

# *Yersinia pestis*, un patògen que es resisteix a l'oblit

Lidia Goterris Bonet<sup>2,4</sup> i Nieves Larrosa<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Infecciosas (CIBERINFEC), Instituto de Salud Carlos III, Madrid

<sup>2</sup> Institut de Recerca Vall d'Hebron, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Barcelona

<sup>3</sup> Departament de Genètica i Microbiologia, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona

<sup>4</sup> Servei de Microbiologia, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona

Correspondència: Nieves Larrosa. Servei de Microbiologia, Hospital Universitari Vall d'Hebron. Passeig de la Vall d'Hebron, 119-129. 08035 Barcelona. Adreça electrònica: [nieves.larrosa@vallhebron.cat](mailto:nieves.larrosa@vallhebron.cat).

DOI: 10.2436/20.1501.02.234

ISSN (ed. impresa): 0212-3037

ISSN (ed. digital): 2013-9802

<https://revistes.iec.cat/index.php/TSCB>

Rebut: 08/04/2024

Acceptat: 10/04/2024

## Resum

La pesta, infecció zoonòtica causada per *Yersinia pestis*, fa més de cinquanta anys que no es detecta a Europa, però continua tenint una presència important al món, especialment a alguns països d'Àfrica, Àsia i Amèrica. Aquest bacteri es classifica com a agent de bioterrorisme de nivell 1 i, per tant, representa una greu amenaça per a la salut i la seguretat públiques. El reservori principal està constituït per petits mamífers rosegadors i la malaltia es transmet a través de les puces, principalment a través de la puça de la rata oriental (*Xenopsylla cheopis*), encara que també pot transmetre's mitjançant ectoparàsits com els polls. Els humans, a més, poden adquirir la malaltia per contacte directe amb fluids o teixits infectats, per inhalació de gotes emeses per un altre malalt o gats domèstics en tossir, o per transmissió maternofetal. Existeixen tres formes clíniques principals: pesta bubònica, pneumònica (primària o secundària a la pesta bubònica) i septicèmica. Encara que el diagnòstic s'ha de fer en laboratoris amb un elevat nivell de seguretat, en l'actualitat existeixen diferents possibilitats de diagnòstic ràpid a càrrec de tècniques com la immunocromatografia o la PCR, que escurcen el temps en comparació al cultiu i que permeten la presa de decisions prop del pacient. El tractament antimicrobià amb tetraciclins, fluoroquinolones o aminoglicòsids s'ha d'administrar precoçment per evitar la progressió a gravetat i la mort del pacient. No existeix una vacunació efectiva i la prevenció i la vigilància actives s'han d'efectuar amb un abordatge d'una sola salut, tenint en compte a la vegada l'ésser humà, els reservoris animals i els ambientals.

**Paraules clau:** pesta, *Yersinia pestis*, bubó, pandèmia, guerra biològica.

## Introducció

La pesta és una infecció zoonòtica molt greu causada pel bacteri *Yersinia pestis*. El reservori d'aquest bacteri es troba, generalment, en petits mamífers, com rosegadors silvestres, i es transmet a través de les seves puces, principalment a través de la puça de la rata oriental (*Xenopsylla cheopis*). Els humans poden adquirir la infecció a través de la picada de puces infectades, per contacte directe amb fluids o teixits infectats, per inhalació de gotes emeses per un altre malalt o per transmissió maternofetal. Existeixen indicis que aquesta malaltia, probablement, es va originar fa 5.000 anys a l'Àsia central, ja que estudis moleculars van identificar la presència de l'ADN de *Y. pestis* en dos esquelets de l'edat del bronze datats aproximadament fa 3.800 anys. Els genomes

de *Y. pestis* recuperats d'aquests jaciments arqueològics han suggerit l'evolució clonal d'un avantpassat comú compartit amb *Yersinia pseudotuberculosis* (Barbieri *et al.*, 2020; Drancourt i Raoult, 2016; Yang, 2017). Des de llavors es descriuen tres pandèmies: la primera, coneguda com a *pesta de Justinià*, que probablement va venir de l'Índia i va arribar a Constantinoble el 541-542, des d'on es va estendre fins al 750-767; la segona pandèmia, anomenada *pesta negra*, que va arribar a Sicília a l'octubre de 1346, probablement des de l'Àsia central a través de vaixells genovesos que portaven rates carregades de puces, i a Espanya el 1348, i que va causar la mort a almenys un terç de la població europea (més de 25 milions de persones) fins al 1353, i la tercera pandèmia que va començar a la província de Yunnan, al

sud-oest de la Xina, al voltant de 1855, on els brots havien tingut lloc des de 1772, i es va estendre a Taiwan, Hong-Kong, el Japó, l'Índia, Austràlia, Amèrica del Nord i Amèrica del Sud entre 1910 i 1920 (Glatter i Finkelman, 2021; Rodríguez-Frías *et al.*, 2021). Actualment, es considera una malaltia reemergent des dels anys noranta, ja que, encara que fa més de cinquanta anys que està absent d'Europa, continua present en almenys trenta-tres països d'Amèrica, Àfrica i Àsia (Vallès *et al.*, 2020). S'estima que al llarg de la història ha causat la mort de més de 150 milions de persones. El Centre Europeu de Prevenció i Control de Malalties (ECDC, de l'anglès European Centre for Disease Prevention and Control) va comunicar al juliol i l'agost de 2021 brots a la República Democràtica del Congo (pesta pulmonar i bubònica)

## *Yersinia pestis*, a pathogen that resists oblivion

### Abstract

Plague, a zoonotic infection caused by *Yersinia pestis*, has not been detected in Europe for over fifty years, but it continues to show a significant presence in the world and especially in some countries of the Americas, Africa and Asia. This bacterium is classified as a Tier 1 bioterrorism agent and it consequently poses a great threat to public health and safety. Its main reservoir is formed by small rodents and the disease is transmitted via fleas, mainly including the Oriental rat flea (*Xenopsylla cheopis*), although it may also be transmitted by such ectoparasites as lice. Moreover, humans may acquire the disease by direct contact with infected fluids or tissues, by inhalation of drops transmitted by the coughing of infected humans or house cats, or by the maternal-foetal route. The disease has three main clinical forms: bubonic, pneumonic (primary, or secondary to bubonic) and septicemic plague. Although diagnosis must be made in laboratories with a high level of safety, there are now several forms of rapid diagnosis through techniques such as immunochromatography or PCR, which shorten the required time in comparison to culture and allow decisions to be made close to the patient. Antimicrobial treatment with tetracyclines, fluoroquinolones or aminoglycosides must be administered early in order to prevent the disease from progressing to severity and the patient's death. No effective vaccine exists and active prevention and surveillance must be carried out by a one health approach, taking into account at one time the human being and the animal and environmental reservoirs.

**Keywords:** plague, *Yersinia pestis*, bubo, pandemic, biological warfare.

i a Madagascar (pesta pneumònica) i l'Organització Mundial de la Salut (OMS) refereix com a endèmic també el Perú (figura 1). Gairebé tots els casos reportats en els darrers vint anys s'han produït entre persones que viuen en pobles petits o zones agrícoles, més que en pobles i ciutats més grans. Als Estats Units les zones de més risc són a l'oest, particularment a Arizona, Califòrnia, Colorado i Nou Mèxic.

## Taxonomia

*Yersinia* pertany a la família Yersiniaceae que, a la vegada, és a dins de l'ordre Enterobacterales. El bacil va a ser anomenat el 1970, en honor a un dels seus descobridors, Alexandre Yersin (metge bacteriòleg francosuí) que, junt amb Shibasaburo Kitasato (metge i bacteriòleg japonès), va descriure l'etiologia de la pesta (*Y. pestis*) i la possible via de transmissió a Hong-Kong, el 1894 (Butler, 2014). El gènere *Yersinia* inclou actualment vint-i-sis espècies. Altres espècies de *Yersinia* són *Y. enterocolitica*, que produeix principalment gastroenteritis associada al consum d'aigua o aliments contaminats, especialment carn de porc o productes lactis no pasteuritzats, i *Y. pseudotuberculosis*, que sol produir una malaltia autolimitada en nens i adults joves, que cursa amb dolor abdominal i febre i pertany, junt amb *Y. pestis*, *Y. similis* i *Y. wautersii*, al complex *Y. pseudotuberculosis*.

Altres espècies de *Yersinia* no patògenes són *Y. artesianae*, *Y. alsatica*, *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia*, *Y. kristensenii*, *Y. mollaretii*, *Y. ocutanica*, *Y. ruckeri* i *Y. vastinensis*.

El patró bioquímic divideix els aïllats de *Y. pestis* en *Y. pestis* subsp. *pestis*, considerat típi-

cament humà (dividit en els biovars *intermedium*, *antiqua*, *medievalis* i *orientalis*), i *Y. pestis* subsp. *microtus*, considerat típicament zoonòtic (Qi *et al.*, 2016).

## Característiques genòmiques i patogènia

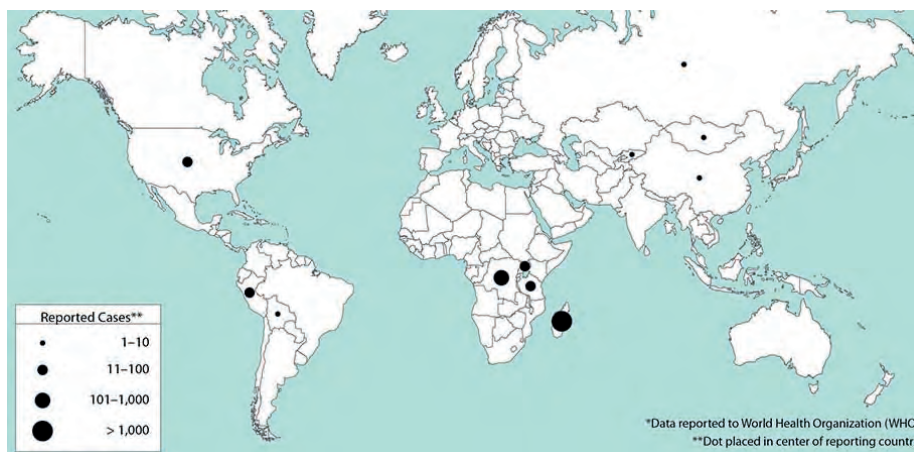
*Yersinia pestis* és un gammaproteobacteri, amb un genoma de 4,60 a 4,65 Mb, que presenta nombroses seqüències d'inserció i signes de recombinació intragenòmica i d'altres esdeveniments de transferència de gens. La soca de referència CO92 de *Y. pestis* (biovar *orientalis*) alberga tres plasmidis: 1) l'anomenat pCD1, pCad, pVW, pYV o pLcr, de 70 a 75 kb, comú a les tres espècies de *Yersinia* patògenes humanes, que codifica el sistema de secreció de tipus III, que inclou les proteïnes externes de *Yersinia* (Yops, de l'anglès *Yersinia outer proteins*) i que és fonamental per neutralitzar la resposta immunitària de l'hoste, ja que és un dispositiu de transport i lliurament que injecta les proteïnes Yops a les cèl·lules hostes per prevenir la fagocitosis, bloquejar la producció de citocines inflammatòries i modificar les vies de senyalització implicades en la mort cel·lular programada; juntament amb l'antigen V (LcrV), també implicat en l'activitat immunosupressora, i el gen del sistema sideròfor de la yersiniabactina (ybt), que permet adquirir ferro de la sang; 2) el plasmidi pFra/Tox, pFra, pTox, pMT1 o pYT, de 100 a 110 kb, que codifica l'antigen capsular de glicoproteïna F1, que contribueix a l'evasió immunitària proporcionant protecció contra la fagocitosis i que és un antigen immunodominant, que serveix de diàna per a algunes tècniques diagnòstiques;

aquest plasmidi també codifica la toxina la toxina murina de *Yersinia* (Ymt), una lipasa bacteriana que permet la supervivència de *Y. pestis* a l'intestí de la puça i contribueix a la formació d'un biofilm al mateix intestí mitjà que millora la transmissió, i 3) el plasmidi pPst, pPla, pPCP1 o pYP, de 9,5 kb, que codifica l'activador del plasminogen Pla, considerat com un factor de virulència important que promou la propagació sistèmica de *Y. pestis*, i la bacteriocina pesticina. A més a més, s'han caracteritzat plasmidis addicionals, que donen idea de la plasticitat i l'evolució contínua d'aquest bacteri (Du i Wang, 2016).

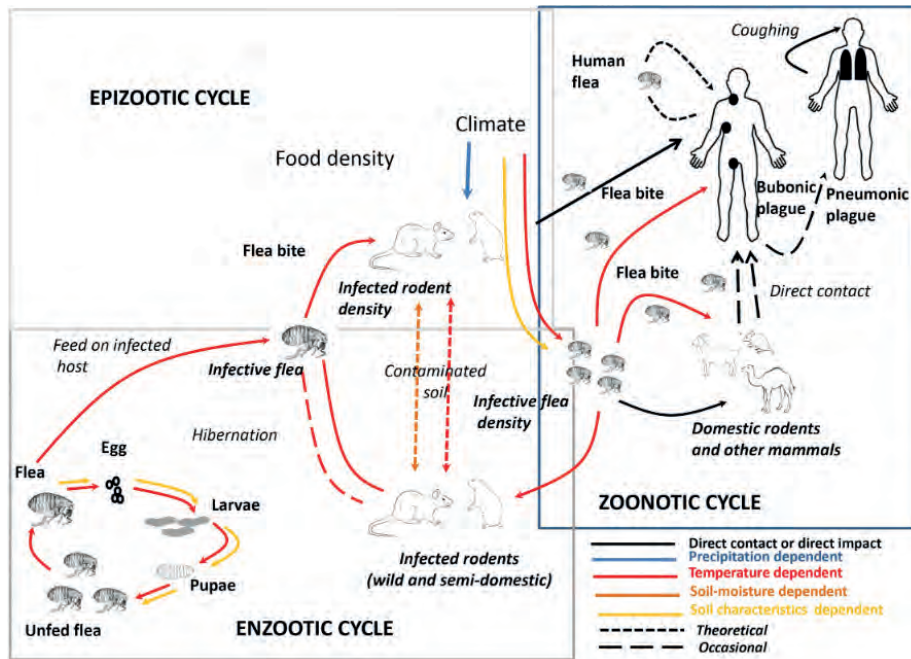
Les picades d'ectoparàsits poden provocar una inflamació local discreta a la porta d'entrada de *Y. pestis*, que es comporta com un bacteri intracel·lular facultatiu que es multiplica a l'interior dels macròfags, que fagociten aquests patògens a la porta d'entrada (Bi, 2016). El bacteri s'estén després per la ruta limfàtica cap als ganglis regionals, on el creixement del patògen dona lloc al desenvolupament del bubó; des d'aquí, si prossegueix a través de la limfa i els vasos sanguinis fins a la melsa i el fetge, pot provocar una septicèmia ràpidament mortal, amb disseminació als pulmons (pesta pneumònica secundària) i fins i tot a les meninges i el líquid cefalorraquídi (meningitis). La disseminació hematògena del bacteri pot provocar coagulació intravascular i xoc endotòxic. Durant aquest procés, *Y. pestis* es multiplica ràpidament als teixits, protegint-se del sistema immunitari per la resistència sèrica i l'evasió de les funcions immunitàries innates, principalment gràcies als sistemes de secreció de tipus III (T3SS) (Barbieri *et al.*, 2020; Seabaugh i Anderson, 2024).

## Ecologia

La pesta humana és sovint precedida per un brot en animals, o epizootia, en la qual grans quantitats de rosegadors (rates, ratolins, esquirols, talpons i conills) vulnerables moren i les seves puces passen a tenir com a hostes les mascotes o infecten els humans (figura 2). Més de dues-centes espècies de rosegadors i lagomorfs i vuitanta puces s'han associat amb la pesta, però pocs són considerats hostes o vectors significatius (Glatter i Finkelman, 2021; Sebbane i Lemaître, 2021). Un estudi de 2018 suggereix que la transmissió humana a través d'ectoparàsits (*Pulex irritans* i *Pediculus humanus*) pot haver tingut un paper destacat durant la segona pandèmia o pesta negra. Aquesta hipòtesi està recolzada per l'observació paleomicrobiològica en víctimes de pesta de la



† Figura 1. Casos de pesta notificats per país, 2013-2018 segons dades de l'Organització Mundial de la Salut (OMS). U. S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2024), *Plague worldwide* (en línia), <<https://www.cdc.gov/plague/maps-statistics/index.html>> (dades extretes de WHO).



↑ Figura 2. Cicle epizootic/enzoòtic de *Y. pestis*, amb petits mamífers com a hostes i puques com a vectors. Les fletxes representen connexions afectades pel clima amb una codificació de colors en funció de la variable climàtica més influent en aquest enllaç (és a dir, la precipitació, les temperatures i altres variables que depenen indirectament d'aquestes, com ara les característiques i la humitat del sòl). Els rectangles grisos delimiten els cicles epizootics, enzoòtics i zoonòtics. Malgrat la seva ubicació al final del cicle, els humans sovint proporcionen l'única informació disponible sobre la dinàmica de la pesta. Tamara Ben Ari *et al.* (2011), «Plague and climate: Scales matter», *PLOS Pathogens* (en línia), 7(9): e1002160, <<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002160>>.

segona pandèmia, de coinfecció amb *Y. pestis* i *Bartonella quintana*, el vector de la qual és el poll del cos humà. També referma aquest fet la recent observació de *Y. pestis* en polls del cos recollits de persones que viuen a zones de focus de pesta al Congo (Dean *et al.*, 2018). Dades actuals suggereixen que l'equilibri entre hostes resistent (aquells capaços d'acollir *Y. pestis* sense efectes nocius aparents) i hostes susceptibles (aquells capaços de tolerar *Y. pestis* només durant períodes curts i que finalment sucumbeixen als efectes del bacteri) és important per a la persistència de la pesta a la natura o el seu ressorgiment entre humans i hostes susceptibles. En condicions no extremes, *Y. pestis* pot romandre viu i virulent al sòl durant llargs períodes de temps, així com als trofozoïts d'ameba del sòl, que actuen com a reservori biòtic. Aquest sòl contaminat per *Y. pestis* pot ser també una font d'infecció en mamífers (Markman *et al.*, 2018; ECDC, 2021a i 2021b; WHO, 2024).

### Presentació clínica

Hi ha tres formes principals de pesta:

- *Pesta bubònica*. La presentació clínica més freqüent de la pesta és la forma bubònica

que es deu a la picada d'una puça infectada. Després d'un període d'incubació de 2 a 8 dies, es produeix un inici sobtat de febre, mal de cap, calfreds i debilitat, i un o més ganglis limfàtics inflats (bubons), tendres i dolorosos a l'engonal, l'aixela o el coll. Després de la picada de la puça o del contagi directe a través del contacte amb una lesió cutània, el bacteri és fagocitat pels macròfags i neutròfils, que el transporten per via limfàtica fins als ganglis regionals. *Yersinia* posseeix un elevat nombre de factors evasius de la fagocitosis que li permeten reproduir-se i disseminar-se fins a donar lloc a les bubes o bubons. Si la malaltia no és tractada de manera precoç, es produeix la necrosi dels nodus limfàtics i la disseminació hematògena de la *Yersinia*, que pot donar lloc a una septicèmia i/o a formes pneumòniques o meningies.

- *Pesta pneumònica*. Aquesta pesta pot ser una complicació secundària de la pesta bubònica o pot ser una infecció primària després de la inhalació directa d'organismes aerosolitzats (pesta pneumònica primària), alliberats en tossir persones o animals malalts, especialment els gats. A

partir de dades dels Estats Units, d'entre 1900 i 2009, s'estima que el número bàsic de reproducció (R0 o número mitjà secundari de casos per cada cas) és d'1,18 (Hinckley, *et al.*, 2012) i es pot reduir a <1 mitjançant la implementació de mesures de control estàndard, com ara evitar la proximitat a un pacient que tus i instruir tant el pacient com aquells que estan a prop perquè portin una mascareta quirúrgica. Durant les 24 hores inicials des del contagi, el risc de transmissió és mínim perquè la càrrega bacteriana als pulmons és baixa i encara no hi ha tos. No s'ha documentat la transmissió asimptomàtica de persona a persona. Després, el risc augmenta proporcionalment a la intensitat de la tos i la càrrega bacteriana de l'espit. Durant les etapes terminals de la infecció, quan els pacients estan a prop de la mort, el risc de transmissió torna a ser baix, probablement perquè els pacients ja no poden tossir vigorosament. Després d'un període d'incubació d'1 a 3 dies, els símptomes inclouen febre, mal de cap, debilitat i una pneumònia de desenvolupament ràpid amb dificultat respiratòria, dolor al pit, tos productiva, de vegades amb secrecions sanguinolentes. Si no es tracta, la mort pot ocórrer en 24 hores. És la forma més greu de la malaltia i l'única que es transmet de persona a persona (per gotes).

- *Pesta septicèmica*. Aquesta pesta es produeix quan els organismes s'introdueixen directament al corrent sanguini, sense localitzar-se als ganglis limfàtics regionals i, per tant, sense limfadenopatia. Els pacients desenvolupen febre, calfreds, debilitat extrema, símptomes gastrointestinals com dolor abdominal, nàusees, vòmits o diarrea. Normalment evoluciona a xoc, sagnat i la mort (Luke *et al.*, 2023).

Amb menys freqüència, poden donar-se formes com la pesta menor (*pestis minor*) (una forma benigna de pesta bubònica) i la pesta carbuncular, amb bubons palpables, formes gàstriques, faríngies i meningies o sense, que poden estar causades per soques atípiques de *Y. pestis* o per la progressió de la malaltia en pacients immunodeprimits o que reben un tractament inadequat.

### *Yersinia* com a agent de terrorisme biològic

*Yersinia pestis* es classifica com a agent de bioterrorisme de nivell 1 i, per tant, representa una greu amenaça per a la salut i la seguretat

públiques (CDC, 2020). El seu ús com arma biològica es remunta a l'any 1346, quan l'exèrcit tàrtar va aconseguir conquerir la ciutat genovesa de Caffa (actual Teodosija, Ucraïna), després de llançar cadàvers infectats a través de les muralles de la ciutat, fet que va iniciar un brot de pesta entre els seus habitants. Durant la Segona Guerra Mundial, l'exèrcit japonès va dur a terme diversos atacs aeris llançant milions de puces infectades per tota la Xina que van causar malaltia a milers de persones. A les dècades de 1970 i 1980, la Unió de Repúbliques Socialistes Soviètiques va fabricar grans quantitats de *Y. pestis* resistents als antibiòtics per a la seva difusió a l'aire com a arma biològica. L'OMS ha estimat que l'alliberament de 50 kg de *Y. pestis* a l'aire sobre una ciutat de cinc milions de persones podria provocar 150.000 casos de pesta pneumònica i 36.000 morts (WHO, 1970; Ansari *et al.*, 2020). A més a més, la infecció d'animals amb *Y. pestis* després d'un atac d'aquest tipus podria desencadenar una epizootia local, que donaria lloc a una pesta bubònica primària entre les persones que manipulen restes d'animals infectats o són picades per puces infectades. La contaminació intencionada del subministrament d'aliments o aigua amb *Y. pestis* també s'ha plantejat com una preocupació potencial i podria provocar pesta faríngica primària, bubònica o septicèmica (Nelson *et al.*, 2021). Tot això ha fet que molts països s'hagin preparat per a un atac de bioterrorisme amb *Y. pestis* i altres agents similars (Delgado-Iribarren *et al.*, 2020).

## Diagnòstic

L'estàndard de referència (*gold standard*) de l'OMS per al diagnòstic de pesta segueix sent l'aïllament a partir de cultiu bacterià de mostres clíniques, encara que no és factible en la majoria dels entorns en què es produeix la pesta. Aquestes mostres es podrien manipular en un laboratori de nivell de bioseguretat 2, però, d'acord amb la normativa internacional, és obligatori realitzar l'aïllament, el cultiu i la manipulació de *Y. pestis* en un laboratori de nivell de bioseguretat 3. És per això que en un gran nombre de casos el diagnòstic és fonamentalment clínic, especialment en zones endèmiques.

Les mostres que cal processar depenen de la presentació clínica i el moment de la malaltia, així com de les possibilitats diagnòstiques. Poden incloure: aspirat de gangli limfàtic (pesta bubònica), hemocultius, espunts, rentat traqueobronquial (pesta pneumònica), frotis faríngis i orina. Els exsudats poden recollir-se

amb escovillons amb medi Cary Blair a temperatura ambient (Sharp, 2023). *Y. pestis* es pot identificar microscòpicament mitjançant tinció de Gram (coccobacils gramnegatius gruixuts), Wright, Giemsa o Wayson, a partir de sang perifèrica, ganglis limfàtics o l'espunt. Als medis de cultiu, el bacteri hi creix lentament (24-72 h), tant a 25-28 °C com a 35-37 °C, i dona lloc a colònies puntiformes (d'1 a 2 mm), després de 24 hores, de color gris blanquinós a les plaques d'agar amb sang, i com a no fermentador de la lactosa en agar amb MacConkey o amb eosina i blau de metilè (EMB, de l'anglès *eosin-methylene blue*), en condicions aeròbiques. L'OMS recomana l'ús del medi selectiu CIN agar, suplementat amb cefsulodina-irgasan-novobiocina, que encara es pot millorar amb l'addició d'irgasan, sals de colat, violeta cristall i nistatina (medi BIN) per a l'aïllament de *Y. pestis* a partir de mostres complexes, com ara del tracte respiratori, faríngies o ambientals. En medis sòlids, hi creix formant colònies catalasopositives i negatives per a oxidasa, ureasa i indole. Els sistemes d'identificació bioquímica automatitzada o l'espectrometria de masses (MALDI-TOF MS, de l'anglès *matrix assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry*) poden donar resultats erronis. La manca de *Y. pestis* a les bases de dades de diagnòstic *in vitro* aprovades per la Food and Drug Administration (FDA) per als sistemes comercials de MALDI-TOF MS provoca la identificació errònia de *Y. pestis* com a *Y. pseudotuberculosis*, inclús a les bases de dades només d'ús de recerca. És molt important tenir en compte les consideracions de seguretat en la preparació del portaobjectes usant addicionalment etanol a l'àcid fòrmic a la preparació de la colònia per inactivar *Y. pestis* de manera fiable (Luke *et al.*, 2023). Les proves de sensibilitat antimicrobiana de *Y. pestis* no es realitzen als laboratoris de microbiologia clínica a causa de problemes de bioseguretat i perquè la resistència als antibiòtics utilitzats per al tractament clínic de la pesta és molt poc usual. El Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) americà ha publicat criteris interpretatius i límits de control de qualitat per a les proves de microdilució en brou de *Y. pestis* utilitzant l'agar Mueller-Hinton (CLSI, 2016).

El desenvolupament de tests de diagnòstic ràpid (TDR), a l'Institut Pasteur de Madagascar, ha permès la detecció de l'antigen capsular F1 en 15 minuts en concentracions tan baixes com 0,5 ng/ml, mitjançant immunocromatografia de flux vertical. Aquest assaig s'ha vali-

dat per al diagnòstic de pesta bubònica amb una especificitat i una sensibilitat del 100% en mostres clíniques (aspirat del gangli afectat) i soques de *Y. pestis*, amb pitjors resultats per a la pesta pneumònica a causa dels resultats falsos positius i falsos negatius observats a partir d'espunt o saliva (Chanteau *et al.*, 2003; Jullien *et al.*, 2020). Altres investigadors han desenvolupat diferents assaigs de tires que s'han avaluat favorablement en mostres clíniques i de ratolí, una d'elles adreçada a la detecció de l'antigen V (LcrV), a més de l'F1 (Hau *et al.*, 2022). Una altra variant, que utilitza la tecnologia de fòsfor de conversió (UPT-ICA, de l'anglès *upconverting phosphor technology-based immunochromatographic assay*), permet la detecció quantitativa de *Y. pestis* en 15 minuts amb una alta especificitat, fiabilitat i robustesa i amb una concentració mínima efectiva de 10<sup>4</sup> UFC/ml a partir de sang, vísceres fresques o descompostes (útil per a la vigilància zoonòtica) i material en pols (bioterrorisme) (Yan *et al.*, 2006). El principal avantatge d'aquestes tècniques és que estan adaptades per al diagnòstic de camp al punt d'atenció i que poden ser realitzades per personal amb una mínima formació tècnica (Luke *et al.*, 2023).

Comercialment, també es disposa de tècniques de diagnòstic serològic orientades a detectar l'antigen F1 o immunoglobulines específiques de l'antigen capsular anti-F1 (IgG i IgM), que s'utilitza, més que amb finalitat diagnòstica, per a estudis de prevalença. Així, es disposa de proves d'hemaglutinació passiva i d'inhibició de l'hemaglutinació de l'antigen F1, test d'immunofluorescència directa i assaig per immunoabsorció lligat a enzims (ELISA, de l'anglès *enzyme-linked immunosorbent assay*) de captura d'antigen capsular F1. Aquest últim requereix una concentració mínima de 4 ng/ml i té una especificitat, aproximadament, del 98% en sèrum i una sensibilitat del 90% en sèrum i del 100% en aspirats de bubó. Els anticossos hemaglutinants dirigits contra l'antigen F1 de *Y. pestis* poden aparèixer a partir de 5 dies després de l'aparició dels símptomes, encara que el més habitual és que apareguin a partir d'1 o 2 setmanes. Les mostres de sèrum aparellades, de les fases aguda i convalescent de la malaltia, haurien de demostrar un augment de quatre vegades en el títol d'anticossos, encara que un títol 1:10 en una única mostra de sèrum és diagnòstic (Butler, 2009).

Tècniques moleculars, com la PCR convencional i en temps real, redueixen el temps de detecció entre 90 i 120 minuts aproximadament. Aquestes PCR van adreçades a la detec-

ció d'una o diverses de les quatre dianes principals: els gens *pla*, *yopM*, *inv<sub>1100</sub>* i *cafI*. El gen *pla*, codificador de l'activador del plasmíogen, està present en entre 150 i 200 còpies per bacteri, dona lloc a una alta sensibilitat de detecció (100 UFC/ml en esput); encara que, com que aquest gen també s'ha detectat a *Citrobacter koseri*, *Escherichia coli* i rates, la seva especificitat és limitada. El gen *yopM*, situat al plasmí de virulència *Yersinia* pYV/pCD1, que està present en aproximadament 4 còpies per bacteri, comparteix una elevada similitud amb seqüències de *Y. pseudotuberculosis* i de soques de *Y. enterocolitica*. El gen cromosòmic *inv* també està present en *Y. pseudotuberculosis*, però una inserció ha augmentat la grandària d'aquest gen a *Y. pestis* (1.100 pb enfront de 400 pb). Es considera que el gen *cafI* és específic de *Y. pestis* i està present en aproximadament 1 o 2 còpies per bacteri. En el cas de sospita de pesta bubònica, existeix un assaig de PCR quantitativa múltiple (qPCR) dirigit als gens *pla* i *cafI*, validat en aspirats de bubó, que en cas de resultats discordants o incerts es recomana comprovar mitjançant un altre assaig de qPCR múltiple que inclogui el gen *inv<sub>1100</sub>*. A més, s'han desenvolupat reactius comercials i instruments portàtils de PCR en temps real per a la detecció simultània de *Y. pestis*, *Bacillus anthracis* i *Francisella tularensis*, incloent-hi també agents considerats de risc en cas de bioterrorisme com la toxina botulínica, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei*, *Coxiella burnetii*, *Rickettsia*, verins com la ricina, toxines com l'abrina, l'enterotoxina B de *Staphylococcus aureus*, el virus de l'Ebola, el de Marburg, la variola, l'*Orthopoxvirus* i virus causants d'encefalitis. Alternativament, la detecció indirecta de cèl·lules vives de *Y. pestis* es pot aconseguir mitjançant la detecció qPCR de bacteriòfags específics de *Y. pestis* (A1122, que es pot detectar també en algunes soques de *Y. pseudotuberculosis*, i L-413C), amb una baixa sensibilitat (al voltant de 100 UFC/ml) i una alta especificitat. La detecció de l'ADN de *Y. pestis* també es pot aconseguir mitjançant el mètode d'amplificació isotèrmica mediada per bucle (LAMP, de l'anglès *loop-mediated isothermal amplification*), però aquest mètode s'ha validat utilitzant només mostres d'animals infectats simulades i s'ha d'aprovar per a mostres d'esput. La seqüenciació del genoma complet, més que amb finalitat diagnòstica, s'utilitza per posar de manifest diferències menors dels aïllats de *Y. pestis* de diferents focus de plaga mitjançant l'anàlisi dels polimorfismes d'un sol nucleòtid (SNP, de l'anglès *single*

*nucleotide polymorphism*) i altres variacions genètiques.

Atenent als resultats diagnòstics disponibles, l'OMS classifica els casos com a sospitosos, presumptius o confirmats. 1) Per a un cas sospitós, els símptomes i els signes clínics compatibles han d'anar sempre acompanyats de la presència de factors de risc epidemiològic dins dels 10 dies anteriors a l'aparició de la simptomatologia. 2) Per a un cas presumptiu, a més, el pacient ha de presentar els criteris següents: visualització d'un bacil compatible amb la tinció de Giemsa o Wayson de l'aspirat de bubó, sang o esput; detecció de l'antigen F1 a partir d'esput, bubó aspirat o sang; detecció d'anticossos sèrics anti-F1 sense antecedents d'infecció per pesta o immunització prèvia, i detecció per PCR de *Y. pestis* a l'esput, el bubó aspirat o la sang. Si el pacient no prové d'una àrea en què la pesta és endèmica, es necessiten dos resultats positius en els exàmens de laboratori descrits anteriorment. 3) Per a un cas confirmat, a més de complir els criteris d'un cas sospitós, el pacient ha de complir els criteris següents: *Y. pestis* aïllat d'un bubó aspirat, sang o esput; *Y. pestis* identificat per proves morfològiques, bioquímiques, de lisi de fags, detecció d'antigen F1 i proves de PCR, i un augment de quatre vegades del títol d'anticossos anti-F1 en mostres de sèrum aparellades. A més, es poden utilitzar TDR per confirmar l'existència d'antigen F1 a partir de mostres clíniques en zones on la pesta és endèmica i on no hi ha suport de laboratori per a la realització d'altres proves de confirmació (Yang, 2017; Nikiforov *et al.*, 2016).

## Tractament

Sense un tractament antimicrobià ràpid i adequat, la mortalitat en humans és molt elevada, especialment en les seves formes septicèmiques i pneumòniques, que en els casos no tractats s'aproxima al 100% i entre els casos tractats pot superar el 50%. La taxa de mortalitat de la pesta bubònica no tractada està entre el 40% i el 70%, i amb tractament al 13% a països com els Estats Units (Kugeler *et al.*, 2015). Encara que és difícil avaluar la taxa de mortalitat per pesta als països en desenvolupament, l'OMS cita una taxa de mortalitat global del 18% per al període 2010-2015 (Bertherat, 2016). És per aquest motiu que, a les zones endèmiques, es deu iniciar el tractament adient empíric de la manera més precoç possible, davant de signes i símptomes compatibles i de l'antecedent d'una picada recent de puces, l'exposició a zones amb rosegadors o el contacte amb un animal malalt o mort (CDC, 2024).

Fins a l'aparició de les sulfonamides, el 1930, la infecció era gairebé mortal. Els tractaments recomanats actualment per a la pesta, incloent-hi l'estreptomicina, les tetraciclines, les fluoroquinolones (ciprofloxacina, levofloxacina i moxifloxacina) i també alguns que encara no estan aprovats per l'FDA, com la gentamicina, el cloranfenicol i el trimetoprim-sulfametoxazol, es consideren una alternativa acceptable segons els CDC (Nelson *et al.*, 2021; CDC, 2024) i l'experiència prèvia (Nelson *et al.*, 2020; Godfred-Cato *et al.*, 2019). Els tractaments han de tenir una durada de 10 a 14 dies. A les recomanacions publicades el 2021 pel CDC al *Morbidity and Mortality Weekly Report* es tenen en compte grups de pacients especials com les embarassades, els nounats, els lactants, els ancians i els malalts immunodeprimits, així com els obesos o les persones molt primes. En cas d'atac bioterrorista amb una soca de *Y. pestis* dissenyada per a la resistència, es recomana la teràpia dual amb diferents classes d'antimicrobians.

La resistència als antibiòtics està mediada per tres plasmidis conjugatius diferents (pIP1203, pIP2180H i pIP1202). pIP1203 i pIP2180H codifiquen resistència a l'estreptomicina i la doxiciclina, respectivament, i pIP1202 confereix resistència a l'estreptomicina i les tetraciclines i, a més, al cloramfenicol i les sulfonamides (Galimand *et al.*, 1997).

Nous antibiòtics estan en desenvolupament: els *LpxC inhibitors* o inhibidors de la biosíntesi del lípid A de la membrana; l'ús de bacteriocines o de pèptids catiónics amb activitat antimicrobiana, que s'usen de manera individual o combinada amb altres antimicrobians; els inhibidors dels factors de virulència, com els pèptids que inhibeixen el sistema de secreció tipus 3 i les proteïnes de membrana externa de *Yersinia*, el sideròfor yersiniabactina i els inhibidors de les adhesines cel·lulars. Altres aproximacions terapèutiques en estudi són la fagoteràpia, que s'ha usat com a tractament des de 1925 (Zhao i Skurnik, 2016), les vacunes, els bacteris predadors, la immunoteràpia, les teràpies adreçades a l'hoste, com els antagonistes del receptor de l'adenosina A1, que són protectors de la pesta pneumònica, i la immunomodulació amb la combinació de corticoesteroides i anticossos anti-*Y. pestis* (Sebbane i Lemaître, 2021).

## Prevenició

Les mesures de prevenició primària obligatòries es basen en l'enfocament una sola salut (*one health*) (D'Ortenzio *et al.*, 2018) per a la

vigilància activa i el control de la malaltia. Les noves estratègies de control depenen, per tant, del seguiment o de la modelització de poblacions de rosegadors susceptibles, junt amb l'estudi de la variació climàtica i de factors ambientals que permeten establir de manera predictiva el risc epizootic. Aquesta vigilància activa a llarg termini, juntament amb la resposta ràpida dels professionals de la salut durant les epizooties, ha demostrat ser eficaç en la reducció dels casos en humans.

A l'hora d'atendre qualsevol pacient amb sospita de pesta o pesta confirmada s'han d'adoptar les precaucions estàndards. En el cas de sospita o confirmació de pesta pneumònica, s'hi han de sumar mesures de precaució per defugir les gotes evitant un contacte proper (<2 metres) i sostingut sense bata, mascareta, protecció ocular i pantalla facial fins que el pacient hagi rebut tractament antimicrobià durant almenys 48 hores i hagi mostrat millora clínica.

Convé evitar visitar zones amb pesta epizootica coneguda. En zones endèmiques, però, cal adoptar les mesures següents: 1) reduir l'hàbitat de rosegadors al voltant, eliminant possibles nínxols com les escombraries, la llenya desordenada o els aliments per a mascotes a prop de les llars; 2) evitar el contacte amb animals malalts o morts, o portar mascareta i guants al manipular o escorxar animals potencialment infectats; 3) usar repel·lents per a puces de rosegadors (DEET o permetrina) a les cames i els turmells, a la roba i a la roba de llit;

4) protegir les mascotes aplicant productes de control de puces, sobretot si vaguen lliurement; 5) vigilar activament els animals sentinella, com els animals carnívors salvatges, que s'alimenten dels possibles hostes i produeixen anticossos contra *Y. pestis* sense patir mortalitat; 6) usar profilaxi preexposició, amb fluoroquinolones i tetraciclins, durant 48 hores com a màxim, si es preveu una alta probabilitat d'exposició, encara que en aquests casos hauria de bastar amb l'adopció de les precaucions adequades.

El desenvolupament de vacunes contra la pesta va ser iniciat per Alexandre Yersin el 1895 amb l'ús d'una soca atenuada de *Y. pestis* que protegia els ratolins albins, però no va ser fins al 1946 que es van desenvolupar vacunes de cèl·lules senceres mortes i es van administrar preventivament als soldats. Aquestes vacunes només conferien protecció a curt termini i no protegien contra les formes pulmonars primàries de la malaltia. Les vacunes desenvolupades a partir de soques atenuades de *Y. pestis* sí que protegeixen contra la pesta bubònica i la pulmonar, però causen efectes secundaris importants, com malestar general, mal de cap greu i pirèxia, en un elevat percentatge de malalts. Actualment, no existeix cap vacuna recomanada per l'OMS o els CDC per prevenir la pesta i, encara que algunes vacunes estan en desenvolupament, no es preveu que estiguin a l'abast en un futur immediat (Barbieri *et al.*, 2020; Sun, 2016).

El reconeixement precoç de la malaltia i l'administració d'antimicrobians efectius per

tractar la pesta són fonamentals per reduir la seva alta mortalitat. Cal tenir en compte que les persones exposades a *Y. pestis* poden evitar la malaltia si se'ls dona una profilaxi antimicrobiana eficaç de manera oportuna. Així, la prevenció secundària en cas de possible exposició a *Y. pestis* es basa en l'administració oral d'antimicrobians efectius com tetraciclins (primera opció), fluoroquinolones o trimetoprim-sulfametoxazole durant un màxim de 7 dies. Aquests casos inclouen situacions com picades de puces, un brot local, contacte amb teixits o fluids d'un animal infectat, convivència amb un malalt afectat de pesta bubònica (que també poden estar exposats a puces infectades) o amb una persona o una mascota amb sospita de pneumònia per pesta, i fins i tot davant d'una situació de víctimes massives (terrorisme).

## Conclusió final

Encara que la seva absència a Europa fa que *Yersinia pestis* sigui un microorganisme aparentment poc interessant a Occident, l'existència de casos greus a altres continents, la globalització i el seu potencial ús com a arma biològica junt amb l'absència d'una vacuna efectiva fan imprescindible que no caigui en l'oblit. El seu abordatge, donat el seu caràcter zoonòtic, amb la presència de reservoris animals però també ambientals, ha de ser obligatòriament mitjançant una estratègia d'una sola salut.

## Bibliografia

- ANISIMOV, A. P.; AMOAKO, K. K. (2006). «Treatment of plague: Promising alternatives to antibiotics». *Journal of Medical Microbiology*, 55 (11): 1461-1475.
- ANSARI, I. [et al.] (2020). «Deliberate release: plague - A review». *J. Biosaf. Biosecur.*, 2: 10-22.
- BARBIERI, R. [et al.] (2020). «*Yersinia pestis*: The natural history of plague». *Clin. Microbiol. Rev.*, 34 (1): e00044-19.
- BEN ARI, T. [et al.] (2011). «Plague and climate: Scales matter». *PLOS Pathogens* [en línia], 7 (9): e1002160. <<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002160>> [Consulta: 1 abril 2024].
- BERTHERAT, E. (2016). «Plague around the world, 2010-2015». *Wkly. Epidemiol. Rec.*, 91 (8): 89-93.
- BI, Y. (2016). «Immunology of *Yersinia pestis* infection». A: YANG, R.; ANISIMOV, A. (ed.). *Yersinia pestis: Retrospective and perspective*. Dordrecht: Springer Netherlands, p. 273-292. També disponible en línia a: <[http://link.springer.com/10.1007/978-94-024-0890-4\\_10](http://link.springer.com/10.1007/978-94-024-0890-4_10)> [Consulta: 1 abril 2024].
- BUTLER, T. (2009). «Plague into the 21st century». *Clin. Infect. Dis.*, 49 (5): 736-742.
- (2014). «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». *Clinical Microbiology and Infection*, 20 (3): 202-209.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) (2020). *Federal Select Agent Program. Biosafety/biocontainment plan guidance* [en línia]. Atlanta, GA: U. S. Department of Health and Human Services. <<https://www.selectagents.gov/compliance/guidance/biosafety/definitions.htm>> [Consulta: 1 abril 2024].
- (2024). *Clinical care of plague* [en línia]. <[https://www.cdc.gov/plague/hcp/clinical-care/?CDC\\_AAref\\_Val=https://www.cdc.gov/plague/health-care/clinicians.html](https://www.cdc.gov/plague/hcp/clinical-care/?CDC_AAref_Val=https://www.cdc.gov/plague/health-care/clinicians.html)> [Consulta: 1 abril 2024].
- CHANTEAU, S. [et al.] (2003). «Development and testing of a rapid diagnostic test for bubonic and pneumonic plague». *Lancet*, 361 (9353): 211-216.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI) (2016). *Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria*. 3a ed. Wayne, PA: CLSI. (CLSI Guideline; M45)
- DEAN, K. R. [et al.] (2018). «Human ectoparasites and the spread of plague in Europe during the Second Pandemic». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 115 (6): 1304-1309.
- DELGADO-IRIBARREN, A. [et al.] (2020). «El laboratorio de Microbiología en respuesta al bioterrorismo». Madrid: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. (Procedimiento de Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica; 67)
- D'ORTENZIO, E. [et al.] (2018). «Plague: Bridging gaps towards better disease control». *Médecine et Maladies Infectieuses*, 48 (5): 307-317.
- DRANCOURT, M.; RAOULT, D. (2016). «Molecular history of plague». *Clinical Microbiology and Infection*, 22 (11): 911-915.
- DU, Z.; WANG, X. (2016). «Pathology and pathogenesis of *Yersinia pestis*». A: YANG, R.; ANISIMOV, A. (ed.). *Yersinia pestis: Retrospective and perspective*. Dordrecht: Springer Netherlands, p. 193-222. També disponible en línia a: <[http://link.springer.com/10.1007/978-94-024-0890-4\\_7](http://link.springer.com/10.1007/978-94-024-0890-4_7)> [Consulta: 1 abril 2024].
- EUROPEAN CENTER OF PREVENTION AND CONTROL (ECDC) (2021a). *Communicable Disease Threats Report* [en línia], 28 (11-17 juliol). <[https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/communicable-disease-threats-report-16-Jul-2021\\_public.pdf](https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/communicable-disease-threats-report-16-Jul-2021_public.pdf)> [Consulta: 1 abril 2024].
- (2021b). *Communicable Disease Threats Report* [en línia], 37 (12-18 setembre). <<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/communicable-disease-threats-report-18-09-2021.pdf>> [Consulta: 1 abril 2024].
- GALIMAND, M. [et al.] (1997). «Multidrug resistance in *Yersinia pestis* mediated by a transferable plasmid». *N. Engl. J. Med.*, 337 (10): 677-680.

- GLATTER, K. A.; FINKELMAN, P. (2021). «History of the plague: An ancient pandemic for the age of COVID-19». *Am. J. Med.*, 134 (2): 176-181.
- GODFRED-CATO, S. [et al.] (2020). «Treatment of human plague: A systematic review of published aggregate data on antimicrobial efficacy, 1939-2019». *Clinical Infectious Diseases*, 70 (supl. 1): S11-S19.
- HAU, D. [et al.] (2022). «Development of a dual antigen lateral flow immunoassay for detecting *Yersinia pestis*». *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 16 (3): e0010287.
- HINCKLEY, A. F. [et al.] (2012). «Transmission dynamics of primary pneumonic plague in the USA». *Epidemiol. Infect.*, 140 (3): 554-560.
- JULLIEN, S. [et al.] (2020). «Rapid diagnostic tests for plague». *Cochrane Database Syst. Rev.*, 6 (6): CD013459.
- KUGELER, K. J. [et al.] (2015). «Epidemiology of human plague in the United States, 1900-2012». *Emerg. Infect. Dis.*, 21 (1): 16-22.
- LUKE, C. [et al.] (2023). «Yersiniaceae». A: CARROLL, K. C.; PFALLER, M. A. (ed.). *Manual of clinical microbiology*. 13a ed. Washington, DC: ASM Press.
- MARKMAN, D. W. [et al.] (2018). «*Yersinia pestis* survival and replication in potential ameba reservoir». *Emerg. Infect. Dis.*, 24: 294-302.
- NELSON, C. A. [et al.] (2020). «Antimicrobial treatment of human plague: A systematic review of the literature on individual cases, 1937-2019». *Clinical Infectious Diseases*, 70 (supl. 1): S3-1.
- (2021). «Antimicrobial treatment and prophylaxis of plague: Recommendations for naturally acquired infections and bioterrorism response». *MMWR Recomm. Rep.*, 70 (3): 1-27.
- NIKIFOROV, V. V. [et al.] (2016). «Plague: Clinics, diagnosis and treatment». A: YANG, R.; ANISIMOV, A. (ed.). *'Yersinia pestis': Retrospective and perspective*. Dordrecht: Springer Netherlands, p. 293-312. També disponible en línia a: <[http://link.springer.com/10.1007/978-94-024-0890-4\\_11](http://link.springer.com/10.1007/978-94-024-0890-4_11)> [Consulta: 1 abril 2024].
- QI, Z. [et al.] (2016). «Taxonomy of *Yersinia pestis*». A: YANG, R.; ANISIMOV, A. (ed.). *'Yersinia pestis': Retrospective and perspective*. Dordrecht: Springer Netherlands, p. 35-78. També disponible en línia a: <[http://link.springer.com/10.1007/978-94-024-0890-4\\_3](http://link.springer.com/10.1007/978-94-024-0890-4_3)> [Consulta: 1 abril 2024].
- RODRÍGUEZ-FRÍAS, F. [et al.] (2021). «Microorganisms as shapers of human civilization, from pandemics to even our genomes: Villains or friends? A historical approach». *Microorganisms*, 9 (12): 2518.
- SEABAUGH, J. A.; ANDERSON, D. M. (2024). «Pathogenicity and virulence of *Yersinia*». *Virulence*, 15 (1): 2316439.
- SEBBANE, F.; LEMAITRE, N. (2021). «Antibiotic therapy of plague: A review». *Biomolecules*, 11 (5): 724.
- SHARP, S. (2023). «*Yersinia pestis*». A: LEBER, A. L.; BURNHAM, C. D. *Clinical microbiology procedures handbook*. 5a ed. Washington, DC: ASM Press.
- SUN, W. (2016). «Plague vaccines: Status and future». *Adv. Exp. Med. Biol.*, 918: 313-360.
- U. S. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) (2024). *Distribution of plague cases, worldwide* [en línia]. <<https://www.cdc.gov/plague/maps/index.html>> [Consulta: 1 abril 2024].
- VALLÈS, X. [et al.] (2020). «Human plague: An old scourge that needs new answers». *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 14 (8): e0008251.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) (1970). *Health aspects of chemical and biological weapons: Report of a WHO group of consultants*. Ginebra: WHO.
- (2024). *Plague* [en línia]. <[https://www.who.int/health-topics/plague/#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/plague/#tab=tab_1)> [Consulta: 1 abril 2024].
- YAN, Z. [et al.] (2006). «Rapid quantitative detection of *Yersinia pestis* by lateral-flow immunoassay and up-converting phosphor technology-based biosensor». *Sens. Actuators B Chem.*, 119 (2): 656-663.
- YANG, R. (2017). «Plague: Recognition, treatment, and prevention». *J. Clin. Microbiol.*, 56 (1): e01519-17.
- ZHAO, X.; SKURNIK, M. (2016). «Bacteriophages of *Yersinia pestis*». A: YANG, R.; ANISIMOV, A. (ed.). *'Yersinia pestis': Retrospective and perspective*. Dordrecht: Springer Netherlands, p. 361-375. També disponible en línia a: <[http://link.springer.com/10.1007/978-94-024-0890-4\\_13](http://link.springer.com/10.1007/978-94-024-0890-4_13)> [Consulta: 1 abril 2024].