HAL open science

La paléomicrobiologie dentaire à travers l'étude de la peste

Léna Fiorentini

To cite this version:

Léna Fiorentini. La paléomicrobiologie dentaire à travers l'étude de la peste. Sciences du Vivant [q-bio]. 2021. hal-03298296

HAL Id: hal-03298296

https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03298296

Submitted on 23 Jul 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

ACADÉMIE DE NANCY-METZ

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

FACULTÉ D'ODONTOLOGIE

ANNÉE 2021 N°11582 C

THÈSE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

par

Léna FIORENTINI

née le 28/11/1996, à Hayange (57)

La paléomicrobiologie dentaire à travers l'étude de la peste

Présentée et soutenue publiquement le 11 février 2021

Examinateurs de la thèse :

Pr. J.M. MARTRETTE	Professeur des Universités	Président
Dr. K. YASUKAWA	Maître de Conférences	Directeur de thèse
Dr. D. JOSEPH	Maître de Conférences	Juge
Dr. A. BAUDET	Assistant	Juge
Dr. E. BÖLÖNI	Docteur en chirurgie dentaire	Juge invité

« Par délibération en date du 11 décembre 1972, la Faculté de Chirurgie Dentaire a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propre à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation »

UNIVERSITÉ DE LORRAINE | FACULTÉ D'ODONTOLOGIE DE LORRAINE

Président : Professeur Pierre MUTZENHARDT ***Doyen : Professeur Jean-Marc MARTRETTE***

Vice-Doyens : Dr Céline CLEMENT – Dr Rémy BALTHAZARD – Dr Anne-Sophie VAILLANT

Membres Honoraires : Dr L. BABEL – Pr. S. DURIVAUX – Pr A. FONTAINE – Pr G. JACQUART – Pr D. ROZENCWEIG - Pr ARTIS

Doyens Honoraires : Pr J. VADOT, Pr J.P. LOUIS

Département odontologie pédiatrique Sous-section 56-01	Mme	JAGER Stéphanie	Maître de conférences *
	M.	PREVOST Jacques	Maître de conférences
	Mme	HERNANDEZ Magali	Maître de conférences *
	Mme	HILT Léa	Assistante
	Mme	HOMBOURGER Morgane	Assistante
Département orthopédie dento-faciale Sous-section 56-01	M.	VANDE VANNET Bart	Professeur des universités *
	Mme	SENG Marilyne	Assistante *
	Mme	TRAN Maï-Linh	Assistante
Département prévention, épidémiologie, économie de la santé, odontologie légale Sous-section 56-02	Mme	CLÉMENT Céline	Maître de conférences *
	M.	BAUDET Alexandre	Assistant *
	Mme	CAIONE Mariette	Assistante
Département parodontologie Sous-section 57-01	M.	AMBROSINI Pascal	Professeur des universités *
	Mme	BISSON Catherine	Maître de conférences *
	M.	JOSEPH David	Maître de conférences *
	M.	LACH Patrick	Assistant
	Mme	ROCCHI Léa	Assistante
	M.	VEYNACHTER Thomas	Assistant *
Département chirurgie orale Sous-section 57-01	Mme	GUILLET-THIBAULT Julie	Maître de conférences *
	M.	BRAVETTI Pierre	Maître de conférences
	Mme	KICHENBRAND Charlène	Maître de conférences *
	Mme	PHULPIN Bérengère	Maître de conférences *
	M.	CHAPUIS Hippolyte	Assistant*
	M.	CLERC Sébastien	Assistant*
	Mme	DE VERBIZIER Charlotte	Assistante
Département biologie orale Sous-section 57-01	M.	YASUKAWA Kazutoyo	Maître de conférences *
	M.	MARTRETTE Jean-Marc	Professeur des universités *
	Mme	EGLOFF-JURAS Claire	Maître de conférences *
	M.	LOISON-ROBERT Ludwig	Maître de conférences *
Département dentisterie restauratrice, endodontie Sous-section 58-01	M.	MORTIER Éric	Professeur des universités *
	M.	ENGELS-DEUTSCH Marc	Professeur des universités *
	M.	AMORY Christophe	Maître de conférences
	M.	BALTHAZARD Rémy	Maître de conférences *
	M.	VINCENT Marin	Maître de conférences*
	Mme	DAVRIL Jeanne	Assistante
	M.	GIESS Renaud	Assistant *
	M.	GRABER Clément	Assistant
Département prothèses Sous-section 58-01	M.	DE MARCH Pascal	Maître de conférences
	Mme	CORNE Pascale	Maître de conférences *
	M.	SCHOUVER Jacques	Maître de conférences
	Mme	VAILLANT Anne-Sophie	Maître de conférences *
	M.	CIESLAK Steve	Assistant
	Mme	GERBER Caroline	Assistante *
	Mme	PRINTZ Elodie	Assistante
	M.	SYDA Paul-Marie	Assistant
	Mme	WILK Sabine	Assistante
	M.	HIRTZ Pierre	Enseignant universitaire
Département fonction-dysfonction, imagerie, biomatériaux Sous-section 58-01	Mme	STRAZIELLE Catherine	Professeur des universités *
	Mme	MOBY (STUTZMANN) Vanessa	Maître de conférences *
	M.	SALOMON Jean-Pierre	Maître de conférences
	Mme	JANTZEN-OSSOLA Caroline	Assistante associée

Souligné : ***responsable de département*** * temps plein Mis à jour le 21/09/2020

REMERCIEMENTS

À notre président de thèse,

Monsieur le Professeur Jean-Marc MARTRETTE,

Docteur en Chirurgie Dentaire
Docteur en Sciences Pharmacologiques
Spécialiste qualifié médecine bucco-dentaire
Habilité à diriger des recherches
Professeur des Universités – Praticien Hospitalier
Doyen de la faculté d'odontologie de Lorraine

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de présider le jury de notre thèse.
Nous vous remercions pour votre implication au sein de la faculté et votre humanité.
Veuillez trouver dans ce travail l'expression de notre gratitude et de notre profond respect.

À *notre directeur de thèse*

Monsieur le Docteur Kazutoyo YASUKAWA

Docteur en Chirurgie Dentaire
Docteur de l'Université Paris DESCARTES mention sciences de la vie et de la santé
Spécialiste qualifié en médecine bucco-dentaire
Maître de Conférences – Praticien Hospitalier
Responsable du département de biologie orale

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter la direction de ce travail.
Nous vous sommes reconnaissants pour votre implication, votre soutien et votre aide tout au long de la rédaction.
Nous vous remercions également pour le soutien et l'enseignement que vous nous avez apporté durant toutes nos études.
Veuillez trouver dans ce travail l'expression de notre plus grande gratitude et de notre plus profond respect

À *notre jury de thèse*

Monsieur le Docteur David JOSEPH

Docteur en Chirurgie Dentaire
Docteur de l'Universite de Lorraine, mention sciences de la vie et de la sante
Maitre de Conferences – Praticien Hospitalier

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de juger notre thèse.
Nous vous remercions de la qualité de l'enseignement que vous nous avez prodigué pendant nos années d'études.
Veuillez trouver, à travers ce travail, l'expression de notre estime et de notre profond respect.

A notre jury de thèse

Monsieur le Docteur Alexandre BAUDET

Docteur en Chirurgie Dentaire

Assistant Hospitalo-Universitaire

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de faire partie de notre jury.
Nous vous remercions pour l'intérêt que vous avez porté à notre travail, ainsi que pour votre gentillesse, votre attention et vos précieux conseils durant nos années de clinique et notre stage hospitalier.

A notre jury de thèse

Madame le Docteur Eszter BÖLÖNI

Docteur en Chirurgie Dentaire

Ancienne assistante Hospitalo-Universitaire

Sous-section Parodontologie

Ancienne Interne en Odontologie

Nous vous sommes tout particulièrement reconnaissants d'avoir accepté de juger cette thèse.

Nous vous remercions pour le temps que vous nous avez consacré, vos conseils et vos encouragements, depuis nos premiers pas en clinique jusqu'à ce jour.

Soyez certain de nos remerciements les plus sincères.

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

1. Introduction 12
2. *Yersinia pestis*, agent étiologique de la peste. 14
   2.1. Historique 15
   2.2. Epidémiologie 17
   2.3. Physiopathologie 18
   2.4. Facteurs de virulence 21
   2.5. Diagnostic 23
   2.6. Traitements et prévention 23
3. Intérêts de la paléomicrobiologie dentaire. 25
   3.1. Définition 25
   3.2. De l'odontologie médico-légale à la paléomicrobiologie dentaire 26
   3.3. Les différentes sources utilisées. 27
   3.4. Les différentes techniques d'identification de pathogènes issues de la pulpe dentaire. 29
4. Synthèse des résultats. 45
   4.1. Apport anthropologique. 45
   4.2. Identification des contextes d'apparition de la maladie. 46
   4.3. Evolution phylogénétique. 49
   4.4. Présence de la peste dans l'environnement. 55
5. Conclusion 57
6. Bibliographie 59

Liste des figures

Figure 1 : Modèle de transmission de Yersinia Pestis (Drancourt et al. 2006) 14
Figure 2: Dynamique de propagation des 3 pandémies de peste historique (Prentice et Rahalison 2007) 16
Figure 3: Distribution géographique des cas de peste recensés dans les 20 dernières années (Raoult et al. 2013)..... 18
Figure 4: Propagation de Yersinia pestis dans le corps lors de la peste bubonique et pulmonaire (Demeure et al. 2019) 20
Figure 5: Techniques utilisées pour la détection d'anciens pathogènes 30
Figure 6: Les techniques d'analyse de l'ADN et des protéines à partir d'échantillons issus de pulpe dentaire (Mai et al. 2020)..... 30
Figure 7 : Récupération de pulpe dentaire ancienne (Drancourt et al. 1998)..... 32
Figure 8: protocole de récupération de la pulpe dentaire par l'apex(Source: Tran-Hung et al. 2007) 36
Figure 9: ouverture complète de la chambre pulpaire par coupe longitudinale de la dent (Source: Drancourt et Raoult 2005)..... 36
Figure 10: Méthodes utilisées pour la détection et l'isolation d'ADN pathogène ancien grâce à la métagénomique(Source: Spyrou et al. 2019)..... 40
Figure 11: Les différentes méthodes utilisées en paléomicrobiologie pour la détection de protéines(Tran et al. 2011) 42
Figure 12: Protocole d'extraction des protéines de la pulpe dentaire(Tran et al. 2011) 42
Figure 13: Arbre phylogénétique de Yersinia pestis(Rascovan et al. 2016)..... 51

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les 3 formes cliniques de la peste 19
Tableau 2: Les facteurs de virulence (D'après: Une et Brubaker 1984; Deng et al. 2002; Butler 2009; Spyrou et al. 2019) 22
Tableau 3: Prévention de la contamination en paléomicrobiologie 33
Tableau 4: Les différentes techniques de récupération de l'ADN pulpaire 35

1. Introduction

La paléomicrobiologie est une branche de la microbiologie qui permet la mise en évidence de maladies infectieuses anciennes grâce aux microorganismes pathogènes retrouvés dans des échantillons humains ou environnementaux. Cette discipline récente a été développée parallèlement au progrès des techniques de séquençage du génome. (Dagli et al. 2015; Raoult 2016)

La pulpe dentaire, ainsi que le tartre, se sont ainsi révélés comme étant des sources intéressantes de microorganismes anciens ; ces derniers colonisant la pulpe par voie hématogène. La dent, étant l'organe le plus résistant du corps humain, conserve la pulpe et ses agents pathogènes sur des centaines, voire des milliers d'années. (Dagli et al. 2015; Raoult 2016)

La paléomicrobiologie dentaire a ainsi permis l'étude de nombreuses maladies au cours du temps, notamment l'infection à *Yersinia pestis,* responsable de la Peste. Depuis 5 000 ans, de nombreuses épidémies ont eu lieu au cours de l'histoire et ont considérablement réduit la population européenne.(Derbise et al. 2012)
Cependant, elle sévit encore à ce jour dans de nombreuses régions endémiques ; en juillet 2020 encore, une alerte de niveau 3 a été déclenchée en Chine et en Mongolie, après l'apparition de cas de peste bubonique. (Hugo Septier 2020)

L'augmentation du nombre de cas dans le monde observée depuis les années 80 en fait une maladie réémergente, à déclaration obligatoire, qui soulève bien des questions sur sa survie dans l'environnement, ses modes de dispersion et le rôle de l'Homme. (Derbise et al. 2012)

Sa forte pathogénicité et son potentiel de transmission la classe dans la catégorie A des agents pathogènes utilisables en bioterrorisme, établie par l' « *US Center for Disease Control* ». (Drancourt et al. 2006; Derbise et al. 2012)

Yersinia pestis est la première bactérie qui fut révélée en paléomicrobiologie dentaire et reste à ce jour l'ADN ancien le plus étudié de par sa notoriété et son impact majeur

au cours de l'histoire. Ainsi, sa mise en évidence est aujourd'hui possible dès l'époque néolithique. (Rascovan et al. 2019)

L'apparition récente de sources résistantes aux antibiotiques et son utilisation potentielle comme arme biologique en font, aujourd'hui encore, une menace pour la santé humaine. Les traces des pandémies historiques persistent dans l'imaginaire collectif et font craindre une récidive moderne. (Parkhill et al. 2001)

2. *Yersinia pestis*, agent étiologique de la peste.

Yersinia pestis est une bactérie à Gram négatif, faisant partie de la famille des entérobactéries, découverte par Alexandre Yersin (Institut Pasteur) en 1894 (lors de la 3e pandémie) à Hong-Kong. (Drancourt et Raoult 2002, 2016; Butler 2014)

Elle est habituellement retrouvée chez les petits mammifères et les puces qui les parasitent. (Begier et al. 2006; Drancourt et al. 2006; Raoult 2016)

Elle peut être transmise à l'Homme :

- Par piqûres de puces ou morsures de rongeurs infectés(Raoult 2016; WHO 2017)
- Par contacts avec des liquides corporels infectés. (Raoult 2016; WHO 2017)
- Transmission interhumaine par voie gouttelettes. (Raoult 2016; WHO 2017)

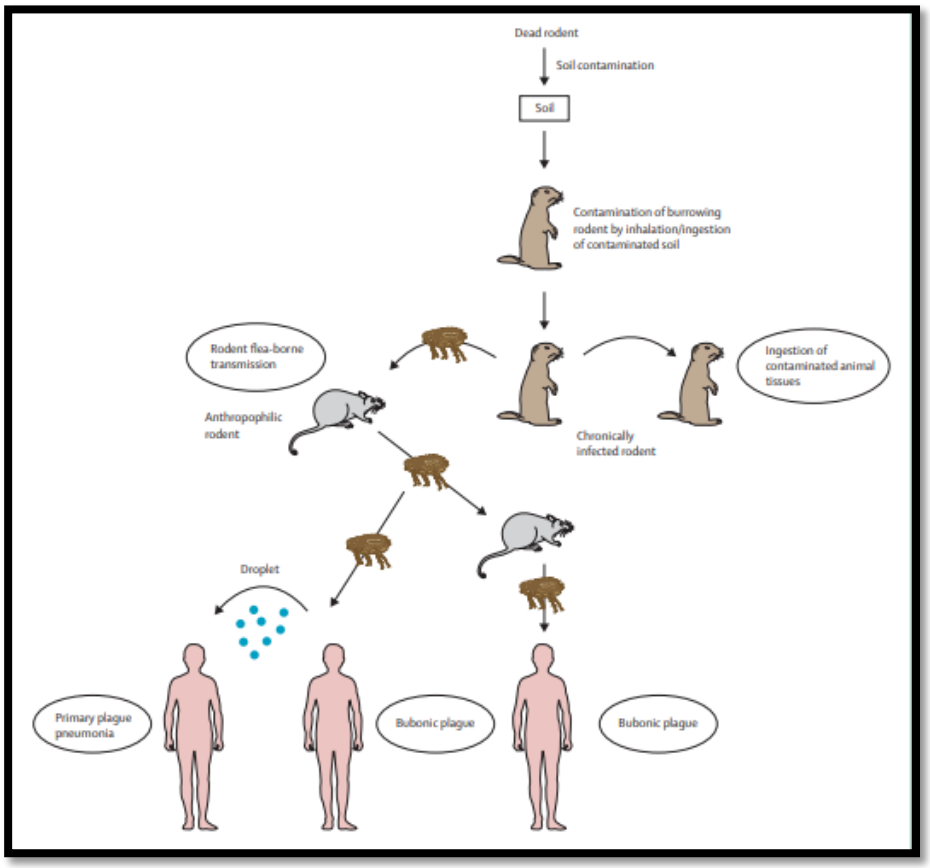

Figure 1 : Modèle de transmission de Yersinia Pestis (Drancourt et al. 2006)

La transmission par les puces peut avoir lieu de 2 manières. Dans un premier temps, les puces peuvent transmettre la bactérie immédiatement après un repas sur un hôte souffrant d'une bactériémie. Dans un second temps, *Yersinia pestis* a la possibilité de coloniser et de former un biofilm dans le proventricule de la puce, qui va bloquer son système digestif et donc l'afflux de sang au cours de son repas. Ce phénomène les conduit à régurgiter du sang contaminé dans le site de piqûre. D'autre part, toujours affamée, elle va également intensifier ses repas et favoriser la transmission bactérienne. (Butler 2009; Sun et al. 2014)

Ce phénomène déclenche des épizooties chez les rongeurs, entrainant une forte diminution de leur population et forçant les puces à trouver des hôtes alternatifs : l'Homme. (Butler 2009)

L'étude de *Yersinia pestis* en paléomicrobiologie dentaire a majoritairement été conduite par l'équipe du Professeur Didier Raoult à l'IHU de Marseille, dès 1996, suite à la découverte d'un charnier de victimes de la peste à Marseille. Leur protocole a depuis été validé par plusieurs conseils scientifiques. (Raoult 2016)

2.1. Historique

Au cours des derniers millénaires, plusieurs pandémies de peste ont eu lieu. A ce jour encore, des épidémies surviennent dans des zones longtemps restées silencieuses, comme récemment en Chine, Ouganda, Madagascar et République Démocratique du Congo. (Evgueni Tikhomirov et coll. 1999)

- **Les grandes pandémies :**

  - peste Justinienne au VIème siècle. Elle a touché l'Europe, en particulier sur le pourtour de la Méditerranée, ainsi que l'Afrique et l'Asie. Son point de départ serait en Afrique du Nord-Est (Egypte et Ethiopie). Elle aurait fait près de 100 millions de victimes. (Evgueni Tikhomirov et coll. 1999; Drancourt et Raoult 2005)
  - La grande peste noire, au XIVème siècle (Peste médiévale), qui a envahi toute l'Europe à partir de la mer noire en empruntant les routes commerciales.

(Drancourt et Raoult 2002) Elle a décimé 1/3 de la population Européenne et fait environ 50 millions de victimes : la moitié en Europe , l'autre moitié en Asie et en Afrique (Evgueni Tikhomirov et coll. 1999; Drancourt et Raoult 2005, 2016).

C'est également à cette période que des cadavres de Mongols morts ont été utilisés comme arme biologique et jetés sur les murs de la ville de Caffa sur la côte Est de la Crimée. (Drancourt et Raoult 2002)

- La peste Moderne, dont le point de départ est en Chine (Hong-Kong) en 1894. Elle s'est rapidement étendue sur les 6 continents grâce au développement des moyens de transports maritimes du XIXème et XXème siècle. (Evgueni Tikhomirov et coll. 1999; Drancourt et Raoult 2005; Bramanti et al. 2019)

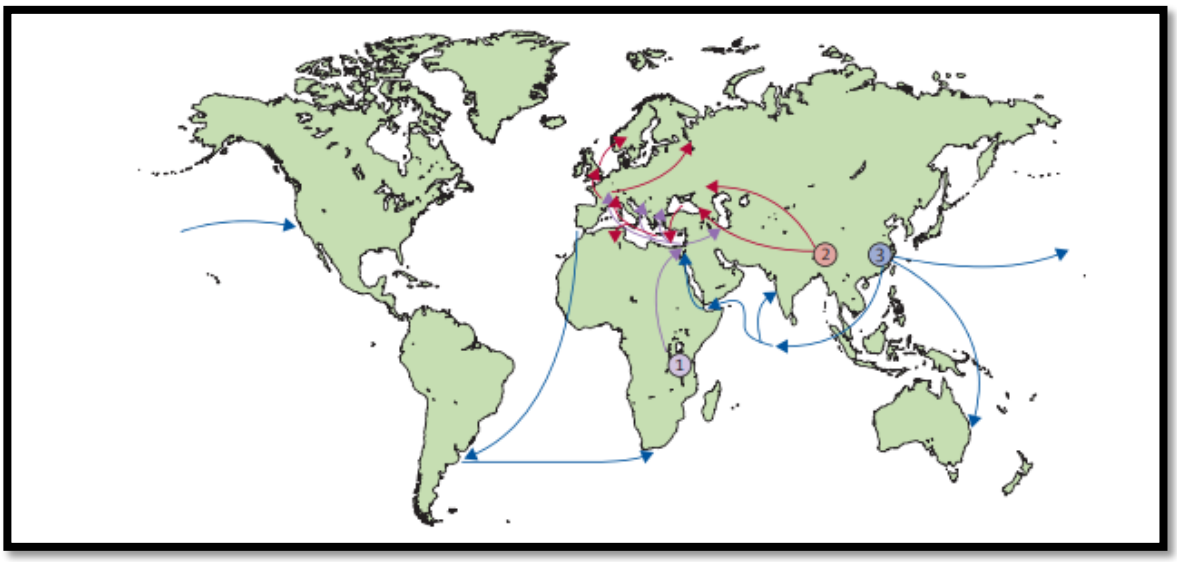

Figure 2: Dynamique de propagation des 3 pandémies de peste historique (Prentice et Rahalison 2007)

Plus récemment, des épidémies de moins grande ampleur sont réapparues dans les pays à risque endémique, après des années de silence, comme en Inde en 1994 (épidémie de peste pulmonaire), au Malawi, au Mozambique ou à Madagascar (août 2017) (Drancourt et Raoult 2002)

2.2. Epidémiologie

La peste est une zoonose bactérienne ré-émergente à transmission vectorielle, circulant au sein de réservoirs animaux, notamment grâce aux puces et aux rongeurs. (Evgueni Tikhomirov et coll. 1999; Drancourt et Raoult 2002; WHO 2017)

Les foyers naturels actuels de peste sont les régions chaudes tropicales et subtropicales, telles que : (Evgueni Tikhomirov et coll. 1999)

- l'Afrique subsaharienne, qui rassemble les régions les plus touchées (Congo, Ouganda, Madagascar)(Begier et al. 2006; Raoult et al. 2013)
- Les pays du Maghreb
- L'Asie, majoritairement en Chine et en Mongolie, comme le montre les cas récents apparus il y a quelques mois (juillet 2020) (Hugo Septier 2020)
- Le continent Américain (surtout au Pérou et côte Ouest des Etats-Unis) La majorité des cas de peste aux Etats-Unis survient de mai à Septembre.

C'est une maladie à déclaration obligatoire : 50 000 cas ont été recensés par l'OMS depuis 1990. L'Australie est le seul continent exempt *de Yersinia pestis*.(Evgueni Tikhomirov et coll. 1999; Drancourt et Raoult 2002)

Les épidémies de peste sont fluctuantes dans le temps ; la maladie peut sembler disparue durant plusieurs décennies avant de réapparaitre. Ce phénomène est dû à la présence de foyers naturels de peste dans l'environnement. (Drancourt et Raoult 2002)

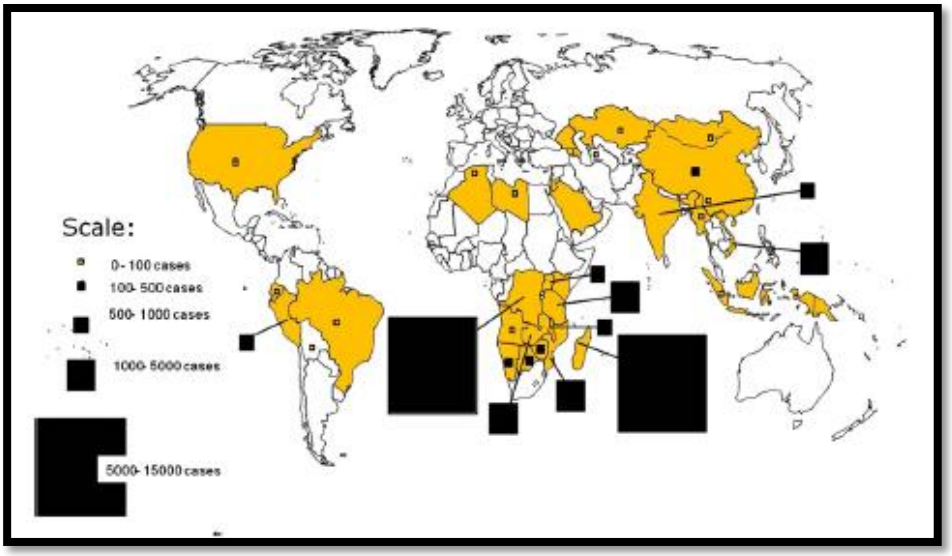

Figure 3: Distribution géographique des cas de peste recensés dans les 20 dernières années (Raoult et al. 2013)

2.3. Physiopathologie

Les sujets infectés sont victimes d'une altération de l'état général, avec de la fièvre, des céphalées, des nausées et vomissements ainsi que des douleurs corporelles diffuses. Les premiers symptômes apparaissent après une période d'incubation allant de 1 à 7 jours.(WHO 2017)

Yersinia pestis entraîne une subversion des défenses immunitaires de l'hôte, ce qui permet sa survie, sa prolifération dans l'organisme et son transport par les cellules immunitaires jusqu'aux ganglions lymphatiques. Cette phase est appelée phase pré-inflammatoire. (Demeure et al. 2019)

Il existe 3 formes cliniques de peste. (Spyrou et al. 2019)

Tableau 1 : Les 3 formes cliniques de la peste

(Perry et Fetherston 1997; Drancourt et Raoult 2005; Prentice et Rahalison 2007; Raoult et al. 2013; Raoult 2016; Spyrou et al. 2019)

	Peste bubonique	**Peste pulmonaire**	**Peste septicémique**
Généralités	• Forme clinique la plus fréquente. • Atteint 60% de létalité	• Forme très contagieuse et très dangereuse. • Sa période d'incubation est de 2 à 3 jours. • La gravité de cette forme en fait une arme biologique potentielle	• 10 à 15% des cas de peste. • Sa mortalité est plus élevée que la forme bubonique, due à des difficultés de diagnostic et un retard de prise en charge • Forme longtemps contredite, sous prétexte d'une éventuelle atteinte ganglionnaire infraclinique. Cependant, des études réalisées chez la souris maintiennent la possibilité d'une atteinte septicémique sans forme histologique.
Voies de transmission	• Survient majoritairement suite à une piqûre par un ectoparasite (Spyrou et al. 2019) • Les bactéries voyagent ensuite jusqu'au ganglion lymphatique drainant la zone de piqûre, ou une réplication bactérienne intensive se produit	• secondaire à la peste bubonique • primaire par transmission interhumaine par voie gouttelettes	• Impact systémique primaire du germe (peut-être due à une piqûre de puce directement dans un vaisseau sanguin) • Peut-être secondaire à une peste bubonique.
Symptômes caractéristiques	Bubon : adénite superficielle et douloureuse de taille conséquente. Cette lésion est caractéristique de la peste. Il est le plus souvent situé dans le pli de l'aine. Photographie d'un bubon pesteux dans le pli inguinal (Perry et Fetherston 1997)	• syndrome pseudo-grippal • altération de l'état général • pneumonie accompagnée de toux • difficultés respiratoires • hémoptysie	• Prend la forme d'une septicémie avec syndrome multi-dysfonctionnel (avec laquelle elle est souvent confondue)
Evolution	• En absence de traitement, la dissémination bactérienne dans la circulation sanguine (peste septicémique secondaire), ou aux poumons (peste pulmonaire secondaire) entraine le décès de l'individu dans les 6 jours • Une guérison du malade, après une longue période de convalescence et une suppuration du bubon, est possible dans environ 20 à 40% des cas	• En absence de traitement précoce, elle entraine la mort dans les 3 jours après apparition des premiers symptômes	

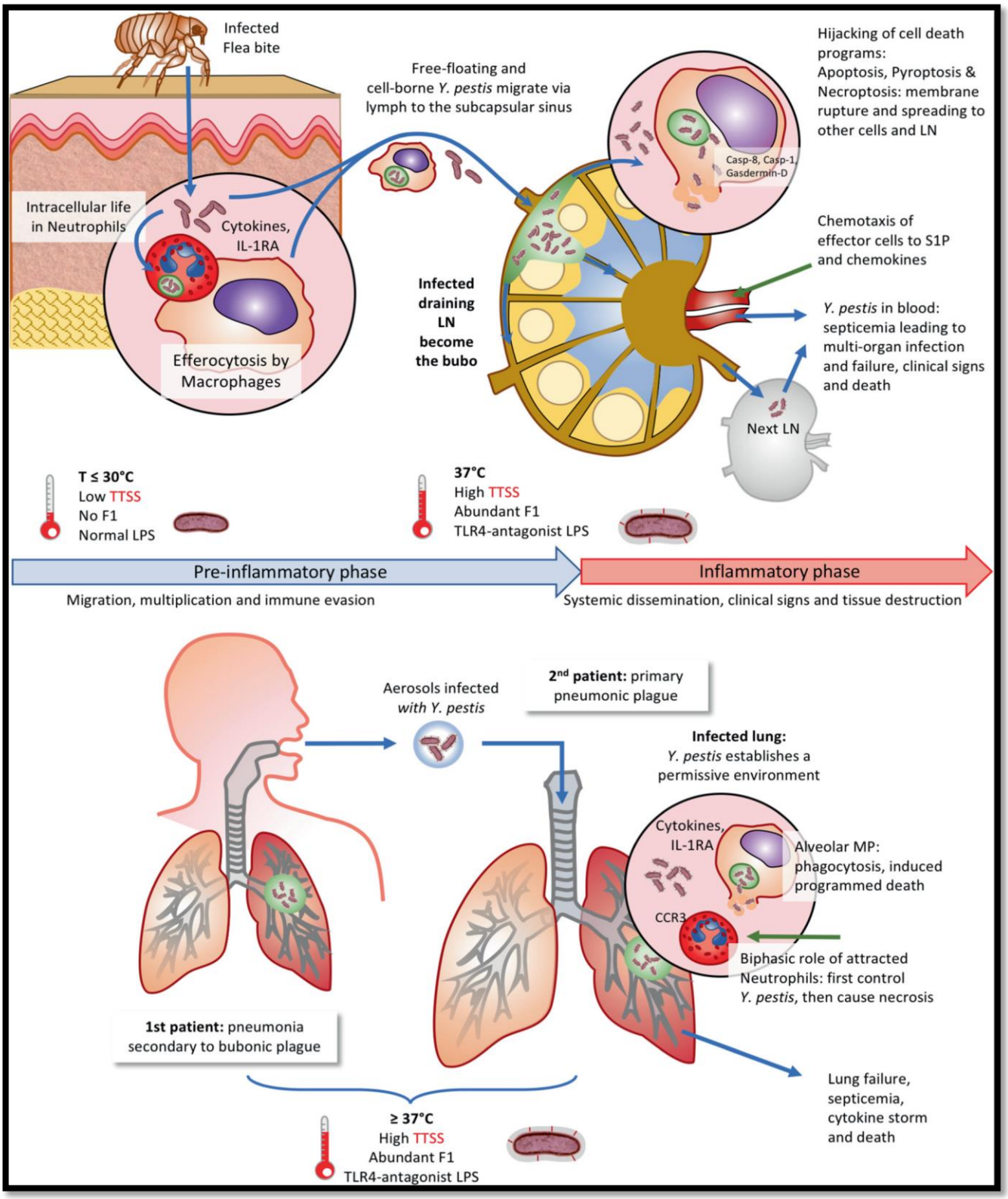

Figure 4: Propagation de Yersinia pestis dans le corps lors de la peste bubonique et pulmonaire (Demeure et al. 2019)

2.4. Facteurs de virulence

Les souches de *Yersinia pestis* responsables de pandémies sont associées à des facteurs de virulence qui permettent : (Butler 2009; Bos et al. 2011; Spyrou et al. 2019)

- Sa protection (notamment échapper au Système immunitaire de l'hôte)
- Sa survie et sa dissémination dans l'organisme (aussi bien des rongeurs que de l'Homme).
- Une subversion de l'immunité de l'hôte et l'utilisation de ses nutriments.

Ainsi, l'acquisition du plasmide pCP1, responsable de la protection bactérienne, s'est faite dès la divergence avec le pathogène salvatique *Yersinia pseudotuberculosis.* Cependant, les souches basales datant de la période néolithique et de l'âge de Bronze n'avaient pas les facteurs de virulence permettant une transmission complexe responsable de grandes épidémies, contrairement aux formes plus modernes. Les grandes épidémies ont eu lieu dès l'acquisition de pMT1, permettant la transmission aux mammifères et ainsi la dissémination de l'infection.(Bos et al. 2011; Spyrou et al. 2019)

L'analyse des souches moderne ne révèle pas de modifications majeures des mécanismes qui induisent la virulence en comparaison aux souches médiévales, responsable du fléau de la peste noire. Cette augmentation perçue de la virulence au cours des grandes pandémies ne réside ainsi donc pas uniquement dans le phénotype bactérien. D'autres facteurs sont ainsi évoqués, tels que l'environnement, les mécanismes de transmission (dont la dynamique des vecteurs) et la sensibilité de l'hôte. (Bos et al. 2011; Rascovan et al. 2016)

Tableau 2: Les facteurs de virulence **(D'après: Une et Brubaker 1984; Deng et al. 2002; Butler 2009; Spyrou et al. 2019)**

Gène de virulence	Antigènes	Rôles
pCD1 (commun à *Yersinia pseudotuberculosis* et *Yersinia enterocolitica*)	- Low calcium Response stimulation (LCRS) - V antigen (récepteur intra-membranaire) - Yop (récepteur extra-membranaire) - Type III sécrétion System	- système de sécrétion qui favorise la croissance bactérienne en cas de faibles concentrations de calcium (37°C) - subversion immunitaire : échapper à la phagocytose en inhibant la production de cytokines de l'hôte et donc de la réponse inflammatoire. - Suppression de la transduction du signal et paralysie des cellules phagocytaires.
pMT1 (également appelé pFra)	- Fraction 1 capsule - Toxine murine (ymt)	- code une protéine capsulaire antiphagocytaire - impliqué dans la colonisation des puces (ymt).
PCP1	- Plasminogen activator (Pla) : protéase à large spectre	- dissémination à partir du site d'inoculation - transmission inter-individuelle - activité fibrinolytique qui est maximale à 37°C - Il contribue au potentiel invasif de la bactérie.
PGM (Chromosomal pigmentation locus)	- Hemin storage - *Yersinia* bactin	- assimilation du fer : la capacité du pathogène à utiliser le fer de l'hôte influe sur la gravité de la maladie. L'infection est d'autant plus grave s'il est chélaté au fer - Participe à la formation du biofilm obstructif chez la puce
Autres :	- PH6 antigen (psaA) - lipopolysaccharides extra-membranaires - Adhésines	- Lien avec la formation de bubons (favorisent l'entrée des macrophages) - résistance au sérum, même en présence d'anticorps : effet anti-inflammatoire de haut grade - Adhésion des bactéries à l'épithélium.

2.5. Diagnostic

3 critères permettent de réaliser un diagnostic rapide afin de commencer un traitement efficace : (Raoult et al. 2013)

- Fièvre chez un sujet ayant été en contact avec des rongeurs (mort ou vivant) dans une zone endémique.
- Présence d'une adénite avec fièvre et hypotension.
- Pneumonie avec hémoptysie et présence de bacilles gram négatif dans les expectorations.

Ces éléments posent un diagnostic de peste même dans les zones où elle est supposée disparue. La réalisation de radiographies pulmonaires n'est pas efficace car elles ne permettent pas de réaliser un diagnostic différentiel et des manifestations ne sont présentes qu'en cas de peste pulmonaire. (Raoult et al. 2013)

La présence de bacilles gram négatifs (mise en évidence par coloration au Giemsa) dans une adénite nécessite la mise en place immédiate d'un traitement contre la peste, car très peu de bacilles gram négatifs sont responsables d'adénites. D'autant plus si les analyses de sang révèlent une hyperleucocytose et une thrombocytopénie (Raoult et al. 2013)

La confirmation du diagnostic se fera après mise en évidence du pathogène dans les échantillons après PCR. (Raoult et al. 2013)
A ce jour, des tests de diagnostic rapide basés sur l'immunodétection ont été mis en place dans les régions endémiques comme au Congo ou à Madagascar. (Raoult et al. 2013)

2.6. Traitements et prévention

Malgré les fléaux passés, la mortalité et la morbidité de la peste ont considérablement diminué. Ceci grâce à la découverte des antibiotiques et à une amélioration des connaissances de la maladie qui ont permis la mise en place de mesures de prévention. (Evgueni Tikhomirov et coll. 1999)

L’administration d’un traitement antibiotique précoce à base de streptomycine ou de tétracyclines permet, dans la majorité des cas, la survie de l’individu. La létalité est ainsi passée de 60% à 15%. (Evgueni Tikhomirov et coll. 1999)

Des mesures de prévention ont été diffusées auprès des populations locales et des voyageurs se rendant dans les zones endémiques. Il est ainsi conseillé d’éviter les rongeurs et les puces, de ne pas manipuler les carcasses d’animaux morts et de ne pas entrer en contact avec des fluides biologiques sans protection.
Il est aussi conseillé de consulter un médecin dans les plus brefs délais en cas de contact avec une personne contaminée ou après apparition de symptômes. (Evgueni Tikhomirov et coll. 1999)

A Madagascar, l’apparition récente de nouvelles souches de *Yersinia pestis* résistantes aux antibiotiques pose cependant problème.(Parkhill et al. 2001; Drancourt et Raoult 2002)
Des projets de vaccins ont été élaborés, mais ils ne sont pas encore indiqués pour une vaccination massive des populations exposées dans les régions endémiques (effets indésirables majeurs, durée limitée de l’immunité protectrice). Ils sont à ce jour uniquement administrés aux personnels travaillant dans des laboratoires et manipulant des souches vivantes de *Yersinia pestis*. (Prentice et Rahalison 2007)
D’autres projets prometteurs sont en cours. Il n’existe donc à ce jour encore aucun vaccin reconnu par l’Organisation Mondiale de la Santé (OMS) contre cette maladie.(Titball et Williamson 2001; Derbise et al. 2012, 2015, 2020; WHO 2017)

3. Intérêts de la paléomicrobiologie dentaire.

3.1. Définition

La paléomicrobiologie est une discipline récente qui a été développée parallèlement au progrès des techniques de séquençage biomoléculaire.(Drancourt et Raoult 2005)

C'est une branche de la microbiologie dont l'objectif est de détecter, d'identifier et de caractériser des micro-organismes dans des échantillons anciens. (Drancourt et Raoult 2005; Dagli et al. 2015)
Les premières expériences ont été réalisées en 1993 sur la mise en évidence, dans un squelette humain, de l'ADN de *Mycobacterium tuberculosis*.(Drancourt et Raoult 2005)
L'agent étiologique de la peste fut, quant à lui, le premier mis en évidence à partir de pulpe dentaire ancienne en 1998. (Malou et al. 2012; Mai et al. 2020)

Ses objectifs sont :

- Confirmer le diagnostic d'une maladie infectieuse, en absence de signes cliniques, des centaines d'années plus tard.(Drancourt et Raoult 2005) Cette identification peut être réalisée grâce à l'étude des fragments d'ADN pathogènes et de ses protéines. (Barbieri et al. 2017)
- Apports épidémiologiques des maladies passées en identifiant la répartition des individus infectés, des réservoirs et des vecteurs des micro-organismes, en fonction du temps et de l'espace.(Drancourt et Raoult 2005)
- Suivre l'évolution phylogénétique de micro-organismes sévissant encore à ce jour afin d'améliorer la prévention, le diagnostic et le traitement face à une potentielle épidémie contemporaine. (Gilbert et al. 2004; Drancourt et Raoult 2005)
- Apports historiques et anthropologiques, en venant confirmer ou infirmer des hypothèses historiques (Drancourt et Raoult 2005)

3.2. De l'odontologie médico-légale à la paléomicrobiologie dentaire

L'odontologie médico-légale est une branche de la médecine légale basée sur l'étude des dents et des maxillaires. Elle a 3 domaines d'utilisation : (Jeddy et al. 2017)

- Evaluation des préjudices sur la sphère orale.
- Identification d'individus (dans le cas de catastrophes de masse ou d'enquêtes criminelles)
- Examen de marques de morsures (agressions sexuelles, cas de maltraitances sur mineurs, légitime défense…)

Les méthodes conventionnelles utilisées à ces fins reposent sur une bonne tenue des dossiers médicaux dentaires (analyses comparatives), l'analyse des morsures, les techniques d'imagerie, l'analyse ADN, la chéiloscopie et la rugoscopie (étude des papilles palatines). (Jeddy et al. 2017)

Avec le développement de la réaction en chaîne par polymérase (PCR) et du séquençage, l'analyse ADN est rapidement devenue une méthode de choix dans l'identification médico-légale, notamment lorsque les autres méthodes conventionnelles échouent (tissus inexploitables, destruction totale, ...). (Jeddy et al. 2017)

La dent est une excellente source d'ADN ; la pulpe, la dentine, le cément mais également le ligament périodontal peuvent être utilisés dans ces recherches, et peuvent prolonger le temps d'identification génétique de restes humains décomposés. L'ADN génomique est ensuite comparé à des échantillons ante-mortem pour identifier le défunt. (Jeddy et al. 2017; Adserias-Garriga et al. 2018)

Ces techniques de recherche d'ADN à partir de la pulpe ont été étendues à la paléomicrobiologie dans la recherche de micro-organismes anciens. (Raoult et al. 2000; Jeddy et al. 2017)

3.3. Les différentes sources utilisées.

Les traces de pathogènes peuvent être retrouvées dans divers tissus :

- **Tissus mous momifiés ou congelés** (Tran et al. 2011)

- **Le tissu osseux.** Cependant, et contrairement à la tuberculose, toutes les maladies infectieuses n'engendrent pas de lésions osseuses (Gilbert et al. 2004; Drancourt et Raoult 2005; Spyrou et al. 2019). Se pose également un problème de contamination environnementale. (Drancourt et Raoult 2005)

- **La pulpe dentaire**, représente le complexe vasculo-nerveux de l'organe dentaire. Dans les conditions normales, c'est un tissu stérile, vascularisé, qui préserve les pathogènes d'une infection passée. Il s'agit du substrat le plus populaire. (Drancourt et Raoult 2005, 2005; Dagli et al. 2015)

- **Le tartre**, très commun dans la cavité buccale. Il est un témoin du microbiote oral de son hôte, stable au cours du temps et relativement peu soumis aux contaminations environnementales. (Dagli et al. 2015) L'étude des calculs permet non seulement d'identifier les agents pathogènes et leur virulence, mais également d'apprécier la réponse immunitaire de l'hôte, ainsi que ses habitudes de vie (par l'étude des bactéries commensales). (Dagli et al. 2015; Warinner et al. 2015) Des traces d'ADN mitochondrial de l'hôte ont été retrouvées dans du tartre ancien. (Warinner et al. 2015)

- **Environnement :** glace, pergélisol, les sols, les ectoparasites, animaux… (Drancourt et Raoult 2005; Warinner et al. 2015)

La dentine n'est pas encore utilisée en paléomicrobiologie due à sa très faible concentration en ADN. Cependant des études actuelles semblent montrer une plus forte affinité des acides nucléiques à ces tissus, grâce à sa composition en hydroxyapatite. (Dagli et al. 2015).
Ainsi, une étude réalisée par Malin Brundin et al. sur *Fusobacterium nucleatum* a montré que l'ADN lié à la dentine était récupérable par PCR, ce qui n'était pas le cas

pour les échantillons contrôles. Les effets stabilisateurs et protecteurs de l'hydroxyapatite sur l'ADN sont mis en cause (Dagli et al. 2015).

3.3.1. **Intérêts de la pulpe dentaire**

La pulpe dentaire est un tissu conjonctif très bien vascularisé ; sa densité vasculaire est comparable à celle du cerveau humain. (Dagli et al. 2015)
Les pathogènes responsables d'une bactériémie peuvent ainsi, à la mort de son hôte, être piégés dans la cavité pulpaire. (Dagli et al. 2015; Raoult 2016)
Des siècles plus tard, le matériel génétique de bactéries mortes il y a plusieurs centaines d'années peut-être détecté et transmettre des informations concernant la cause du décès. (Dagli et al. 2015). Ce tissu présente tout son intérêt dans l'étude de maladies ne présentant pas de défauts osseux dans sa symptomatologie, comme la peste.(Gilbert et al. 2004)

La pulpe dentaire présente également l'avantage d'être naturellement protégée de son environnement et du temps par des tissus fortement minéralisés, plus résistants que le tissu osseux ; l'émail, la dentine et le cément. (Drancourt et Raoult 2005; Dagli et al. 2015). C'est le tissu humain le plus durable dans le temps. (Drancourt et Raoult 2005)

C'est également un tissu naturellement stérile. En cas de bactériémie, il ne contiendra que l'agent pathogène et les cellules de l'hôte. (Dagli et al. 2015) (Drancourt et Raoult 2005) Cependant, certaines études ont relevé des contaminations de l'échantillon par le foramen apical et montre ainsi l'importance de la sélection de l'organe dentaire.(Dagli et al. 2015)

Certaines études ont pu prouver qu'une plus grande quantité d'ADN amplifiable était retrouvée dans la pulpe dentaire (37%) que dans le tissu osseux (5.7%). (Drancourt et Raoult 2011)

3.4. Les différentes techniques d'identification de pathogènes issues de la pulpe dentaire.

Selon les tissus étudiés, plusieurs méthodes sont utilisées pour détecter les micro-organismes dans les tissus anciens :

- Isolation microbienne et culture : très complexe à mettre en évidence sur des échantillons anciens du point de vue de la survie bactérienne.(Drancourt et Raoult 2005)(Lepidi 2008)
- Observations au microscope ; par exemple mise en évidence de *Mycobacterium tuberculosis* dans des momies andines (Drancourt et Raoult 2005; Lepidi 2008)
- Etude des protéines : immunodétection et sérologie (Drancourt et Raoult 2005; Barbieri et al. 2017)
- Analyse de l'ADN basée sur la PCR et le séquençage. (Dagli et al. 2015)

Basée en majeure partie sur l'amplification et le séquençage de l'ADN humain, ainsi que sur l'étude des protéines, la mise en évidence de *Yersinia pestis* dans la pulpe dentaire de sujets enterrés dans des tombes françaises datant du XVIIIème siècle a pu être réalisée pour la première fois en 1998. (Drancourt et Raoult 2005; Mai et al. 2020)

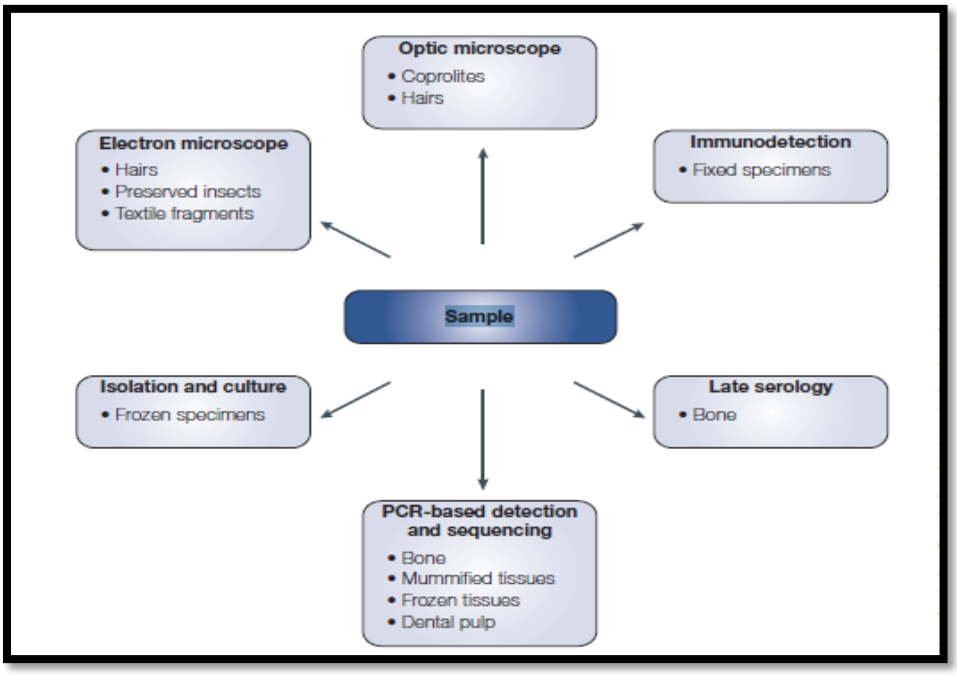

Figure 5: Techniques utilisées pour la détection d'anciens pathogènes (Drancourt et Raoult 2005)

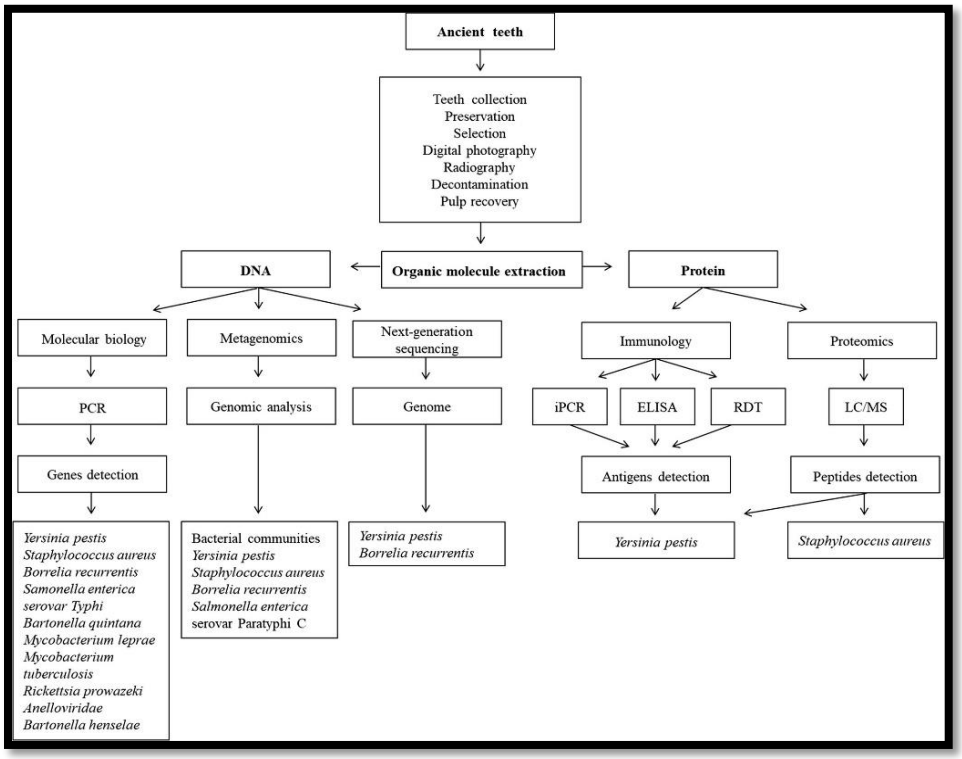

Figure 6: Les techniques d'analyse de l'ADN et des protéines à partir d'échantillons issus de pulpe dentaire (Mai et al. 2020)

3.4.1. **Préparation des échantillons**

a) Du prélèvement sur site à la conservation en laboratoire

Les squelettes sont utilisés comme sources de pathogènes. Les fosses communes, considérées comme sépultures d'urgence, sont suspectées d'être en lien avec des catastrophes passées (guerres, famines, épidémies…) Elles sont souvent mises en évidence lors de travaux d'urbanisation près des villes. (Drancourt et Raoult 2005)
C'est ainsi qu'un charnier datant de la peste justinienne a été mis en évidence à Marseille lors de la construction d'un tunnel. C'est ce dernier qui a conduit le Pr Raoult et son équipe à établir ses premiers travaux de paléopathologie sur la peste. (Raoult 2016)

Il est important de ne pas séparer la dent de l'alvéole sur le site de prélèvement pour éviter toute contamination. Cela doit être fait en laboratoire de manière stérile. (Tran et al. 2011c; Mai et al. 2020)

La conservation de l'ADN dans les dents anciennes est très influencée par les températures de conservation ; une augmentation de 2°C dans les sols pourrait entrainer une réduction de la demi-vie de l'ADN de moitié. Au laboratoire, il faut donc conserver les dents dans un environnement sec à -20°C.(Mai et al. 2020)

Les mâchoires et les dents sont photographiées dans tous les plans de l'espace, dans un intérêt comparatif (pour d'autres études) et statistique.(Mai et al. 2020)

Des radiographies préopératoires sont également nécessaires pour sélectionner les dents les plus appropriées. Cela permet de visualiser la morphologie de la pulpe et anticiper la présence de calcification ou de fissures qui pourraient contaminer les échantillons. Les radiographies rétro-alvéolaires, IRM et la tomodensitométrie sont les plus utilisés. Il n'y a pas de risques d'altérations de l'ADN en dessous de 200Gy.(Mai et al. 2020)

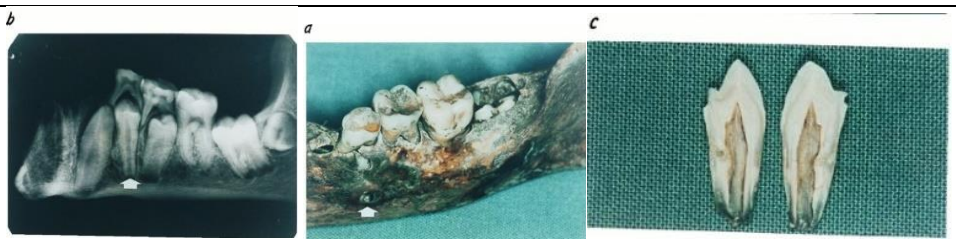

Figure 7 : Récupération de pulpe dentaire ancienne (Drancourt et al. 1998)

A : photographie de la mâchoire

B : radiographie

C : dent lavée et fracturée selon un axe longitudinal

b) Limiter la contamination

La mise en évidence d'ADN ancien sous-entend la possibilité de prouver son authenticité. (Drancourt et Raoult 2005)

Les échantillons peuvent être contaminés :

- Par la flore environnementale (Raoult et al. 2000; Drancourt et Raoult 2005)
- Au laboratoire par des fragments d'autres bactéries qui y sont étudiées, ainsi que celles présentes sur les mains du manipulateur, dans l'eau et les réactifs utilisés pour extraire l'ADN. (Raoult et al. 2000; Drancourt et Raoult 2005)

Pour limiter le risque de faux positifs, un respect strict des protocoles visant à limiter le risque de contamination est alors mis en place. (Drancourt et Raoult 2005)

La méthode de plus haut niveau pour supprimer les doutes sur une éventuelle contamination en laboratoire est une reproductibilité des résultats par un autre laboratoire. (Mai et al. 2020)

Tableau 3: Prévention de la contamination en paléomicrobiologie

(Woodward et al. 1994; Drancourt et al. 1998; Drancourt et Raoult 2005; Mai et al. 2020)

Procédure	Préparation des échantillons	Extraction ADN	PCR
Risque	• Contamination par la flore environnementale. • Contamination par la flore manuportée.	• Contamination par la flore environnementale. • Contrôle positif • Contamination par de précédents amplicons obtenus par PCR.	• Contamination croisée (par d'autres pathogènes précédemment étudiés dans le laboratoire)
Mesures préventives	• Être équipé d'éléments de protection individuelle lors de la manipulation des échantillons ; gants, charlottes, masques, surblouses… • Suppression des tissus externes de la dent par grattage, sablage ou grâce à l'utilisation d'une fraise montée sur pièce à main chirurgicale. • Rinçage à l'eau distillée. • Lavage à l'éthanol, au peroxyde d'hydrogène ou hypochlorite de sodium. • Séchage à l'air comprimé. • Séchage par exposition aux rayons ultraviolets (254nm) • Enrober les dents dans une résine stérile (selon procédures d'extractions) • Utiliser des dispositifs stériles • La manipulation et l'étude des échantillons doivent avoir lieu dans une pièce contrôlée qui n'a jamais été étudiée, cultivée et amplifiée *Yersinia pestis*.	• L'extraction et l'amplification de l'ADN doit avoir lieu dans une pièce contrôlée et ventilée ou n'a jamais été cultivée, étudiée et amplifiée*Yersinia pestis*. • Être équipé d'éléments de protection individuelle lors de la manipulation des échantillons ; gants, charlottes, masques, surblouses…	• Il ne doit pas y avoir de contrôles positifs • Avoir plusieurs contrôles négatifs • Séquencer tous les fragments d'ADN obtenus par PCR • La manipulation et l'étude des échantillons doivent avoir lieu dans une pièce contrôlée qui n'a jamais été étudiée, cultivée et amplifiée *Yersinia pestis*. • Les amorces utilisées doivent être à usage unique • La PCR doit être unidirectionnelle. • Être équipé d'éléments de protection individuelle lors de la manipulation des échantillons ; gants, charlottes, masques, surblouses…

c) Sélection de l'organe dentaire

- Préférer les dents intactes à apex fermé, telles que les dents non traumatisées et saines, pour limiter les contaminations (sans fissures, fêlures, fractures, abrasion trop importante ou de lésions carieuses…) Il est important d'analyser plusieurs dents chez un même individu pour maximiser les chances de détection.(Drancourt et Raoult 2005; Mai et al. 2020)
  Si possible, privilégier les dents entourées de tissus osseux telles que les dents en cours d'éruption, dents incluses, dents de sagesse… (Stériles et protégées par os).

- Sélection selon le volume de la chambre pulpaire. (Mai et al. 2020)
  Le volume pulpaire est proportionnel au volume d'ADN récupéré. Les dents monoradiculées sont à privilégier car leur manipulation est plus aisée et elles peuvent présenter une chambre pulpaire plus importante (incisives, prémolaires et surtout canines) (Mai et al. 2020)

- Tenir compte de l'estimation de l'âge du sujet : les dents de sujets matures résistent mieux dans le temps, l'ADN y est donc moins dégradé. Cela est dû à un émail plus minéralisé, une dentine et un cément moins poreux et plus épais.(Mai et al. 2020)
  Cependant, une étude de Bianucci et al. réalisée en 2007 a noté un différentiel de concentration de l'antigène F1 de *Yersinia pestis* entre l'os spongieux et la pulpe dentaire des individus selon leur âge (les individus jeunes concentrent plus d'antigène F1 dans la pulpe dentaire que dans l'os spongieux, et inversement pour les sujets plus âgés) (Bianucci et al. 2007b)
  Ce différentiel est expliqué par les modifications structurales du complexe dentino-pulpaire et dépendant de l'âge (réduction progressive de la pulpe avec l'âge)(Bianucci et al. 2007a)

d) Les différentes techniques de récupération de la pulpe

Tableau 4: Les différentes techniques de récupération de l'ADN pulpaire

Technique	Principe	Avantages	Inconvénients
Dent entièrement broyée	• Le tissu dentaire est analysé dans sa totalité	• Le tissu dentaire est analysé dans sa totalité	• Soumis aux contaminations • aucun avantage par rapport au tissu osseux • Perte de la morphologie dentaire
Extirpation de la pulpe par l'apex	• Enrobage de la dent dans une résine stérile ou du silicone ; • Section de l'apex pour donner accès au complexe pulpaire. • Ajout de solutions permettant l'extraction et la purification de l'ADN directement dans le canal ; la dent est utilisée comme un tube à essai naturel. • Les produits de digestion sont récupérés par centrifugation. *L'orifice peut également être réalisé au niveau coronaire.*	• Respect de la morphologie dentaire • Limite très fortement la contamination externe de la pulpe dentaire par l'apex.	• Technique nécessitant l'intervention d'un chirurgien-dentiste
Ouverture complète de la chambre pulpaire par coupe longitudinale de la dent.	• Réalisation d'un trajet d'incision en regard de la pulpe, sans l'atteindre, grâce à un disque diamanté ou carborundum monté sur pièce à main. Il permet d'anticiper le trait de fracture. • Ce trajet d'incision varie selon le type de dent : ➔ Dents monoradiculées et prémolaires maxillaires : ce tracé est réalisé sur les faces vestibulaires et linguales. ➔ Molaires maxillaires : un trajet est réalisé en palatin, ainsi qu'en vestibulaire (entre les 2 racines) et au niveau de la face vestibulaire de la racine palatine. ➔ Molaires mandibulaires, il est réalisé en distal sur toute la hauteur dentaire, ainsi qu'en mésial entre les deux racines et un rappel sur la face mésiale de la racine distale. • Ouverture de la chambre pulpaire obtenue par fracture nette grâce à un syndesmotome inséré dans le trait d'incision et accompagné d'un mouvement de luxation. • Récupération de l'échantillon pulpaire (ainsi que quelques traces de dentine juxta-pulpaire) est récupéré par grattage. 7.5 mg de poudre environ sont récupérés par dent.	• Les 2 parties de la dent peuvent être recollées pour une étude morphologique ultérieure • Permet de récupérer une plus grande concentration d'ADN • Limite les contaminations	• Technique nécessitant l'intervention d'un chirurgien-dentiste • C'est une technique d'analyse délétère pour la dent, mais si elle est bien réalisée, celle-ci peut tout de même être reconstituée par collage pour d'éventuelles analyses morphologiques ultérieures.

(Drancourt et Raoult 2005, 2011; Tran-Hung et al. 2007; Mai et al. 2020)

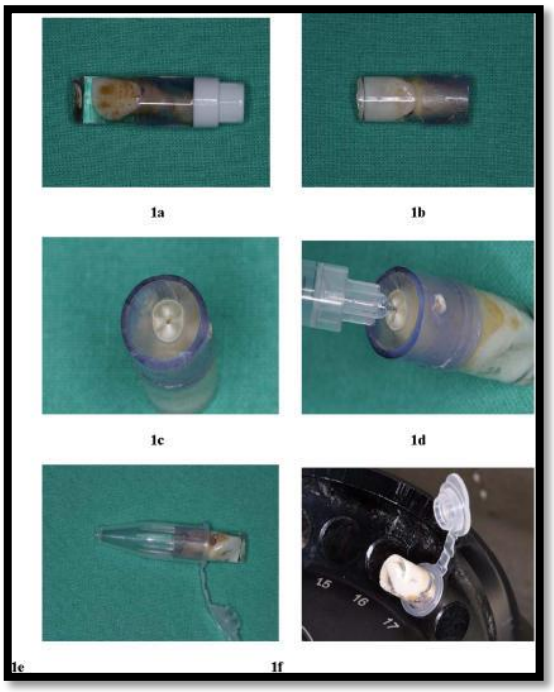

Figure 8: protocole de récupération de la pulpe dentaire par l'apex(Source: Tran-Hung et al. 2007)

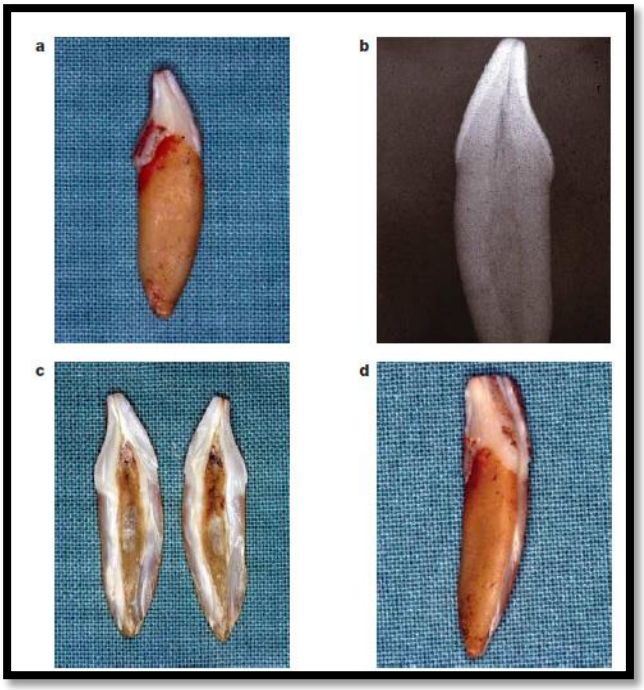

Figure 9: ouverture complète de la chambre pulpaire par coupe longitudinale de la dent (Source: Drancourt et Raoult 2005)

3.4.2. **L'analyse génomique**

A ce jour, 40 lieux de sépultures en Eurasie se sont révélés positifs à *Yersinia pestis*. Depuis 2011 et le premier projet de génome de la peste noire, le séquençage haut débit ont permis de venir enrichir ces données.(Mai et al. 2020)

a) L'amplification par PCR ; « Polymerase Chain Reaction »

Dans les années 80 est apparue la réaction en chaîne par polymérase (PCR). C'est une technique d'amplification enzymatique in vitro exponentielle d'acides nucléiques, si sensible qu'un seul gène peut être amplifié.(Dagli et al. 2015)
L'avantage majeur de cette technique est qu'elle peut être utilisée même sur une très faible concentration d'ADN, à la condition qu'au moins un seul brin soit intact. Ce procédé est cependant très sensible aux contaminations (Dagli et al. 2015)

La séquence à amplifier est flanquée de part et d'autre d'amorces nucléotidiques qui serviront de repères à l'ADN polymérase.(Dagli et al. 2015)

Les amorces utilisées dans l'étude *de Yersinia pestis* appartiennent aux gènes *env*, *rpoB* (un des gènes codant pour l'ARN polymérase) et surtout *pla* (ce dernier est spécifique *de Yersinia pestis* car non présent dans *Yersinia pseudotuberculosis*) (Raoult et al. 2000; Drancourt et Raoult 2005)

Une procédure PCR toute particulière a été mise en place par l'équipe de Didier RAOULT et Michel DRANCOURT pour l'étude de l'ADN de*Yersinia pestis* issus de la pulpe de dents anciennes : la SuicidPCR. Cette dernière permet une amélioration de la spécificité, et a ainsi pu, pour la première fois dans l'histoire, confirmer l'étiologie de la grande peste Noire médiévale. (Raoult et al. 2000; Raoult 2016; Mai et al. 2020)

Elle a ensuite pu confirmer le rôle *de Yersinia pestis* dans la peste Justinienne et celui de la fièvre typhoïde dans la peste d'Athènes. (Raoult et al. 2000)

La SuicidPCR ajoute certaines règles à la PCR classique. Pour cela, elle doit :

- être unidirectionnelle ; grâce à la Taq polymérase qui a une activité 5' vers 3'. (Raoult et al. 2000; Raoult 2016)
- être réalisée dans un bâtiment dédié, séparé de celui dans lequel est manipulé le matériel ancien. Le bâtiment est différent également de celui dans lequel est cultivé et étudié *Yersinia pestis*. (Raoult et al. 2000; Tran et al. 2011b; Raoult 2016)
- utiliser des amorces non ciblées auparavant dans le laboratoire d'analyse. Elles ne sont utilisées qu'une seule fois : aucun ADN des précédentes PCR ne doit venir contaminer l'échantillon. (Raoult et al. 2000; Mai et al. 2020)
- n'utiliser aucun contrôle positif (ou alors le réaliser dans un bâtiment différent de celui dans lequel est manipulé le matériel ancien) dans un même souci de protection contre les contaminations. (Mai et al. 2020) Les contrôles positifs doivent être séquencés. (Mai et al. 2020)
- être validé par de nombreux contrôles négatifs, similaire au matériel expérimental. Ils permettent de confirmer les résultats obtenus en démontrant l'absence des gènes d'intérêt dans les dents contrôles négatifs. (Mai et al. 2020)

La détection de*Yersinia pestis* dans des échantillons anciens par « Suicid PCR » a été controversée par l'équipe de Gilbert et al. en 2004. Leur étude a ainsi pu mettre en évidence la nécessité du respect strict des protocoles opératoires et du choix des échantillons. (Gilbert et al. 2004) (Drancourt et Raoult 2014)

b) <u>Les étapes de PCR</u>

Ces étapes ont lieu après extraction des acides nucléiques grâce au couple phénol/chloroforme et séparation des phases par centrifugation (Barnett et Larson 2012; Mai et al. 2020).

Un cycle de PCR est constitué de 3 étapes :

- <u>Dénaturation thermique initiale</u> (95°C pendant 90 secondes) de l'ADN, qui permet de séparer les 2 brins initiaux. (Woodward et al. 1994; Drancourt et al. 1998; Dagli et al. 2015)

- Recuit des amorces (hybridation) à leurs séquences complémentaires(45 secondes à 60°C)(Woodward et al. 1994; Drancourt et al. 1998; Dagli et al. 2015)
- Une élongation ou extension d'amorces (90s à 72°C) qui est la phase de réplication grâce à l'ADN polymérase. (Woodward et al. 1994; Drancourt et al. 1998; Dagli et al. 2015)

Ce cycle est répété environ 40 fois, pour obtenir une quantité d'ADN suffisante, dans un thermocycleur. (Woodward et al. 1994; Drancourt et al. 1998; Raoult et al. 2000)

c) Séparation des produits de PCR par électrophorèse sur gel d'agarose. (Woodward et al. 1994; Tran et al. 2011c)

d) Séquençage du génome grâce à la métagénomique

Avec l'apparition de la métagénomique, utilisant des technologies de séquençage très puissantes à haut débit (NGS) couplée à la bioinformatique, il est devenu possible d'étudier le contenu génétique d'échantillons issus d'environnements complexes.(Dagli et al. 2015; Warinner et al. 2015; Spyrou et al. 2019; Mai et al. 2020) Le premier séquençage entier de génome bactérien obtenu grâce à ces techniques est celui de*Yersinia pestis*, en 2011.(Spyrou et al. 2019)

En plus de la description phylogénétique de l'organisme, il fournit des informations sur l'interaction des microbes entre eux et les transferts de gênes, ainsi que sur la structure et les fonctions du génome. (Dagli et al. 2015; Warinner et al. 2015; Mai et al. 2020)

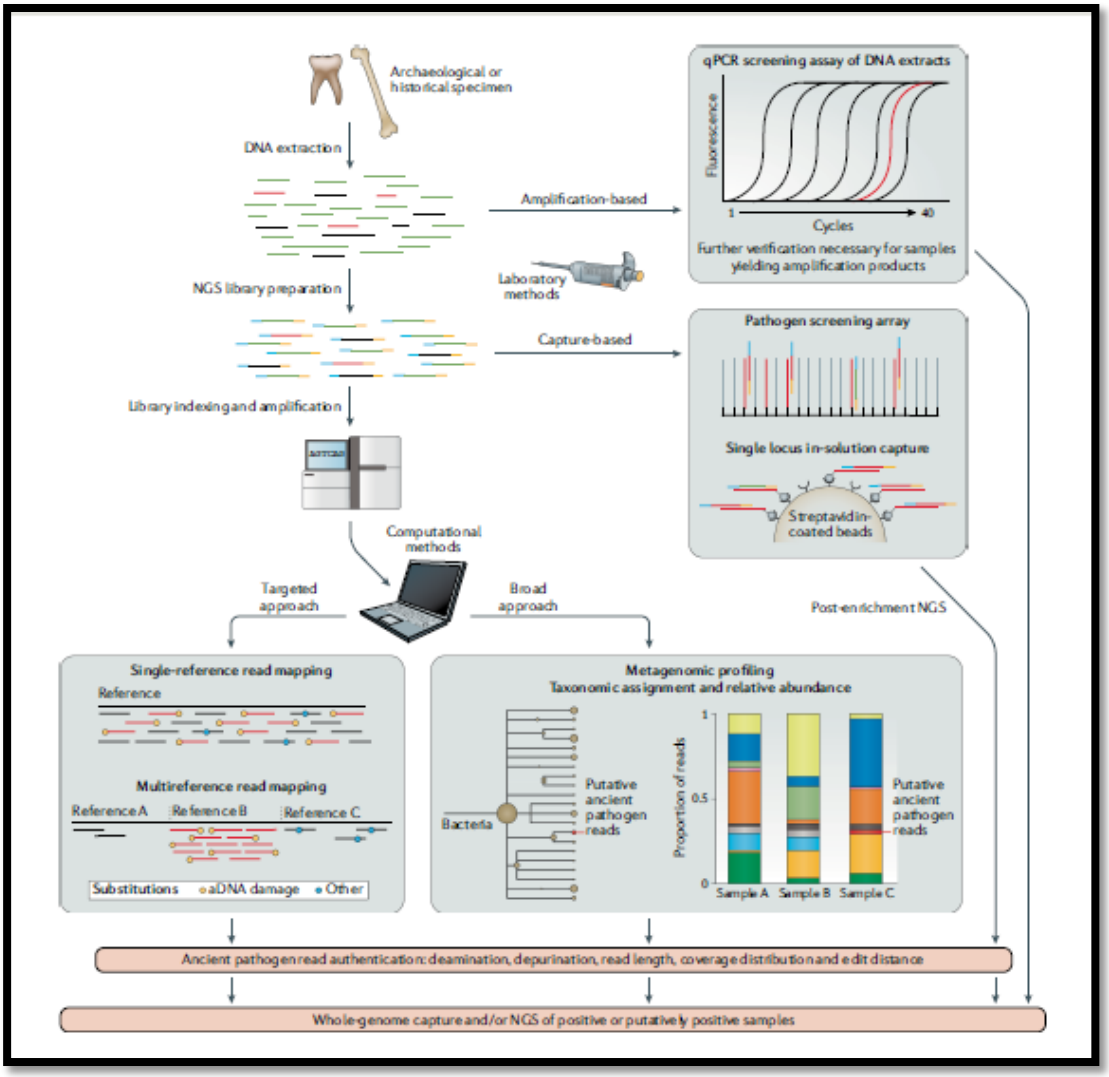

Figure 10: Méthodes utilisées pour la détection et l'isolation d'ADN pathogène ancien grâce à la métagénomique(Source: Spyrou et al. 2019)

e) Diversité phylogénétique

Le Multiple Spacer Typing (MST) est une méthode de génotypage établie par l'équipe du Pr Raoult, utilisée pour la première fois dans l'étude de la peste, qui permet d'identifier et de différencier les différents biovars de *Yersinia* (Drancourt et al. 2004; Drancourt et Raoult 2005, 2011; Raoult 2016)

Elle va amplifier et séquencer une succession de régions inter-géniques codantes qui vont établir une empreinte génétique des différentes souches. (Drancourt et al. 2004; Raoult 2016)

3.4.3. **La paléoprotéomique**

L'utilisation de l'ADN présente néanmoins certains inconvénients: (Tran et al. 2011a; Malou et al. 2012)

- Modifications chimiques au cours du temps, présence d'inhibiteurs de PCR, décomposition et fragmentation de l'ADN.
- Risques de contamination très importants.
- Nécessité de respect de protocoles stricts en laboratoire.

Cela a peu à peu orienté les scientifiques vers d'autres supports d'études tels que les protéines(Malou et al. 2012).
Elles sont considérées comme plus appropriées pour la détection de*Yersinia pestis* dans les échantillons anciens car sont plus résistantes face à la dégradation. (Malou et al. 2012; Barbieri et al. 2017)

L'étude du protéome permet donc de mettre en évidence aussi bien les protéines microbiennes que celles de la réponse inflammatoire de l'hôte. (Tran et al. 2011a)

Dans l'exemple de la peste, le taux de détection de l'antigène F1 *deYersinia pestis* dans des échantillons de pulpe dentaire ancienne est bien supérieur à la concentration d'ADN.(Tran et al. 2011a; Drancourt et Raoult 2016)

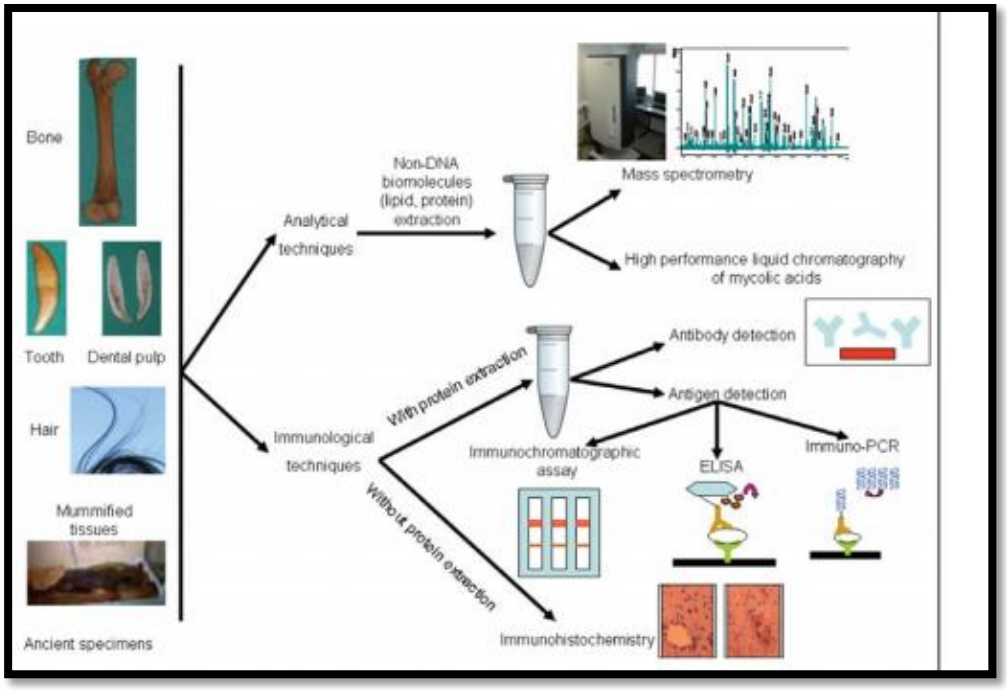

Figure 11: Les différentes méthodes utilisées en paléomicrobiologie pour la détection de protéines(Tran et al. 2011)

a) Extraction des protéines de la pulpe dentaire

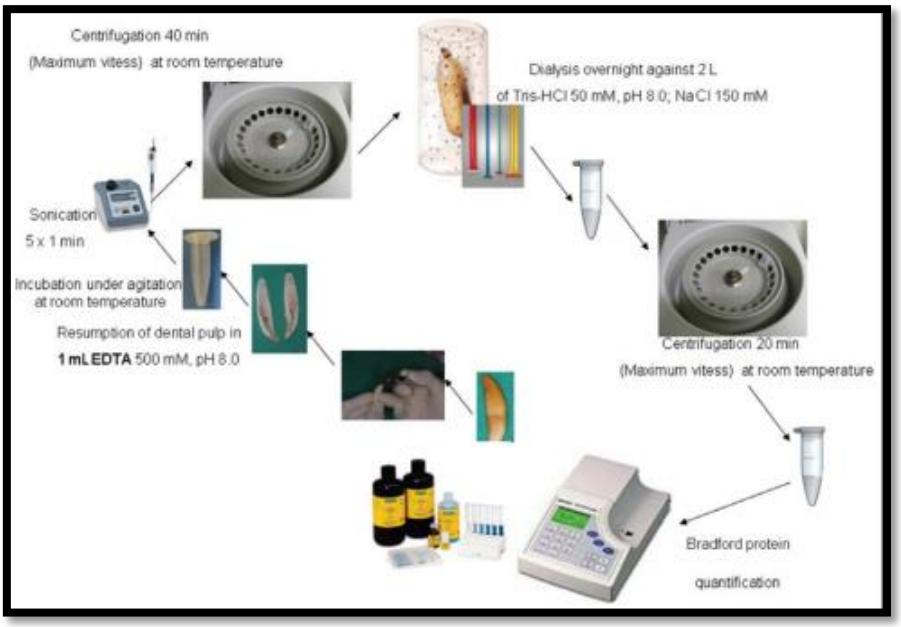

Figure 12: Protocole d'extraction des protéines de la pulpe dentaire(Tran et al. 2011)

b) Immuno-chromatographie

Un test de diagnostic rapide par bandelette (RDT) utilisant l'immuno-chromatographie, initialement créé pour effectuer un dépistage rapide dans les régions endémiques, a été appliqué aux études paléomicrobiologiques.
Il a été utilisé pour identifier d'anciens charniers de peste dans le Sud de la France, aux Pays-Bas, en Allemagne et en Italie. (Bianucci et al. 2007a; Malou et al. 2012; Mai et al. 2020)

L'objectif étant une détection plus simple, plus rapide et à faible coût de *Yersinia pestis* sur des échantillons de pulpe dentaire ancienne. (Bianucci et al. 2007b)

L'apport de cette méthode aux analyses ADN permet d'affirmer avec certitude l'étiologie d'une maladie, face aux nombreuses controverses de comités scientifiques. Son utilisation reste toutefois limitée lorsqu'il s'agit d'identifier les différents biovars. (Gilbert et al. 2004; Bianucci et al. 2007a)

c) La méthode immuno-histochimique ELISA

Un groupe de recherche italien a utilisé cette méthode pour mettre en évidence l'antigène F1 de *Yersinia pestis* dans des squelettes de victime de la Peste à Venise et à Gênes. (Malou et al. 2012; Mai et al. 2020)

Cependant, ce n'est pas la méthode de choix pour les échantillons anciens car sa faible limite de détection n'est pas compatible à la quantité disponible présente dans les échantillons. (Malou et al. 2012)

L'antigène cible est capturé par son anticorps spécifique et mis en évidence par une méthode enzymatique, comme des fluorochromes, reliés aux anticorps de détection. La valeur d'absorbance sera ensuite analysée par spectrophotométrie. (Sano et al. 1992)

d) Immuno-PCR

Encore une fois, cette méthode a été utilisée pour la première fois afin de détecter les protéines de*Yersinia pestis* dans des échantillons anciens. (Malou et al. 2012; Mai et al. 2020)
Décrite pour la première fois en 1992, elle combine les avantages de l'immunodétection d'ELISA à l'amplification par PCR.(Malou et al. 2012; Mai et al. 2020) Il s'agit de la première technique qui conjugue anticorps et ADN pour détecter un antigène. (Tran et al. 2011)

Ainsi, c'est la méthode immuno-histochimique la plus sensible grâce à l'amplification par PCR. (Tran et al. 2011a; Mai et al. 2020). Son utilisation a permis une amélioration de la détection de 100 à 10 000 fois supérieure par rapport à ELISA, dans tous ses domaines d'application (détection de marqueurs tumoraux, polluants environnementaux, …) (Malou et al. 2012)

Les premières étapes reprennent celles de la technique ELISA; les antigènes sont reconnus par leurs anticorps de détection spécifique reliés par une molécule de liaison à un marqueur ADN (contrairement à l'ELISA classique qui est, elle, couplée à une détection enzymatique) (Sano et al. 1992). Ce dernier sera ensuite amplifié par PCR. (Sano et al. 1992; Malou et al. 2012)

Les produits de PCR sont analysés par électrophorèse sur gel d'agarose après coloration au bromure d'éthidium (Sano et al. 1992) et par spectrométrie de masse (LC/MS) par chromatographie en phase liquide (qui permet d'identifier les composés en fonction de leur rapport masse sur charge). (Barbieri et al. 2017)

Une application de l'immuno-PCR sur des sujets âgés de 300 ans, issus de sites archéologiques français, a ainsi permis de mettre en évidence 4 peptides révélateurs de*Yersinia pestis*, dont 1 retrouvé non spécifique retrouvé également chez *Yersinia pseudotuberculosis*. (Barbieri et al. 2017; Mai et al. 2020)

4. Synthèse des résultats.

4.1. Apport anthropologique.

4.1.1. Confirmation d'hypothèses de diagnostic

Avant l'arrivée de la paléomicrobiologie, l'imputabilité de la peste dans les 2 premières pandémies restait à l'état de supposition. Les hypothèses concernant les causes de décès étaient basées sur des textes anciens, des sources picturales et des évaluations anthropologiques (notamment le sex-ratio et l'âge moyen des victimes). (Drancourt et Raoult 2005; Haensch et al. 2010; Schuenemann et al. 2011)

Ainsi, les descriptions historiques de bubons et de l'évolution de la maladie, comme celles réalisées par Guy de Chauliac lors de la 2e pandémie, ont permis aux scientifiques d'établir un lien entre la peste moderne et les pandémies anciennes.(Drancourt et Raoult 2016)
Aucune de ces hypothèses n'avait pu être confirmée. (Drancourt et Raoult 2005; Bos et al. 2019)

L'analyse PCR de la pulpe dentaire de victimes de la peste d'Europe Centrale ont ainsi permis de confirmer l'imputabilité de*Yersinia pestis* dans les 2 premières pandémies. Des analyses immuno-chromatographiques sont venues confirmer ces études après avoir révélé la présence de l'antigène F1 de la capsule protéique dans des cadavres français et allemands. (Drancourt et Raoult 2005; Haensch et al. 2010; Schuenemann et al. 2011; Tran et al. 2011c; Raoult 2016; Bos et al. 2019)

Une étude menée par une équipe grecque a également permis d'infirmer l'hypothèse selon laquelle « la peste d'Athènes », qui provoqua la chute de la capitale lors de la guerre du Péloponèse, avec plus de 300 000 morts, n'était pas dûe à *Yersinia pestis* mais à la fièvre typhoïde. (Raoult et al. 2000; Drancourt et Raoult 2002, 2016; Papagrigorakis et al. 2006)

4.1.2. Explication de mutations profondes au sein des sociétés passées : exemple de la peste et du déclin Néolithique

Une équipe de travail rassemblant des chercheurs de France, du Danemark et de Suède ont permis de mettre en évidence des traces de *Yersinia pestis* dans des cadavres d'agriculteurs Suédois datant de la période Néolithique. C'est une avancée considérable dans ce domaine car il s'agit de la plus vieille souche de *Yersinia pestis* (Gok2) séquencée à ce jour, vieille d'environ 5 000 ans, à la base de son arbre phylogénétique (Rascovan et al. 2019)

Ces données, corrélées à des horloges moléculaires, ont permis de prouver que de nombreuses souches de *Yersinia pestis* sont nées et se sont dispersées dans toute l'Eurasie à partir de cette période. Un lien a été établi entre cette propagation, une croissance rapide suivie d'un effondrement important des grandes villes, et l'évolution de moyens de locomotion tels que l'apparition de la roue et de la traction animale. (Rascovan et al. 2019)

Ces recherches ont ainsi conduit les scientifiques à soulever l'hypothèse d'une pandémie de peste en Eurasie, responsable du Déclin Néolithique, touchant particulièrement les agriculteurs, et ayant favorisé les transhumances de la Steppe vers l'Europe. Initialement, cette pandémie n'a donc pas été provoquée par les migrations massives, mais par l'évolution des moyens de transports. (Rascovan et al. 2019)

Ce déclin a ensuite donné naissance à l'âge de Bronze, qui fut marqué par d'intenses vagues de migration en Eurasie. La lignée LNBA de *Yersinia pestis* reflète ces mouvements de population et n'est retrouvée actuellement que dans des réservoirs sauvages. (Rascovan et al. 2019; Spyrou et al. 2019)

4.2. Identification des contextes d'apparition de la maladie.

Après la période néolithique et avec un changement des habitudes de vie, certains facteurs ont engendré une nouvelle dynamique de propagation des maladies telles que :(Bos et al. 2019)

- La domestication animale (Bos et al. 2019; Rascovan et al. 2019)
- L'accroissement de la population (Bos et al. 2019; Rascovan et al. 2019)
- Des contacts rapprochés entre les Hommes et les déchets animaux (Bos et al. 2019; Rascovan et al. 2019)
- Les inégalités sociales (Bos et al. 2019)
- Les carences alimentaires qui entrainent des baisses immunitaires (Bos et al. 2019)
- L'exploitation des sols (Bos et al. 2019)
- L'utilisation d'engrais à base de matière fécale (Bos et al. 2019)
- Stockage alimentaire (et éventuels contacts avec les rongeurs) (Bos et al. 2019; Rascovan et al. 2019)
- Utilisation des eaux stagnantes dans l'irrigation des cultures (Bos et al. 2019)

4.2.1. Identification de nouveaux vecteurs de la maladie

Les puces des rongeurs sont des vecteurs importants de la maladie. Un lien causal a été établi entre des résurgences épizootiques et des cas isolés de peste. Ce lien a été confirmé par plusieurs études qui ont montré que la transmission inter-rongeurs n'était possible que si les puces pouvaient se déplacer entre les cages. (Duplantier et al. 2005; Raoult 2016)

L'hypothèse selon laquelle la peste est transmise uniquement par les rongeurs et leurs ectoparasites ne permet pas d'expliquer des pandémies comme celles passées.(Drancourt et Raoult 2016) Notamment lors d'épidémies ayant lieu en hiver, lorsque l'activité des puces est à son minimum. Une contamination uniquement par aérosol n'est pas envisageable dans le cas de formes buboniques. (Raoult et al. 2013) Il faut donc évaluer la possibilité d'une transmission inter-humaine par l'intermédiaire d'ectoparasites humains, tels que les poux de corps et de cheveux. (Piarroux et al. 2013; Raoult 2016)

En France, il a été mis en évidence, dans la pulpe de dents anciennes issues de lieux de sépultures datant du XIème et XVème siècle, la présence de 2 agents pathogènes responsables d'épidémies duales ; *Yersinia pestis* et *Bartonella quintana* (maladie

transmise par les poux de corps). Cela a soulevé l'hypothèse d'un même vecteur.(Tran et al. 2011b, 2011c; Piarroux et al. 2013; Drancourt et Raoult 2016; Raoult 2016)

Une étude dans une des régions endémiques contemporaine, dans l'Est du Congo, confirme la présence concomitante de*Yersinia pestis* et de *Bartonella quintana* dans les poux.(Raoult 2016) Des études expérimentales menées ultérieurement ont permis de confirmer la capacité des poux de corps à transmettre *Yersinia Pestis*. (Houhamdi et al. 2006; Rascovan et al. 2016)
Une étude de poux de corps anciens datant des grandes épidémies viendrait confirmer leur implication à cette époque. (Drancourt et Raoult 2016)

L'identification de ces nouveaux vecteurs permet d'établir de nouvelles mesures de prévention contre la maladie. (Evgueni Tikhomirov et coll. 1999)

4.2.2. Découverte de nouvelles formes de contamination

La résurgence de peste cervicale et œsophagienne, comme en Jordanie en 1997, en Lybie en 1976 et chez les populations nomades du Maghreb, soulève l'hypothèse d'une contamination par voie digestive de *Yersinia pestis*. (Christie et al. 1980; Arbaji et al. 2005; Raoult et al. 2013)
Ces cas de peste pharyngée ont été contractés à la suite de l'ingestion de viande animale crue infectée comme celle des camélidés ou des chèvres. Ces derniers ayant été contaminés par leur environnement salé et aride, favorable à la conservation et au développement de *Yersinia pestis*. (Christie et al. 1980; Arbaji et al. 2005; Bertherat et al. 2007; Raoult et al. 2013)

Ces évènements confirment que le chameau et la chèvre sont sensibles à l'infection à *Yersinia pestis* et soulèvent le rôle des aliments consommés dans la diffusion des épidémies de peste humaine. (Christie et al. 1980)

4.3. Evolution phylogénétique.

Les différences de manifestation et de gravité de la maladie au cours du temps peuvent partiellement être expliquées par des modifications du génotype bactérien. L'étude phylogénétique permet une estimation du taux de mutation du génome bactérien sur une séquence temporelle, de caractériser les changements nécessaires à sa transformation en un pathogène capable d'infections humaines de l'ampleur de la peste Noire, et sa relation avec les souches modernes.(Bos et al. 2011, 2019).
A ce jour, 38 anciens génomes de *Yersinia pestis* ont été publiés.(Spyrou et al. 2019)

4.3.1. Identification des différents biovars

L'apparition des méthodes de séquençage du génome à haut débit et la réduction de leurs coûts ont permis d'analyser l'ADN de différentes souches de *Yersinia pestis* à partir de pulpe dentaire, dans toute l'Europe et sur une période très large. (Parkhill et al. 2001; Achtman et al. 2004; Demeure et al. 2019)

Ces analyses ont pu montrer que *Yersinia pestis* a évolué en 5 branches phylogénétiques à partir de *Yersinia pseudotuberculosis*; les biovars. Les branches les plus anciennes ont été disséminées majoritairement en Chine, en Mongolie et en Russie. (Morelli et al. 2010; Demeure et al. 2019; Spyrou et al. 2019)

L'étude des souches modernes a permis de révéler 3 biovars majeurs ayant pu être impliqués dans les épidémies pestoïdes. Elles sont distinguées en fonction de leurs caractéristiques métaboliques. (Drancourt et Raoult 2005; Haensch et al. 2010) :

- le biovar *Medievalis* est incapable de réduire les nitrates
- le biovar *Orientalis* ne peut pas fermenter le glycérol
- le biovar *Antiqua* peut effectuer les 2 réactions.

Une association entre les trajets des pandémies historiques et les sources géographiques d'apparition des différentes souches a conduit Devignat à émettre l'hypothèse que chaque souche serait responsable d'une pandémie historique. (Drancourt et Raoult 2005; Prentice et Rahalison 2007; Haensch et al. 2010; Bos et al. 2019)

- biovar *Antiqua* : peste justinienne, venue d'Afrique de l'Est
- biovar *Medievalis* : venue d'Asie, responsable de la peste noire médiévale
- biovar *Orientalis* : peste moderne

Allant à l'encontre de cette hypothèse, les études plus récentes d'échantillons d'ADN du VIIème, IXème et XIIIème siècle ont montrées que seule la souche *Orientalis* est impliquée dans les 3 crises. (Raoult et al. 2000; Drancourt et al. 2004; Drancourt et Raoult 2005, 2011)

C'est également le seul biovar, distribué dans le monde entier, qui semble posséder un potentiel de dissémination suffisant pour créer une pandémie.(Drancourt et al. 2004; Raoult et al. 2013)

Cela incite donc à se poser de nouvelles questions et oriente les recherches : les 3 épidémies sont-elles dues à un ou plusieurs clones du biovar Orientalis ? (Rascovan et al. 2016)

4.3.2. Les différentes lignées au sein d'un même biovar

La récupération de bacilles de *Yersinia pestis* à partir de dents anciennes a permis de créer une ramification des différentes lignées, dans toute l'Eurasie, et remontant jusqu'à sa divergence avec *Yersinia pseudotuberculosis*. (Demeure et al. 2019)

Ces études ont permis d'établir ces différentes souches au sein d'un cadre évolutif et d'étudier leurs rôles dans les fléaux passés. (Parkhill et al. 2001; Achtman et al. 2004; Spyrou et al. 2016)

Yersinia pestis possède un fort degré de polymorphisme. Ainsi, une diversification des lignées au sein d'une même pandémie peut-être observée, comme le montre une étude menée par Haensch et al. réalisée en 2010, à propos de la Peste noire. (Achtman et al. 1999; Haensch et al. 2010)

Les archives historiques tendent à montrer que la peste noire s'est propagée en Europe depuis le bassin méditerranéen vers le Nord, notamment aux Pays-Bas, en Norvège et en Angleterre. L'étude menée par Haensch et al, étudiant l'ADN de *Yersinia pestis* provenant de différentes zones géographiques à une même période (Bergen, Occitanie et Angleterre) a montré que les génotypes

étudiés à Bergen différaient de ceux de France et d'Angleterre. (Haensch et al. 2010)

Bien qu'étroitement liés, les génotypes diffèrent entre ces 2 régions. Cela pourrait s'expliquer par une mutation de la bactérie au cours de la migration vers le Nord, ou plus probablement due à une vague d'infection distincte. (Haensch et al. 2010)

4.3.3. Divergence avec Yersinia pseudotuberculosis

Il a donc été possible de prouver que *Yersinia pestis* a un génome très proche de*Yersinia pseudotuberculosis,* pathogène salvatique responsable d'infections entériques, majoritairement chez les rongeurs. Leur identité génomique atteint 97%. Ils partagent le plasmide de virulence pCD1. (Prentice et Rahalison 2007; Sun et al. 2014; Spyrou et al. 2019)

Les 2 souches auraient divergé il y a environ 6 000 ans et se différencient clairement par leur potentiel de virulence et de transmission, expliqués par l'acquisition des plasmides pPCP1 et pMT1, responsables de la transmission aux puces. (Butler 2009; Spyrou et al. 2019)

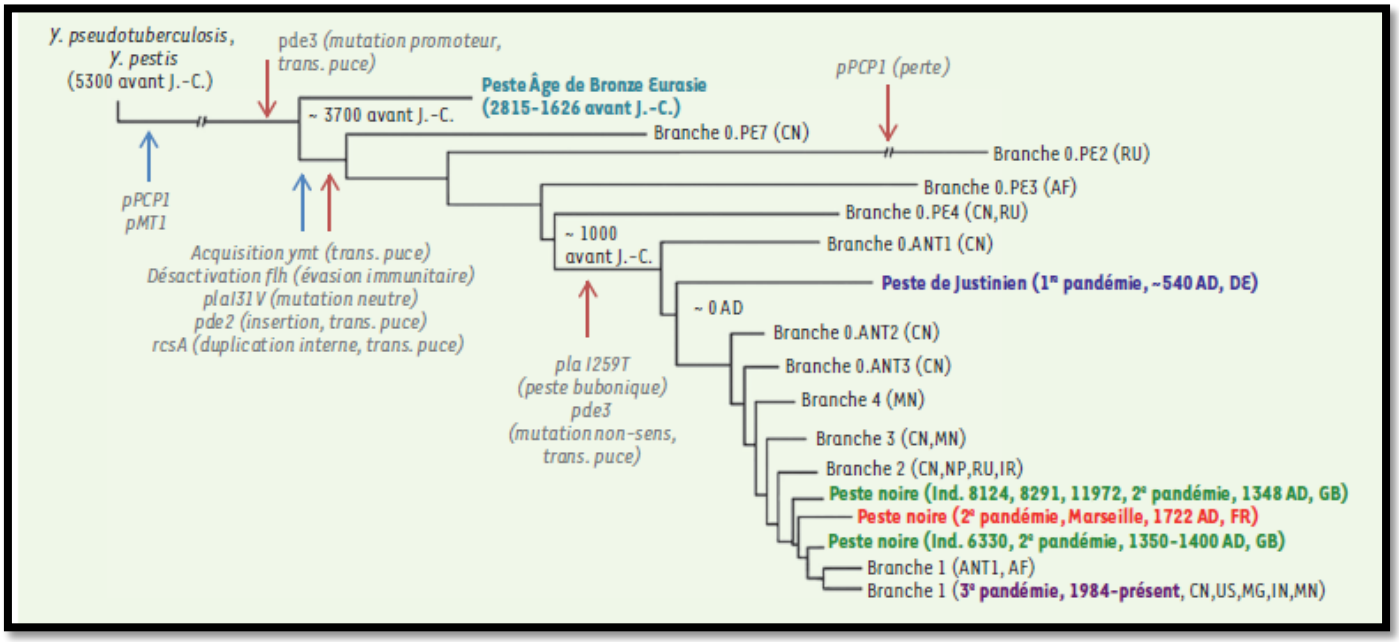

Figure 13: Arbre phylogénétique de Yersinia pestis(Rascovan et al. 2016)

4.3.4. Développement de méthodes de diagnostic plus rapides

Les manifestations cliniques de la peste sont d'une extrême gravité chez l'Homme, avec un taux de létalité sans traitement allant de 70% pour la peste bubonique, à 100% pour la peste pulmonaire. (Bianucci et al. 2007b)

La culture et l'identification de*Yersinia pestis* par les techniques de biologie moléculaire classiques demandent néanmoins 10 à 15 jours de travail et un plateau technique lourd, peu accessible dans les régions endémiques. (Bianucci et al. 2007b)

L'apparition des premiers symptômes chez un patient nécessite la mise en place d'un traitement antibiotique précoce. (Evgueni Tikhomirov et coll. 1999)
Cependant, seule une sérologie permettra de confirmer le diagnostic. Pour cela, un test de diagnostic rapide (RDT) a été développé par l'institut Pasteur (Paris et Madagascar) afin de réduire la létalité et la diffusion de la maladie.(Bianucci et al. 2007b; Prentice et Rahalison 2007)

Ce test, utilisant des méthodes immuno-chromatographiques, permet de détecter l'antigène F1 de*Yersinia pestis* jusqu'à un seuil de 0.5 ng/ml, en 15 minutes. Il contient 2 anticorps monoclaunaux anti-F1 et est considérée comme positif après apparition de 2 bandes roses.(Bianucci et al. 2007b; Prentice et Rahalison 2007; Mai et al. 2020)
Il a été rapidement utilisé dans les régions endémiques, notamment à Madagascar, pour l'analyse des crachats dans la détection de la peste pneumonique. Cette efficacité diagnostic permet un traitement adapté plus rapide, ainsi que la mise en place de mesures prophylactiques dans la population afin d'éviter le risque épidémique.(Ratsitorahina et al. 2000)

Comme vu précédemment, son utilisation a été étendue depuis 2004 à la paléopathologie par application de ce test sur des échantillons de pulpe ancienne. (Bianucci et al. 2007b; Mai et al. 2020)

4.3.5. Projets de vaccins

L'apparition récente de souches résistantes aux antibiotiques à Madagascar fait naître un risque majeur face auquel une vaccination de masse des populations pourrait être la seule solution. (Galimand et al. 1997; Derbise et al. 2012)

Les informations fournies par le séquençage du génome permettent une meilleure compréhension de l'agent pathogène afin de mettre au point un vaccin ou de nouvelles thérapeutiques efficaces. (Deng et al. 2002)

Ces dernières années ont été marqués par de nombreux essais ; (Titball et Williamson 2001)

- ***Yersinia pestis* vivant atténué**

Développé à Madagascar. Il peut avoir des effets secondaires très graves et la forte instabilité génétique bactérienne crée un obstacle majeur à son utilisation. Il n'est utilisé aujourd'hui que dans certains pays comme la Chine ou la Russie. (Derbise et al. 2012, 2015)

- ***Yersinia pestis* mort**

Son développement a été stoppé car il ne conférait qu'une immunité très limitée dans le temps nécessitant des rappels annuels. (Derbise et al. 2012)

- ***Yersinia pestis* atténué par génie génétique** (Derbise et al. 2012)

- **Introduction d'antigènes de*Yersinia pestis* chez *Salmonella*** (Derbise et al. 2012)

- **Vaccins moléculaires associant 2 peptides ; la fraction capsule F1 et l'antigène V**.

Bon inducteur pour la production d'anticorps, ce vaccin se révèle cependant médiocre dans l'induction immunitaire cellulaire, très importante pour la protection contre la peste. Son efficacité chez l'Homme reste donc à démontrer. (Chiuchiolo et al. 2006; Derbise et al. 2012, 2015; Demeure et al. 2019)

Les essais de phase I et II sont terminés pour ce vaccin et l'OMS organise actuellement des essais de phase III en région endémique pour 2021. (Demeure et al. 2019)

- ***Yersinia pseudotuberculosis* vivant atténué**

L'idée d'utiliser cet ancêtre récent de *Yersinia pestis,* partageant plus de 95% de son génome, permet de combiner une immunité génétique à une virulence moindre. Il est également beaucoup plus stable d'un point de vue génomique. Les vaccins vivants génèrent une immunité à la fois humorale et cellulaire dirigée contre des cibles multiples.(Derbise et al. 2012, 2015)

L'inoculation orale de 2 doses de ce vaccin permettrait une protection de 88% contre la peste bubonique. Cependant, il n'offre qu'une très faible protection contre la peste pulmonaire. (Derbise et al. 2012)

Pour augmenter l'efficacité de ce vaccin, un dérivé encapsulé dans la fraction F1 a été élaboré. (Derbise et al. 2015)

- ***Yersinia pseudotuberculosis* vivant, atténué et encapsulé**

L'atténuation de *Yersinia pseudotuberculosis* a été obtenue par suppression de 3 facteurs de virulence essentiels. Il a ensuite été encapsulé dans la fraction F1 atténuée de *Yersinia pestis*. (Derbise et al. 2012, 2015)

Son inoculation orale a permis une colonisation intestinale sans lésions, et a induit une protection humorale et cellulaire de l'immunité au niveau systémique et muqueux. (Derbise et al. 2012)

La prise d'une seule dose orale permet une protection allant de 94% à 100% contre la peste pulmonaire. L'ajout de la fraction F1 a ainsi considérablement augmenté les performances de*Yersinia pseudotuberculosis.* (Derbise et al. 2012, 2015)

Yersinia pseudotuberculosis atténué et encapsulé apparaît comme un vaccin vivant efficace contre la peste bubonique et pulmonaire, qui pourrait être développé pour une vaccination massive dans les régions endémiques. (Derbise et al. 2012, 2015)

La voie orale, jusqu'alors ciblée car *Yersinia* est une famille d'entérobactéries qui atteint le système lymphatique de l'hôte grâce à la paroi intestinale, présente cependant des difficultés de conception (efficacité variable d'une population à l'autre,

contamination environnementale par le vaccin par l'intermédiaire de matières fécales…) (Sun et al. 2014)

Pour pallier aux inconvénients de la voie orale, tout en gardant l'efficacité moléculaire, un vaccin administrable par voie hypodermique a été développé.
Ce dernier permet une protection contre *Yersinia* similaire à celui administré par voie orale, à une dose efficace plus faible. Il se présente ainsi comme une alternative de choix à la vaccination orale et apparait comme très promoteur. (Sun et al. 2014; Demeure et al. 2019)

4.4. Présence de la peste dans l'environnement.

A la lumière de ces nouvelles connaissances, apportées par la paléomicrobiologie, des zones d'ombres persistent et soulèvent de nouvelles questions, notamment concernant les réémergences épidémiques après des années de silence.

Des études scientifiques, réalisées entre 1920 et 1940, ont permis de compléter ce modèle en introduisant le sol comme réservoir, ainsi que les animaux fouisseurs comme premier maillon. (Drancourt et al. 2006; Ayyadurai et al. 2008)

Alexandre Yersin a écrit dans son rapport, en 1984, que *Yersinia pestis* avait été retrouvée dans le sol d'une maison où les propriétaires étaient décédés de la Peste. Une étude menée par Mollaret a également démontré une survie tellurique de 16 mois dans les sols, après une hydratation préalable de ces derniers. (Drancourt et al. 2006; Ayyadurai et al. 2008)

Une hypothèse reposant sur l'halotolérance de *Yersinia pestis* dans le maintien de foyers de peste environnementaux est également émise, suite à la persistance de foyers sur les bords de la mer Méditerranée ou des lacs salés en Afrique du Nord. (Malek et al. 2017)

Les épidémies modernes finissent d'éclairer l'histoire et de nouvelles hypothèses sont proposées concernant la propagation des pandémies passées. Il est communément admis que la maladie s'est propagée par voie maritime par l'intermédiaire des rats

présents sur les navires. Au travers de ces nouvelles connaissances, il peut être intéressant de se demander dans quelles mesures le sel présent dans les navires, servant à la conservation alimentaire, a favorisé la distribution bactérienne ? (Malek et al. 2017)

5. Conclusion

Discipline récente au croisement de la médecine, de l'archéologie et de la microbiologie, la paléomicrobiologie dentaire a, en une dizaine d'années, fortement contribué à la compréhension de l'histoire, de l'évolution des maladies et des micro-écosystèmes anciens. A cet égard, elle représente également un moyen de lutte contre la réémergence de maladies infectieuses. (Fornaciari 2017; Bos et al. 2019)

En effet, la pandémie qui a eu lieu en 2020 avec la Covid-19 ne fait que confirmer l'exposition croissante de l'Homme aux maladies infectieuses émergentes et ré-émergentes. Leur propagation est facilitée par des phénomènes tels que la mondialisation, les voyages humains, l'évolution écologique et la résistance aux antibiotiques.
L'étude des facteurs potentiels qui ont pu faire évoluer des agents pathogènes dans le passé, et leurs interactions avec l'Homme, peuvent être d'une grande aide pour l'étude des dynamiques des maladies infectieuses actuelles.

Pour répondre à cette demande, les techniques de biologie moléculaire ne cessent de devenir plus performantes et d'accroître notre regard sur l'invisible.
Initialement développé sur Yersinia pestis, pour prouver son imputabilité dans les pandémies passées, ces techniques ont pu être étendues à d'autres maladies infectieuses telles que *Bartonella quintana* (fièvre des tranchées), *Rickettsia prowazekii* (typhus) et *Salmonella enterica* (fièvre typhoïde).

La paléoprotéomique, quant à elle, permet d'envisager de nouvelles voies d'études pour les virus à ARN, dont la conservation dans le temps est très mal renseignée.(Haensch et al. 2010; Raoult 2016)

« Ecoutant, en effet, les cris d'allégresse qui montaient de la ville, Rieux se souvenait que cette allégresse était toujours menacée. Car il savait ce que cette foule en joie ignorait, et qu'on peut lire dans les livres, que le bacille de la peste ne meurt ni ne disparait jamais, qu'il peut rester pendant des dizaines d'années endormi dans les meubles et le linge, qu'il attend patiemment dans les chambres, les caves, les malles, les mouchoirs et les paperasses, et que, peut-être, le jour viendrait où, pour le malheur et l'enseignement des hommes, la peste réveillerait ses rats et les enverrait mourir dans une cité heureuse. » (Albert CAMUS, *La peste*, 1947)

6. Bibliographie

Références bibliographiques :

1. Achtman M, Morelli G, Zhu P, Wirth T, Diehl I, Kusecek B, et coll. Microevolution and history of the plague bacillus, Yersinia pestis. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004; 101(51): 17837-42.

2. 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(24): 14043-8.

3. Adserias-Garriga J, Thomas C, Ubelaker DH, C Zapico S. When forensic odontology met biochemistry: Multidisciplinary approach in forensic human identification. Arch Oral Biol. 2018; 87: 7-14.

4. Arbaji A, Kharabsheh S, Al-Azab S, Al-Kayed M, Amr ZS, Abu Baker M, et coll. A 12-case outbreak of pharyngeal plague following the consumption of camel meat, in north-eastern Jordan. Ann Trop Med Parasitol. 2005; 99(8): 789-93.

5. Ayyadurai S, Houhamdi L, Lepidi H, Nappez C, Raoult D, Drancourt M. Long-term persistence of virulent Yersinia pestis in soil. Microbiology (Reading). 2008; 154(Pt 9): 2865-71.

6. Barbieri R, Mekni R, Levasseur A, Chabrière E, Signoli M, Tzortzis S, et coll. Paleoproteomics of the Dental Pulp: The plague paradigm. PLOS ONE. 2017; 12(7): e0180552.

7. Barnett R, Larson G. A Phenol–Chloroform Protocol for Extracting DNA from Ancient Samples. Dans: Shapiro B, Hofreiter M. Ancient DNA: Methods and Protocols. Totowa, NJ: Humana Press; 2012. p. 13-9.

8. Begier EM, Asiki G, Anywaine Z, Yockey B, Schriefer ME, Aleti P, et coll. Pneumonic Plague Cluster, Uganda, 2004. Emerg Infect Dis. 2006; 12(3): 460-7.

9. Bertherat E, Bekhoucha S, Chougrani S, Razik F, Duchemin JB, Houti L, et coll. Plague Reappearance in Algeria after 50 Years, 2003. Emerg Infect Dis. 2007; 13(10): 1459-62.

10. Bianucci R, Rahalison L, Ferroglio E, Massa ER, Signoli M. [A rapid diagnostic test for plague detects Yersinia pestis F1 antigen in ancient human remains]. C R Biol. 2007a; 330(10): 747-54.

11. Bianucci R, Rahalison L, Ferroglio E, Massa ER, Signoli M. Détection de l'antigène F1 de Yersinia pestis dans les restes humains anciens à l'aide d'un test de diagnostic rapide. C R Biol. 2007b ; 330(10) : 747-54.

12. Bos KI, Kühnert D, Herbig A, Esquivel-Gomez LR, Andrades Valtueña A, Barquera R, et coll. Paleomicrobiology: Diagnosis and Evolution of Ancient Pathogens. Annu Rev Microbiol. 2019; 73(1): 639-66.

13. Bos KI, Schuenemann VJ, Golding GB, Burbano HA, Waglechner N, Coombes BK, et coll. A draft genome of Yersinia pestis from victims of the Black Death. Nature. 2011; 478(7370): 506-10.

14. Butler T. Plague into the 21st Century. Clin Infect Dis. 2009; 49(5): 736-42.

15. Butler T. Plague history: Yersin's discovery of the causative bacterium in 1894 enabled, in the subsequent century, scientific progress in understanding the disease and the development of treatments and vaccines. Clin Microbiol Infect. 2014; 20(3): 202-9.

16. Chiuchiolo MJ, Boyer JL, Krause A, Senina S, Hackett NR, Crystal RG. Protective Immunity against Respiratory Tract Challenge with Yersinia pestis in Mice Immunized with an Adenovirus-Based Vaccine Vector Expressing V Antigen. J Infect Dis. 2006; 194(9): 1249-57.

17. Christie AB, Chen TH, Elberg SS. Plague in camels and goats: their role in human epidemics. J Infect Dis. 1980; 141(6): 724-6.

18. Dagli N, Dagli R, Baroudi K, Tarakji B. Oral Paleomicrobiology: Study of Ancient Oral Microbiome. J Contemp Dent Pract. 2015; 16(7): 588-94.

19. Demeure CE, Dussurget O, Mas Fiol G, Le Guern AS, Savin C, Pizarro-Cerdá J. Yersinia pestis and plague: an updated view on evolution, virulence determinants, immune subversion, vaccination, and diagnostics. Genes Immun. 2019; 20(5): 357-70.

20. Deng W, Burland V, Plunkett G, Boutin A, Mayhew GF, Liss P, et coll. Genome Sequence of Yersinia pestis KIM. J Bacteriol. 2002; 184(16): 4601-11.

21. Derbise A, Guillas C, Gerke C, Carniel E, Pizarro-Cerdà J, Demeure CE. Subcutaneous vaccination with a live attenuated Yersinia pseudotuberculosis plague vaccine. Vaccine. 2020; 38(8): 1888-92.

22. Derbise A, Hanada Y, Khalifé M, Carniel E, Demeure CE. Complete Protection against Pneumonic and Bubonic Plague after a Single Oral Vaccination. PLoS Negl Trop Dis. 2015; 9(10): ?.

23. Drancourt M, Aboudharam G, Signoli M, Dutour O, Raoult D. Detection of 400-year-old Yersinia pestis DNA in human dental pulp: An approach to the diagnosis of ancient septicemia. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998; 95(21): 12637-40.

24. Drancourt M, Houhamdi L, Raoult D. Yersinia pestis as a telluric, human ectoparasite-borne organism. Lancet Infect Dis. 2006; 6(4): 234-41.

25. Drancourt M, Raoult D. Molecular insights into the history of plague. Microbes Infect. 2002; 4(1): 105-9.

26. Drancourt M, Raoult D. Palaeomicrobiology: current issues and perspectives. Nat Rev Microbiol. 2005; 3(1): 23-35.

27. Drancourt M, Raoult D. Genotyping Yersinia pestis in historical plague. Lancet Infect Dis. 2011; 11(12): 894-5.

28. Drancourt M, Raoult D. Yersinia pestis and the three plague pandemics. Lancet Infect Dis. 2014; 14(10): 918-9.

29. Drancourt M, Raoult D. Molecular history of plague. Clin Microbiol Infect. 2016; 22(11): 911-5.

30. Drancourt M, Roux V, Dang LV, Tran-Hung L, Castex D, Chenal-Francisque V, et coll. Genotyping, Orientalis-like Yersinia pestis, and Plague Pandemics. Emerg Infect Dis. 2004; 10(9): 1585-92.

31. Duplantier JM, Duchemin JB, Chanteau S, Carniel E. From the recent lessons of the Malagasy foci towards a global understanding of the factors involved in plague reemergence. Vet Res. 2005; 36(3): 437-53.

32. Galimand M, Guiyoule A, Gerbaud G, Rasoamanana B, Chanteau S, Carniel E, et coll. Multidrug resistance in Yersinia pestis mediated by a transferable plasmid. N Engl J Med. 1997; 337(10): 677-80.

33. Gilbert MTP, Cuccui J, White W, Lynnerup N, Titball RW, Cooper A, et coll. Absence of Yersinia pestis-specific DNA in human teeth from five European excavations of putative plague victims. Microbiology. 2004; 150(Pt 2): 341-54.

34. Houhamdi L, Lepidi H, Drancourt M, Raoult D. Experimental Model to Evaluate the Human Body Louse as a Vector of Plague. J Infect Dis. 2006; 194(11): 1589-96.

35. Jeddy N, Ravi S, Radhika T. Current trends in forensic odontology. J Forensic Dent Sci. 2017; 9(3): 115-9.

36. Lepidi H. Histologic Detection of Past Pathogens. Dans: Raoult D, Drancourt M. Paleomicrobiology: Past Human Infections. Berlin, Heidelberg: Springer; 2008. p. 69-72.

37. Mai BHA, Drancourt M, Aboudharam G. Ancient dental pulp: Masterpiece tissue for paleomicrobiology. Mol Genet Genomic Med. 2020; 8(6): e1202. Morelli G, Song Y, Mazzoni CJ, Eppinger M, Roumagnac P, Wagner DM, et coll. Phylogenetic diversity and historical patterns of pandemic spread of Yersinia pestis. Nat Genet. 2010; 42(12): 1140-3.

38. Papagrigorakis MJ, Yapijakis C, Synodinos PN, Baziotopoulou-Valavani E. DNA examination of ancient dental pulp incriminates typhoid fever as a probable cause of the Plague of Athens. Int J Infect Dis. 2006; 10(3): 206-14.

39. Parkhill J, Wren BW, Thomson NR, Titball RW, Holden MTG, Prentice MB, et coll. Genome sequence of Yersinia pestis, the causative agent of plague. Nature. 2001; 413(6855): 523-7.

40. Perry RD, Fetherston JD. Yersinia pestis: etiologic agent of plague. Clin Microbiol Rev. 1997; 10(1): 35-66.

41. Piarroux R, Abedi AA, Shako JC, Kebela B, Karhemere S, Diatta G, et coll. Plague Epidemics and Lice, Democratic Republic of the Congo. Emerg Infect Dis. 2013; 19(3): 505-6.

42. Prentice MB, Rahalison L. Plague. Lancet. 2007; 369(9568): 1196-207.

43. Raoult D. A Personal View of How Paleomicrobiology Aids Our Understanding of the Role of Lice in Plague Pandemics. Microbiol Spectr. 2016; 4(4): PoH-0001-2014.

44. Raoult D, Aboudharam G, Crubézy E, Larrouy G, Ludes B, Drancourt M. Molecular identification by “suicide PCR” of Yersinia pestis as the agent of Medieval Black Death. Proc Natl Acad Sci. 2000; 97(23): 12800-3.

45. Raoult D, Mouffok N, Bitam I, Piarroux R, Drancourt M. Plague: History and contemporary analysis. J Infect. 2013; 66(1): 18-26.

46. Rascovan N, Drancourt M, Desnues C. Des génomes anciens de Yersinia pestis pour comprendre l’origine et la dissémination des épidémies de peste historiques. Med Sci (Paris). 2016 ; 32(8-9) : 681-3.

47. Rascovan N, Sjögren KG, Kristiansen K, Nielsen R, Willerslev E, Desnues C, et coll. Emergence and Spread of Basal Lineages of Yersinia pestis during the Neolithic Decline. Cell. 2019; 176(1): 295-305.e10.

48. Ratsitorahina M, Chanteau S, Rahalison L, Ratsifasoamanana L, Boisier P. Epidemiological and diagnostic aspects of the outbreak of pneumonic plague in Madagascar. Lancet. 2000; 355(9198): 111-3.

49. Sano T, Smith CL, Cantor CR. Immuno-PCR: very sensitive antigen detection by means of specific antibody-DNA conjugates. Science. 1992; 258(5079): 120-2.

50. Schuenemann VJ, Bos K, DeWitte S, Schmedes S, Jamieson J, Mittnik A, et coll. Targeted enrichment of ancient pathogens yielding the pPCP1 plasmid of Yersinia pestis from victims of the Black Death. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011; 108(38): E746-52.

51. Spyrou MA, Bos KI, Herbig A, Krause J. Ancient pathogen genomics as an emerging tool for infectious disease research. Nat Rev Genet. 2019; 20(6): 323-40.

52. Spyrou MA, Tukhbatova RI, Feldman M, Drath J, Kacki S, Beltrán de Heredia J, et coll. Historical Y. pestis Genomes Reveal the European Black Death as the

Source of Ancient and Modern Plague Pandemics. Cell Host Microbe. 2016; 19(6): 874-81.

53. Sun Y-C, Jarrett CO, Bosio CF, Hinnebusch BJ. Retracing the Evolutionary Path that Led to Flea-borne Transmission of Yersinia pestis. Cell Host Microbe. 2014; 15(5): 578-86.

54. Titball RW, Williamson ED. Vaccination against bubonic and pneumonic plague. Vaccine. 2001; 19(30): 4175-84.

55. Tran TNN, Aboudharam G, Raoult D, Drancourt M. Beyond ancient microbial DNA: nonnucleotidic biomolecules for paleomicrobiology. BioTechniques. 2011a; 50(6): 370-80.

56. Tran TNN, Forestier CL, Drancourt M, Raoult D, Aboudharam G. Brief communication: co-detection of Bartonella quintana and Yersinia pestis in an 11th-15th burial site in Bondy, France. Am J Phys Anthropol. 2011b; 145(3): 489-94.

57. Tran TNN, Signoli M, Fozzati L, Aboudharam G, Raoult D, Drancourt M. High throughput, multiplexed pathogen detection authenticates plague waves in medieval Venice, Italy. PLoS ONE. 2011c; 6(3): e16735.

58. Une T, Brubaker RR. Roles of V antigen in promoting virulence and immunity in yersiniae. J Immunol. 1984; 133(4): 2226-30.

59. Warinner C, Speller C, Collins MJ. A new era in palaeomicrobiology: prospects for ancient dental calculus as a long-term record of the human oral microbiome. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2015; 370(1660): 20130376.

60. Woodward SR, King MJ, Chiu NM, Kuchar MJ, Griggs CW. Amplification of ancient nuclear DNA from teeth and soft tissues. PCR Methods Appl. 1994; 3(4): 244-7.

<u>Références bibliographiques électroniques:</u>

61. Bramanti B, Dean KR, Walløe L, Chr. Stenseth N. The Third Plague Pandemic in Europe. Proc Biol Sci [Internet]. 2019 [cité 14 juin 2020]; 286(1901): 201.

62. 82429. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6501942/

63. Derbise A, Cerdà Marín A, Ave P, Blisnick T, Huerre M, Carniel E, et coll. An Encapsulated Yersinia pseudotuberculosis Is a Highly Efficient Vaccine against Pneumonic Plague. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2012 [cité 14 juin 2020]; 6(2): e1528. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3279354/

64. Fornaciari A. Environmental Microbial Forensics and Archaeology of Past Pandemics. Microbiol Spectr. [Internet]. 2017 [cité 13 juin 2020]; 5(1): EMF-0011-2016. Disponible sur:

https://www.asmscience.org/content/journal/microbiolspec/10.1128/microbiolspec.EMF-0011-2016

65. Haensch S, Bianucci R, Signoli M, Rajerison M, Schultz M, Kacki S, et coll. Distinct Clones of Yersinia pestis Caused the Black Death. PLoS Pathog [Internet]. 2010 [cité 13 juin 2020]; 6(10): e1001134. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2951374/

66. Hugo Septier. Cas de peste en Chine: peut-on craindre un retour de la maladie? [Internet]. 2020 [cité 11 juillet 2020]. Disponible sur : https://www.bfmtv.com/sante/cas-de-peste-en-chine-peut-on-craindre-un-retour-de-la-maladie_AN-202007070207.html

67. Malek MA, Bitam I, Levasseur A, Terras J, Gaudart J, Azza S, et coll. Yersinia pestis halotolerance illuminates plague reservoirs. Sci Rep [Internet]. 2017 [cité 11 novembre 2020]; 7: 40022. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5214965/

68. Malou N, Tran TNN, Nappez C, Signoli M, Le Forestier C, Castex D, et coll. Immuno-PCR: A New Tool for Paleomicrobiology: The Plague Paradigm. PLoS

69. One [Internet]. 2012 [cité 13 juin 2020]; 7(2): e31744. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3276503/Tikhomirov E, Dennis DT, Gage KL, Gratz N, Poland JD. Plague manual [Internet]. Geneva: World Health Organization; 1999 [cité 22 juin 2020]. Disponible sur: https://www.who.int/csr/resources/publications/plague/WHO_CDS_CSR_EDC_99_2_EN/en/

70. Tran-Hung L, Tran-Thi N, Aboudharam G, Raoult D, Drancourt M. A New Method to Extract Dental Pulp DNA: Application to Universal Detection of Bacteria. PLoS One [Internet]. 2007 [cité 13 juin 2020]; 2(10): e1062. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2031827/

71. WHO (World Health Organization). Peste [Internet]. 2017 [cité 3 juill 2020]. Disponible sur: https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/plague.

Table des matières

1. Introduction 12
2. *Yersinia pestis*, agent étiologique de la peste. 14
2.1. Historique 15
2.2. Epidémiologie 17
2.3. Physiopathologie 18
2.4. Facteurs de virulence 21
2.5. Diagnostic 23
2.6. Traitements et prévention 23
3. Intérêts de la paléomicrobiologie dentaire. 25
3.1. Définition 25
3.2. De l'odontologie médico-légale à la paléomicrobiologie dentaire 26
3.3. Les différentes sources utilisées. 27
3.3.1. Intérêts de la pulpe dentaire 28
3.4. Les différentes techniques d'identification de pathogènes issues de la pulpe dentaire. 29
3.4.1. Préparation des échantillons 31
3.4.2. L'analyse génomique 37
3.4.3. La paléoprotéomique 41
4. Synthèse des résultats. 45
4.1. Apport anthropologique. 45
4.1.1. Confirmation d'hypothèses de diagnostic 45
4.1.2. Explication de mutations profondes au sein des sociétés passées : exemple de la peste et du déclin Néolithique 46
4.2. Identification des contextes d'apparition de la maladie. 46
4.2.1. Identification de nouveaux vecteurs de la maladie 47
4.2.2. Découverte de nouvelles formes de contamination 48
4.3. Evolution phylogénétique 49
4.3.1. Identification des différents biovars 49
4.3.2. Les différentes lignées au sein d'un même biovar 50
4.3.3. Divergence avec Yersinia pseudotuberculosis 51
4.3.4. Développement de méthodes de diagnostic plus rapides 52
4.3.5. Projets de vaccins 53
4.4. Présence de la peste dans l'environnement. 55
5. Conclusion 57
6. Bibliographie 59

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

Vu la demande du doyen de la faculté d'odontologie de Lorraine sur le rapport du jury :

Président :	J.M. MARTRETTE – Professeur des universités
Membre du jury :	K. YASUKAWA – Maître de conférences des universités (Directeur de thèse)
Membre du jury :	D. JOSEPH – Maître de conférences des universités
Membre du jury :	A. BAUDET – Assistant hospitalier universitaire
Membre invité :	E. BÖLONI – Docteur en chirurgie dentaire

le président de l'université de Lorraine autorise

Madame Léna FIORENTINI

née à HAYANGE (Moselle) le 28 novembre 1996,

à soutenir et imprimer sa thèse en vue d'obtenir le diplôme d'État de docteur en chirurgie dentaire intitulée :

« LA PALÉOMICROBIOLOGIE DENTAIRE À TRAVERS L'ÉTUDE DE LA PESTE »

Nancy, le 22 janvier 2021

N° autorisation : 11582 C

Le président de l'université de Lorraine

Université de Lorraine

P. MUTZENHARDT

Université de Lorraine – 34 cours Léopold - BP 25233 - 54052 Nancy Cedex – France Tél : +33 (0)3 72 74 00 00

FIORENTINI Léna – **La paléomicrobiologie dentaire à travers l'étude de la peste**

Nancy 2021 : 70 pages, 13 figures, 4 tableaux

Th. : Chir-Dent. : Nancy 2021

Mots-clefs :

- Dental pulp
- Paleomicrobiology
- Paleogenetics
- Plague
- *Yersinia pestis*

Résumé :

La paléomicrobiologie est une branche de la microbiologie qui permet la mise en évidence de maladies infectieuses anciennes grâce aux microorganismes pathogènes retrouvés dans des échantillons humains ou environnementaux.

La pulpe dentaire ainsi que le tartre se sont révélés comme source de microorganismes anciens ; ces derniers colonisant la pulpe par voie hématogène. La dent, étant une structure résistante, permet à la pulpe et à ses agents pathogènes d'y rester conserver sur des centaines d'années. La paléomicrobiologie dentaire a ainsi permis l'étude de nombreuses maladies au cours du temps, notamment l'infection à *Yersinia pestis* : la Peste, qui sévit depuis 5000 ans, et est encore actif ce jour.

Au cours de ce travail, nous réaliserons un rappel sur la paléomicrobiologie et son intérêt dans l'étude de la peste (*Yersinia pestis*). Ensuite, nous analyserons via une revue de la littérature, les différents aspects de la maladie au travers l'étude de l'ADN fossile microbien issu de la pulpe dentaire.

Membres du jury :

Pr. J. M. MARTRETTE	Professeur des Universités	Président
Dr. K. YASUKAWA	Maître de Conférences	Directeur de thèse
Dr. D. JOSEPH	Maître de Conférences	Juge
Dr. A. BAUDET	Assistant	Juge
Dr. E. BÖLÖNI	Docteur en chirurgie dentaire	Juge invité

Adresse de l'auteur :

FIORENTINI Léna

42 route de Malancourt

57120 ROMBAS