activité sur les lymphocytes. En effet YopH, une tyrosine phosphatase[87], inhibe la production de cytokines par les lymphocytes T ainsi que l'expression de la molécule costimulatrice B7.2 à la surface des lymphocytes B en réponse à une stimulation par un antigène, affectant la réponse immunitaire des lymphocytes B et T[88]. De plus YopH inhibe l'activation des lymphocytes T en déphosphorylant la tyrosine kinase Lck, résultant en une perte complète de son activité catalytique[87]. Enfin YopH déclenche l'apoptose des lymphocytes T par la voie mitochondriale [89].

Par l'acquisition d'une résistance à la phagocytose ainsi que la capacité d'inhiber la réponse inflammatoire ainsi qu'une action sur les cellules de l'immunité innée et acquise, *Y. pestis* parvient à court-circuiter les défenses immunitaires de l'hôte d'une telle manière que sa létalité avoisine les 100% pour la forme pulmonaire[59]

#### **f. Diagnostic de la peste**

Le diagnostic de la peste est usuellement réalisé par examen direct du frottis sanguin, la détection de l'ADN bactérien par amplification génétique (PCR) réalisable sur différents prélèvements biologiques ainsi que la sérologie (recherche d'anticorps F1), positive généralement 6 à 10 jours après le début de l'infection[90].

Cependant le diagnostic de la peste a été grandement simplifié par la mise au point de tests immunochromatographiques par les Instituts Pasteur de Paris et de Madagascar. Il s'agit d'un « test de dépistage rapide dans lequel un anticorps de capture, couplé à un réactif de détection, est immobilisé à la surface d'une membrane poreuse afin de fixer l'antigène recherché présent dans un échantillon d'urine, de plasma ou de crachat, entraînant l'apparition d'une tache colorée en cas de positivité »[91]. Ce test est dirigé contre l'antigène capsulaire F1 et permet de détecter le bacille dans le pus des bubons, les crachats, le sang ou les urines des patients[92]. Il permet le diagnostic chez les patients ou les animaux, vivants ou morts, ce qui permet donc le dépistage des cas de peste chez les animaux[93].

Il convient de noter qu'il a été découvert en octobre 1957 aux Etats-Unis une souche de *Y. pestis*, la souche « Bryans ». Cette souche ne possédait pas d'antigène F1[94] donc théoriquement

indélectable par le dispositif d'immunochromatographie de l'Institut Pasteur. Aucune autre souche sans antigène F1 n'a été décrite depuis.

### **g. Prophylaxie et traitement par antibiotiques de la peste**

#### **Prophylaxie**

La prophylaxie de la peste repose sur la prophylaxie post-exposition des contacts ainsi que la prévention et le contrôle des infections dans les hôpitaux. La prophylaxie post-exposition des contacts est réalisée dans deux cas :

- Contact (distance inférieure à 2 mètres sans équipement de protection individuelle approprié) avec un patient atteint de peste pulmonaire
- Contact direct avec des liquides corporels ou tissus infectés

Si de tels contacts ont eu lieu, les sujets sont soumis à un traitement antibiotique à base de doxycycline ou de ciprofloxacine[95].

La prévention et le contrôle des infections en milieu hospitalier reposent sur l'utilisation de protections individuelles, de mesures d'hygiène et d'isolement des malades en fonction de leur forme clinique. Dans le cas de la peste bubonique, les patients ne sont pas isolés et seule des précautions standards vis-à-vis des ponctions ou écoulements ganglionnaires et des liquides corporels (lavage des mains, blouses, gants, lunettes de sécurité). Dans le cas de la peste bubonique els patients sont isolés en chambre individuelle et des mesures de précaution gouttelettes (masque médical) ou de protection air lors des procédures générant des aérosols (masque respiratoire FFP2 ou N95) sont appliquées[95].

Enfin des mesures de santé publique sont mises en place. En premier lieu on pratique la surveillance sanitaire dans les zones d'endémie avec l'aide des réseaux médicaux locaux afin de repérer les cas et d'empêcher les décès par des traitements et les contaminations par des mesures d'isolement des malades et des cas contacts[28]. Les mesures d'élimination des nuisibles ont une place prépondérante dans la prophylaxie de la peste. On pratique le contrôle de la population de puces avec l'aspersion d'insecticides et de celle des rats grâce à des campagnes de dératisation[46]. D'autres actions comme la dératisation des navires ou la mise en quarantaine des navires provenant de zones infectées par la maladie peuvent être réalisées[46].

#### **Traitement par antibiothérapie**

L'antibiothérapie est la méthode thérapeutique de référence pour traiter les infections à *Yersinia pestis*. Plusieurs antibiotiques sont considérés comme efficaces, certains ayant été acceptés

par la FDA dans le traitement de la pathologie. Les antibiotiques acceptés par la FDA dans le traitement de la peste sont[20] :

- Streptomycine
- Des fluoroquinolones :
  - o Ciprofloxacin
  - o Moxifloxacin
  - o Lévoﬂoxacin
- Doxycycline

D'autres antibiotiques sont considérés comme efficaces par la FDA sur la base d'expériences cliniques et de données animales sans pour autant avoir été approuvés[20] :

- Gentamicine
- Chloramphénicol (semble très efficace contre la forme méningée[96])
- Triméthoprime – Sulfaméthoxazole

D'autres antibiotiques comme la tétracycline, en association avec la gentamicine, ont montré une efficacité similaire à la streptomycine dans le traitement de cas de peste au Nouveau-Mexique[97].

### **Mécanismes d'action**

#### **Aminosides : Streptomycine et Gentamicine[98]**

Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides inhibant la synthèse protéique des bactéries. Ils se lient de manière irréversible à l'ARN ribosomique (ARNr) 16S de la sous-unité 30S du ribosome bactérien au niveau du site de reconnaissance de l'ARNt-aminoacyl.

Le ribosome étant l'un des organites responsables de la synthèse protéique chez les eucaryotes et les procaryotes, cette fixation irréversible entraîne des perturbations dans la synthèse des protéines :

- En empêchant l'initiation de la traduction des ARNm
- En provoquant la fin prématurée de la synthèse du polypeptide
- En provoquant l'intégration d'acides aminés ne correspondant pas aux codons de l'ARNm, entraînant une accumulation des erreurs dans la protéine synthétisée. Les protéines non fonctionnelles s'accumulent conduisant à la mort de la bactérie.

#### **Fluoroquinolones : Ciprofloxacin, Lévoﬂoxacin et Moxifloxacin[98]**

Les fluoroquinolones, ou quinolones de 2<sup>ème</sup> génération, sont des antibiotiques bactéricides agissant par inhibition des topoisomérases II bactériennes, les gyrases (chez les bactéries à Gram

négatif) ainsi que des topoisomérases IV (chez les bactéries à Gram positif). Ces enzymes sont impliquées dans la réplication de l'ADN et la décondensation de la chromatine. Leur inhibition va entraîner la lyse bactérienne.

### **Tétracycline : Doxycycline**[98,99]

Les tétracyclines sont des antibiotiques bactériostatiques inhibant la traduction des ARNm chez les bactéries. Les tétracyclines se lient de manière irréversible sur un site de forte affinité de la sous-unité 30S du ribosome et sur des sites de faible affinité des sous-unités 30S et 50S. Elles vont ainsi empêcher la liaison de l'ARN de transfert bactérien (ARNt) à son site accepteur, ce qui va empêcher l'élongation de la chaîne peptidique en cours de formation. Leur activité repose aussi sur une inhibition des systèmes enzymatiques par complexation ionique (surtout l'ion magnésium  $Mg^{2+}$ ).

### **Triméthoprim – Sulfaméthoxazole**[98,99]

Les bactéries ne pouvant assimiler l'acide folique présent dans leur environnement, elles sont donc obligées de le synthétiser à partir d'acide para-aminobenzoïque (PABA) et de dihydroptéridine *via* une voie de synthèse impliquant plusieurs enzymes (Figure synthèse acide folique).

Les sulfamides, dont le Sulfaméthoxazole, sont des analogues structuraux du PABA qui inhibent de manière compétitive la dihydroptéroate synthétase, enzyme responsable de la première étape de la synthèse de folates, la synthèse d'acide dihydroptéroïque à partir de PABA et de dihydroptéridine.

Le Triméthoprim est un inhibiteur compétitif de la dihydrofolate réductase (DHFR), enzyme catalysant la réduction de la dihydrofolate en tétrahydrofolate, 3<sup>ème</sup> étape de la synthèse de folates.

Le Sulfaméthoxazole et le Triméthoprim sont systématiquement donnés en association (DCI : cotrimoxazole). En effet la conséquence finale de l'association de ces deux antibiotiques est le blocage de la synthèse des bases puriques et pyrimidiques. Cet effet est atteint par chacun des deux antibiotiques donnés de manière séparée, mais l'association permet de diminuer le risque d'apparition de résistance.

### **Phénicolé : Chloramphénicol**[100]

Le chloramphénicol est un antibiotique de la famille des phénicolés. C'est un antibiotique bactériostatique inhibant la synthèse protéique des procaryotes en interagissant avec le ribosome bactérien au niveau de deux sites de liaison sur la partie du site accepteur A de la sous-unité 50S. Le chloramphénicol inhibe la synthèse protéique en empêchant la fixation d'un aminoacyl-ARNt du fait

de la présence de l'antibiotique sur le site A ainsi que la formation de la liaison peptidique. Il perturbe également la synthèse d'ARN.

#### **h. Vaccins contre la peste[29,101,102]**

Actuellement les vaccins contre la peste ne sont pas systématisés dans les zones d'endémie. Le vaccin américain produit par Greer Laboratories contient la bactérie *Yersinia pestis* de la souche 195/P inactivée à l'aide de formaldéhyde.

Ce vaccin, au-delà du coût de production élevé, souffre de plusieurs problèmes qui le rendent difficilement utilisable sur une population entière. Premièrement, il y a nécessité de mettre en place un confinement particulier lors de la production et de l'administration. Deuxièmement le nombre d'effets indésirables est assez élevé. Troisièmement ce vaccin ne protège efficacement que contre la forme bubonique de la peste tandis que la protection contre la forme pneumonique est très discutée. Enfin la durée de protection est assez courte et il y a nécessité de réaliser des rappels annuels au risque de voir l'immunité disparaître.

Un vaccin vivant atténué a aussi été développé en 1908. Surtout utilisé en URSS, il était constitué d'une souche de *Yersinia pestis*, la souche EV76 (ou Pgm<sup>-</sup>) avirulente. Cependant il a pour principal problème le risque de réversion vers une forme pleinement virulente, ainsi qu'une grande variabilité tant en termes de virulence que d'immunogénicité entre les différents lots. De plus, comme les autres vaccins, il entraîne des effets indésirables importants. Enfin ce vaccin étant un vaccin vivant atténué, il est contre-indiqué en cas d'immunodépression et lors de la grossesse ce qui poserait un problème pour ces populations en cas de nécessité de vaccination de masse.

#### **i. Epidémiologie[4]**

##### **Répartition et évolution**

Au cours des 6 dernières années, les régions ayant rapporté des cas humains de peste se limitent à l'Afrique subsaharienne, l'Asie ainsi que l'Amérique du Nord et du Sud.

La répartition des cas de peste est assez inégale. En effet, en 2018, seuls 5 pays ont été touchés par la peste. Les pays rapportant le plus de cas de peste dans le monde sont Madagascar et la République Démocratique du Congo (RDC) qui totalisaient à eux seuls 98% des cas de peste en 2018 (Tableau 2). Cela est dû au fait que la peste est une maladie liée à des conditions de vie précaires qui touche les populations les plus pauvres.

<b>Afrique</b>	<b>2013</b>	<b>2014</b>	<b>2015</b>	<b>2016</b>	<b>2017</b>	<b>2018</b>
<b>RDC<sup>a</sup></b>	55 (5)	78 (12)	18 (5)	116 (9)	10 <sup>b</sup> (2)	133 (5)
<b>Madagascar</b>	675 (118)	482 (112)	275 (63)	126 (28)	661 (87)	104 (34)
<b>Ouganda</b>	13 (3)	6 (0)	3(0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<b>Tanzanie</b>	0 (0)	31 (1)	5 (3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<b>Total</b>	<b>743 (126)</b>	<b>597 (125)</b>	<b>301 (71)</b>	<b>242 (37)</b>	<b>671 (89)</b>	<b>237 (39)</b>
<b>Amériques</b>	<b>2013</b>	<b>2014</b>	<b>2015</b>	<b>2016</b>	<b>2017</b>	<b>2018</b>
<b>Bolivie</b>	0 (0)	2 (1)	0 (0)	... (---)	... (---)	1 (1)
<b>Pérou</b>	24 (2)	8 (1)	0 (0)	1 (0)	3 (0)	4 (1)
<b>Etats-Unis</b>	4 (1)	10 (0)	16 (4)	4 (0)	5 (0)	1 <sup>c</sup> (0)
<b>Total</b>	<b>28 (3)</b>	<b>20 (2)</b>	<b>16 (4)</b>	<b>5 (0)</b>	<b>8 (0)</b>	<b>6 (2)</b>
<b>Asie</b>	<b>2013</b>	<b>2014</b>	<b>2015</b>	<b>2016</b>	<b>2017</b>	<b>2018</b>
<b>Chine</b>	0 (0)	3 (3)	0 (0)	1 (0)	1 (1)	0 (0)
<b>Russie</b>	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<b>Kirghizistan</b>	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<b>Mongolie</b>	0 (0)	1 (0)	3 (2)	0 (0)	1 (0)	0 (0)
<b>Total</b>	<b>1 (1)</b>	<b>5 (3)</b>	<b>3 (2)</b>	<b>1 (0)</b>	<b>2 (0)</b>	<b>0 (0)</b>
<b>Total mondial</b>	<b>722 (130)</b>	<b>622 (130)</b>	<b>320 (77)</b>	<b>248 (37)</b>	<b>681 (89)</b>	<b>243 (41)</b>

À l'exception des cas de RDC, tous les cas rapportés sont confirmés

<sup>a</sup> Cas suspects

<sup>b</sup> Données incomplètes

<sup>c</sup> Données provisoires

Tableau 2 : ce tableau renseigne le nombre annuel de cas humains et de décès (entre parenthèses) dus à la bactérie *Yersinia pestis* dans différents pays de 2013 à 2018 tiré de « La peste dans le monde en 2019 » du relevé épidémiologique hebdomadaire de l'OMS

Il convient de prendre ces chiffres avec une certaine réserve. En effet certains cas sporadiques survenant dans des zones endémiques du continent africains échappent au contrôle étant donné la mauvaise couverture médicale de ces régions.

Mais cette possible sous-estimation n'infirmes pas cette tendance mondiale de baisse de l'incidence de la peste depuis 2013. La peste est une maladie liée à des conditions de vie précaires, et des facteurs divers comme une légère amélioration des conditions de vie et une meilleure protection des récoltes contre les rongeurs, potentiels hôtes de la pathologie ont peut-être contribué à favoriser cette tendance.

Cependant il convient de rester vigilant. En effet, il est fréquent d'observer des silences épidémiologiques de plusieurs dizaines d'années dans des foyers naturels de peste avant une brutale réapparition de la pathologie. La mise en évidence de la peste tellurique, ou endogée, montre que le bacille peut survivre dans le sol des terriers de rongeurs après la disparition des hôtes animaux, permettant une réémergence de la maladie lors de la colonisation de ces galeries par de nouveaux animaux[48,103].

Par ailleurs, il est faux de penser que la diminution de l'incidence provient du fait que le bacille pesteux circule moins dans les zones endémiques. En effet il faut se souvenir que la distribution géographique de la peste animale est plus étendue que celle de la peste humaine. Aujourd'hui, 33 pays renferment un foyer de peste dans lesquels le bacille continue de circuler au sein des populations animales.

Les données de surveillance animales ne sont pas disponibles pour tous les pays, mais montrent, lorsqu'elles sont disponibles, comme aux Etats-Unis par exemple, une tendance à l'extension géographique de ces foyers animaux, qui peuvent s'expliquer par une colonisation de nouveaux territoires par des hôtes potentiels, comme le rat noir (*Rattus rattus*) par exemple.

### **Formes cliniques et létalité**

Il existe 5 formes cliniques de la peste : la peste bubonique, la peste septicémique, la peste pulmonaire, la peste pharyngée et la peste méningée[20].

La forme bubonique est prédominante dans les cas sporadiques de peste (hors période d'épidémie). Pour exemple, aux Etats-Unis, avant l'introduction des antibiotiques (1900 à 1941) la proportion de peste bubonique primaire était de 69% et le taux de mortalité de cette forme était de 66%. Après l'arrivée des traitements antibiotiques (1942 à 2012) la proportion de peste bubonique primaire monte à 78% tandis que le taux de mortalité descend à 13%[104]. A Madagascar entre

l'année 1996 et 1998, 96,5% des cas de peste revêtaient la forme de peste bubonique et le taux de mortalité de cette forme était de 6%[105].

Globalement dans le monde, l'utilisation des antibiotiques depuis les années 50 a fait baisser la proportion de peste pneumonique ainsi que sa létalité[105]. A Madagascar, où la proportion de cas de peste pneumonique entre 1996 et 1998 était de 1,5% avec un taux de mortalité de 22%, les cas de peste pneumonique sont liés au mauvais diagnostic ou au retard de traitement de cas de peste bubonique[105]. La létalité de cette forme sans traitement est élevée, atteignant 93% sur la période 1900-1941 aux Etats-Unis pour une proportion de 11,5% des cas, avant de chuter pour atteindre 36% sur la période 1942-2012 avec une proportion de 2,9% des cas[104].

La peste septicémique primaire peut-être contractée à la suite de la morsure d'une puce. En effet, de 1900 à 2012 aux Etats-Unis, sur les 106 patients dont la contamination provient d'une morsure de puce, 10 d'entre eux (9%) ont développé une peste septicémique primaire[104].

De 1900 à 1941 aux Etats-Unis, 9 cas de peste septicémique primaire, ce qui représente 1,7% des cas de peste, ont été recensés avec un taux de mortalité de 89%. De 1942 à 2012, 78 cas de peste septicémique primaire ont été recensés, ce qui représente 16,3% des cas de peste, avec un taux de mortalité qui tombe à 27%. Cette augmentation du taux de peste septicémique primaire est difficile à expliquer. Il s'agit probablement du résultat d'une meilleure reconnaissance d'une forme d'infection cliniquement indistincte, coïncidant avec une amélioration des capacités de diagnostic en laboratoire (c'est-à-dire des hémocultures), ou peut-être d'une augmentation du nombre d'infections associées à un contact direct avec les animaux[104].

Malgré l'existence de traitements efficaces et peu chers, le taux de létalité dans le monde ne cesse de varier de 5 à 20% en fonction du pays étudié. La mortalité est souvent due à un retard de diagnostic ou à un mauvais diagnostic combiné à un faible accès aux systèmes de soin[105].

## **j. Les plasmides et la conjugaison chez les bactéries**

### **Les plasmides**

Les plasmides sont des éléments constitués d'ADN bicaténaires physiquement distincts du chromosome bactérien, se maintenant dans la cellule dans un état stable extrachromosomique. On les considère non essentiels puisqu'ils peuvent être perdus par la bactérie sans compromettre sa survie *in vivo*, au contraire des chromosomes[30].

Cependant ces éléments sont utiles à la survie du germe en milieu naturel, car ils codent pour des caractères phénotypiques avantageux, tels que la résistance aux antibiotiques ou aux métaux lourds

par exemple[106], ou encore la production de métabolites secondaires particuliers comme des toxines[38].

Les plasmides sont généralement représentés comme de courtes séquences d'ADN circulaire ; cependant des plasmides linéaires et de grande taille existent. La différence entre plasmides et chromosomes ne repose donc pas sur la taille ou la forme, mais vient du fait que les chromosomes codent des gènes essentiels à la survie *in vitro* des bactéries, contrairement aux plasmides[30].

Leur réplication est indépendante de celle du chromosome bactérien car ils possèdent leur propre origine de réplication. La réplication des plasmides est souvent plus rapide que celle des chromosomes, de sorte qu'il y a généralement plusieurs copies d'un même plasmide dans une bactérie[30].

Le processus de réplication des plasmides dans les bactéries à Gram – se nomme la *thêta* réplication. Il se déroule d'une manière similaire à la réplication du chromosome bactérien, avec la formation de deux fourches de réplication qui progressent à partir de l'origine de réplication de manière bidirectionnelle[30].

Le rôle et l'intérêt des plasmides est de permettre de réaliser un brassage génétique dans les populations bactériennes. En effet, comme les bactéries ont une division binaire asexuée, elles n'ont pas de brassage génétique à chaque génération. L'apparition du système d'échange génétique avec le couple plasmide/conjugaison résout ce problème en permettant le transfert de matériel génétique entre bactéries. De plus, loin de rester deux éléments sans interactions, il est possible pour un plasmide et un chromosome d'échanger des fragments d'ADN par recombinaison homologue ce qui aboutit à l'intégration de gènes plasmidiques dans le chromosome bactérien et peut aussi permettre le transfert de gènes du génome d'une bactérie vers une autre[30].

Les plasmides sont répartis en groupes d'incompatibilité. L'incompatibilité plasmidique désigne l'incapacité de deux plasmides à coexister de manière stable pendant un certain nombre de générations dans la même lignée cellulaire bactérienne. Généralement les plasmides apparentés tendent à être incompatibles tandis que les plasmides éloignés tendent à être compatibles. Cette incompatibilité vient le plus souvent d'une similarité dans le réplicon. Toutefois d'autres facteurs peuvent être à l'origine d'une incompatibilité[107].

#### **k. L'antibiorésistance**

En 1893, dans son texte « L'anti-filtre du Captain Cap », Alphonse Allais suggérait l'idée que la lutte contre les microbes permettrait une sélection des plus résistants, aboutissant à l'impossibilité de détruire lesdits microbes résistants.

Le terme antibiotique provient de la contraction de deux mots grecs, anti : « contre », et bios : « vie ». Un antibiotique est une substance naturelle qui détruit (bactéricide) ou bloque la croissance (bactériostatique) des bactéries.

La découverte de la pénicilline, le premier des antibiotiques identifiés, par Sir Alexander Fleming en 1928 fut un pas de géant dans la médecine. En effet, des maladies bactériennes qui étaient mortelles auparavant ont pu être traitées simplement à l'aide de cette nouvelle molécule.

Depuis ces balbutiements, de nombreux autres antibiotiques ont été découverts, tant et si bien que l'on recense de nombreuses familles d'antibiotiques utilisées couramment en médecine moderne.

Cependant, on a constaté trois années après le début de l'utilisation de la pénicilline que des bactéries étaient spontanément devenues résistantes à cet antibiotique, le rendant inefficace pour le traitement des pathologies qu'elles causaient[108].

L'antibiorésistance s'est accrue depuis ce premier cas, tant et si bien que chaque année aux Etats-Unis on recense 2,8 millions d'infections résistantes aux antibiotiques, causant 35 000 morts. En Europe les infections résistantes aux antibiotiques causent 33 000 décès chaque année. Les enfants et les nouveau-nés sont particulièrement atteints par ce type d'infections. 30% des nouveaux nés contractant un sepsis meurent d'une infection résistante aux antibiotiques de 1<sup>ère</sup> intention[109].

L'antibiorésistance est un problème de santé publique majeur, et la communauté internationale ainsi que les experts du domaine appellent à prendre des mesures énergiques afin d'éviter une crise potentiellement désastreuse due à l'antibiorésistance[110].

### **1. Plasmides et antibiorésistance/Causes de l'antibiorésistance**

Nombre d'antibiotiques sont des substances naturelles produites par des micro-organismes. L'apparition de résistances aux antibiotiques est donc antérieure à la découverte des antibiotiques par l'Homme. De ce fait, leur utilisation dans la médecine moderne a seulement engendré une pression de sélection supplémentaire favorisant la sélection et la diffusion dans les différentes populations de pathogènes des systèmes de résistance [30].

Ces systèmes de résistance peuvent être codés par des plasmides conjugatifs, ce qui entraîne une diffusion horizontale rapide de ces mécanismes aux autres bactéries.

Les plasmides porteurs de résistances sont appelés plasmides R. Du fait de recombinaisons génétiques entre le génome bactérien et ces plasmides sont apparus des plasmides R portant les gènes codant la résistance à plusieurs antibiotiques, on parle alors de multirésistance.

### 3. L'antibiorésistance chez *Yersinia pestis*

#### a. Résistances portées par des plasmides de résistance

Antibiotique	Souche 17/95	Souche 16/95
Streptomycine	Synthèse de 3''-9-O-aminoglycoside adénylyltransférase (ant 3''9)	Synthèse de 3''-O-aminoglycoside phosphotransférase ainsi que de 6-O-aminoglycoside phosphotransférase (gènes strA et strB)
Spectinomycine	Synthèse de 3''-9-O-aminoglycoside adénylyltransférase (ant 3''9)	
Chloramphénicol	Synthèse de chloramphénicol acétyltransférase de type I (catI)	
Tétracycline	Résistance par efflux de la tétracycline [tet(D)]	
Sulfonamide	Mutation de la dihydropteroate synthase la rendant insensible à l'antibiotique (sul1)	
Ampicilline	Synthèse de pénicillinase TEM-1 (bla <sub>TEM-1</sub> )	
Kanamycine	Synthèse de 3'-O-aminoglycoside phosphotransférase de type I [aph(3')-I]	

Tableau 3 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques portés par les souches 17/95 et 16/95 de *Yersinia pestis* tiré de « *Yersinia pestis* antibiotic resistance: a systematic review »

#### Souche IP2180H[111]

En 1998, une souche de *Y. pestis* nommée IP2180H fut isolée à partir d'un rat (*rattus norvegicus*) atteint de la peste à Antananarivo. Cette souche était porteuse du plasmide pIP2180H codant entre autres un système de résistance à la doxycycline. Ce plasmide d'environ 171kb possédait un transposon, *Tn10*, contenant le locus *tetRBCB* capable de coder une protéine d'efflux de la tétracycline de classe B (gène *tet B*) ainsi que 3 régulateurs (gènes *tet R*, *tet C* et *tet D*). Ce plasmide était capable de se diffuser au sein d'espèces différentes telles que *Yersinia pseudotuberculosis* ainsi que *Escherichia coli* par transfert conjugatif.

### Souches 16/95 et 17/95

En 1995, dans le district d'Ampitana à Madagascar les soignants ont isolé, chez un homme de 14 ans avec des symptômes de peste bubonique, la souche 16/95, une souche de *Yersinia pestis* hautement résistante à la streptomycine[10].

La même année dans le district d'Ambalavo à Madagascar, les soignants ont isolé, chez un homme de 16 ans avec des symptômes de peste bubonique, une souche de *Y. pestis*, la souche 17/95, hautement résistante à 7 antibiotiques différents[10]. La souche 17/95 était résistante à des antibiotiques recommandés dans le cadre du traitement de la peste (sulfonamide, tétracycline, streptomycine, chloramphénicol), ainsi qu'à des antibiotiques qui auraient pu représenter une alternative aux thérapies recommandées (ampicilline, kanamycine, spectinomycine)[9].

Les mécanismes de résistance ont pu être identifiés et sont précisés dans le tableau 3.

Les gènes codant pour ces mécanismes de résistance se situent tous sur des plasmides présents dans les souches de *Y. pestis* qui ont été isolées, le plasmide pIP1203 pour la souche 16/95 et le plasmide pIP1202 pour la souche 17/95[10].

Le plasmide pIP1202 est un plasmide d'environ 150kb porté par la souche 17/95 de *Yersinia pestis*. Ce plasmide porte des gènes de résistance à 7 antibiotiques (Tableau 3[10]). Il peut être transféré par conjugaison d'une bactérie *Y. pestis* à une autre, ainsi que d'une bactérie *Y. pestis* à une bactérie *Escherichia coli* et vice versa. Il fait partie du groupe d'incompatibilité Inc6-C[9].

Le plasmide pIP1203 est un plasmide d'environ 40kb porté par la souche 16/95 de *Yersinia pestis*. Ce plasmide conférerait quant à lui une résistance à la seule streptomycine, par la présence des gènes *strA* et *strB* qui codent pour des enzymes (phosphotransférases) rendant la streptomycine inopérante (Tableau 2[10]). Il peut lui aussi être transféré par conjugaison d'une bactérie *Y. pestis* à une autre, ainsi que d'une bactérie *Y. pestis* à une bactérie *Escherichia coli* ainsi qu'avec *Yersinia pseudotuberculosis*, et vice versa. Il fait partie du groupe d'incompatibilité IncP[10].

Malgré la présence de plasmides de résistance dans chacune des souches, de nombreuses différences permettent de penser que ces deux souches sont apparues de manière indépendantes (Tableau 4)[10,112].

	Souche 16/95 (pIP1203)	Souche 17/95 (pIP1202)
Lieu de découverte (Figure 8)	Ampitana (District d'Ambohimahasoa)	Ambalavao (District d'Amboimbo)
Ribotype	Ribotype Q	Ribotype II
Groupe d'incompatibilité du plasmide	Inc-1	Inc-2
Taille du plasmide	~10kb	~15kb
Nombre de résistance	1 résistance	3 résistances
Résistance à la streptomycine	Phosphorylation	Adénylation

Tableau 4 : différences entre les deux souches de *Y. pestis* résistantes aux antibiotiques découvertes à Madagascar en 1995, les nombreuses différences laissent à penser que ces deux souches ont obtenu leurs résistances séparément



Figure 8 : Lieux de découverte des souches 16/95 et 17/95, les villes d'Ampitana et d'Ambalavao., séparées de 85km

L'apparente séparation de ces deux souches de *Yersinia pestis* antibiotiques suggère que le transfert conjugatif de plasmides de résistance à *Yersinia pestis* dans son milieu naturel n'est pas un phénomène isolé, et que celui-ci peut très bien être amené à se reproduire[9,10].

L'origine des deux souches de *Y. pestis* résistantes aux antibiotiques ne peut être déterminée rétrospectivement. La bactérie *Y. pestis* n'a pas réellement d'état de vie libre dans son cycle hôte-vecteur car c'est un parasite obligatoire qui alterne entre les mammifères et les puces[10,113].

Chez les mammifères, la bactérie infecte généralement les tissus lymphoïdes, la rate, les reins et le sang qui sont tous, en général, stériles. Les opportunités de transfert conjugatif sont donc limitées aux cas de coinfections de *Y. pestis* avec une autre bactérie invasive si et seulement si un contact proche a été établi[10,113]. Cependant, dans le cas de la peste pharyngée, la bactérie se trouve dans un environnement non-stérile, ce qui n'exclut pas totalement le transfert conjugatif chez l'Homme ou le mammifère[56]. De plus la mise en évidence de l'existence

d'un microbiote pulmonaire permet d'émettre l'hypothèse d'un transfert conjugatif lors d'une forme pulmonaire de la peste[114].

Dans le système digestif non stérile de la puce, *Y. pestis* forme des agrégats denses afin de produire une possible infection transmissible[46]. Le contact entre la bactérie possédant le plasmide et *Y. pestis* a pu avoir eu lieu dans cet environnement[10]. En effet lors d'une expérience de co-infection d'une puce *Xenopsylla cheopis* par une bactérie *Escherichia coli* porteuse du plasmide pIP1203 (codant la résistance à la streptomycine de la souche 16/95) ainsi que 5 à 7 jours après d'une souche de *Yersinia pestis* non virulente sensible à la streptomycine, le transfert de plasmide a lieu. En effet le transfert se produit à une fréquence proche de celle observée *in vitro* entre ces bactéries, tant et si bien qu'au bout de 4 semaines 95% des bactéries *Y. pestis* ont acquis le plasmide pIP1203. Il semble donc que le transit dans les vecteurs arthropodes met *Y. pestis* dans des conditions favorables pour un échange génétique efficace avec la flore microbienne de l'intestin de la puce[10,112]. Les bactéries coinfectantes non apparentées présentes dans l'intestin moyen des puces sont facilement incorporées dans les agrégats et ce contact physique étroit favorise les échanges conjugatifs à haute fréquence[10].

Il apparaît que le transfert horizontal de gènes dans la puce peut être la source de l'antibiorésistance des bactéries *Y. pestis* des souches 16/95 et 17/95[10].

La découverte de ces souches a entraîné l'approfondissement de la surveillance des souches de *Y. pestis* isolées à partir d'humains, de rats ou de puces. Il en ressort qu'aucun spécimen des deux isolats de 1995 n'a été découvert à Madagascar depuis.

#### **b. Antibiorésistance associée à une mutation génétique**

L'information génétique codant le mécanisme de résistance peut aussi être portée par le chromosome bactérien. Quatre souches de peste provenant de Madagascar (12/87, 56/13, 59/13) et de Chine (S19960127) présentaient une résistance à la streptomycine codée par un gène chromosomique muté[115,116].

Le gène en question est le gène *rpsL* (ribosomal protein S12 gene), qui code la protéine ribosomale S12. La protéine ribosomale S12 augmente la stabilisation de la structure du pseudonœud formée par l'ARN ribosomal 16S. Les substitutions d'acides aminés dans la protéine ribosomale S12 influencent la structure de l'ARN ribosomal 16S empêchant la fixation de la streptomycine, conférant un haut niveau de résistance à la streptomycine[116]. La résistance aux antibiotiques chez *Y. pestis* peut aussi être obtenue spontanément à partir de mutation des gènes chromosomiques.

#### **4. Outrepasser l'antibiorésistance chez *Yersinia pestis***

## a. Eradication des vecteurs et des hôtes

### Lutte contre les puces vectrices

L'appellation chiens de prairie désigne 5 espèces de rongeurs faisant tous partie du genre *Cynomys* : *Cynomys ludovicianus* (Chien de prairie à queue noire), *Cynomys mexicanus* (Chien de prairie du Mexique), *Cynomys gunnisoni* (Chien de prairie du Colorado), *Cynomys leucurus* (Chien de prairie à queue blanche) et *Cynomys parvidens* (Chien de prairie de l'Utah)[117].

Ces animaux sont particulièrement sensibles à la bactérie *Y. pestis*, avec un taux de mortalité pouvant atteindre 99%. La maladie est capable d'éradiquer périodiquement les colonies dans la majeure partie de leur aire de répartition. Ce sont des acteurs clés de l'écosystème des prairies d'herbe courte, et leur disparition pourrait en perturber l'équilibre. De plus ils sont des hôtes amplificateurs majeurs de *Y. pestis*, contribuant à disperser la peste au sein des autres espèces de petits mammifères[118,119].

Les chiens de prairie jouent un rôle important dans la transmission de la peste aux humains. On estime en effet qu'environ 14% des cas de peste humaine aux Etats-Unis déclarés depuis 1965 sont probablement liés aux chiens de prairie et à leurs puces (chasseurs ou personnes en contact direct avec du sang ou autres tissus de chiens de prairie infectés). D'autres cas humains sont potentiellement dus à l'exposition à des puces infectieuses provenant des chiens de prairie (principalement *Oropsylla hirsuta*). Leur rôle en tant qu'hôte amplificateur de la peste est aussi un facteur augmentant le risque humain car ils contribuent à diffuser la peste dans d'autres espèces animale[119].

Le traitement insecticide de terriers avec du Pyreperm dans l'Utah en 2004 a permis de diminuer drastiquement le nombre de puces portées par les chiens de prairie (diminution de 99,75% du nombre moyen de puce porté par les chiens de prairie). De plus on a observé un arrêt de la transmission de la peste entre différentes colonies[118].

De même l'utilisation de deltaméthrine montre des résultats intéressants. Il s'agit d'un insecticide de la famille chimique des pyréthrinoïdes synthétiques résistant à l'eau et offrant une activité insecticide pendant 8 mois après application[119].

Des terriers de colonies de chiens de prairie à queue noire (*Cynomys ludovicianus*) du Colorado ont été traités avec la deltaméthrine dans le but de diminuer le nombre de puces. La mesure des populations de puces (peignage des chiens de prairie et prélèvements dans les tunnels) a montré une diminution significative de la population de *Oropsylla hirsuta* et d'autres types de puces après seulement une application de deltaméthrine. De plus une épizootie de peste dans la zone avec un haut

taux de mortalité dans certaines colonies de chiens de prairie à proximité n'a pas semblé affecter les colonies traitées[119].

Les environs de Conata Basin dans le Dakota du Sud ont vu en 2009 lors de la campagne annuelle de traitement insecticide quelques 454 881 colonies de chiens de prairies être traitées avec du DeltaDust (insecticide contenant de la deltaméthrine), représentant un total de 11 148 acres d'habitat de chiens de prairie. Les zones traitées présentaient de bonnes densités de chiens de prairie par rapport aux zones non traitées où la peste continuait de sévir, prouvant l'utilité du traitement insecticide dans le ralentissement des épizooties de peste[117].

Cependant cette technique n'est pas idéale et a de très gros inconvénients. Premièrement le coût humain et matériel qui peut être assez élevé. Par exemple le traitement des colonies dans les environs de Conata Basin a coûté 228 576 dollars en 2009 et a nécessité 3 958 heures de travail. De plus la campagne de traitement doit être renouvelée tous les ans de peur de voir la peste sévir à nouveau sur les populations animales[117]. En effet le bacille persiste dans le sol et les carcasses ce qui entraîne la réinfection des animaux qui entrent en contact avec, ce qui empêche son éradication totale via les insecticides[48,120].

De plus l'utilisation d'insecticides a un impact sur la faune et la flore. La deltaméthrine a un impact négatif sur d'autres espèces d'insectes, sur certains poissons et reptiles[121–123], rendant son utilisation problématique d'un point de vue environnemental.

Par le passé on a constaté l'apparition de résistance de puces *Xenopsylla cheopis* au DDT, un insecticide aujourd'hui interdit, résistance qui s'est étendue à d'autres espèces de puces et d'autres types d'insecticides[124]. Le développement de résistances à la deltaméthrine ou à la perméthrine de la part des puces est donc à craindre. On peut aussi remarquer qu'il a déjà été observé chez certaines espèces d'insectes tels que *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus*[125] ou encore *Blattella germanica*[126] qui résistent à la deltaméthrine, ou encore chez *Aedes aegypti*[127] qui résiste à la perméthrine. Le potentiel développement de ces résistances risque de réduire l'efficacité de cette méthode qui ne doit donc pas être la seule manière de lutter contre *Y. pestis*.

### **Lutte contre les rongeurs-réservoirs**

Dès la mise en évidence du lien entre rongeurs et peste, les autorités ont cherché, dans les contextes épidémiques et endémiques de peste, à éliminer les rongeurs-réservoirs dans le but de diminuer la circulation du bacille et de diminuer le risque de transmission à l'Homme[128]. On retrouve ce principe dans la mise en place d'une prime de 0,25 francs par cadavre de rat présenté à la mairie lors de l'épidémie de peste de 1914 à Dakar, alors sous administration française[129].

Cependant toute activité de lutte contre les rongeurs, surtout en zone urbaine ou rurale proche d'habitations, doit être précédée ou accompagnée de mesures de lutte contre les puces. En effet, une simple destruction des rongeurs-hôtes dans les zones où les puces sont nombreuses et la circulation de *Y. pestis* importante entraînerait une libération de grandes quantités de puces porteuses du bacille. Ces puces seraient à la recherche d'hôtes vivants qui en l'absence de rongeurs peuvent être des animaux domestiques ou des êtres humains[130].

Une fois la quantité de puces réduite, une lutte contre les rongeurs réservoirs peut être entreprise. Cependant, dans les zones où la peste n'est pas endémique, ou bien pendant les périodes où la peste ne circule pas parmi les rongeurs, il est possible de dissocier lutte contre les rongeurs et lutte contre les puces[130].

La lutte contre les rongeurs peut se diviser en deux parties : la lutte contre les rongeurs commensaux et celle contre les rongeurs sauvages.

#### Lutte contre les rongeurs commensaux

Les principaux rongeurs commensaux de l'Homme sont le rat noir *Rattus rattus*, le rat brun *Rattus norvegicus* et la souris grise *Mus musculus* (Figure 9). Cette dernière ne joue qu'un rôle mineur dans la transmission de la peste[130]. Les animaux commensaux sont les animaux pratiquant le commensalisme qui est le « mode d'alimentation d'un animal qui se nourrit des débris de repas ou des parasites externes d'un animal d'une autre espèce, généralement plus grand, sans faire de tort à son hôte, qui le laisse faire »[131].



Figure 9 : De gauche à droite : photo de rat noir (*Rattus rattus*), de rat brun (*Rattus norvegicus*) et de souris grise (*Mus musculus*), les trois rongeurs commensaux présents dans le monde entier

La lutte contre les rongeurs commensaux repose principalement sur l'utilisation de rodenticides. Parmi eux on distingue deux catégories : les rodenticides chroniques à action lente nécessitant de multiples doses et les rodenticides aigus à action rapide nécessitant une dose unique. Les avantages et les inconvénients des deux méthodes (Tableau 5[130]) font que l'utilisation de rodenticides chroniques est préférée dans la plupart des programmes de lutte, tandis que les

rodenticides aigus ne sont utilisés que dans des situations requérant une réduction rapide d'une population de rongeurs[130].

<b>Aigus</b>	<b>Chroniques</b>
<b>Avantages</b>	
1. Tuent rapidement	1. Pas de méfiance face à l'appât
2. Cadavres vus par l'utilisateur	2. Bonne méthode pour l'utilisateur inexpérimenté
3. Efficaces en cas de résistance aux anticoagulants	3. Les doses multiples diminuent le risque d'empoisonnement accidentel
4. Quantités relativement faibles d'appâts nécessaires pour tuer	4. Goût agréable car ils demandent de faibles concentrations
	5. Très faible concentration : coût du produit par kg de formulation faible
	6. Antidote très efficace et pratique
<b>Inconvénients</b>	
1. Exigent essais préalables de l'appât pour obtenir un résultat	1. Cadavres généralement non visibles (meurent sous abri)
2. Caused méfiance face à l'appât	2. Tendent à être non sélectifs
3. Même lorsque des antidotes existent, le temps manque pour les administrer	3. Action lente
4. Concentrations relativement élevées : accroissement du coût du produit actif par kg de formulation	4. Les quantités relativement importantes de produit exigées pour tuer les rongeurs peuvent conduire à sous-estimer le nombre d'appâts
5. Les concentrations élevées qui sont exigées peuvent donner un mauvais goût	5. Résistance aux anticoagulants
6. Peu sélectif – danger élevé pour les espèces non ciblées	
7. Options de formulations réservées presque entièrement aux appâts de nourriture	

*Tableau 5 : tableau tiré du « Manuel de la peste: épidémiologie, répartition, surveillance et lutte » décrivant les avantages et les inconvénients des rodenticides aigus et chroniques. On remarque que les rodenticides chroniques ont plus d'avantages et moins d'inconvénients ce qui explique leur utilisation plus répandue, bien que le risque de résistance aux anticoagulants rende nécessaire l'utilisation de rodenticides aigus*

Le groupe des rodenticides chroniques est composé d'anticoagulants dont le premier représentant est la warfarine. Mise au point comme rodenticide en 1950, il s'agit d'un antivitamine K

causant une diminution de la synthèse des formes actives de plusieurs facteurs de la coagulation[132]. Depuis de nouveaux anticoagulants extrêmement léthaux ont été mis au point pour la lutte contre les rongeurs, tels que le brodifacoum ou le flocoumafène, qui possèdent tous deux des doses létales médianes (DL50) contre le rat brun inférieures à 1mg/kg[130]. La DL50 est un indicateur quantitatif de la toxicité d'une substance. Il s'agit de la dose d'une substance aboutissant à la mort de 50% des individus d'un groupe test.

L'utilisation d'anticoagulants présente plusieurs avantages. Ils sont généralement bien acceptés par les rongeurs lorsque incorporés dans des appâts en faible concentration. De plus leur action est cumulative, ce qui signifie qu'ils doivent être ingérés sur plusieurs jours pour être efficaces, réduisant le risque d'empoisonnement accidentel d'un humain ou d'un animal domestique, d'autant plus que la vitamine K peut être utilisée en tant qu'antidote[130].

L'apparition de résistances à la warfarine a poussé à la mise au point de différents anticoagulants. Ainsi aujourd'hui on considère qu'il existe deux générations d'anticoagulants rodenticides[130].

Les groupe des rodenticides aigus est composé de substances avec divers modes d'action, comme le trioxyde d'arsenic, la crimidine ou la strychnine. Elles sont pour la plupart non recommandées par l'OMS dans le cadre de la lutte contre les rongeurs réservoirs de la peste. Ces composés causent pour certains la mort en quelques minutes, rendant leur utilisation très dangereuse pour l'opérateur et augmentant le risque de contaminations secondaires mortelles[130].

Les rodenticides peuvent être utilisés incorporés dans des appâts, ingérés lorsque l'animal se nourrit. Cette méthode a pour avantage que l'animal se dirigera de lui-même vers le poison. Ils peuvent aussi être utilisés sous forme de poudre, de gel ou de graisse disposés à l'entrée des terriers et sur les points de passage. Le poison va alors se nicher dans le pelage des rongeurs et sera ingéré lors de la toilette[130].

Enfin il est possible de pratiquer des fumigations afin de tuer les rongeurs à l'aide d'un poison diffusé dans l'air (exemple : cyanure de calcium, monoxyde de carbone ou anhydride sulfureux). Cependant cette méthode est complexe et ne peut être mise en place qu'à l'intérieur des bâtiments, dans les navires ou dans les terriers[130].

### Lutte contre les rongeurs sauvages

La lutte contre les rongeurs sauvages est plus complexe. En effet il n'existe aucune méthode efficace pour prévenir l'infestation par les rongeurs dans les espaces ouverts tels que les forêts, champs

et prairies. On peut utiliser des pièges et des poisons localement en cas d'infestation par des rongeurs sauvages de zones habitées par les Hommes[130].

### **b. Repositionnement thérapeutique d'antibiotiques existants[133]**

L'utilisation d'antibiotiques existants mais pas recommandés dans le traitement contre la peste peut être une solution simple. Une étude réalisée en 1998 par la « United States Army Medical Research Institute of Infectious Diseases » (USAMRIID) a par exemple mesuré le potentiel thérapeutique de 13 antibiotiques sur des modèles murins de peste pulmonaire. Ces modèles, des souris femelles Hsd:ND4 séparées en différents groupes tests ont été contaminées avec la souche CO92 de *Y. pestis* aérosolisée. Ces souris ont ensuite été traitées avec les différents antibiotiques, à raison d'une injection toutes les 6 heures pendant 5 jours. Les doses administrées permettaient d'atteindre des concentrations sériques maximales égales ou supérieures à celles obtenues avec les doses thérapeutiques utilisées pour le traitement d'autres maladies chez l'Homme. Les traitements antibiotiques ont été débutés de manière précoce (24 heures après la contamination) ou tardive (42 heures après la contamination).

L'objectif de l'étude était de comparer l'efficacité de ces antibiotiques par rapport à un traitement de référence, la streptomycine. *In vitro*, *Yersinia pestis* était sensible aux 13 antibiotiques.

Les résultats de ces études (Tableau mortalité antibiotiques) montrent que dans le cadre d'un traitement précoce de la pathologie, la nétilmicine, la ciprofloxacine, l'ofloxacine, la ceftriaxone, la ceftazidime, l'ampicilline ainsi que la rifampicine montraient des taux de survie comparables à ceux de la streptomycine (entre 85 et 100%) tandis que les autres antibiotiques avaient des taux de survie statistiquement inférieurs à celui de la streptomycine (de 25 à 80%). Parmi les antibiotiques efficaces dans le traitement précoce on retrouve des antibiotiques qui ne sont pas recommandés dans le traitement de la peste : la nétilmicine, la ceftriaxone, la ceftazidine, l'aztréonam, l'ampicilline ainsi que la rifampicine. Si la nétilmicine fait partie de la famille des aminoglycosides dont certains sont recommandés dans le traitement contre la peste (streptomycine et gentamicine), les autres antibiotiques cités font partie de la famille des  $\beta$ -lactamines (ceftriaxone, ceftazidine, aztréonam et ampicilline) et de la famille des ansamycines (rifampicine), familles qui ne sont pas usuellement utilisées pour le traitement de la peste.

Cependant l'efficacité de ces médicaments chute lorsqu'ils sont administrés tardivement (Tableau 6). En effet on constate que les seuls traitements ayant un taux de survie équivalent ou supérieur à celui de la streptomycine lorsqu'ils sont administrés 42 heures après la contamination sont ceux recommandés dans le cadre du traitement de la peste (gentamicine à haute dose, ciprofloxacine et ofloxacine) ainsi que la nétilmicine (qui fait partie de la famille de la gentamicine et de la streptomycine). Tous les  $\beta$ -lactamines efficaces précédemment ainsi que la rifampicine sont à ce moment-là inefficaces avec des taux de survie de 0 à 20%.

Antibiotique		Nombre de survivants / Total (%)	
		Traitement précoce	Traitement tardif
Streptomycine		20/20 (100)	50/85 (59)
Nétilmicine		20/20 (100)	24/40 (60)
Gentamicine	12mg/kg	32/40 (80)	12/38 (32)
	20mg/kg	16/20 (80)	17/20 (85)
Ciprofloxacine		35/35 (100)	28/45 (62)
Ofloxacine		20/20 (100)	12/20 (60)
Céfazuline		5/20 (25)	2/18 (11)
Céfotétan		14/20 (70)	0/19 (0)
Ceftriaxone		20/20 (100)	1/40 (2,5)
Ceftazidime		17/20 (85)	0/20 (0)
Ceftiozime		11/20 (55)	Non testé
Aztréonam		17/20 (85)	0/19 (0)
Ampicilline		17/20 (85)	1/19 (5)
Rifampicine		18/20 (90)	4/20 (20)

Tableau 6 : tableau extrait de l'article de William R Byrne et al. Décivant le nombre de souris ayant survécu à une infection par *Yersinia pestis* ainsi que le taux de survie en fonction du traitement antibiotique appliqué. On peut constater l'efficacité des antibiotiques recommandés ainsi que de certains antibiotiques non recommandés et l'avantage d'un traitement précoce de la maladie.

Cette étude démontre que certains antibiotiques non recommandés dans le cadre du traitement de la peste représentent peut-être de futurs traitements contre cette maladie. Elle démontre aussi qu'il est nécessaire de tester tous les antibiotiques potentiellement efficaces afin d'étoffer l'arsenal thérapeutique, ceci afin de potentiellement contrer une éventuelle résistance aux antibiotiques

recommandés usuellement. Cependant cette étude a pour défaut principal le manque de fiabilité des valeurs obtenues avec certains antibiotiques. Cela est visible par l'étude de la p-valeur de chaque test, qui souvent dépasse 0,1. Ces expérimentations doivent donc être approfondies afin d'obtenir des résultats plus fiables. Cependant cette étude représente tout de même une preuve de concept que le test systématique des antibiotiques connus peut permettre de découvrir de nouveaux traitements.

### **c. Mise au point de nouveaux antibiotiques[109]**

Lors du traitement d'une infection bactérienne, si la bactérie présente une résistance aux antibiotiques de 1<sup>ère</sup> intention, il convient alors d'utiliser les antibiotiques de 2<sup>ème</sup> intention dans l'espoir d'une efficacité supérieure. Le développement de nouveaux antibiotiques dans le cadre de la montée de l'antibiorésistance semble être une des voies plébiscitées par les instances politiques et sanitaires. En effet depuis plusieurs années le financement public et philanthropique dans le domaine du développement de nouveaux antibiotiques a augmenté. Cependant cela s'est fait dans un contexte où, depuis de nombreuses années, les grands laboratoires pharmaceutiques et les investisseurs privés se désintéressent de plus en plus de ce même domaine, diminuant les financements ou désertant tout simplement la recherche d'antibiotiques.

Au 1<sup>er</sup> septembre 2019, 50 antibiotiques et combinaisons (comportant au moins une nouvelle entité thérapeutique) et 10 médicaments biologiques en phase d'essais cliniques étaient ciblés contre des pathogènes catégorisés comme prioritaires par l'OMS. Parmi les 50 antibiotiques, 18 ciblaient *Mycobacterium tuberculosis* (12) ou *Clostridium difficile* (6). Parmi les 32 restants, 12 avaient une activité contre au moins un pathogène Gram négatif considéré comme prioritaire.

Ce chiffre peut paraître assez important, mais le rapport de l'OMS pointe un manque d'innovation. Afin de définir un antibiotique innovant, 4 critères sont utilisés :

- Absence de résistance croisée à des antibiotiques existants
- Nouvelle classe (nouvelle structure ou nouveau pharmacophore)
- Nouvelle cible (nouveau site de liaison)
- Nouveau mécanisme d'action

Parmi les 32 antibiotiques visant des pathogènes prioritaires testés, seuls 6 remplissaient au moins un des quatre critères nécessaires pour déclarer un nouvel antibiotique comme innovant. 2 seulement ciblaient des bactéries Gram négatif.

On constate donc que le développement de nouveaux antibiotiques ne peut être qu'une partie de la solution au problème de l'antibiorésistance. En effet cette filière perd de son intérêt pour le secteur privé et les antibiotiques en développement sont peu innovants. De plus chercher sans arrêt de

nouveaux antibiotiques ressemble plus à une fuite en avant qu'à une solution définitive au problème de l'antibiorésistance. En effet on a constaté l'apparition de résistances à toutes les familles d'antibiotiques existantes, l'ajout d'une ou de plusieurs familles d'antibiotiques ne ferait que repousser le problème. Il convient ici de ne pas nier l'intérêt du développement de nouveaux antibiotiques, mais seulement de mettre en exergue la nécessité de nouvelles approches dans le problème de l'antibiorésistance.

#### d. Anticorps monoclonaux

DCI	Cible	Type	Indication initiale approuvée	Année d'approbation
<b>Ansuvimab</b>	Virus Ebola	IgG1 humain	Infection par le virus Ebola	2020
<b>Atoltivimab, Maftivimab, et Odesivimab-ebgn</b>	Virus Ebola	Mélange de 3 IgG1 humains	Infection par le virus Ebola	2020
<b>Ibalizumab</b>	CD4	IgG4 humanisé	Infection par le VIH	2018
<b>Bezlotoxumab</b>	Entérotoxine B de <i>Clostridium difficile</i>	IgG1 humain	Prévention des infections récurrentes à <i>Clostridium difficile</i>	2016
<b>Obiltoxaximab</b>	Antigène protecteur de l'exotoxine de <i>Bacillus anthracis</i>	IgG1 chimérique	Prévention de l'anthrax d'inhalation	2016
<b>Raxibacumab</b>	Antigène protecteur de <i>Bacillus anthracis</i>	IgG1 humain	Infection par <i>Bacillus anthracis</i>	2012
<b>Pallivizumab</b>	Virus respiratoire syncytial	IgG1 humanisé	Prévention de l'infection par le virus respiratoire syncytial	1998

Tableau 7 : Tableau réalisé à partir des données de The Antibody Society décrivant les différents anticorps monoclonaux utilisés en infectiologie humaine, leur cible, le type d'anticorps, l'indication initiale approuvée ainsi que l'année d'approbation

La synthèse d'anticorps polyclonaux afin d'assurer la défense de l'organisme vis-à-vis de potentiels pathogènes est une composante du système immunitaire de nombreuses formes de vie. Ils sont appelés polyclonaux car ils proviennent de plusieurs lignées de plasmocytes différents et sont dirigés contre des antigènes différents. Les anticorps monoclonaux sont quant à eux des anticorps provenant d'une seule lignée plasmocytaire et dirigés contre un antigène spécifique. La découverte

d'une méthode de production des anticorps monoclonaux, l'hybridome, en 1975 par César Milstein et Georges Köhler leur a valu un prix Nobel. Depuis, l'utilisation des anticorps monoclonaux en thérapeutique s'est développée et généralisée dans certains domaines tels que l'oncologie ou les maladies inflammatoires comme la polyarthrite rhumatoïde[134].

L'arsenal d'anticorps disponibles en infectiologie est assez limité en comparaison de celui destiné à l'oncologie ou aux maladies inflammatoires. En 2022 la FDA approuvait 7 anticorps monoclonaux pour le traitement de maladies infectieuses, alors que plus d'une centaine d'anticorps monoclonaux sont approuvés dans la thérapeutique par la FDA (Tableau 7)[135]. Cependant le développement d'autres anticorps monoclonaux pour traiter les maladies infectieuses est en cours, notamment le virus Ebola, l'hépatite B et C, le virus de l'herpès simplex, entre autres[136]. Cet engouement pour les anticorps monoclonaux est notamment motivé par le problème croissant de l'antibiorésistance ainsi que par l'émergence de maladies virales telles que Ebola ou encore la menace que représente le bioterrorisme[137].

C'est dans ce contexte que des études portant sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux pour lutter contre *Yersinia pestis* ont vu le jour. Deux études, réalisées sur des souris, sont intéressantes. Elles ont pour objectif d'évaluer l'effet protecteur d'anticorps monoclonaux administrés en prophylaxie d'une exposition potentielle à *Yersinia pestis*[138,139].

La première étude, réalisée en 2016 par l'Institut de Biotechnologies de Beijing en Chine, a eu pour but de mesurer la capacité d'anticorps murins humanisés dirigés contre une forme recombinante de la Fraction 1 à empêcher le décès de souris contaminées par la peste. Les régions variables des chaînes légères et lourdes d'anticorps murins ont été liées aux fragments constants d'IgG1 humains. Les souris ont d'abord reçu les anticorps en IV avant d'être contaminées 24h plus tard par des bactéries *Yersinia pestis* injectées en sous cutané. Il ressort de cette étude que trois anticorps confèrent une protection contre le bacille de la peste. L'un d'eux, F2H5, confère une protection totale avec un taux de survie de 100% à 24 jours (5/5 individus ayant survécu 24 jours ou plus) par rapport au groupe contrôle où le taux de survie était de 0% à 4 jours (0/5 individus ayant survécu 4 jours ou plus)[138].

La seconde étude, conduite en 2010 par le National Institute of Health aux Etats-Unis, a porté sur des anticorps humains dirigés contre la Fraction 1 mais aussi contre LcrV. 3 anticorps nommés m252, m253 et m254 ont été isolés pour leur affinité *in vitro* avec F1 (m252) et LcrV (m253 et m254). L'objectif de l'étude était similaire à celui de la première étude : mesurer la capacité de ces anticorps à empêcher le décès de souris contaminées par la peste. Les souris ont d'abord reçu les anticorps en injection intrapéritonéale avant d'être contaminées 24h plus tard par des bactéries *Yersinia pestis* injectées en sous cutané. Les résultats (Tableau 8), indiquent que l'anticorps m252 seul induit une protection (33% de survivants) tandis que les anticorps m253 et m254 n'induisent aucune protection (0% de survivants) mais aussi qu'une synergie semble se créer dans la protection lorsque l'on associe les 3 anticorps (83% de survivants)[139].

Groupe	Dose	Nombre d'individus	Survie à 21 jours	Durée moyenne de survie
Sérum normal de souris (contrôle négatif)	500µg	6	0% (0/6)	7,3 jours
Anticorps murin anti-F1 (contrôle positif)	500µg	6	100% (6/6)	21 jours
m252	500µg	6	33% (2/6)	11,3 jours
m253 + m254	500µg chacun	6	0% (0/6)	6,8 jours
m252 + m253 + m254	500µg chacun	6	83% (5/6)	14 jours

Tableau 8 : mesure du taux de survie à 21 jours et la durée moyenne de survie d'individus auquel on a administré une dose d'anticorps ou de sérum puis contaminés par *Y. pestis*. On constate que la combinaison des 3 anticorps m252, m253 et m254 montrait des résultats satisfaisants

L'utilisation d'anticorps monoclonaux dans la prévention de la peste est donc une option prophylactique à étudier chez l'humain. La Fraction 1 semble être une cible antigénique prometteuse dans le cadre d'une immunothérapie passive contre la peste. Cependant aucune étude ne se porte actuellement sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux dans le traitement de la peste. Mais, comme la montre le Raxibacumab, utilisé dans la prévention et le traitement de l'infection à *Bacillus anthracis*, la mise au point d'anticorps thérapeutiques est possible et demeure une des voies de recherche de traitements alternatifs aux antibiotiques face au problème de l'antibiorésistance.

### e. Phagothérapie

Selon le dictionnaire Larousse, un virus est un « Agent infectieux très petit, qui possède un seul type d'acide nucléique, ADN. ou ARN, et qui ne peut se reproduire qu'en parasitant une cellule.[140] ». La grippe saisonnière ou les coronavirus sont des exemples de virus communs. Mais les virus n'infectent pas seulement les organismes pluricellulaires. En effet certains virus ciblent des organismes unicellulaires tels que des bactéries[141].

Du grec *baktéria*, qui signifie « bâton », et *phagein*, qui signifie « manger », littéralement « mangeurs de bactéries », les bactériophages, aussi appelés phages ou virus bactériens, sont des virus parasitant spécifiquement les bactéries. Les bactériophages ont une morphologie caractéristique, avec une tête formée d'une capsid contenant le matériel génétique (ADN dans 95% des cas) ainsi qu'une queue permettant l'injection du matériel génétique directement dans la bactérie (Figure 10).

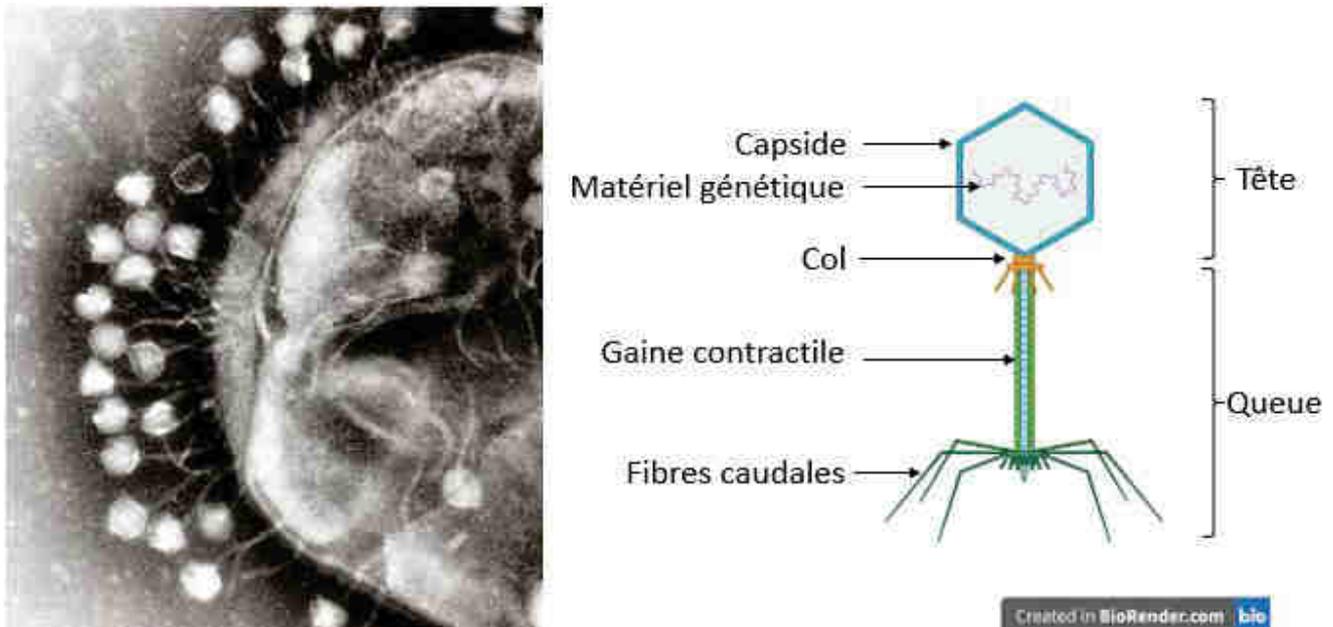


Figure 10 : A gauche : Photo au microscope électronique de bactériophages infectant une bactérie ; A droite : anatomie d'un bactériophage.

Découverts dans les années 1910, Félix d'Hérelle suggèrera dès 1919 que des phages lytiques pourraient être utilisés en médecine humaine pour traiter la peste. Il confirmera ses dires en 1925 en traitant avec succès 4 patients atteints de la peste en utilisant un phage de *Y. pestis* isolé en 1920 à partir de fientes de rat en Indochine[142].

Il participera ensuite avec d'autres membres de l'Institut Pasteur à l'étude de la phagothérapie antipesteuse à travers le monde. Certains bactériophages présenteront même de très bons résultats, avec un exemple en 1929 à Dakar où l'utilisation d'un phage chez 21 patients permettra la guérison de 15 d'entre eux[143].

Mais à cause d'une connaissance insuffisante de la biologie des phages ainsi que l'apparition des antibiotiques chimiques, les pays d'Europe de l'Ouest ont progressivement abandonné la pratique de la phagothérapie. Cependant l'URSS et les pays satellites ont continué à utiliser la phagothérapie durant la Guerre Froide en complément de l'antibiothérapie. Aujourd'hui encore la phagothérapie est utilisée dans ces régions[142,144,145]. Actuellement la recherche médicale se tourne de plus en plus vers les bactériophages et la phagothérapie pour faire face au problème croissant de l'antibiorésistance[145,146].

C'est dans ce contexte que divers projets de recherche ont été lancés afin d'étudier l'intérêt de l'utilisation de bactériophages contre *Yersinia pestis*.

L'intérêt principal des bactériophages est leur spécificité d'action : à chaque bactérie son bactériophage, le virus infectant et se multipliant uniquement dans la bactérie qui lui est spécifique, aboutissant à la mort de cette dernière tout en restant inoffensif pour la cellule eucaryote[141].

Pour montrer le potentiel de la phagothérapie dans le traitement de la peste nous allons analyser en détails 2 études portant au total sur 5 phages.

La première étude du Walter Reed Army Institute of Research aux Etats-Unis en 2012 porte sur Les phages L-413C,  $\Phi$ A1122, Pokrovskaya et Yep-phi et a pour but de tester la possibilité de l'utilisation de phages dans le traitement de la peste bubonique chez des modèles murins de peste bubonique. Ces modèles, des souris femelles BALB/c, ont été contaminées par injection sous-cutanée de la souche CO92 de *Y. pestis*[147].

Le choix de l'utilisation d'un phage en médecine humaine ne dépend pas seulement de son activité contre la bactérie ciblée. Etant un organisme possédant un matériel génétique codant pour diverses protéines, il faut qu'il ne présente pas de gène néfaste pour les humains. A cet égard, les génomes des phages  $\Phi$ A1122, L-413C et Yep-phi ne présentent aucun gène néfaste pour les animaux à sang chaud[147–150].

Il faut aussi tenir compte de la spécificité des phages pour la bactérie que l'on cherche à détruire. En effet l'un des avantages comparatifs supposé des phages est la spécificité pour la bactérie ciblée, contrairement aux antibiotiques qui sont d'une spécificité moindre et causent donc des dommages à la flore microbienne du patient en plus de s'attaquer au pathogène, entraînant d'autres problèmes de santé. La spécificité des phages L-413C et  $\Phi$ A1122 a été testée en mesurant leur capacité à infecter différentes souches de *Y. pestis*, différentes souches de *Y. pseudotuberculosis* ainsi que plusieurs souches de *E. coli*.

L-413C est actif sur quasiment toutes les souches de *Y. pestis* testées mais pas sur *Y. pseudotuberculosis*[151]. ΦA1122 quant à lui est actif sur quasiment toutes les souches de *Y. pestis* testées ainsi que sur certaines souches de *Y. pseudotuberculosis*[151,152]. Enfin les deux phages sont peu actifs sur *E. coli*[148,149,151]. Ce qui laisse supposer qu'ils n'ont que peu d'impact sur la flore bactérienne[147].

A l'issue de l'étude on constate que l'injection du phage ΦA1122 permet l'allongement du temps moyen de survie des souris, de 17 à 84% en fonction des doses de phages et des doses de bactéries injectées, et permet même une augmentation du taux de survie dans certains groupes par rapport aux groupes contrôles (alors que dans les groupes contrôles on constate un taux de survie de 0% (5/5 souris mortes), certains groupes test ont des taux de survie de 20 à 40% (1 à 2 souris survivantes sur 5 testées)). On peut en conclure que les phages peuvent jouer un rôle protecteur dans le cas d'un tableau de peste bubonique chez la souris et représentent donc un potentiel traitement en médecine humaine[147].

La deuxième étude réalisée par l'Israel Institute for Biological Research en 2022 se concentre sur les phages ΦA1122 et PST[153]. Lors de cette étude les chercheurs ont testé le potentiel thérapeutique de ces phages dans des modèles murins de peste pneumonique. Ces modèles, des souris femelles C57BL/6J, ont été contaminées avec la souche Kim53 de *Y. pestis* par voie intranasale. Au cours de ces tests, les phages ont été administrés seuls, en cocktail ou en cocktail avec de la ceftriaxone, un antibiotique efficace *in vitro* sur *Y. pestis* mais moins efficace *in vivo*[133].

L'administration d'une dose de phages ΦA1122 a permis d'allonger la durée moyenne de survie des souris, passant de 3 jours chez le groupe contrôle à 6 jours chez les groupes test. Cependant aucune des 61 souris venant des 4 groupes n'a survécu à l'expérience. Le fait de répéter les administrations de phages n'a pas été significatif dans la modification de la durée de survie moyenne et n'a pas permis la survie d'un seul individu. Le traitement par plusieurs doses de phage PST donne des résultats similaires : le temps de survie moyen est allongé mais seulement 10% des souris survivent (1/10). On constate que les phages seuls ont une capacité limitée à protéger les souris d'une peste pneumonique aigue. L'administration d'un mélange des deux phages n'a pas été plus efficace avec un taux de survie de 0%[153]

Chez ces mêmes souris un traitement à la ceftriaxone a permis un taux de survie de 20% (2/10). Cependant, l'association d'un traitement antibiotique à la ceftriaxone ainsi que du cocktail de phages testé précédemment a permis la survie de toutes les souris traitées (9/9). On constate ici que les bactériophages peuvent servir de traitement adjuvant à une antibiothérapie afin d'en augmenter

l'efficacité dans un tableau de peste chez la souris. Cela peut permettre l'utilisation d'antibiotiques moins efficaces que les antibiotiques recommandés dans le cas où ceux-ci seraient inefficaces[153].

L'utilisation de phages dans le traitement de la peste est une option thérapeutique intéressante. Elle n'est certes pas nécessaire lorsque les antibiotiques traditionnels sont efficaces, mais dans un cas où la bactérie serait résistante aux antibiotiques recommandés, l'utilisation de bactériophages en tant que traitement adjuvant d'une antibiothérapie de seconde intention est une solution potentielle.

Cependant, même si l'utilisation de la phagothérapie comme traitement adjuvant à l'antibiothérapie chez l'Homme réussit à être mise en place, il restera un pas à faire pour que les bactériophages atteignent vraiment leur plein potentiel dans le cadre du traitement de la peste. En effet, à l'image du bactériophage utilisé en 1929 à Dakar qui a permis la guérison de 15 patients [143] ou des phages utilisés dans les pays de l'Est dans la prise en charge d'infections bactériennes[154], les phages ont la possibilité de constituer un traitement principal et curatif pour des infections bactériennes comme la peste.

Il convient cependant de noter que, de la même manière que les bactéries acquièrent spontanément des résistances aux antibiotiques, elles sont tout aussi capables d'acquérir spontanément une résistance aux bactériophages.

La résistance aux phages peut se faire de nombreuses manières : altération ou perte d'un récepteur cellulaire bactérien, blocage du récepteur par la matrice extracellulaire bactérienne, inhibition de la pénétration de l'ADN du phage, production d'endonucléases de restriction modifiées dégradant l'ADN du phage, inhibition du développement intracellulaire du phage. Les mutations affectant le récepteur du phage sont les plus fréquentes causes de phagorésistance observées[155].

L'utilisation de cocktails de phages thérapeutiques permet de diminuer le risque d'apparition de phagorésistance car les mutants résistants à un bactériophage resteront sensibles à un autre composant du cocktail. Idéalement les bactériophages du cocktail devraient viser différents récepteurs de surface bactériens[156].

## **f. Vaccin**

Face à la menace épidémique, naturelle ou terroriste, que fait planer *Y. pestis* sur la société, de nombreuses recherches et d'initiatives publiques ou privées, s'orientent sur la mise au point d'un vaccin antipesteux. Cette recherche de vaccin devient encore plus nécessaire si l'on prend en compte la possible apparition de germes résistants aux traitements actuels.

## Vaccins atténués

Un vaccin vivant atténué est constitué d'agents infectieux atténués (virus, bactéries) : il crée une infection *a minima*, induisant une protection immunitaire proche de celle qui fait suite à une infection naturelle[157].

Les vaccins vivants disposent de nombreux avantages vis-à-vis des autres types de vaccin. Les vaccins vivants ont une grande complexité antigénique qui garantit une réponse immunitaire contre un grand nombre de cibles contrairement aux vaccins à sous-unités qui ne ciblent qu'un nombre restreint d'antigènes. De plus ces vaccins contiennent les antigènes dans leurs formes moléculaires natives et naturellement glycosylées. Les antigènes sont aussi produits de novo aussi longtemps que la bactérie persiste dans l'organisme, octroyant une stimulation prolongée du système immunitaire. Ces vaccins n'ont d'ailleurs pas besoin d'adjuvants, et ce grâce à la présence d'antigènes bactériens tels que le LPS qui stimulent le système immunitaire inné[158].

De plus, dans un contexte bioterroriste, les autorités doivent avoir accès rapidement à une grande quantité de vaccins afin de protéger la population au plus vite lors d'une attaque. Les vaccins recombinants nécessitent des stocks importants devant être renouvelés régulièrement du fait de la péremption des stocks. De plus leur fabrication est compliquée, tandis que les vaccins vivants peuvent être produits beaucoup plus rapidement, diminuant la nécessité de réaliser des stocks. De plus, une fois développés et validés, les vaccins vivants permettent une production de masse à des coûts limités, permettant leur utilisation dans les zones d'endémies (généralement pauvres)[158]. Cependant ces vaccins sont contre-indiqués chez les personnes immunodéprimées et chez les femmes enceintes[159]

## Vaccins pour stimuler la réponse immunitaire innée

L'habilité des vaccins vivants à initier une réponse immunitaire adaptative efficace a été largement documentée. Cependant leur capacité à susciter une réponse immunitaire protectrice reste largement inconnue. Cet axe de recherche est intéressant car l'induction d'une réponse immunitaire protectrice rapide et non-spécifique par un vaccin vivant pourrait permettre de retarder la progression de l'infection et donner assez de temps pour la mise en route de la réponse immunitaire adaptative plus lente[160].

La souche EV76 de *Y. pestis* a déjà été utilisée en tant que vaccin vivant atténué contre la peste. Cette souche a pour particularité la délétion du locus de pigmentation (*pgm*). Cependant elle présente de nombreux effets indésirables et des limites dans son efficacité qui la rendent moins attrayante que les autres types de vaccins en développement[29,102].

La souche EV76 a fait l'objet d'une étude de l'Israel Institute for Biological Research en 2017 visant à caractériser sa capacité à promouvoir une réponse immunitaire immédiate contre la peste bubonique et pulmonaire. En effet, la coadministration par voie sous-cutanée du vaccin ( $1 \times 10^7$  CFU) avec une souche de *Y. pestis* virulente (100 DL50 de Kim53) à des souris C57BL/6 a montré une capacité à protéger ces souris (taux de survie de 91%) par rapport au groupe contrôle (taux de survie de 0%) ainsi que par rapport à une autre souche de vaccin vivant atténué (Kim53 $\Delta$ 70 $\Delta$ 10 ; taux de survie de 0%). Les résultats vont dans le même sens lors d'une infection par voie intranasale. En effet les souris vaccinées 48 heures plus tôt ( $1 \times 10^7$  CFU d'EV76 en SC) puis infectées avec la souche Kim53 ( $1 \times 10^4$  CFU en IN) ont un taux de survie de 60%. Ce taux de survie s'effondre lors d'une coadministration des mêmes doses, puisqu'aucune souris ne survit. Il faut tout de même noter que cette coadministration augmente la durée moyenne de survie des souris de 3 à 6,8 jours, dénotant tout de même un effet protecteur du vaccin. Le groupe contrôle a un taux de survie de 0% [160].

L'exposition à la souche EV76 induit un puissant mécanisme protecteur dans une fenêtre de temps inférieure à 4 jours, ce qui est bien plus court que le temps usuellement requis pour la manifestation d'une réponse immunitaire adaptative [160].

La coadministration de la souche EV76 avec une souche virulente de *Y. pestis* restreint la croissance et la dissémination des bactéries de la souche virulente. En effet chez les souris contrôle les bactéries se répandent en environ 5 jours dans l'intégralité de l'organisme (mort de 4 des 6 sujets dans les 5 jours) tandis que les souris coadministrées montraient une quasi-absence de traces de dissémination de la bactérie virulente (survie des 6 sujets). Le test de culture dans du sérum de souris vaccinées 24 heures avant a montré une croissance inhibée par rapport au groupe contrôle négatif, suggérant une activité antimicrobienne d'origine protéique. Cette hypothèse est confirmée par l'introduction dans le sérum de protéinase K, enzymes dégradant les protéines, qui a totalement annulée cette activité protectrice. Cette activité antimicrobienne n'est pas retrouvée dans le sérum de souris vaccinées avec la souche Kim53 $\Delta$ 70 $\Delta$ 10, confirmant que cet effet est spécifique de la souche EV76. Par ailleurs cet effet perdure dans le sérum collecté 13 jours après l'immunisation [160].

Les tentatives d'identifications des protéines responsables de cet effet ont isolé la transferrine, protéine chélatrice du fer, et l'hémopexine, protéine chélatrice de l'hème, molécule contenant un atome de fer. Ces protéines sont impliquées dans l'immunité nutritionnelle, qui fait partie du système immunitaire inné. Leur action vise à diminuer les taux de fer disponible, privant ainsi les bactéries du fer nécessaire à leur croissance et leur dissémination dans l'hôte [161,162]. Le taux de ces protéines est augmenté dans le sérum des souris 24 heures après la vaccination et reste élevé pendant au moins 4 jours. La réversion des effets inhibiteurs de la croissance bactérienne par l'ajout de fer dextran au sérum dans lequel sont cultivées les bactéries finit d'asseoir cette hypothèse en montrant qu'une

supplémentation en fer libre permet à nouveau la croissance bactérienne, et donc que c'est la chélation du fer qui l'empêchait[160].

L'utilisation potentielle de vaccins vivant atténués pour stimuler une réponse immunitaire innée pourrait être intéressante dans le cadre d'une prophylaxie contre une exposition possible et proche à *Y. pestis*, dans le cadre d'une épidémie par exemple. Cette technique, outre l'avantage d'une protection immunitaire précoce pourrait aussi permettre de laisser le temps à une réponse immunitaire adaptative de se mettre en place. Cependant il est nécessaire d'étudier plus avant afin d'établir des schémas posologiques et d'identifier les souches optimales pour cette technique[160].

### Vaccins pour stimuler la réponse immunitaire adaptative

L'apparition de *Y. pestis* en tant qu'espèce de bactérie pathogène indépendante est assez récente. En effet il serait plausible que *Y. pestis* soit une lignée très jeune ayant dérivé il y a 1 500 à 20 000 ans de *Yersinia pseudotuberculosis*[26]. Une étude portant sur la similarité entre les deux espèces a conclu que *Y. pestis* n'avait acquis que 32 gènes chromosomiques et deux plasmides depuis son schisme génétique avec *Y. pseudotuberculosis*. De ce fait, il a été conclu que les deux espèces étaient très proches génétiquement. Cependant, malgré leur proximité génétique, les deux bactéries diffèrent grandement dans leur pathogénicité et transmission[163].

En effet, *Y. pseudotuberculosis* cause une maladie entérique peu grave chez l'Homme et les animaux tandis que *Y. pestis* est l'agent causal de la peste, une maladie à la mortalité élevée classée parmi les maladies les plus dangereuses pouvant affecter l'être humain.

L'hypothèse de l'utilisation d'une souche recombinante atténuée de *Y. pseudotuberculosis* en tant que vaccin contre la peste a donc émergé. Le concept n'est pas nouveau, en effet le premier vaccin à avoir été mis au point était dirigé contre la variole et contenait le virus de la vaccine (ou variole de la vache), un virus génétiquement proche du terrible virus de la variole humaine, mais totalement inoffensif pour l'Homme et qui octroyait une immunité croisée contre la variole.

Cette idée d'utiliser l'immunité croisée contre la peste a été plébiscitée étant donné l'intérêt de l'utilisation d'une bactérie moins dangereuse que *Y. pestis* en tant que vaccin vivant atténué[164]. De plus, bien que proche génétiquement, *Y. pseudotuberculosis* présente un génome plus stable que celui de *Y. pestis*. En effet le génome de ce dernier est trop prompt à subir des réarrangements et délétions génétiques de par ses nombreuses séquences d'insertion[163]. Le génome de *Y. pseudotuberculosis* est quant à lui beaucoup plus stable, notamment parce qu'il possède moins de séquences d'insertion[158].

Outre sa stabilité génomique supérieure, *Y. pseudotuberculosis* présente d'autres avantages par rapport à *Y. pestis* dans un contexte de vaccination. En effet, *Y. pseudotuberculosis* est moins virulent

que *Y. pestis* et est une bactérie entérique qui peut aussi infecter les mammifères par voie orale, simplifiant le processus de vaccination tout en le rendant plus sûr[158].

Comme preuve de concept, l'Institut Pasteur a, en 2017, administré par voie orale à des souris la souche IP32680 de *Y. pseudotuberculosis*, naturellement avirulente. En a résulté une protection de 75% une dose équivalente à 150 DL50 de *Y. pestis* CO92 par voie sous-cutané (modèle de peste bubonique). L'administration d'une seconde dose a montré un taux de protection de 88%[165]. Cependant, la raison de cette avirulence étant inconnue, on ne peut estimer s'il y a un risque de réversion de cette souche qui lui ferait retrouver sa pathogénicité antérieure. Ce risque ne pouvant être exclu, les scientifiques ont jugé plus prudent de ne pas utiliser cette souche comme base pour un futur vaccin[158].

Cependant, après ce résultat encourageant, une autre souche de *Y. pseudotuberculosis*, la souche IP32953, a été sélectionnée pour être modifiée afin de l'utiliser comme vaccin contre *Y. pestis*.

En 2022, l'Institut Pasteur a réalisé la délétion de 3 facteurs de virulence du génome de la souche IP32953. C'est ainsi que le HPI, la toxine YopK et l'antigène PsaA/pH6 ont été retirées, ce qui a permis de générer la souche de *Y. pseudotuberculosis* V674. Les souris infectées avec cette souche ne présentaient aucun signe de maladie ni aucune perte de poids, tandis que celles infectées avec la souche IP32953 montraient des signes de maladie, une perte de poids avant de mourir. Ces 3 délétions ont donc permis de décroître la virulence de cette souche[166].

De plus il a été décidé de doter la souche V674 du matériel génétique nécessaire pour synthétiser la protéine capsulaire F1 spécifique de *Y. pestis*. En effet celle-ci n'a pas ou peu d'effet sur la virulence chez les souris mais joue un rôle clé dans l'immunité contre *Y. pestis*[167], il est donc crucial de l'incorporer parmi les antigènes exprimés par la souche vaccinale.

L'opéron *caf*, codant pour la protéine F1, a été introduit dans le chromosome de la souche V674, ce qui a contribué à créer la souche VTnF1. Les analyses ont montré que cette souche produisait des quantités de protéine F1 semblables à celles de *Y. pestis*[158].

Des études comparatives quant à la virulence des deux souches ont été réalisées par la suite sur des souris au sein de l'Institut Pasteur en 2016. Dans le cas des deux souches, lors d'une infection, la bactérie colonisait l'intestin et les plaques de Peyer (agrégats de follicules lymphoïdes situés dans la partie terminale de l'iléon) et parvenait jusqu'à la rate et au foie où elle se multipliait. Cependant la souche WT entraînait une nécrose massive des plaques de Peyer, de nombreux abcès ainsi que des infiltrations de polymorphonucléaires inflammatoires dans le foie et la rate. Au contraire, lors d'une infection avec VTnF1, ces organes n'étaient que peu affectés. Ces résultats sont corrélés par les

valeurs de DL50. En effet la DL50 de la souche WT (IP32953) était de  $10^8$  CFU tandis que celle de la souche VTnF1 était supérieure à  $10^{10}$  CFU[158].

Les analyses quant aux antigènes ciblés par les anticorps ont mis en évidence une réponse humorale de type IgG contre au moins 10 protéines majeures[158], ce qui prouve l'utilité du vaccin vivant car on retrouve une grande diversité d'antigènes ciblés par la réponse immunitaire adaptative.

Les essais précédemment menés par l'Institut Pasteur en 2008 pour mesurer la capacité de la souche VTnF1 à protéger les souris avaient déjà montré des résultats concluants. En effet, là ou une dose unique par voie orale de la souche IP32680 n'a protégé que 75% souris contre une inoculation en sous-cutané de 150 DL50 de *Y. pestis* CO92[165], 93% des souris vaccinées avec une unique dose de VTnF1 par voie orale ont survécu à une administration sous-cutané avec 10 000 DL50 de *Y. pestis* CO92. De plus on a constaté un taux de survie de 100% lors d'une administration par voie intranasale de 3 300 DL50 de *Y. pestis* CO92[158]. Ce vaccin est donc capable de protéger les souris contre la peste bubonique et pneumonique, prouvant que l'utilisation de l'immunité croisée dans le cas de la vaccination contre *Y. pestis* est possible.

Un des principaux défis de la vaccination est la variation antigénique. Dans le cas de *Y. pestis*, une souche déficiente en la protéine F1 a été découverte (souche « Bryans » décrite dans la partie 2.f)[94]. Cependant le vaccin basé sur la souche VTnF1 offre une protection complète contre les souches de *Y. pestis* F1 négatives (10 000 DL50 de *Y. pestis* CO92 F1 négatif en sous-cutané et 3000 DL50 de *Y. pestis* CO92 F1 négatif par voie intranasale). Ces résultats est permis par la diversité antigénique permise par le modèle d'un vaccin vivant utilisant une espèce génétiquement proche de la bactérie cible[158].

Cette étude montre donc qu'un potentiel vaccin vivant contre la peste est donc envisageable, ce qui permettrait de profiter de tous les avantages d'un vaccin vivant qui, de plus, serait facilement administrable à la population à faible coût.

### **Vaccin à sous-unités**

Un vaccin à sous-unité est « composé de sous-unités de l'agent infectieux. Ces sous-unités sont généralement des protéines capables de déclencher une réponse immunitaire neutralisante »[168]. Les vaccins à sous-unité utilisent des antigènes précis en lieu et place de l'agent infectieux en totalité.

Les recherches sur les vaccins à sous-unités dans le cadre de la peste se concentrent quasi-exclusivement sur deux protéines : LcrV et l'antigène F1 [164].

Les essais cliniques de vaccins à sous-unité LcrV et F1 (RypVax™, rV10 et rF1-V) ont commencé il y a à peu près 20 ans[169] :

- ➔ RypVax™ est produit par Pharmathene Inc. Il s'agit d'un vaccin recombinant contre la peste comprenant des antigènes recombinants F1 (rF1) et LcrV (rV) produits par *E. coli*[169]
- ➔ rF1-V a été initialement développé par la USAMRIID. Il s'agit d'un vaccin à sous-unités utilisant un F1 recombinant (rF1) ainsi qu'un LcrV recombinant (rV). Il est actuellement étudié et développé par la Dynport Vaccine Company sous contrat avec le département de la défense des Etats-Unis[169]
- ➔ rV10 est une forme tronquée de LcrV développée par le groupe Schneewind's en 2011 et est actuellement en train de subir un examen préalable à l'autorisation d'un nouveau médicament par la FDA pour de futurs essais de phase I[169]

Lors d'une étude menée par les départements de microbiologie de l'Université de Chicago en 2011, les immunisations avec rF1-V et rV10 ont toutes deux induit une production d'anticorps spécifiques dirigés contre les épitopes des antigènes injectés chez les cochons d'Inde ainsi que les souris et ont permis la survie des animaux après administration intranasale de 1000 fois la DL50 de *Y. pestis* CO92 (tandis que les contrôles négatifs sont tous morts)[170].

Une forme dérivée du rV10, le rV10-2 a été utilisée pour immuniser des souris, rats, cochons d'Inde ainsi que des primates non-humains (singes cynomolgus ainsi que singes verts). Cette sous-unité a permis de protéger les souris, rats et cochons d'Inde d'une administration intranasale de 1000 DL50 de *Y. pestis* CO92. Les primates non-humains ont quant à eux été infectés par voie intranasale avec 50 DL50 de *Y. pestis* CO92. Tandis que tous les cynomolgus immunisés ont survécu (50% de mortalité dans le groupe contrôle non immunisé), les singes verts immunisés ont quant à eux un taux de survie de 33% (100% de mortalité dans le groupe contrôle non immunisé) malgré une sécrétion d'anticorps importante[170].

La différence d'efficacité du vaccin à rV10-2 entre les primates non humains peut-être expliquée par différents facteurs. Une des hypothèses est une différence dans l'activité phagocytaire entre les différentes espèces, activité médiée entre autres par le TNF- $\alpha$  et l'IFN- $\gamma$ . Cette hypothèse est renforcée par des tests dans lesquels on constate que la protection conférée par un sérum de convalescents de la peste pneumonique voit son efficacité protectrice diminuée voire neutralisée en l'absence d'activité de TNF- $\alpha$  et IFN- $\gamma$ . De même ces deux cytokines contribuent à la protection contre l'infection même en l'absence d'anticorps spécifiques à *Y. pestis*, ce qui suggère que les cytokines et les anticorps protègent de l'infection par des voies indépendantes et distinctes mais qu'une certaine synergie existe tout de même. Il est donc suggéré de compléter les vaccins à sous-unité F1/LcrV avec des adjuvants et/ou des antigènes capables d'amorcer les cellules T mémoire pour leur permettre de produire rapidement des cytokines en réponse à l'infection par *Y. pestis*[171].

Différents projets ont eu pour but d'améliorer l'immunogénicité des vaccins[164].

Le domaine II de la Heat Shock Protein 70 (HSP70(II)) de *Mycobacterium tuberculosis* utilisé comme immunomodulateur a été capable de stimuler une réponse des cellules T efficace. De plus la protéine de fusion ovalbumine-HSP70(II) était suffisante pour susciter une réponse immunitaire de la part des LTCD8+ spécifique de l'ovalbumine[164,172].

Une protéine trivalente constituée de F1, LcrV et du domaine II de HSP70 (F1-LcrV-HSP70(II)) a été mise au point par l'Établissement de recherche et de développement pour la défense indien en 2016 afin d'augmenter l'immunogénicité du vaccin à sous-unité F1-LcrV. Des tests comparatifs ont été menés sur des souris BALB/c ayant été immunisées avec les deux types de vaccin. Dans les deux cas la protection était complète avec un taux de survie de 100% dans chaque groupe face à 100 DL50 de *Y. pestis* de la souche S1. Cependant en analysant la fonction immunitaire en détail on remarque une augmentation du taux d'IgG spécifiques des protéines de fusion dans le groupe des souris immunisées avec F1-LcrV-HSP70(II). En détail, les taux d'IgG1, IgG2b et IgG3 étaient supérieurs dans le groupe F1-LcrV-HSP70(II) (celui d'IgG2a était identique entre les deux groupes. De plus les taux d'IL-2, TNF- $\alpha$  et IFN- $\gamma$  après stimulation de splénocytes des souris immunisées avec les antigènes immunisants était supérieurs dans le groupe des souris immunisées avec F1-LcrV-HSP70(II)[173].

De la même manière lors d'une étude menée à l'Université de Saint-Louis en 2017, l'utilisation de flagelline recombinante comme adjuvant dans un vaccin à base de protéine F1 a montré une induction d'une réponse humorale plus forte chez les souris BALB/c avec des taux d'IgG plus élevés par rapport au groupe vacciné avec le seul F1. Le taux de survie à une administration intranasale de *Y. pestis* CO92 était de 93% contre 7% pour le groupe témoin. De même l'immunisation de cynomolgus avec une protéine recombinante Flagelline-F1-LcrV a entraîné une augmentation importante du taux sérique d'IgG spécifiques de F1/V[174]. Des essais cliniques de phase I d'un vaccin Flagelline/F1/LcrV ont été conduits sur 60 sujets sains, révélant une absence de réactogénicité particulière ainsi qu'une réponse anticorps anti-F1, anti-LcrV et anti-flagelline forte et dose-dépendante par rapport au groupe placebo[175].

Ces trois études montrent donc qu'il est possible, comme il l'a été suggéré, d'ajouter un antigène afin d'augmenter la réponse immunitaire et donc l'efficacité du vaccin.

*Y. pestis* est, au même titre que d'autres pathogènes tels que *Bacillus anthracis*, classé par le CDC comme une arme biologique de catégorie A[19]. C'est dans ce cadre que des recherches de vaccins protégeant contre plusieurs agents pathogènes potentiellement utilisables à des fins de bioterrorisme ont été menées.

Une semaine après les attaques du 11 septembre 2001, des enveloppes piégées avec le bacille du charbon, *Bacillus anthracis*, furent envoyées à différents grands médias new-yorkais ainsi qu'à deux sénateurs américains. Le bilan final de ces lettres empoisonnées fut de 22 contaminations dont 5 morts[176].

En réponse aux inquiétudes soulevées vis-à-vis de l'utilisation de cette bactérie dans le cadre de bioterrorisme ou d'une guerre bactériologique, des recherches ont débuté sur la mise au point d'un vaccin combiné visant *Y. pestis* ainsi que la toxine du charbon de *B. anthracis*. Dans ce cadre, plusieurs organismes de recherche américains ont mis au point en 2017 une protéine trivalente soluble composée d'une version mutée de F1, de LcrV et de l'antigène protecteur (PA), fragment de la toxine du charbon de *B. anthracis*. Le triple antigène a conféré une protection contre une administration simultanée de *Y. pestis* CO92 et de toxine du charbon à des souris, des lapins et des rats[177]. Dès lors, on peut être amenés à considérer cette technologie comme un premier pas vers un vaccin prophylactique pour prévenir d'une attaque bioterroriste avec *B. anthracis* et/ou *Y. pestis*[164].

### **Vaccins vectorisés contre la peste**

Un vecteur est une « structure moléculaire, particulière ou virale, utilisée pour transporter un principe actif vers son site d'action »[178]. Des micro-organismes, des agents pathogènes et certaines bactéries commensales génétiquement atténués peuvent être modifiés pour délivrer des antigènes recombinants afin de stimuler le système immunitaire de l'hôte[179], on parle dès lors de vaccins vectorisés.

L'utilisation d'une souche de *Salmonella enterica* sérovar Typhimurium vivant atténué exprimant plusieurs antigènes de la bactérie *Y. pestis* par l'Université d'Etat de l'Arizona en 2016 a eu pour but de créer un vaccin vivant vectorisé contre *Y. pestis* (RASV : recombinant attenuated *Salmonella* Typhimurium vaccine). Ces antigènes sont LcrV196 (résidus 131 à 326), le récepteur à la pesticine *psn* (*fyuA* étant l'orthologue de *psn*[180]) ainsi que F1. Cette modification de *Salmonella enterica* permettrait à la bactérie d'exprimer les antigènes de *Y. pestis* qui seraient reconnus par le système immunitaire et créerait donc une mémoire immunitaire. Cette mémoire pourrait ensuite être amenée à juguler une réelle infection par *Y. pestis*[181]. L'immunisation par voie orale de souris BALB/c avec la souche  $\chi$ 12094 de RASV a offert une protection totale contre 570 DL50 de *Y. pestis* CO92 en sous cutané (taux de survie de 100%) et a offert 60% de protection contre 50 DL50 de *Y. pestis* CO92 par voie intranasale (taux de survie de 60%), tandis que le groupe contrôle avait un taux de mortalité de 100% pour ces deux tests. De plus des essais de sécurité de cette souche de RASV sur des souris immunodéficientes n'ont pas montré de danger avec un taux de survie de 100% 60 jours après l'inoculation[181].

D'autres études se basent sur l'utilisation de vecteurs viraux pour la vaccination contre la peste est une option intéressante.

Une équipe de chercheurs de différents institut américains a testé en 2016 l'utilisation d'une souche d'adénovirus humain de type 5 dont la réplication est défectueuse. On entraîne l'expression par cet adénovirus d'un gène de fusion YFV contenant les gènes des protéines F1, LcrV et YcsF. Un schéma amorce-rappel dans lequel on administre d'abord une dose du vaccin trivalent en intranasal suivi d'une injection de rappel de l'antigène YFV purifié en intramusculaire a permis de protéger à 100% des macaques cynomolgus (4/4) contre une dose de *Y. pestis* CO92 aérosolisée. Le groupe témoin quant à lui n'a compté aucun survivant (0/4). Les macaques n'ont développé aucun symptôme de la peste et le pathogène a été éliminé sans provoquer de dommages[182].

L'utilisation du virus de la mosaïque du tabac (TMV) comme vecteur viral dans un vaccin contre la peste a aussi été testée lors d'une collaboration américano-néerlandaise en 2016. Ce virus infecte les plantes et est incapable de se répliquer chez les mammifères. Il a cependant été démontré qu'il interagissait et stimulait les cellules dendritiques chez la souris[183]. Il a également démontré qu'il pouvait servir de vecteur dans un vaccin contre la tularémie[184] ainsi que contre la grippe H1N1[185]. Dans le cadre du vaccin contre la peste, l'administration par voie intranasale d'une version du TMV conjuguée avec F1 ou avec LcrV et F1 a permis de totalement protéger des souris C57BL/6 contre une administration de 10 DL50 de *Y. pestis* CO92pgm- (100% de survie contre 0% pour le groupe témoin). On a également un taux de survie de 100% avec un vaccin à sous-unité LcrV et F1 recombinant en intramusculaire[186].

Ces deux études permettent de démontrer comme faisable la mise au point de vaccins antipesteux vectorisés à base de virus.

L'utilisation de vaccins comme moyens de prévention va au-delà de la seule vaccination humaine. On peut citer par exemple des programmes à l'œuvre dans divers pays européens de vaccination antirabique de la faune sauvage au moyen d'appâts dans lesquels est présent une forme orale de vaccin contre la rage[187]. Ces programmes ont été réévalués en 2015 par l'EFSA (European Food Safety Authority) qui a jugé qu'ils « ont réussi à éliminer la rage de la faune sauvage terrestre » tout en pointant qu'une « stratégie à long terme, une continuité temporelle de la vaccination et une coopération transfrontalière sont nécessaires et recommandées »[188].

La sélection du vecteur est très importante pour réaliser ce genre de vaccin. En effet le vecteur doit être stable dans l'appât et avoir la capacité d'infecter l'animal par voie orale. Dans ce cadre, le virus de la variole du raton laveur (RCN) est un candidat intéressant de par le fait qu'il soit stable même au sein de l'appât distribué dans l'environnement et qu'il soit virulent par voie orale[189]. En

2010 une collaboration d'instituts américains a construit 2 souches du virus : RCN-F1 couplée à la protéine F1 et RCN-V307 couplée à une forme tronquée de LcrV. La consommation d'appâts contenant ces deux souches par des chiens de prairie à queue noire (*Cynomys ludovicianus*) leur a octroyé une protection contre une infection par *Y. pestis* supérieure à celle des animaux contrôle (taux de survie de 94% contre 7% respectivement)[189]. D'autres études ont permis de montrer que l'utilisation d'un vaccin animal contre la peste dans les zones d'endémie de la peste permet de protéger les populations de chiens de prairie contre la peste[190,191]. L'utilisation de vaccins contre la peste sauvage pourrait amener à une diminution de la circulation de la peste dans les zones d'endémie et donc diminuer le risque de transmission à l'humain.

La vectorisation peut ne pas s'appuyer sur un être vivant mais sur un composant biologique sans génome. On peut citer par exemple la vaccination contre les infections invasives à méningocoque B avec le vaccin Bexsero®, composé de vésicules de la membrane externe (VME) de méningocoques du groupe B[192]. Les VME sont des vésicules de petite taille (20 à 200nm) relarguées par un large éventail de bactéries Gram- à partir de renflements de leur membrane externe. Ces vésicules sont sécrétées en réponse à un stress bactérien et ont des rôles dans l'acquisition de nutriments, le développement de biofilms et la pathogenèse[193]. La composition des VME en fait des activateurs du système immunitaire inné et acquis. En effet, en plus du LPS, qui est un immunomodulateur puissant, les VME contiennent des porines et d'autres activateurs de l'immunité capables de déclencher une réponse du système immunitaire acquis et d'induire une mémoire immunitaire[194].

Plusieurs projets de recherche de vaccin vectorisé contre *Y. pestis* s'appuient sur l'utilisation de VME.

Des chercheurs de la faculté de médecine de l'Université de Boston ont essayé en 2021 d'utiliser d'une souche PB1<sup>+</sup> de *Y. pseudotuberculosis*. Cette souche a été modifiée en y ajoutant un plasmide, les pSMV13, pour entraîner la synthèse de la protéine LcrV de *Y. pestis*. On a constaté une augmentation de la production de VME par les souches modifiées de *Y. pseudotuberculosis*, VME contenant un haut taux de protéine LcrV. La vaccination de souris Swiss Webster au moyen de ces VME permet une protection complète des souris vaccinées contre 400 DL50 de *Y. pestis* KIM6+ par voie nasale (100% mortalité dans le groupe contrôle) et contre 50 000 DL50 de *Y. pestis* KIM6+ par voie sous-cutanée (100% de mortalité dans le groupe contrôle). L'utilisation de VME comme vecteur pour la vaccination contre *Y. pestis* est donc possible et efficace chez la souris[195].

De même, une souche mutée de *Y. pestis* synthétisant une forme adjuvante de lipide A a montré une capacité accrue à générer des VME. Ce lipide A a subi une déphosphorylation et est donc un lipide A monophosphorylé[196]. Cette forme montre une puissante action adjuvante mais est 100 à 100 000

fois moins toxique que le lipide A biphosphorylé natif[197]. La souche mutée montre une capacité accrue à générer des VME. Cependant les VME contiennent les facteurs de virulence Yops qui ont une action sur la réponse immunitaire. Cinq d'entre eux (YopE, YopJ, YopH, YopM et YopT) sont codés par le plasmide pCD1, qui code aussi la protéine LcrV ; Ce plasmide a donc été retiré et remplacé par le plasmide Bla-V contenant la partie N-terminal de la séquence signal de la  $\beta$ -lactamase fusionnée avec la protéine Lcr-V. Cette construction a été réalisée afin de faciliter la sécrétion de la protéine dans le périplasme. De même, dans cette volonté d'éliminer des VME les toxines produites par *Y. pestis*, on a retiré le plasmide pPCP1, codant l'activateur du plasminogène *pla*, ainsi que le gène *ymt* porté par le plasmide pMT1 codant pour la toxine murine[198].

L'immunisation de souris Swiss Webster avec les VME de *Y. pestis* muté a permis une protection complète contre une infection avec 800 000 DL50 de *Y. pestis* KIM6+ en sous-cutané (0% de survie dans le groupe contrôle négatif et 80% de survie chez les groupes immunisés avec LcrV seul et rF1-V) ainsi qu'une protection complète contre une infection avec 5 000 DL50 de *Y. pestis* KIM6+ en intranasal (0% de survie dans le groupe contrôle négatif et 60% de survie chez les groupes immunisés avec LcrV seul et rF1-V)[198].

#### **g. Bactériocines modifiées**

Les bactériocines sont des toxines protéiques synthétisées par des bactéries et qui ne tuent que les bactéries étroitement apparentées à l'espèce productrice. Par exemple, certaines souches d'*Escherichia coli* produisent des colicines qui ne tuent que les bactéries *E. coli* ainsi que les membres étroitement apparentés de la famille des entérobactéries. Il existe de nombreuses colicines différentes ayant des mécanismes d'action différents[199].

Les colicines, comme toutes les bactériocines, sont codées par des gènes présents sur des plasmides. En plus du gène codant la bactériocine, aussi appelé gène d'activité, les plasmides codant pour les toxines possèdent aussi un gène d'immunité qui octroie une résistance à la toxine, afin d'éviter que la bactérie ne se suicide, ainsi qu'un gène de lyse[199]. Ce gène de lyse permet le relargage des colicines via une quasi-dégradation des membranes cellulaires[200]. Les gènes d'activité (*a*), d'immunité (*i*) et de lyse (*l*) sont toujours proches les uns des autres sur le plasmide dans l'ordre *ail*[199].

Certaines souches de *Yersinia pestis* portent elles aussi un plasmide capable de coder pour une bactériocine, la pesticine qui est portée par le plasmide pPCP1. Contrairement aux nombreuses variétés de colicines, il n'existe qu'une seule pesticine[199]. L'opéron *pst* contenant le gène de la pesticine possède aussi le gène d'immunité à la pesticine la protéine d'immunité (*Pim*) mais pas le gène de lyse,

qui est totalement absent du plasmide pPCP1. L'absence de protéine de lyse entraîne la rétention de presque 90% de la pesticine à l'intérieur de la bactérie[200].

La pesticine est reconnue par la protéine *FyuA* (Ferric yersiniabactin uptake receptor) qui est un récepteur présent dans la membrane externe de la bactérie *Yersinia pestis*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis* et certaines souches de *Escherichia coli*[201–203]. Le récepteur *FyuA* est nécessaire à la virulence de *Y. pestis* dans les stades précoces de la forme bubonique de la peste. En effet *FyuA* permet la translocation à travers la membrane externe de la yersiniabactine, un sidérophore sécrété dans l'espace extracellulaire pour lier le fer(III) qui est ensuite réabsorbé par la cellule afin de répondre à ses besoins en fer[202]. C'est le contact avec ce récepteur qui permet la translocation de la pesticine dans le périplasme[200].

Une fois transloquée dans le périplasme la pesticine hydrolyse le peptidoglycane en clivant le lien glycosidique (activité muramidase) entre le C1 de l'acide N-acétylmuramique et le C4 de la N-acétylglucosamine. En l'absence d'une couche de peptidoglycane la membrane plasmique ne peut résister à la différence de pression osmotique plus longtemps et la cellule est lysée[200]. La présence de la protéine *Pim* dans le périplasme permet aux souches de *Y. pestis* possédant pPCP1 de résister à l'action de la pesticine qui hydrolyse le peptidoglycane dans le périplasme[199,200]. La pesticine permet aux bactéries *Y. pestis* de faire une sélection des souches possédant toujours le plasmide PCP1, plasmide qui possède de nombreux autres facteurs de virulence. En éliminant les bactéries ayant perdu le plasmide les souches de *Y. pestis* sécrétant la pesticine maintiennent la virulence maximale de la souche[202].

La pesticine, comme toutes les bactériocines, est composée d'un domaine de translocation en N-terminal ( $Pst^T$ ), d'un domaine intermédiaire de liaison au récepteur *FyuA* ( $Pst^L$ ) et d'un domaine d'activité en C-terminal ( $Pst^A$ )[200].

Le domaine d'activité de la pesticine est un homologue du lysozyme T4 (T4L), une muramidase du bactériophage T4 infectant *E. coli*. Le repliement des sites actifs des deux enzymes est similaire, mais les résidus du T4L impliqués dans la liaison et l'hydrolyse du substrat diffèrent en partie.  $Pst^A$  et T4L partagent aussi l'activité muramidase (hydrolyse du peptidoglycane en clivant la liaison glycosidique entre C1 de l'acide N-acétylmuramique et C4 de la N-acétylglucosamine)[200].

Des lysozymes de phages purifiées représentent une alternative aux antibiotiques traditionnels[202]. Certains ont été développés pour lutter contre des bactéries Gram positives telles que *Bacillus anthracis* ou *Streptococcus pneumoniae*[204,205]. Chez les bactéries Gram positives le peptidoglycane est directement accessible, contrairement aux bactéries Gram négatives qui résistent à ces lysozymes grâce à la membrane externe qui protège le peptidoglycane et empêche donc les lysozymes d'agir[202].

C'est dans ce contexte qu'a été façonnée une protéine hybride (Pst-T4L) constituée des domaines Pst<sup>T</sup> et Pst<sup>L</sup> de la pesticine et du lysozyme T4 qui remplace le domaine Pst<sup>A</sup>. Le présupposé est que l'utilisation des domaines de liaison et de translocation de la pesticine permettra de faire pénétrer la protéine dans le périplasme des bactéries *Y. pestis* et que la présence du lysozyme T4 permettra la dégradation du peptidoglycane entraînant la lyse de la cellule, malgré la présence chez certaines souches de *Y. pestis* de la *Pim*[202].

Des tests d'activité ont été réalisés in vitro sur différentes souches bactériennes de différentes espèces pour comparer la pesticine et Pst-T4L dans leur capacité à lyser les bactéries en fonction de la présence de 2 protéines : *Pim* et *FyuA* (Tableau 9)[202].

Souche bactérienne	<i>Pim</i>	<i>FyuA</i>	Pesticine	Pst-T4L
<i>Y. pestis</i> KIM6+	+	+	Inactive	Active
<i>Y. pestis</i> KIM10+	-	+	Active	Active
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	-	±	Active	Active
<i>E. coli</i> ( <i>FyuA</i> +)	-	+	Active	Active
<i>E. coli</i> ( <i>FyuA</i> -)	-	-	Inactive	Inactive

Tableau 9 : Activité de la pesticine en fonction de la présence de certaines protéines. On constate que la présence de *FyuA* est nécessaire à l'activité des toxines du fait de leur inactivité vis-à-vis de *E. coli* *FyuA*-. On constate également que *Pim* assure l'immunité des bactéries à la pesticine mais pas à la protéine chimérique Pst-T4L du fait de l'inactivité de la seule pesticine contre *Y. pestis* KIM6+

On constate par l'intermédiaire de ces tests que la présence de *FyuA* est une condition *sine qua non* à l'action lytique des deux toxines. En effet les bactéries *E. coli* dépourvues de la protéine ne sont pas affectées par les toxines tandis que les bactéries *E. coli* la possédant sont lysées. On constate par ailleurs que *Pim* synthétisée par les bactéries possédant le plasmide PCP1 est impuissante à protéger les bactéries contre la toxine chimérique tandis qu'elle rend inactive la pesticine. Du fait de la nécessité de présence de *FyuA* et de l'inefficacité de *Pim* à son encontre, la toxine hybride permet donc l'extension de l'utilisation de toxines lytiques à toutes les bactéries exprimant *FyuA* à leur surface[202].

Les deux toxines semblent avoir une action différente. En effet la pesticine fait des trous discrets dans la membrane externe ce qui aboutit à la lyse des cellules tandis que l'hybride cause une vésiculation massive des membranes interne et externe résultant en la dégradation totale de la cellule. Bien qu'il semble dégrader le peptidoglycane de manière plus agressive que la pesticine, l'hybride doit être importée de manière moins efficace car l'efficacité globale de la pesticine était supérieure à celle de la lysine hybride[202].

Il pourrait être intéressant d'étudier des hybridations de la pesticine avec d'autres lysozymes afin d'améliorer le transport et/ou l'activité[202].

## 5. Conclusion

La découverte de souches de *Y. pestis* naturellement résistantes aux antibiotiques a fait planer une menace concrète sur la santé publique mondiale. La peste, fléau issu du plus profond des âges et ayant à de nombreuses reprises semé la mort dans le monde entier, acquiert dans ce contexte une caractéristique qui met en échec toutes les parades considérées comme efficaces contre elle : la capacité de résister aux traitements antibiotiques. Afin de répondre à cette menace, et dans le cadre plus global de la montée de l'antibiorésistance dans tout le règne bactérien, de nombreux projets de recherches ont émergé sous les impulsions d'organismes publics et privés, nationaux et internationaux, afin de trouver une ou plusieurs solutions à cette épée de Damoclès suspendue au-dessus de nos sociétés.

La réponse première face à l'antibiorésistance est de trouver de nouveaux antibiotiques efficaces contre la bactérie. On peut pour cela tester les antibiotiques existants ou alors en développer de nouveaux. Mais s'appuyer uniquement sur les antibiotiques pour régler ce problème n'est qu'une solution provisoire. En effet l'utilisation de nouveaux antibiotiques va être suivie du développement de résistances à ces antibiotiques, nécessitant d'en découvrir de nouveau dans une sorte de fuite en avant perpétuelle. De plus le manque d'innovation dans le domaine du développement des antibiotiques ainsi que le désintéressement du domaine privé permettent de douter de la viabilité de cette solution.

Depuis de nombreuses années, les autorités américaines, face aux épidémies successives de peste dans les colonies de rongeurs des Grandes Plaines de l'Ouest, ont mis en place un programme d'élimination des puces afin de diminuer la circulation de la peste sauvage. Malgré un coût humain et matériel assez important, on constate que les zones traitées sont relativement épargnées par la peste. Plus globalement, certains protocoles d'élimination des rongeurs et de leurs parasites sont préconisés dans les zones d'endémie afin de diminuer la circulation du bacille. Malgré tout, cette solution nécessite de gros moyens et une volonté de maintenir dans le temps les efforts fournis, ce qui la rend peu pratique et rend nécessaire une autre approche de lutte.

L'Homme a déjà réussi à éradiquer totalement un fléau microbiologique, la variole, grâce aux vaccins. Certaines pistes de recherche se sont donc tournées vers l'utilisation de vaccins dans la lutte contre *Y. pestis*. De nombreux projets semblent prometteurs, tant pour la vaccination humaine, afin de protéger la population, qu'animale, afin de suspendre la circulation de la peste dans ses réservoirs naturels. Cette solution représenterait une alternative efficace et durable au problème de l'antibiorésistance chez *Y. pestis*.

Les bactériophages, virus bactéricides, sont à l'image des vaccins une thérapie ancienne, antérieure aux antibiotiques. Cependant, contrairement aux vaccins, ils ont été abandonnés dans la médecine occidentale et il n'y avait guère plus que les pays du bloc soviétique pour maintenir leur utilisation au cours du 20<sup>ème</sup> siècle. Mais l'ascension de bactéries multirésistantes a permis aux bactériophages de ressortir de l'ombre. Dans le cadre de la peste, des projets ont été initiés dans le but de fournir une réponse bactériophagique contre la bactérie *Y. pestis*. Certains bactériophages montrent ainsi des résultats très intéressants chez la souris, laissant pressentir une potentielle utilisation chez l'humain. Cependant, à la manière de l'antibiorésistance, une phagorésistance peut apparaître chez les bactéries rendant inefficace la phagothérapie, posant les mêmes limites posées aux antibiotiques dans le cadre d'une utilisation thérapeutique courante des phages. L'utilisation de cocktails de phages permet de réduire drastiquement ce risque de résistance, ce qui fait des phages une solution supplémentaire dans la lutte contre les bactéries résistantes aux antibiotiques.

L'arsenal thérapeutique en infectiologie comprend, même s'ils sont peu nombreux, des anticorps monoclonaux pour le traitement de certaines pathologies humaines. Leur utilisation a été envisagée pour lutter contre *Y. pestis*. Une lignée dirigée contre F1 s'est avérée très efficace pour protéger les souris d'une infection ultérieure, permettant d'envisager leur utilisation en prophylaxie d'une exposition éventuelle au pathogène. D'autres études seront tout de même nécessaires pour mesurer sa capacité à soigner des patients déjà infectés. Cependant, il devient possible d'envisager que les anticorps monoclonaux pourront avoir une place dans l'arsenal thérapeutique pour lutter contre *Y. pestis*.

Une autre voie pour offrir un nouveau mode de thérapie contre la peste a été explorée. Afin de maintenir la virulence de sa propre espèce, de nombreuses bactéries possèdent un plasmide de virulence. Ce plasmide permet la sécrétion de toxines dirigées contre leurs congénères dépourvus de ce plasmide, à l'image des colicines sécrétées par *E. coli*. Ces toxines se nomment des endolysines. Cette méthode permet aux bactéries d'éliminer les moins virulentes d'entre elles, afin d'empêcher leur utilisation par le système immunitaire des potentiels hôtes pour développer une immunité contre les spécimens totalement virulents. *Y. pestis* agit de la même manière, en sécrétant la pesticine. Cependant, en modifiant cette endolysine, il est possible de lui donner la capacité d'éliminer toutes les

bactéries *Y. pestis*, même celles possédant le plasmide. Cette méthode a pour avantage d'être très sélective et efficace et représente un espoir thérapeutique, non seulement pour les bactéries *Y. pestis*, mais aussi pour toutes les bactéries sécrétant ce genre de toxines.

Lorsque la pénicilline s'est inscrite dans l'arsenal thérapeutique du médecin au milieu du 20<sup>ème</sup> siècle, beaucoup y ont vu une promesse, la promesse de la fin des septicémies, épidémies et autres problèmes liés aux bactéries. La découverte d'autres classes d'antibiotiques a renforcé cette idée. Cependant, ces dernières années, l'apparition de souches bactériennes résistantes à ces mêmes antibiotiques a porté un coup à cette promesse. De plus, l'apparition de résistance au sein de populations bactériennes considérées comme dangereuses telles que *Y. pestis* fait planer une menace gravissime sur les sociétés qui étaient jusqu'alors persuadées d'être sorties de cette ère. Face aux risques, de nombreux projets de recherches ont été mis en branle afin d'apporter une réponse à cette crise. Si l'antibiothérapie reste la seule méthode efficace contre *Y. pestis* chez l'humain, de nombreuses alternatives se développent au fur et à mesure. Du traditionnel vaccin à l'utilisation d'endolysines, en passant par les phages et les anticorps monoclonaux, de nombreuses solutions émergent afin d'empêcher le retour de ce fléau dans nos sociétés, pour qu'il reste à jamais un fantôme du passé cantonné aux livres d'histoire et de médecine.

Protéine Yop	Fonction
YopJ/YopP	<p>N-acétyltransférase qui cible les MAP kinases. Participe à la réponse inflammatoire observée au cours de la peste.</p> <p>Inhibe la production de cytokines inflammatoires par l'hôte infecté. Bloque l'activation cellulaire des MAPK ainsi que de NF-<math>\kappa</math>B.</p> <p>Induit l'apoptose des phagocytes via l'activation de caspases et l'inhibition de l'activation de NF-<math>\kappa</math>B.</p> <p>Régule négativement la réponse inflammatoire des macrophages, des cellules épithéliales et endothéliales en bloquant les voies de signalisation MAPK et NF-<math>\kappa</math>B.</p> <p>Inhibe la sécrétion de TNF-<math>\alpha</math> et d'IL-8 par les cellules endothéliales et les macrophages</p>
YopH	<p>Tyrosine phosphatase qui cible diverses protéines des cellules épithéliales et des macrophages. Inhibe la phagocytose <math>\beta</math>-intégrine dépendante.</p> <p>Déphosphoryle des protéines d'adhésion focal des phagocytes mono et polynucléés.</p> <p>Inhibe le dynamisme du cytosquelette</p> <p>Inhibe la production de cytokines inflammatoires par l'hôte infecté, notamment la production par les lymphocytes T ainsi que l'expression de la molécule costimulatrice B7.2 à la surface des lymphocytes B</p> <p>Inhibe l'activation des lymphocytes T en déphosphorylant la tyrosine kinase Lck qui perd son activité catalytique</p> <p>Déclenche l'apoptose des lymphocytes T par la voie mitochondriale</p>
YopE	<p>Activatrice de GTPases. Cause un arrondissement des cellules en bloquant les protéines Rho (RhoG) dans un état lié au GDP et en impactant le réseau d'actine.</p> <p>Inactive les GTPases de la famille Rho contrôlant la polymérisation de l'actine dans les cellules.</p>
YopT	<p>Protéase avec un domaine protéase à cystéine. Clive les résidus phényl de protéines telles que RhoA, Rac, Cdc42 induisant leur détachement de la membrane et leur inactivité.</p> <p>Inactive les GTPases de la famille Rho contrôlant la polymérisation de l'actine dans les cellules.</p>
YopO/YpkA	Protéine multifonctionnelle qui possède des domaines Ser/Thr kinase, un

	<p>domaine signal de sécrétion III et un domaine de fixation à l'actine. La protéine est inactive lors de sa sécrétion. Elle se fixe alors à l'actine puis s'autophosphoryle et devient active. L'activité kinase cible les protéines RhoA et Rac1.</p> <p>Inactive les GTPases de la famille Rho contrôlant la polymérisation de l'actine dans les cellules.</p>
YopM	<p>Protéine multifonctionnelle qui diminue le nombre de NK, diminue la sécrétion d'IFN- <math>\gamma</math> ainsi qu'une diminution de la synthèse d'espèces réactives de l'azote par les macrophages</p>

*Tableau 1 : tableau synthétisant l'activité des différentes protéines Yops (Yersinia outer proteins) et leurs effets sur la fonction immunitaire[31,206]*

## Bibliographie

- [1] Harbeck M, Seifert L, Hänsch S, Wagner DM, Birdsell D, Parise KL, et al. *Yersinia pestis* DNA from Skeletal Remains from the 6th Century AD Reveals Insights into Justinianic Plague. *PLoS Pathog* 2013;9:e1003349. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003349>.
- [2] Haensch S, Bianucci R, Signoli M, Rajerison M, Schultz M, Kacki S, et al. Distinct clones of *Yersinia pestis* caused the black death. *PLoS Pathog* 2010;6:e1001134. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001134>.
- [3] Weekly Epidemiological Record (WER), 26 February 2016, vol. 91, no. 8 (pp. 89–104) [EN/FR] - World | ReliefWeb n.d. <https://reliefweb.int/report/world/weekly-epidemiological-record-wer-26-february-2016-vol-91-no-8-pp-89-104-enfr> (accessed July 12, 2022).
- [4] Bertherat Eric, OMS. La peste dans le monde en 2019. *Relevé épidémiologique hebdomadaire* 2019;4.
- [5] Peste n.d. <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-transmissibles-de-l-animal-a-l-homme/peste> (accessed June 18, 2023).
- [6] La peste en 2007 n.d. <https://www.larevuedupraticien.fr/archive/la-peste-en-2007> (accessed July 12, 2022).
- [7] Sebbane F, Lemaître N. Antibiotic Therapy of Plague: A Review. *Biomolecules* 2021;11:724. <https://doi.org/10.3390/biom11050724>.
- [8] Coignard B. Antibiorésistance : la situation en France et dans le monde. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine* 2019;203:159–69. <https://doi.org/10.1016/j.banm.2019.02.006>.
- [9] Galimand M, Guiyoule A, Gerbaud G, Rasoamanana B, Chanteau S, Carniel E, et al. Multidrug Resistance in *Yersinia pestis* Mediated by a Transferable Plasmid. *New England Journal of Medicine* 1997;337:677–81. <https://doi.org/10.1056/NEJM199709043371004>.
- [10] Galimand M, Carniel E, Courvalin P. Resistance of *Yersinia pestis* to Antimicrobial Agents. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:3233–6. <https://doi.org/10.1128/AAC.00306-06>.
- [11] Dupont F. Pestes d'hier, pestes d'aujourd'hui. *Histoire, économie & société* 1984;3:511–24. <https://doi.org/10.3406/hes.1984.1370>.
- [12] DES GRANDES ÉPIDÉMIES 2022:25.
- [13] Martin PMV, Martin-Granel E. 2,500-year Evolution of the Term Epidemic - Volume 12, Number 6—June 2006 - *Emerging Infectious Diseases journal* - CDC n.d. <https://doi.org/10.3201/eid1206.051263>.
- [14] Two of History's Deadliest Plagues Were Linked, With Implications for Another Outbreak. *Animals* 2014. <https://www.nationalgeographic.com/animals/article/140129-justinian-plague-black-death-bacteria-bubonic-pandemic> (accessed March 13, 2023).
- [15] Klein Goldewijk K, Beusen A, van Drecht G, de Vos M. The HYDE 3.1 spatially explicit database of human-induced global land-use change over the past 12,000 years. *Global Ecology and Biogeography* 2011;20:73–86. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2010.00587.x>.
- [16] Halioua B. *Histoire de la médecine*. Masson; 2004.
- [17] Pasteur research pasteur fr-Institut. Evolution of immune genes is associated with the Black Death. *Research* n.d. <https://research.pasteur.fr/fr/publication/evolution-of-immune-genes-is-associated-with-the-black-death/> (accessed November 27, 2022).
- [18] Jodi. The History of Plague – Part 1. The Three Great Pandemics. *JMVH* n.d. <https://jmvh.org/article/the-history-of-plague-part-1-the-three-great-pandemics/> (accessed July 12, 2022).
- [19] CDC | Bioterrorism Agents/Diseases (by category) | Emergency Preparedness & Response 2019. <https://emergency.cdc.gov/agent/agentlist-category.asp> (accessed February 28, 2023).
- [20] Nelson CA. Antimicrobial Treatment and Prophylaxis of Plague: Recommendations for Naturally Acquired Infections and Bioterrorism Response. *MMWR Recomm Rep* 2021;70. <https://doi.org/10.15585/mmwr.rr7003a1>.
- [21] Wagar E. Bioterrorism and the Role of the Clinical Microbiology Laboratory. *Clin Microbiol Rev* 2016;29:175–89. <https://doi.org/10.1128/CMR.00033-15>.

- [22] Eitzen EM. HISTORICAL OVERVIEW OF BIOLOGICAL WARFARE n.d.:415–23.
- [23] Wu R, Trubl G, Taş N, Jansson JK. Permafrost as a potential pathogen reservoir. *One Earth* 2022;5:351–60. <https://doi.org/10.1016/j.oneear.2022.03.010>.
- [24] Fumat C. Bactériologie médicale: techniques usuelles. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson; 2016.
- [25] McNally A, Thomson NR, Reuter S, Wren BW. “Add, stir and reduce”: *Yersinia* spp. as model bacteria for pathogen evolution. *Nat Rev Microbiol* 2016;14:177–90. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2015.29>.
- [26] Achtman M, Zurth K, Morelli G, Torrea G, Guiyoule A, Carniel E. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:14043–8.
- [27] Wren BW. The *Yersinia*e — a model genus to study the rapid evolution of bacterial pathogens. *Nat Rev Microbiol* 2003;1:55–64. <https://doi.org/10.1038/nrmicro730>.
- [28] Kayser Fritz H. Manuel de poche de microbiologie médicale / Fritz H. Kayser, Erik Christian Böttger, Peter Deplazes... [et al.] ; traduction de la 13e édition allemande par Guy Freys,... 2e édition française. Paris: Lavoisier Médecine-Sciences; 2016.
- [29] Perry RD, Fetherston JD. *Yersinia pestis*--etiologic agent of plague. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:35–66. <https://doi.org/10.1128/CMR.10.1.35>.
- [30] Microbiologie générale et santé - Claudine Bosgiraud , AEMIP - Librairie Eyrolles. n.d.
- [31] Amedei A, Niccolai E, Marino L, D’Elios MM. Role of immune response in *Yersinia pestis* infection. *The Journal of Infection in Developing Countries* 2011;5:628–39. <https://doi.org/10.3855/jidc.1999>.
- [32] Sebbane F, Uversky VN, Anisimov AP. *Yersinia pestis* Plasminogen Activator. *Biomolecules* 2020;10:1554. <https://doi.org/10.3390/biom10111554>.
- [33] Castellino FJ, Ploplis VA. Structure and function of the plasminogen/plasmin system. *Thromb Haemost* 2005;93:647–54. <https://doi.org/10.1160/TH04-12-0842>.
- [34] Lottenberg R. A novel approach to explore the role of plasminogen in bacterial pathogenesis. *Trends Microbiol* 1997;5:466–7; discussion 468. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(97\)01171-2](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(97)01171-2).
- [35] Flevaris P, Vaughan D. The Role of Plasminogen Activator Inhibitor Type-1 in Fibrosis. *Semin Thromb Hemost* 2017;43:169–77. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1586228>.
- [36] Fussenegger M. Different Lifestyles of Human Pathogenic Procaryotes and Their Strategies for Phase and Antigenic Variation. *Symbiosis* 1997;22.
- [37] Sodeinde OA, Goguen JD. Nucleotide sequence of the plasminogen activator gene of *Yersinia pestis*: relationship to ompT of *Escherichia coli* and gene E of *Salmonella typhimurium*. *Infect Immun* 1989;57:1517–23.
- [38] Lindler LE, Plano GV, Burland V, Mayhew GF, Blattner FR. Complete DNA Sequence and Detailed Analysis of the *Yersinia pestis* KIM5 Plasmid Encoding Murine Toxin and Capsular Antigen. *Infect Immun* 1998;66:5731–42.
- [39] Du Y, Rosqvist R, Forsberg Å. Role of Fraction 1 Antigen of *Yersinia pestis* in Inhibition of Phagocytosis. *Infect Immun* 2002;70:1453–60. <https://doi.org/10.1128/IAI.70.3.1453-1460.2002>.
- [40] Hinnebusch BJ, Rudolph AE, Cherepanov P, Dixon JE, Schwan TG, Forsberg A. Role of *Yersinia murine* toxin in survival of *Yersinia pestis* in the midgut of the flea vector. *Science* 2002;296:733–5. <https://doi.org/10.1126/science.1069972>.
- [41] Hinnebusch J, Cherepanov P, Du Y, Rudolph A, Dixon JD, Schwan T, et al. Murine toxin of *Yersinia pestis* shows phospholipase D activity but is not required for virulence in mice. *International Journal of Medical Microbiology* 2000;290:483–7. [https://doi.org/10.1016/S1438-4221\(00\)80070-3](https://doi.org/10.1016/S1438-4221(00)80070-3).
- [42] Carniel E. The *Yersinia* high-pathogenicity island: an iron-uptake island. *Microbes Infect* 2001;3:561–9. [https://doi.org/10.1016/s1286-4579\(01\)01412-5](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(01)01412-5).
- [43] Guiyoule A, Grimont F, Itean I, Grimont PA, Lefèvre M, Carniel E. Plague pandemics investigated by ribotyping of *Yersinia pestis* strains. *J Clin Microbiol* 1994;32:634–41.

- [44] Mishra SS, Das R, Sahoo SN, Swain P. Chapter 14 - Biotechnological tools in diagnosis and control of emerging fish and shellfish diseases. In: Malik YS, Barh D, Azevedo V, Khurana SMP, editors. *Genomics and Biotechnological Advances in Veterinary, Poultry, and Fisheries*, Academic Press; 2020, p. 311–60. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816352-8.00014-X>.
- [45] Gage KL, Kosoy MY. Natural history of plague: perspectives from more than a century of research. *Annu Rev Entomol* 2005;50:505–28. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.50.071803.130337>.
- [46] Schaechter M, Medoff G, Eisenstein BI, Flandrois J-P. *Microbiologie et pathologie infectieuse / Schaechter, Medoff, Eisenstein; traduction et adaptation de la 2e éd. américaine, Marc Victor Assous, Anne-Lise Basse-Guérineau, Hervé Bourhy... [et al.]; préface de Jean-Pierre Flandrois. Bruxelles : Paris : De Boeck université; n.d.*
- [47] Christie AB, Chen TH, Elberg SS. Plague in camels and goats: their role in human epidemics. *J Infect Dis* 1980;141:724–6. <https://doi.org/10.1093/infdis/141.6.724>.
- [48] Ayyadurai S, Houhamdi L, Lepidi H, Nappez C, Raoult D, Drancourt M. Long-term persistence of virulent *Yersinia pestis* in soil. *Microbiology* 2008;154:2865–71. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/016154-0>.
- [49] Polet C. *Subir ou lutter contre les ectoparasites dans les populations du passé : l'apport de l'anthropologie biologique*, 2015.
- [50] Anisimov AP, Lindler LE, Pier GB. Intraspecific Diversity of *Yersinia pestis*. *Clin Microbiol Rev* 2004;17:434–64. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.2.434-464.2004>.
- [51] 3e édition du précis de bactériologie clinique - Jean Freney - Eska - Grand format - Librairie Gallimard PARIS. n.d.
- [52] Yang R, Cui Y, Bi Y. Perspectives on *Yersinia pestis*: A Model for Studying Zoonotic Pathogens. In: Yang R, Anisimov A, editors. *Yersinia pestis: Retrospective and Perspective*, Dordrecht: Springer Netherlands; 2016, p. 377–91. [https://doi.org/10.1007/978-94-024-0890-4\\_14](https://doi.org/10.1007/978-94-024-0890-4_14).
- [53] Connor MG, Pulsifer AR, Chung D, Rouchka EC, Ceresa BK, Lawrenz MB. *Yersinia pestis* Targets the Host Endosome Recycling Pathway during the Biogenesis of the *Yersinia*-Containing Vacuole To Avoid Killing by Macrophages. *MBio* 2018;9:e01800-17. <https://doi.org/10.1128/mBio.01800-17>.
- [54] Prentice MB, Rahalison L. Plague. *The Lancet* 2007;369:1196–207. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60566-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60566-2).
- [55] Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, Mandell GL, Douglas RG. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 2015.
- [56] Dennis DT, Gage KL, Gratz NG, Poland JD, Tikhomirov E, Control WHOED. *Plague manual : epidemiology, distribution, surveillance and control*. World Health Organization; 1999.
- [57] Koirala J. Plague: disease, management, and recognition of act of terrorism. *Infect Dis Clin North Am* 2006;20:273–87, viii. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2006.02.004>.
- [58] Inglesby TV, Dennis DT, Henderson DA, Bartlett JG, Ascher MS, Eitzen E, et al. Plague as a biological weapon: medical and public health management. Working Group on Civilian Biodefense. *JAMA* 2000;283:2281–90. <https://doi.org/10.1001/jama.283.17.2281>.
- [59] Kool JL, Weinstein RA. Risk of Person-to-Person Transmission of Pneumonic Plague. *Clinical Infectious Diseases* 2005;40:1166–72. <https://doi.org/10.1086/428617>.
- [60] Richard V, Riehm JM, Herindrainy P, Soanandrasana R, Ratsitoharina M, Rakotomanana F, et al. Pneumonic Plague Outbreak, Northern Madagascar, 2011. *Emerg Infect Dis* 2015;21:8–15. <https://doi.org/10.3201/eid2101.131828>.
- [61] Anderson DM, Ciletti NA, Lee-Lewis H, Elli D, Segal J, DeBord KL, et al. Pneumonic Plague Pathogenesis and Immunity in Brown Norway Rats. *Am J Pathol* 2009;174:910–21. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.071168>.
- [62] Pollitzer R, Organization WH. *Plague*. World Health Organization; 1954.
- [63] Fedorov VN. Plague in camels and its prevention in the USSR. *Bull World Health Organ* 1960;23:275–81.

- [64] Arbaji A, Kharabsheh S, Al-Azab S, Al-Kayed M, Amr ZS, Abu Baker M, et al. A 12-case outbreak of pharyngeal plague following the consumption of camel meat, in north-eastern Jordan. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* 2005;99:789–93. <https://doi.org/10.1179/136485905X65161>.
- [65] Chabaud A-G. Les arthropodes vecteurs de la peste bubonique (suite et fin). *Ann Parasitol Hum Comp* 1947;22:357–79. <https://doi.org/10.1051/parasite/1947225357>.
- [66] LaForce FM, Acharya IL, Stott G, Brachman PS, Kaufman AF, Clapp RF, et al. Clinical and epidemiological observations on an outbreak of plague in Nepal. *Bull World Health Organ* 1971;45:693–706.
- [67] Saeed AAB, Al-Hamdan NA, Fontaine RE. Plague from Eating Raw Camel Liver. *Emerg Infect Dis* 2005;11:1456–7. <https://doi.org/10.3201/eid1109.050081>.
- [68] Lukaszewski RA, Kenny DJ, Taylor R, Rees DGC, Hartley MG, Oyston PCF. Pathogenesis of *Yersinia pestis* infection in BALB/c mice: effects on host macrophages and neutrophils. *Infect Immun* 2005;73:7142–50. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.11.7142-7150.2005>.
- [69] Elvin SJ, Williamson ED, Scott JC, Smith JN, de Lema GP, Chilla S, et al. Ambiguous role of CCR5 in *Y. pestis* infection. *Nature* 2004;430:418–418. <https://doi.org/10.1038/nature02822>.
- [70] Oyston PC, Dorrell N, Williams K, Li SR, Green M, Titball RW, et al. The response regulator PhoP is important for survival under conditions of macrophage-induced stress and virulence in *Yersinia pestis*. *Infect Immun* 2000;68:3419–25. <https://doi.org/10.1128/IAI.68.6.3419-3425.2000>.
- [71] Zhou D, Han Y, Yang R. Molecular and physiological insights into plague transmission, virulence and etiology. *Microbes and Infection* 2006;8:273–84. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2005.06.006>.
- [72] Price SB, Freeman MD, Yeh KS. Transcriptional analysis of the *Yersinia pestis* pH 6 antigen gene. *J Bacteriol* 1995;177:5997–6000. <https://doi.org/10.1128/jb.177.20.5997-6000.1995>.
- [73] Makoveichuk E, Cherepanov P, Lundberg S, Forsberg A, Olivecrona G. pH6 antigen of *Yersinia pestis* interacts with plasma lipoproteins and cell membranes. *J Lipid Res* 2003;44:320–30. <https://doi.org/10.1194/jlr.M200182-JLR200>.
- [74] Cornelis GR. The *Yersinia Ysc-Yop* virulence apparatus. *Int J Med Microbiol* 2002;291:455–62. <https://doi.org/10.1078/1438-4221-00153>.
- [75] Worrall LJ, Lameignere E, Strynadka NC. Structural overview of the bacterial injectisome. *Current Opinion in Microbiology* 2011;14:3–8. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2010.10.009>.
- [76] Kawai T, Akira S. Pathogen recognition with Toll-like receptors. *Curr Opin Immunol* 2005;17:338–44. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2005.02.007>.
- [77] Miller SI, Ernst RK, Bader MW. LPS, TLR4 and infectious disease diversity. *Nat Rev Microbiol* 2005;3:36–46. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1068>.
- [78] Montminy SW, Khan N, McGrath S, Walkowicz MJ, Sharp F, Conlon JE, et al. Virulence factors of *Yersinia pestis* are overcome by a strong lipopolysaccharide response. *Nat Immunol* 2006;7:1066–73. <https://doi.org/10.1038/ni1386>.
- [79] Pha K, Navarro L. *Yersinia* type III effectors perturb host innate immune responses. *World J Biol Chem* 2016;7:1–13. <https://doi.org/10.4331/wjbc.v7.i1.1>.
- [80] Kerschen EJ, Cohen DA, Kaplan AM, Straley SC. The plague virulence protein YopM targets the innate immune response by causing a global depletion of NK cells. *Infect Immun* 2004;72:4589–602. <https://doi.org/10.1128/IAI.72.8.4589-4602.2004>.
- [81] Boland A, Cornelis GR. Role of YopP in suppression of tumor necrosis factor alpha release by macrophages during *Yersinia* infection. *Infect Immun* 1998;66:1878–84. <https://doi.org/10.1128/IAI.66.5.1878-1884.1998>.
- [82] Sing A, Rost D, Tvardovskaia N, Roggenkamp A, Wiedemann A, Kirschning CJ, et al. *Yersinia* V-antigen exploits toll-like receptor 2 and CD14 for interleukin 10-mediated immunosuppression. *J Exp Med* 2002;196:1017–24. <https://doi.org/10.1084/jem.20020908>.

- [83] Welkos S, Friedlander A, McDowell D, Weeks J, Tobery S. V antigen of *Yersinia pestis* inhibits neutrophil chemotaxis. *Microbial Pathogenesis* 1998;24:185–96. <https://doi.org/10.1006/mpat.1997.0188>.
- [84] Bartra SS, Styer KL, O’Bryant DM, Nilles ML, Hinnebusch BJ, Aballay A, et al. Resistance of *Yersinia pestis* to Complement-Dependent Killing Is Mediated by the Ail Outer Membrane Protein. *Infect Immun* 2008;76:612–22. <https://doi.org/10.1128/IAI.01125-07>.
- [85] Velan B, Bar-Haim E, Zauberman A, Mamroud E, Shafferman A, Cohen S. Discordance in the effects of *Yersinia pestis* on the dendritic cell functions manifested by induction of maturation and paralysis of migration. *Infect Immun* 2006;74:6365–76. <https://doi.org/10.1128/IAI.00974-06>.
- [86] Marketon MM, DePaolo RW, DeBord KL, Jabri B, Schneewind O. Plague bacteria target immune cells during infection. *Science* 2005;309:1739–41. <https://doi.org/10.1126/science.1114580>.
- [87] Alonso A, Bottini N, Bruckner S, Rahmouni S, Williams S, Schoenberger SP, et al. Lck Dephosphorylation at Tyr-394 and Inhibition of T Cell Antigen Receptor Signaling by *Yersinia* Phosphatase YopH \*. *Journal of Biological Chemistry* 2004;279:4922–8. <https://doi.org/10.1074/jbc.M308978200>.
- [88] Yao T, Mecsas J, Healy JI, Falkow S, Chien Y. Suppression of T and B Lymphocyte Activation by a *Yersinia pseudotuberculosis* Virulence Factor, YopH. *J Exp Med* 1999;190:1343–50.
- [89] Bruckner S, Rhamouni S, Tautz L, Denault J-B, Alonso A, Becattini B, et al. *Yersinia* Phosphatase Induces Mitochondrially Dependent Apoptosis of T Cells \*. *Journal of Biological Chemistry* 2005;280:10388–94. <https://doi.org/10.1074/jbc.M408829200>.
- [90] Santé Publique France, ARS. Le Point sur la peste: état des connaissances. 2018.
- [91] Dictionnaire médical de l’Académie de Médecine 2019. <https://www.academie-medecine.fr/le-dictionnaire/index.php?q=immunochromatographie> (accessed June 19, 2023).
- [92] Chanteau S, Rahalison L, Ralafiarisoa L, Foulon J, Ratsitorahina M, Ratsifasoamanana L, et al. Development and testing of a rapid diagnostic test for bubonic and pneumonic plague. *The Lancet* 2003;361:211–6. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)12270-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12270-2).
- [93] Chanteau S, Rahalison L, Ratsitorahina M, Mahafaly null, Rasolomaharo M, Boisier P, et al. Early diagnosis of bubonic plague using F1 antigen capture ELISA assay and rapid immunogold dipstick. *Int J Med Microbiol* 2000;290:279–83. [https://doi.org/10.1016/S1438-4221\(00\)80126-5](https://doi.org/10.1016/S1438-4221(00)80126-5).
- [94] Winter CC, Cherry WB, Moody MD. An unusual strain of *Pasteurella pestis* isolated from a fatal human case of plague. *Bull World Health Organ* 1960;23:408–9.
- [95] Médecin sans frontières. Peste | Guides médicaux MSF 2022. <https://medicalguidelines.msf.org/fr/viewport/CG/francais/peste-16689932.html> (accessed June 19, 2023).
- [96] Becker TM, Poland JD, Quan TJ, White ME, Mann JM, Barnes AM. Plague meningitis--a retrospective analysis of cases reported in the United States, 1970-1979. *West J Med* 1987;147:554–7.
- [97] Boulanger LL, Ettestad P, Fogarty JD, Dennis DT, Romig D, Mertz G. Gentamicin and tetracyclines for the treatment of human plague: review of 75 cases in new Mexico, 1985-1999. *Clin Infect Dis* 2004;38:663–9. <https://doi.org/10.1086/381545>.
- [98] Pharmacologie des anti-infectieux - Société française de pharmacologie et de thérapeutique - Librairie Mollat Bordeaux. n.d.
- [99] Béatrice Demoré, Marion Grare, Raphaël E. Duval. Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d’utilisation. *Pharmacie Clinique et Thérapeutique*. Elsevier, 2018.
- [100] *Traité de chimie thérapeutique*. Vol. 2. Médicaments antibiotiques - Association française des enseignants de chimie thérapeutique - Librairie Mollat Bordeaux. n.d.
- [101] Jefferson T, Demicheli V, Pratt M. Vaccines for preventing plague. *Cochrane Database Syst Rev* 1998;1998:CD000976. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD000976>.

- [102] Russell P, Eley SM, Hibbs SE, Manchee RJ, Stagg AJ, Titball RW. A comparison of Plague vaccine, USP and EV76 vaccine induced protection against *Yersinia pestis* in a murine model. *Vaccine* 1995;13:1551–6. [https://doi.org/10.1016/0264-410X\(95\)00090-N](https://doi.org/10.1016/0264-410X(95)00090-N).
- [103] Duvallet G, Fontenille D, Robert V. *Entomologie médicale et vétérinaire*. Editions Quae; 2017.
- [104] Kugeler KJ, Staples JE, Hinckley AF, Gage KL, Mead PS. Epidemiology of Human Plague in the United States, 1900–2012. *Emerg Infect Dis* 2015;21:16–22. <https://doi.org/10.3201/eid2101.140564>.
- [105] Chanteau S, Ratsitorahina M, Rahalison L, Rasoamanana B, Chan F, Boisier P, et al. Current epidemiology of human plague in Madagascar. *Microbes Infect* 2000;2:25–31. [https://doi.org/10.1016/s1286-4579\(00\)00289-6](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(00)00289-6).
- [106] Eppinger M, Radnedge L, Andersen G, Vietri N, Severson G, Mou S, et al. Novel plasmids and resistance phenotypes in *Yersinia pestis*: unique plasmid inventory of strain Java 9 mediates high levels of arsenic resistance. *PLoS One* 2012;7:e32911. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032911>.
- [107] Thomas CM. Plasmid Incompatibility. In: Bell E, editor. *Molecular Life Sciences: An Encyclopedic Reference*, New York, NY: Springer; 2021, p. 1–3. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6436-5\\_565-2](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6436-5_565-2).
- [108] Palumbi SR. Humans as the World’s Greatest Evolutionary Force. *Science* 2001;293:1786–90. <https://doi.org/10.1126/science.293.5536.1786>.
- [109] World Health Organization. 2019 antibacterial agents in clinical development: an analysis of the antibacterial clinical development pipeline. Geneva: World Health Organization; 2019.
- [110] Un nouveau rapport appelle à agir d’urgence pour éviter une crise due à la résistance aux antimicrobiens n.d. <https://www.who.int/fr/news/item/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis> (accessed May 16, 2023).
- [111] Cabanel N, Bouchier C, Rajerison M, Carniel E. Plasmid-mediated doxycycline resistance in a *Yersinia pestis* strain isolated from a rat. *Int J Antimicrob Agents* 2018;51:249–54. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.09.015>.
- [112] Hinnebusch BJ, Rosso M-L, Schwan TG, Carniel E. High-frequency conjugative transfer of antibiotic resistance genes to *Yersinia pestis* in the flea midgut. *Molecular Microbiology* 2002;46:349–54. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.03159.x>.
- [113] Guiyoule A, Gerbaud G, Buchrieser C, Galimand M, Rahalison L, Chanteau S, et al. Transferable plasmid-mediated resistance to streptomycin in a clinical isolate of *Yersinia pestis*. *Emerg Infect Dis* 2001;7:43–8.
- [114] Vong O. Le microbiote pulmonaire, un enjeu récent en microbiologie médicale. *Société Française de Microbiologie* 2020. <https://www.sfm-microbiologie.org/2020/06/10/9870/> (accessed June 19, 2023).
- [115] Lei C, Kumar S. *Yersinia pestis* antibiotic resistance: a systematic review. *Osong Public Health Res Perspect* 2022;13:24–36. <https://doi.org/10.24171/j.phrp.2021.0288>.
- [116] Dai R, He J, Zha X, Wang Y, Zhang X, Gao H, et al. A novel mechanism of streptomycin resistance in *Yersinia pestis*: Mutation in the rpsL gene. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 2021;15:e0009324. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009324>.
- [117] Griebel RL. WALL RANGER DISTRICT 2009 PLAGUE MANAGEMENT REPORT 2009.
- [118] Hoogland JL, Davis S, Benson-Amram S, Labruna D, Goossens B, Hoogland MA. Pyreperm Kills Fleas and Halts Plague among Utah Prairie Dogs. *The Southwestern Naturalist* 2004;49:376–83.
- [119] Seery DB, Biggins DE, Montenieri JA, Ensore RE, Tanda DT, Gage KL. Treatment of black-tailed prairie dog burrows with deltamethrin to control fleas (Insecta: Siphonaptera) and plague. *J Med Entomol* 2003;40:718–22. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-40.5.718>.
- [120] Godbey J. Exposure of captive black-footed ferrets to plague and implications for species recovery. 2006.

- [121] Van Dame R, Meled M, Colin M-E, Belzunces LP. Alteration of the homing-flight in the honey bee *Apis mellifera* L. Exposed to sublethal dose of deltamethrin. *Environmental Toxicology and Chemistry* 1995;14:855–60. <https://doi.org/10.1002/etc.5620140517>.
- [122] Hong Y, Huang Y, Yan G, Yin H, Huang Z. DNA damage, immunotoxicity, and neurotoxicity induced by deltamethrin on the freshwater crayfish, *Procambarus clarkii*. *Environmental Toxicology* 2021;36:16–23. <https://doi.org/10.1002/tox.23006>.
- [123] Alexander GJ, Horne D, Hanrahan SA. An evaluation of the effects of deltamethrin on two non-target lizard species in the Karoo, South Africa. *Journal of Arid Environments* 2002;50:121–33. <https://doi.org/10.1006/jare.2001.0848>.
- [124] Patel TB, Bhatia SC, Deobhankar RB. A confirmed case of DDT-resistance in *Xenopsylla cheopis* in India. *Bull World Health Organ* 1960;23:301–12.
- [125] Vassena CV, Picollo MI, Zerba EN. Insecticide resistance in Brazilian *Triatoma infestans* and Venezuelan *Rhodnius prolixus*. *Med Vet Entomol* 2000;14:51–5. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.2000.00203.x>.
- [126] Choo LE, Tang CS, Pang FY, Ho SH. Comparison of two bioassay methods for determining deltamethrin resistance in German cockroaches (Blattodea: Blattellidae). *J Econ Entomol* 2000;93:905–10. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-93.3.905>.
- [127] Wan-Norafikah O, Nazni WA, Lee HL, Zainol-Arifin P, Sofian-Azirun M. Permethrin resistance in *Aedes aegypti* (Linnaeus) collected from Kuala Lumpur, Malaysia. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 2010;13:175–82. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2010.03.003>.
- [128] White CF. Plague: Modern Preventive Measures in Ships and Ports. *Proc R Soc Med* 1935;28:591–602.
- [129] M'Bokolo E. Peste et société urbaine à Dakar : l'épidémie de 1914. *Cahiers d'Études africaines* 1982;22:13–46. <https://doi.org/10.3406/cea.1982.2272>.
- [130] Gratz DNG. Lutte contre la transmission de la peste. *Manuel de la peste: épidémiologie, répartition, surveillance et lutte*. OMS, 1999.
- [131] Larousse É. Définitions : commensalisme - Dictionnaire de français Larousse n.d. <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/commensalisme/17475> (accessed June 19, 2023).
- [132] Warfarine : substance active à effet thérapeutique. VIDAL n.d. <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/warfarine-5865.html> (accessed March 12, 2023).
- [133] Byrne WR, Welkos SL, Pitt ML, Davis KJ, Brueckner RP, Ezzell JW, et al. Antibiotic Treatment of Experimental Pneumonic Plague in Mice. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:675–81.
- [134] Posner J, Barrington P, Brier T, Datta-Mannan A. Monoclonal Antibodies: Past, Present and Future. In: Barrett JE, Page CP, Michel MC, editors. *Concepts and Principles of Pharmacology: 100 Years of the Handbook of Experimental Pharmacology*, Cham: Springer International Publishing; 2019, p. 81–141. [https://doi.org/10.1007/164\\_2019\\_323](https://doi.org/10.1007/164_2019_323).
- [135] Antibody therapeutics approved or in regulatory review in the EU or US. The Antibody Society n.d. <https://www.antibodysociety.org/resources/approved-antibodies/> (accessed December 11, 2022).
- [136] Castelli MS, McGonigle P, Hornby PJ. The pharmacology and therapeutic applications of monoclonal antibodies. *Pharmacol Res Perspect* 2019;7:e00535. <https://doi.org/10.1002/prp2.535>.
- [137] Meulen J ter. Monoclonal antibodies for prophylaxis and therapy of infectious diseases. *Expert Opinion on Emerging Drugs* 2007;12:525–40. <https://doi.org/10.1517/14728214.12.4.525>.
- [138] Liu W, Ren J, Zhang J, Song X, Liu S, Chi X, et al. Identification and characterization of a neutralizing monoclonal antibody that provides complete protection against *Yersinia pestis*. *PLoS One* 2017;12:e0177012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177012>.
- [139] Xiao X, Zhu Z, Dankmeyer JL, Wormald MM, Fast RL, Worsham PL, et al. Human Anti-Plague Monoclonal Antibodies Protect Mice from *Yersinia pestis* in a Bubonic Plague Model. *PLOS ONE* 2010;5:e13047. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013047>.

- [140] Définitions : virus - Dictionnaire de français Larousse n.d. <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/virus/82157> (accessed December 18, 2022).
- [141] Biacchesi Stéphane. Les virus: ennemis ou alliés ? / Stéphane Biacchesi, Christophe Chevalier, Marie Galloux... [et al.]. Versailles: Éditions Quæ; 2017.
- [142] Zhao X, Skurnik M. Bacteriophages of *Yersinia pestis*. *Adv Exp Med Biol* 2016;918:361–75. [https://doi.org/10.1007/978-94-024-0890-4\\_13](https://doi.org/10.1007/978-94-024-0890-4_13).
- [143] Institut Pasteur. *Annales de l'Institut Pasteur : journal de microbiologie / publiées sous le patronage de M. Pasteur par E. Duclaux* 1932.
- [144] Myelnikov D. An Alternative Cure: The Adoption and Survival of Bacteriophage Therapy in the USSR, 1922–1955. *J Hist Med Allied Sci* 2018;73:385–411. <https://doi.org/10.1093/jhmas/jry024>.
- [145] Kortright KE, Chan BK, Koff JL, Turner PE. Phage Therapy: A Renewed Approach to Combat Antibiotic-Resistant Bacteria. *Cell Host Microbe* 2019;25:219–32. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.014>.
- [146] El-Shibiny A, El-Sahhar S. Bacteriophages: the possible solution to treat infections caused by pathogenic bacteria. *Can J Microbiol* 2017;63:865–79. <https://doi.org/10.1139/cjm-2017-0030>.
- [147] Filippov AA, Sergueev KV, He Y, Huang X-Z, Gnade BT, Mueller AJ, et al. Bacteriophage Therapy of Experimental Bubonic Plague in Mice. In: de Almeida AMP, Leal NC, editors. *Advances in Yersinia Research*, New York, NY: Springer; 2012, p. 337–48. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3561-7\\_41](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3561-7_41).
- [148] Garcia E, Elliott JM, Ramanculov E, Chain PSG, Chu MC, Molineux IJ. The Genome Sequence of *Yersinia pestis* Bacteriophage  $\phi$ A1122 Reveals an Intimate History with the Coliphage T3 and T7 Genomes. *J Bacteriol* 2003;185:5248–62. <https://doi.org/10.1128/JB.185.17.5248-5262.2003>.
- [149] Garcia E, Chain P, Elliott JM, Bobrov AG, Motin VL, Kirillina O, et al. Molecular characterization of L-413C, a P2-related plague diagnostic bacteriophage. *Virology* 2008;372:85–96. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.10.032>.
- [150] Zhao X, Wu W, Qi Z, Cui Y, Yan Y, Guo Z, et al. The complete genome sequence and proteomics of *Yersinia pestis* phage Yep-phi. *J Gen Virol* 2011;92:216–21. <https://doi.org/10.1099/vir.0.026328-0>.
- [151] Sergueev KV, He Y, Borschel RH, Nikolich MP, Filippov AA. Rapid and Sensitive Detection of *Yersinia pestis* Using Amplification of Plague Diagnostic Bacteriophages Monitored by Real-Time PCR. *PLOS ONE* 2010;5:e11337. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011337>.
- [152] Schofield DA, Molineux IJ, Westwater C. Diagnostic Bioluminescent Phage for Detection of *Yersinia pestis*. *J Clin Microbiol* 2009;47:3887–94. <https://doi.org/10.1128/JCM.01533-09>.
- [153] Vagima Y, Gur D, Aftalion M, Moses S, Levy Y, Makovitzki A, et al. Phage Therapy Potentiates Second-Line Antibiotic Treatment against Pneumonic Plague. *Viruses* 2022;14:688. <https://doi.org/10.3390/v14040688>.
- [154] Patey O, McCallin S, Mazure H, Liddle M, Smithyman A, Dublanchet A. Clinical Indications and Compassionate Use of Phage Therapy: Personal Experience and Literature Review with a Focus on Osteoarticular Infections. *Viruses* 2018;11:18. <https://doi.org/10.3390/v11010018>.
- [155] Labrie SJ, Samson JE, Moineau S. Bacteriophage resistance mechanisms. *Nat Rev Microbiol* 2010;8:317–27. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2315>.
- [156] Filippov AA, Sergueev KV, He Y, Huang X-Z, Gnade BT, Mueller AJ, et al. Bacteriophage-resistant mutants in *Yersinia pestis*: identification of phage receptors and attenuation for mice. *PLoS One* 2011;6:e25486. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025486>.
- [157] Vaccins vivants atténués | Vaccination Info Service n.d. <https://professionnels.vaccination-info-service.fr/Aspects-scientifiques/Compositions-des-vaccins/Vaccins-vivants-attenues> (accessed February 27, 2023).
- [158] Demeure CE, Derbise A, Carniel E. Oral vaccination against plague using *Yersinia pseudotuberculosis*. *Chem Biol Interact* 2017;267:89–95. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.03.030>.

- [159] Contre-indications - Vaccinologie pratique - Professionnels de la santé - MSSS n.d. <https://msss.gouv.qc.ca/professionnels/vaccination/piq-vaccinologie-pratique/contre-indications/> (accessed June 19, 2023).
- [160] Zauberman A, Vagima Y, Tidhar A, Aftalion M, Gur D, Rotem S, et al. Host Iron Nutritional Immunity Induced by a Live *Yersinia pestis* Vaccine Strain Is Associated with Immediate Protection against Plague. *Front Cell Infect Microbiol* 2017;7:277. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00277>.
- [161] Cassat JE, Skaar EP. Iron in Infection and Immunity. *Cell Host Microbe* 2013;13:509–19. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.04.010>.
- [162] Parrow NL, Fleming RE, Minnick MF. Sequestration and Scavenging of Iron in Infection. *Infect Immun* 2013;81:3503–14. <https://doi.org/10.1128/IAI.00602-13>.
- [163] Chain PSG, Carniel E, Larimer FW, Lamerdin J, Stoutland PO, Regala WM, et al. Insights into the evolution of *Yersinia pestis* through whole-genome comparison with *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:13826–31. <https://doi.org/10.1073/pnas.0404012101>.
- [164] Sun W, Singh AK. Plague vaccine: recent progress and prospects. *Npj Vaccines* 2019;4:1–9. <https://doi.org/10.1038/s41541-019-0105-9>.
- [165] Blisnick T, Ave P, Huerre M, Carniel E, Demeure CE. Oral Vaccination against Bubonic Plague Using a Live Avirulent *Yersinia pseudotuberculosis* Strain. *Infection and Immunity* 2008;76:3808–16. <https://doi.org/10.1128/IAI.00034-08>.
- [166] Derbise A, Marín AC, Ave P, Blisnick T, Huerre M, Carniel E, et al. An Encapsulated *Yersinia pseudotuberculosis* Is a Highly Efficient Vaccine against Pneumonic Plague. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 2012;6:e1528. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001528>.
- [167] Friedlander AM, Welkos SL, Worsham PL, Andrews GP, Heath DG, Anderson GW, et al. Relationship between virulence and immunity as revealed in recent studies of the F1 capsule of *Yersinia pestis*. *Clin Infect Dis* 1995;21 Suppl 2:S178-181. [https://doi.org/10.1093/clinids/21.supplement\\_2.s178](https://doi.org/10.1093/clinids/21.supplement_2.s178).
- [168] CEA. Les vaccins. CEA/Découvrir & Comprendre 2020. <https://www.cea.fr/comprendre/Pages/sante-sciences-du-vivant/essentiel-sur-vaccins.aspx> (accessed February 13, 2023).
- [169] Quenee LE, Schneewind O. Plague vaccines and the molecular basis of immunity against *Yersinia pestis*. *Hum Vaccin* 2009;5:817–23. <https://doi.org/10.4161/hv.9866>.
- [170] Quenee LE, Ciletti NA, Elli D, Hermanas TM, Schneewind O. Prevention of pneumonic plague in mice, rats, guinea pigs and non-human primates with clinical grade rV10, rV10-2 or F1-V vaccines. *Vaccine* 2011;29:6572–83. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.06.119>.
- [171] Kummer LW, Szaba FM, Parent MA, Adamovicz JJ, Hill J, Johnson LL, et al. Antibodies and cytokines independently protect against pneumonic plague. *Vaccine* 2008;26:6901–7. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.09.063>.
- [172] Huang Q, Richmond JF, Suzue K, Eisen HN, Young RA. In vivo cytotoxic T lymphocyte elicitation by mycobacterial heat shock protein 70 fusion proteins maps to a discrete domain and is CD4(+) T cell independent. *J Exp Med* 2000;191:403–8. <https://doi.org/10.1084/jem.191.2.403>.
- [173] Verma SK, Batra L, Tuteja U. A Recombinant Trivalent Fusion Protein F1–LcrV–HSP70(II) Augments Humoral and Cellular Immune Responses and Imparts Full Protection against *Yersinia pestis*. *Frontiers in Microbiology* 2016;7.
- [174] Honko AN, Sriranganathan N, Lees CJ, Mizel SB. Flagellin Is an Effective Adjuvant for Immunization against Lethal Respiratory Challenge with *Yersinia pestis*. *Infect Immun* 2006;74:1113–20. <https://doi.org/10.1128/IAI.74.2.1113-1120.2006>.
- [175] Frey SE, Lottenbach K, Graham I, Anderson E, Bajwa K, May RC, et al. A phase I safety and immunogenicity dose escalation trial of plague vaccine, Flagellin/F1/V, in healthy adult volunteers (DMID 08-0066). *Vaccine* 2017;35:6759–65. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.09.070>.

- [176] @NatGeoFrance. Anthrax : l'affaire des enveloppes contaminées au bacille de charbon. National Geographic 2022. <https://www.nationalgeographic.fr/histoire/anthrax-laffaire-des-enveloppes-contaminees-au-bacille-de-charbon> (accessed February 27, 2023).
- [177] Tao P, Mahalingam M, Zhu J, Moayeri M, Kirtley ML, Fitts EC, et al. A Bivalent Anthrax-Plague Vaccine That Can Protect against Two Tier-1 Bioterror Pathogens, *Bacillus anthracis* and *Yersinia pestis*. *Front Immunol* 2017;8:687. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00687>.
- [178] Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine 2020. <https://www.academie-medecine.fr/le-dictionnaire/index.php?q=vecteur> (accessed February 27, 2023).
- [179] Silva AJ da, Zangirolami TC, Novo-Mansur MTM, Giordano R de C, Martins EAL. Live bacterial vaccine vectors: An overview. *Braz J Microbiol* 2014;45:1117–29. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822014000400001>.
- [180] Jacobi CA, Gregor S, Rakin A, Heesemann J. Expression Analysis of the Yersiniabactin Receptor Gene *fyuA* and the Heme Receptor *hemR* of *Yersinia enterocolitica* In Vitro and In Vivo Using the Reporter Genes for Green Fluorescent Protein and Luciferase. *Infect Immun* 2001;69:7772–82. <https://doi.org/10.1128/IAI.69.12.7772-7782.2001>.
- [181] Sanapala S, Rahav H, Patel H, Sun W, Curtiss R. Multiple antigens of *Yersinia pestis* delivered by live recombinant attenuated *Salmonella* vaccine strains elicit protective immunity against plague. *Vaccine* 2016;34:2410–6. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.03.094>.
- [182] Sha J, Kirtley ML, Klages C, Erova TE, Telepnev M, Ponnusamy D, et al. A Replication-Defective Human Type 5 Adenovirus-Based Trivalent Vaccine Confers Complete Protection against Plague in Mice and Nonhuman Primates. *Clin Vaccine Immunol* 2016;23:586–600. <https://doi.org/10.1128/CVI.00150-16>.
- [183] Kemnade JO, Seethammagari M, Collinson-Pautz M, Kaur H, Spencer DM, McCormick AA. Tobacco mosaic virus efficiently targets DC uptake, activation and antigen-specific T cell responses in vivo. *Vaccine* 2014;32:4228–33. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.04.051>.
- [184] Banik S, Mansour AA, Suresh RV, Wykoff-Clary S, Malik M, McCormick AA, et al. Development of a Multivalent Subunit Vaccine against Tularemia Using Tobacco Mosaic Virus (TMV) Based Delivery System. *PLoS One* 2015;10:e0130858. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130858>.
- [185] Mallajosyula JK, Hiatt E, Hume S, Johnson A, Jeevan T, Chikwamba R, et al. Single-dose monomeric HA subunit vaccine generates full protection from influenza challenge. *Hum Vaccin Immunother* 2014;10:586–95. <https://doi.org/10.4161/hv.27567>.
- [186] Arnaboldi PM, Sambir M, D' Arco C, Peters LA, Seegers JFML, Mayer L, et al. Intranasal delivery of a protein subunit vaccine using a Tobacco Mosaic Virus platform protects against pneumonic plague. *Vaccine* 2016;34:5768–76. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.09.063>.
- [187] Vos A, Nokireki T, Isomursu M, Gadd T, Kovacs F. Oral vaccination of foxes and raccoon dogs against rabies with the 3rd generation oral rabies virus vaccine, SPBN GASGAS, in Finland. *Acta Vet Scand* 2021;63:40. <https://doi.org/10.1186/s13028-021-00605-y>.
- [188] Update on oral vaccination of foxes and raccoon dogs against rabies | EFSA 2015. <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4164> (accessed March 6, 2023).
- [189] Rocke TE, Pussini N, Smith SR, Williamson J, Powell B, Osorio JE. Consumption of baits containing raccoon pox-based plague vaccines protects black-tailed prairie dogs (*Cynomys ludovicianus*). *Vector Borne Zoonotic Dis* 2010;10:53–8. <https://doi.org/10.1089/vbz.2009.0050>.
- [190] Abbott RC, Osorio JE, Bunck CM, Rocke TE. Sylvatic plague vaccine: a new tool for conservation of threatened and endangered species? *Ecohealth* 2012;9:243–50. <https://doi.org/10.1007/s10393-012-0783-5>.
- [191] Tripp DW, Rocke TE, Runge JP, Abbott RC, Miller MW. Burrow Dusting or Oral Vaccination Prevents Plague-Associated Prairie Dog Colony Collapse. *Ecohealth* 2017;14:451–62. <https://doi.org/10.1007/s10393-017-1236-y>.
- [192] Petousis-Harris H. Impact of meningococcal group B OMV vaccines, beyond their brief. *Hum Vaccin Immunother* 2018;14:1058–63. <https://doi.org/10.1080/21645515.2017.1381810>.

- [193] Kulp A, Kuehn MJ. Biological functions and biogenesis of secreted bacterial outer membrane vesicles. *Annu Rev Microbiol* 2010;64:163–84. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.091208.073413>.
- [194] Ellis TN, Kuehn MJ. Virulence and immunomodulatory roles of bacterial outer membrane vesicles. *Microbiol Mol Biol Rev* 2010;74:81–94. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00031-09>.
- [195] Wang X, Li P, Singh AK, Zhang X, Guan Z, Curtiss R, et al. Remodeling *Yersinia pseudotuberculosis* to generate a highly immunogenic outer membrane vesicle vaccine against pneumonic plague. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2022;119:e2109667119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2109667119>.
- [196] Sun W, Six DA, Reynolds CM, Chung HS, Raetz CRH, Curtiss R. Pathogenicity of *Yersinia pestis* synthesis of 1-dephosphorylated lipid A. *Infect Immun* 2013;81:1172–85. <https://doi.org/10.1128/IAI.01403-12>.
- [197] Takayama K, Ribi E, Cantrell JL. Isolation of a nontoxic lipid A fraction containing tumor regression activity. *Cancer Res* 1981;41:2654–7.
- [198] Wang X, Singh AK, Zhang X, Sun W. Induction of Protective Antiplague Immune Responses by Self-Adjuvanting Bionanoparticles Derived from Engineered *Yersinia pestis*. *Infection and Immunity* 2020;88:e00081-20. <https://doi.org/10.1128/IAI.00081-20>.
- [199] Pils H, Killmann H, Hantke K, Braun V. Periplasmic location of the pesticin immunity protein suggests inactivation of pesticin in the periplasm. *J Bacteriol* 1996;178:2431–5. <https://doi.org/10.1128/jb.178.8.2431-2435.1996>.
- [200] Patzer SI, Albrecht R, Braun V, Zeth K. Structural and Mechanistic Studies of Pesticin, a Bacterial Homolog of Phage Lysozymes. *J Biol Chem* 2012;287:23381–96. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.362913>.
- [201] Lukacik P, Barnard TJ, Keller PW, Chaturvedi KS, Seddiki N, Fairman JW, et al. Structural engineering of a phage lysin that targets Gram-negative pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2012;109:9857–62. <https://doi.org/10.1073/pnas.1203472109>.
- [202] Lukacik P, Barnard TJ, Buchanan SK. Using a bacteriocin structure to engineer a phage lysin that targets *Yersinia pestis*. *Biochem Soc Trans* 2012;40:1503–6. <https://doi.org/10.1042/BST20120209>.
- [203] Rakin A, Saken E, Harmsen D, Heesemann J. The pesticin receptor of *Yersinia enterocolitica*: a novel virulence factor with dual function. *Mol Microbiol* 1994;13:253–63. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1994.tb00420.x>.
- [204] Loeffler JM, Nelson D, Fischetti VA. Rapid Killing of *Streptococcus pneumoniae* with a Bacteriophage Cell Wall Hydrolase. *Science* 2001;294:2170–2. <https://doi.org/10.1126/science.1066869>.
- [205] Schuch R, Nelson D, Fischetti VA. A bacteriolytic agent that detects and kills *Bacillus anthracis*. *Nature* 2002;418:884–9. <https://doi.org/10.1038/nature01026>.
- [206] Cornelis GR. The *Yersinia Ysc-Yop* “type III” weaponry. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002;3:742–52. <https://doi.org/10.1038/nrm932>.

Nom : MILBACH

Prénom : Marc

Né le 16 mars 1999 à Saint-Avold, Moselle



**Titre de la thèse :**

L'antibiorésistance chez la bactérie *Yersinia pestis* : cause, mécanismes et solutions

Date et lieu de soutenance : Strasbourg le 22 septembre 2023

N° d'ordre :

Résumé :

La peste, pathologie dont l'agent causal est la bactérie *Yersinia pestis*, est une maladie qui dans l'imaginaire collectif remonte au fond des âges. Cependant il s'agit d'un enjeu actuel de santé publique, pour son potentiel épidémique et la possible utilisation en tant qu'arme biologique. L'apparition de bactéries résistantes aux antibiotiques représente un autre problème sanitaire majeur. La découverte de souches de *Y. pestis* résistantes aux antibiotiques laisse planer la menace d'une catastrophe sanitaire à grande échelle. C'est dans ce cadre que des projets de recherche de nouvelles thérapies ont vu le jour. Il y a l'amélioration du contrôle de la diffusion du pathogène chez les animaux, l'utilisation de vaccins, d'anticorps monoclonaux, d'endolysines ou de bactériophages ainsi que la mise au point de nouveaux antibiotiques. Le développement de ces nouveaux moyens de lutter contre la pathologie permettra à l'avenir de lutter plus efficacement contre la bactérie.

The plague, whose causal agent is the bacterium *Yersinia pestis*, is a disease that in the collective imagination goes back to the dawn of time. However, it is a current public health issue, due to its epidemic potential and possible use as a biological weapon. The emergence of antibiotic-resistant bacteria is another major health problem. The discovery of antibiotic-resistant strains of *Y. pestis* raises the spectre of a large-scale health catastrophe. It is against this backdrop that research projects for new therapies have been launched. These include improved control of the pathogen's spread in animals, the use of vaccines, monoclonal antibodies, endolysins or bacteriophages, and the development of new antibiotics. The development of these new ways of combating the disease will enable us to fight the bacterium more effectively in the future.

Mots clés :

*Yersinia pestis* | Peste | Antibiorésistance | Thérapie | Pesticides | Antibiotiques | Anticorps monoclonaux | Endolysines | Bactériophages | Vaccins

Nom du directeur de thèse : GEORGEL Philippe