

## Atténuation de la virulence de *Yersinia pestis* par déplétion de gène à la fin de chaque pandémie historique de peste

Christian E. Demeure<sup>1,2</sup>, Guillem Mas Fiol<sup>1,2</sup>, Ravneet Kaur Sidhu<sup>3</sup>, Pierre Lê-Bury<sup>1,2,4</sup>, Emelyne Bougit<sup>1</sup>, Olivier Dussurget<sup>1,2</sup>, Hendrik N. Poinar<sup>3,5</sup>, Javier Pizarro-Cerdá<sup>1,2</sup>

« Ce n'est pas le plus fort de l'espèce qui survit, ni le plus intelligent. C'est celui qui sait le mieux s'adapter au changement. »

Charles Darwin  
(De l'origine des espèces, 1859)

La peste a frappé l'humanité trois fois au cours de l'histoire, occasionnant à chaque fois des pandémies responsables de millions de morts. La première pandémie (de l'an 541 à 750), qui a commencé par la « peste de Justinien », a décimé l'empire romain et a pu contribuer à sa chute. La tristement célèbre peste noire a marqué le début de la deuxième pandémie (1346 à 1840), qui a d'abord dévasté l'Europe médiévale, entraînant la mort de plus d'un tiers de sa population en quelques années, et a ensuite évolué par vagues pendant plusieurs siècles. La troisième pandémie (1894-), à l'expansion mondiale, a permis l'identification de l'agent de la peste : la bactérie *Yersinia pestis*, puis l'identification de ses hôtes principaux : les rats et autres petits animaux. L'analyse de l'ADN ancien est une méthode de choix pour l'étude d'événements aussi anciens que les deux premières pandémies de peste. L'analyse des squelettes d'individus morts depuis plusieurs siècles [1] (→) a par exemple permis de confirmer que l'espèce bactérienne *Yersinia pestis* était à l'origine des trois pandémies. Cette approche

(→) Voir m/s n° 2, 2023, page 181

paléogénomique<sup>1</sup> a également permis d'effectuer une analyse de la séquence nucléotidique des gènes impliqués dans le système immunitaire chez des individus ayant subi la peste noire du Moyen Âge, et de mettre en évidence la sélection positive d'allèles ayant vraisemblablement un effet protecteur contre la bactérie [2].

L'ADN extrait des dents d'anciens individus morts de la peste contient également de l'ADN bactérien, ce qui permet d'analyser aussi le génome de la bactérie pathogène. Ainsi, chez plusieurs individus morts durant la deuxième pandémie, le nombre de copies du gène *pla* de *Y. pestis*, porté par le plasmide pPCP1, et dont la bactérie possède plus de dix copies, avait fortement diminué [3, 4]. Le gène *pla* code l'activateur du plasminogène Pla, une enzyme ancrée à la surface de la bactérie, et qui est un important facteur de virulence de *Y. pestis*. Son activité protéasique lui permet de découper d'autres protéines, dont le plasminogène de l'hôte qui s'active ainsi en plasmine, une enzyme de la coagulation qui dégrade les caillots sanguins (Figure 1A). La bactérie se libérerait ainsi des caillots pour se propager dans le corps du malade [5]. Or, l'élimination complète de Pla chez des souches mutantes construites en laboratoire réduit fortement leur dangerosité

<sup>1</sup> La paléogénomique est une discipline biologique récente qui a pour objectifs la reconstitution et l'analyse des génomes anciens : animaux, végétaux, ou microbiens. Son précurseur, Svante Pääbo, a reçu le Prix Nobel de physiologie ou médecine en 2022 [1].

<sup>1</sup>Institut Pasteur, Université Paris Cité, Unité de recherche *Yersinia*, Paris, France.

<sup>2</sup>Institut Pasteur, Université Paris Cité, Centre collaborateur OMS et centre national de référence Peste et autres yersiniose, Paris, France.

<sup>3</sup>McMaster ancient DNA Center, Departments of anthropology and biochemistry, McMaster University, and Department of biology, McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada.

<sup>4</sup>Université Paris-Saclay, Inserm, CEA, Centre d'immunologie des maladies virales, auto-immunes, hématologiques et bactériennes (IMVA-HB/ IDMIT/UMRS1184), Fontenay-aux-Roses et Le Kremlin-Bicêtre, France.

<sup>5</sup>Canadian institute for advanced research, Toronto, and Michael G. DeGroote institute of infectious disease research, McMaster University, Hamilton, Canada.

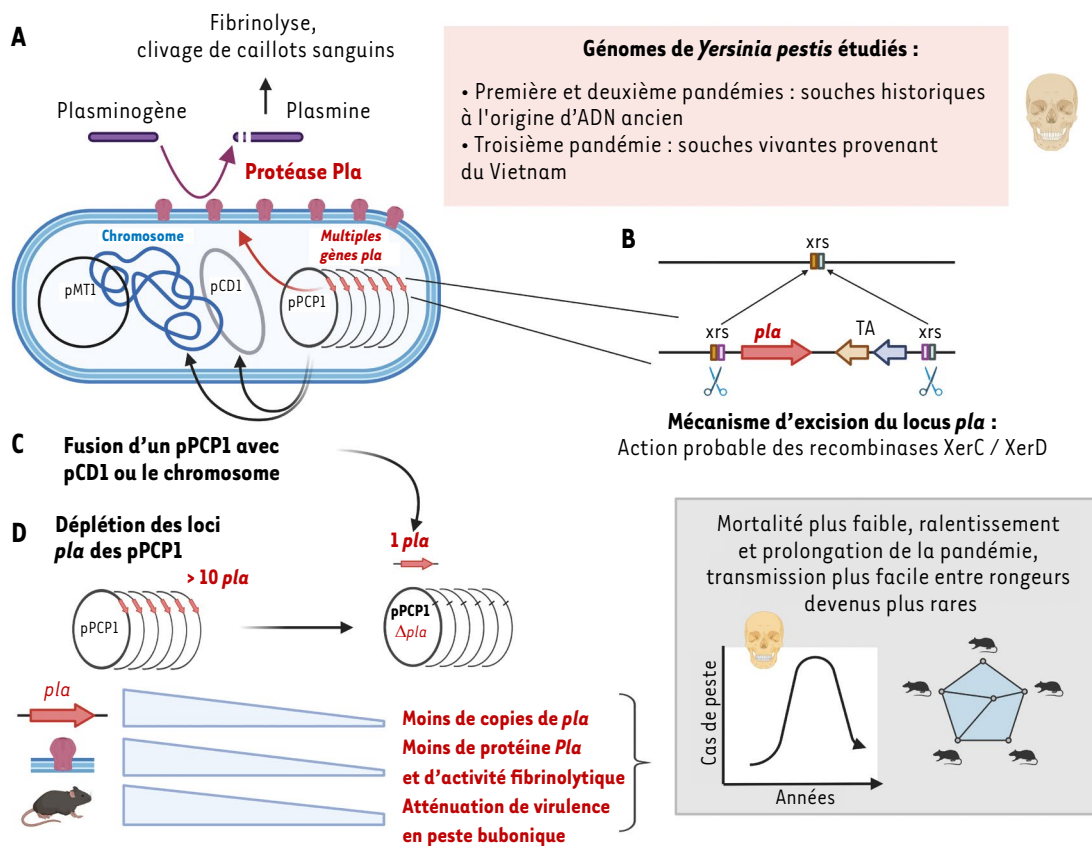
[cdemeure@pasteur.fr](mailto:cdemeure@pasteur.fr)

[pizarroj@pasteur.fr](mailto:pizarroj@pasteur.fr)

[guillem.mas-fiol@pasteur.fr](mailto:guillem.mas-fiol@pasteur.fr)

à la fois dans la forme pulmonaire de la peste (de transmission interhumaine) et dans sa forme bubonique (transmise à l'Homme par la puce à partir du réservoir animal) [5]. Le constat d'une diminution du nombre de copies de *pla* dans les bactéries dont ces individus du Moyen Âge étaient porteurs laissait ainsi supposer une atténuation de leur virulence. Nous avons analysé le génome bactérien chez des sujets atteints de peste lors des trois pandémies [6]. Des ADN anciens provenant des première et seconde pandémies ont été comparés à ceux de bactéries vivantes collectées lors de la troisième pandémie, sous la forme de génomes issus de banques de données publiques et de la collection de souches vivantes de l'Institut Pasteur de Paris [7]. Nous avons ainsi mis en évidence l'existence de bactéries *Y. pestis* ayant subi une forte diminution (d'environ 10 fois) du nombre de copies de *pla*, chez des individus morts environ un siècle après le début des deux premières pandémies, et, pour la troisième pandémie, chez des individus et des rats infectés au cours du xx<sup>e</sup> siècle (les souches vivantes analysées provenaient





**Figure 1. Représentation de la suite d'événements conduisant à l'apparition de souches de *Yersinia pestis* déplétées en *pla*, et leurs conséquences.**

Cartouche rose : rappel des génomes de *Y. pestis* étudiés. **A.** Rôle de la multiplicité des copies du gène *pla* dans la virulence de la bactérie *Y. pestis*. **B.** Mécanisme probable d'excision du locus *pla* (*xrs* : Xer recombination Site ; TA : module Toxine-Antitoxine). **C.** Mécanisme de sauvegarde d'une copie du plasmide pPCP1 complet. **D.** Conséquences de la réduction du nombre de copies de *pla* sur la virulence des souches. Cartouche gris : conséquences supposées sur l'évolution des pandémies de peste et la transmission de la maladie. Figure créée avec BioRender.

du Vietnam). La déplétion en copies du gène *pla* apparaissait donc comme un phénomène récurrent, dont nous avons pu analyser l'importance biologique grâce aux souches vivantes de la bactérie avec ce génotype.

Comment des copies d'un gène peuvent-elles ainsi être perdues ? Grâce à la reconstruction *de novo* du plasmide pPCP1 dans les souches anciennes de la bactérie, et à la reconstruction du génome entier de souches modernes, nous avons identifié deux mécanismes pouvant expliquer la réduction du nombre de copies du gène *pla* chez *Y. pestis*. Tout d'abord, l'analyse des génomes « modernes » nous a permis de constater l'intégration d'une copie de pPCP1 dans le plasmide pCD1, alors que

dans les souches anciennes, l'intégration serait probablement dans le chromosome bactérien (Figure 1C). D'autre part, des séquences *xrs* (*Xer recombination sites*) flanquant la région comprenant le gène *pla* ont été identifiées. Ces sites sont connus pour se recombiner entre eux sous l'action de recombinases bactériennes telles que XerC ou XerD (Figure 1B), et il a été montré que des gènes flanqués de sites *xrs* pouvaient se propager dans des bactéries *Acinetobacter baumannii* grâce à la présence de tels sites [8]. Une telle recombinaison chez *Y. pestis* aurait donc pu permettre l'excision du locus *pla* dans les plasmides pPCP1, tout en conservant une copie unique dans le plasmide pCD1 ou dans le chromosome bactérien,

conduisant *in fine* à une réduction du nombre de copies de *pla* par bactérie (Figure 1D).

Une difficulté avec les génomes anciens reconstitués *in silico* est qu'il n'est pas possible d'analyser les propriétés fonctionnelles des bactéries originales, mortes depuis longtemps. Les souches bactériennes de la troisième pandémie, vivantes, proches génétiquement de celles de la deuxième pandémie et présentant naturellement la même diminution du nombre de copies de *pla* que des souches anciennes, se sont donc révélées précieuses. Grâce à ces souches, nous avons montré que l'activité enzymatique de Pla est proportionnelle au nombre de copies du gène *pla*. Une réduction du nombre de ces copies dans la bactérie se

traduit donc par une réduction (jamais une perte complète) de l'activité de la protéase (Figure 1D).

Afin de déterminer les effets de la déplétion du gène *pla* sur la virulence, les souches modernes de *Y. pestis* ont été testées dans des modèles murins de la peste humaine : forme bubonique (transmission à travers la peau, normalement par une piqûre de puce), forme pulmonaire (transmission inter-humaine, transmise par voie respiratoire), et forme septicémique (infection du sang par une piqûre de puce dans un vaisseau sanguin ou par blessure – dissémination hémotogène). La souris est un modèle pertinent car les rongeurs constituent le réservoir naturel de la bactérie. Nous avons constaté que les souches portant une seule copie du gène *pla* restent virulentes dans ces trois formes de peste, contrairement à ce que laissent supposer les études réalisées avec des souches artificielles génétiquement modifiées (totalement dépourvues du gène *pla* ou sans activité enzymatique Pla), dont la virulence dans les formes bubonique et pulmonaire est fortement atténuée. Néanmoins, une réduction de 10 à 20 % de la mortalité globale et un allongement d'environ deux jours du temps avant la mort ont été constatés dans notre modèle murin de peste bubonique : c'est donc probablement dans un tel contexte de peste bubonique que la sélection naturelle aurait favorisé les souches avec une déplétion de *pla*.

Une première hypothèse de sélection, celle du compromis entre transmission et virulence [9], a été écartée car la transmission par les puces nécessite une forte bactériémie indissociable d'une forte virulence. Ainsi, une

réduction de la virulence se traduirait par une réduction de la transmission. Nous avons donc élaboré une seconde hypothèse, fondée sur des modèles épidémiologiques indiquant que l'atténuation de la virulence des agents pathogènes permettrait la persistance de la maladie dans des populations réduites et fragmentées, par le biais d'épidémies fréquentes et récidivantes après la reprise démographique [10]. En effet, les pandémies de peste affectent d'abord les animaux « réservoirs » de la bactérie, en particulier les rats, qui sont eux-mêmes très sensibles à l'infection par *Y. pestis*. Une mortalité vraisemblablement forte chez ces derniers a donc entraîné une diminution de la densité de leur population et un espacement des groupes d'animaux. Ainsi, lorsque le nombre de copies du gène *pla* dans la bactérie a diminué et que les rats infectés ont vécu plus longtemps, ils ont pu propager l'infection plus loin lors de leurs déplacements et la transmettre à des groupes plus lointains, car devenus plus espacés qu'au début de la pandémie (Figure 1D). Notre hypothèse est donc qu'une fragmentation plus grande des populations de rats causée par les pandémies a pu créer un environnement favorable à la sélection naturelle des souches de *Y. pestis* dont la virulence a été atténuée par la déplétion de *pla*, et ainsi contribuer à la prolongation des pandémies.

Pourtant, chaque nouvelle pandémie de peste a commencé par des souches bactériennes riches en *pla*, ce qui laisse supposer que la plus grande virulence de ces souches est nécessaire pour que les bactéries subsistent chez la plupart des rongeurs servant de réservoirs entre les pandémies. Des souches de *Y. pestis*

possédant un nombre réduit de copies de *pla* ont pu apparaître mais passer inaperçues, car en dehors de leur effet avantageux sur la mortalité de l'hôte lors des périodes épidémiques, elles ne présentent pas d'avantage sélectif par rapport aux souches classiques. Des recherches sur un plus grand nombre de souches de la bactérie, anciennes et actuelles, pourront révéler davantage de circonstances naturelles de déplétion de *pla*, éclairant ainsi leur rôle dans l'évolution de la virulence de *Y. pestis*. ♦

### Attenuation of *Yersinia pestis* virulence by gene depletion at the end of each historical plague pandemic

#### LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

#### RÉFÉRENCES

1. Heyer E. Prix Nobel de physiologie ou médecine 2022. *Med Sci (Paris)* 2023 ; 39 : 181-3.
2. Klunk J, Vilgalys TP, Demeure CE, et al. Evolution of immune genes is associated with the Black Death. *Nature* 2022 ; 611 : 312-9.
3. Susat J, Bonczarowska JH, Pētersons-Gordina E, et al. *Yersinia pestis* strains from Latvia show depletion of the *pla* virulence gene at the end of the second plague pandemic. *Scientific Reports* 2020 ; 10 : 14628.
4. Bramanti B, Wu Y, Yang R, et al. Assessing the origins of the European Plagues following the Black Death: A synthesis of genomic, historical, and ecological information. *Proc Natl Acad Sci USA* 2021 ; 118 : e2101940118.
5. Sebbane F, Uversky VN, Anisimov AP. *Yersinia pestis* plasminogen activator. *Biomolecules* 2020 ; 10 : 1-34.
6. Sidhu RK, Mas Fiol G, Lê-Bury P, et al. Attenuation of virulence in *Yersinia pestis* across three plague pandemics. *Science* 2025 ; 388 : eadt3880.
7. Mas Fiol G, Lemoine F, Mornico D, et al. Global evolutionary patterns of *Yersinia pestis* and its spread into Africa. *BioRxiv* 2024
8. Balalovskii P, Grainge I. Mobilization of *pdfif* modules in *Acinetobacter*: A novel mechanism for antibiotic resistance gene shuffling? *Mol Microbiol* 2020 ; 114 : 699-709.
9. Lenski RE. Evolution of plague virulence. *Nature* 1988 ; 334 : 473-4.
10. Parsons TL, Bolker BM, Dushoff J, Earn DJD. The probability of epidemic burnout in the stochastic SIR model with vital dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA* 2024 ; 121 : e2313708120.



Tarifs d'abonnement m/s - 2026  
**Abonnez-vous  
à médecine/sciences**

> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès  
des sciences biologiques et médicales

Abonnez-vous sur  
[www.medecinesciences.org](http://www.medecinesciences.org)

