



Patogenne gatunki *Yersinia*

Pathogenic *Yersinia* species

Jacek Zwoliński¹, A-F[Ⓜ]

¹ Zakład Biologicznych Szkodliwości Zdrowotnych i Parazytologii, Instytut Medycyny Wsi, Lublin, Polska
A – Koncepcja i projekt badania, B – Gromadzenie i/lub zestawianie danych, C – Analiza i interpretacja danych,
D – Napisanie artykułu, E – Krytyczne zrecenzowanie artykułu, F – Zatwierdzenie ostatecznej wersji artykułu

Zwoliński J. Patogenne gatunki *Yersinia*. Med Srod. 2021; 24(1–4): 34–37. doi: 10.26444/ms/145764

■ Streszczenie

Wprowadzenie i cel pracy. Patogenne gatunki bakterii należące do rodzaju *Yersinia* są powszechne w środowisku. Z trzech patogennych gatunków na terenie Polski występuje przede wszystkim *Y. enterocolitica*, odpowiedzialna za zapalenie jelit i węzłów chłonnych krezkowych. Chociaż w większości wypadków ma przebieg łagodny, samoograniczający, to czasami mogą zostać zaatakowane narządy wewnętrzne, takie jak wątroba, śledziona oraz stawy i serce. U osób z obniżoną odpornością choroba może zakończyć się nawet śmiercią. Źródłem zakażenia dla człowieka jest mięso zakażonych zwierząt, surowe mleko, rośliny i woda skażone odchodami zakażonych zwierząt. *Y. enterocolitica* jest bakterią zimnolubną, dlatego może namnażać się w warunkach chłodniczych, a do zakażeń dochodzi przeważnie w chłodnych miesiącach.

Opis stanu wiedzy. Objawy jersiniozy są mało specyficzne, dlatego choroba jest często nierozpoznana. Gatunek *Y. pseudotuberculosis* występuje dużo rzadziej niż *Y. enterocolitica*. Trzeci chorobotwórczy gatunek to *Y. pestis*, który w przeszłości uśmiercił miliony ludzi. W tej chwili jednak dżuma, która jest chorobą przez niego wywoływaną, w dalszym ciągu zbiera ofiary, ale w dużo mniejszym stopniu (od 1000 do 3000 rocznie). Występuje poza Europą, na terenach wiejskich o niskim poziomie sanitarnym. Badania genetyczne ujawniły, że gatunek *Y. pestis* wyodrębnił się z gatunku *Y. pseudotuberculosis* zaledwie kilkanaście tysięcy lat temu, natomiast *Y. pseudotuberculosis* i *Y. enterocolitica* różnicowały się miliony lat temu.

Podsumowanie. Omówiono patomechanizmy odpowiadające za zjadliwość bakterii z rodzaju *Yersinia* towarzyszące zakażeniom, a także zasygnalizowano udaną próbę doświadczonego przeżycia *Yersinia pestis* w glebie. Przedstawiono aktualną sytuację epidemiologiczną na świecie, sposoby rozpoznania laboratoryjnego dżumy oraz metody profilaktyki.

Słowa kluczowe

Yersinia, jersinioza, dżuma

■ Abstract

Introduction and Objective. Pathogenic species of bacteria belonging to the *Yersinia* genus are prevalent in the environment. Among three pathogenic species occurring in Poland, the main species is *Y. enterocolitica*, which is responsible for the inflammation of the intestines and mesenteric lymph nodes. Although most of the cases are mild, self-limited, internal organs such as the liver, spleen, joints and heart may sometimes be affected. In immunocompromised people, the disease may even be fatal.

Brief description of the state of knowledge. The source of human infection is meat from infected animals, raw milk, plants and water contaminated with the faeces of infected animals. *Y. enterocolitica* is a cold-loving bacterium, so it can multiply under refrigeration conditions, and infections occur mostly in the colder months. The symptoms of yersiniosis are non-specific; therefore, the disease is often undiagnosed. The species *Y. pseudotuberculosis* is much less common. The third species, *Y. pestis*, is the causative agent of plague which has killed millions of people in the past. However, at present, plague continues to take victims, but to a much lesser extent (1,000–3,000 a year). It occurs outside Europe in rural areas with low sanitary level. Genetic studies revealed that the species *Y. pestis* separated from the species *Y. pseudotuberculosis* only several thousand years ago, while *Y. pseudotuberculosis* and *Y. enterocolitica* diverged millions of years ago.

Summary. The pathomechanisms responsible for the virulence of *Yersinia* bacteria accompanying infections were discussed, and a successful attempt at experimental survival of *Yersinia pestis* in soil was signalled. The current epidemiological situation worldwide, and the methods of laboratory diagnosis of plague and its prevention were presented.

Key words

Yersinia, yersiniosis, plague

WPROWADZENIE

Rodzaj *Yersinia* to kilkanaście gatunków Gram-ujemnych pałeczek, z których trzy są patogenne dla człowieka. *Yersinia enterocolitica* (pałeczka jersiniozy) i *Yersinia pseudotuberculosis* (pałeczka rodencjozy) wywołują zakażenia jelitowe. Zaburzenia wywoływane przez nie są często niezdiagnozowane ze względu na nieswoisty przebieg kliniczny choroby i brak

swoistej diagnostyki. Trzecim gatunkiem chorobotwórczym jest *Yersinia pestis* (pałeczka dżumy). Dżuma na przestrzeni wieków odpowiada prawdopodobnie za największą liczbę ofiar spowodowanych przez choroby zakaźne wśród ludzi. Pomimo wrażliwości na antybiotyki nadal jest jedną z groźniejszych chorób dla człowieka.

CEL PRACY

Celem pracy jest zwrócenie uwagi na choroby, które łączy wspólne pochodzenie oraz występowanie związane ze środowiskiem. W artykule zwrócono uwagę na najnowsze badania dotyczące patomechanizmów warunkujących ich chorobotwórczość i historię wyodrębnienia gatunku *Y. pestis* oraz jego aktualną sytuację epidemiologiczną.

STAN WIEDZY

Jersiniozy jelitowe są ostrymi lub przewlekłymi odzwierzęcymi chorobami zakaźnymi wywoływanymi przez Gram-ujemne pałeczki *Yersinia enterocolitica* i *Yersinia pseudotuberculosis*, które powodują zaburzenia przewodu pokarmowego, ale ich przebieg nie jest dramatyczny. Natomiast spokrewniona z nimi pałeczka dżumy (*Yersinia pestis*) w wyniku ewolucji nabyła nowe właściwości, które uczyniły z niej przyczynę wielu milionów zgonów ludzi na przestrzeni ostatnich tysiącleci [1]. Nazwa rodzaju *Yersinia* pochodzi od nazwiska francuskiego mikrobiologa Aleksandra Yersina, współodkrywcę pałeczki *Y. pestis* jako czynnika zakaźnego odpowiedzialnego za wybuch dżumy w Hongkongu w 1894 roku [2]. Rodzaj *Yersinia* został wprowadzony do taksonomii przez Wilhelma Frederiksenę w 1964 roku, wcześniej bakterie te były klasyfikowane jako rodzaj *Pasteurella* [1].

Y. enterocolitica* i *Y. pseudotuberculosis

Jersiniozy pokarmowe wywołane są przez *Y. enterocolitica* i *Y. pseudotuberculosis*. W Europie dominuje *Y. enterocolitica*. *Y. pseudotuberculosis* występuje rzadziej przede wszystkim w Europie północno-wschodniej. Rezerwuarem *Y. enterocolitica* są głównie świnie oraz inne zwierzęta hodowlane. Jednak zwierzęta towarzyszące człowiekowi oraz dzikie także mogą być rezerwuarem tego gatunku bakterii [3]. Wyróżnia się biotypy 1a, 1b i 2–5, przy czym biotyp 1a nie jest chorobotwórczy [4]. Występuje też podział na serotypy ze względu na antygeny powierzchniowe, które również różnią się zjadliwością. Jako główny rezerwuariusz *Y. pseudotuberculosis* podaje się dzikie gryzonie. Źródłem infekcji może być również woda i gleba skażona odchodami zakażonych zwierząt. Zakażenie następuje głównie poprzez spożycie skażonych produktów pochodzenia zwierzęcego (niedogotowane mięso, surowe mleko) i roślinnego (sałata, szpinak) [5]. *Yersinia* jest bakterią psychrofilną. Ponieważ do jej namnażania dochodzi w niskiej temperaturze (od 4°C), *Y. enterocolitica* jest często spotykana na produktach przechowywanych w tej temperaturze [6]. Również dlatego jersiniozę odnotowuje się częściej w chłodniejszych porach roku w odróżnieniu od salmonellozy czy kamylobakteriozy. Najwięcej przypadków w Polsce przypada na listopad [5, 7].

Objawy kliniczne zakażenia gatunkami *Yersinia* drogą pokarmową są mało specyficzne i podobne do chorób o innej etiologii. Zakażenie *Y. enterocolitica* przebiega najczęściej jako zapalenie żołądka i jelit, ale możliwe są też objawy ogólne, i objawia się gorączką, biegunką i wymiotami, natomiast u starszych dzieci i dorosłych przede wszystkim zajęte są węzły chłonne krezkowe, a objawy sugerują zapalenie wyrostka robaczkowego [5]. Zakażenie *Y. pseudotuberculosis* najczęściej przebiega bez biegunki i częściej atakuje narządy wewnętrzne (wątrobę, śledzionę) [7].

U osób immunokompetentnych jersinioza najczęściej ulega samowyleczeniu, jednak może dojść do komplikacji w postaci przewlekłego bólu stawów, zapalenia stawów oraz objawów wielonarządowych, takich jak zapalenie tęczówki i ciała rzęskowego, przewlekłe bóle układu żołądkowo-jelitowego, zaburzenia nerwowe, zapalenie nerek, zaburzenia tarczycy, cukrzyca, zapalenie wątroby, zapalenie mięśnia sercowego lub posocznica. U osób z zaburzoną odpornością (chorych na AIDS lub przechodzących transplantację) oraz z chorobami towarzyszącymi (cukrzyca, marskość wątroby) jersinioza może zakończyć się śmiercią [8].

Tak zwane reaktywne zapalenie stawów jest szczególnie ważne w diagnostyce różnicowej. Może trwać miesiącami, często wraz z zapaleniem spojówek i cewki moczowej. Przede wszystkim dotyczy bioder, następnie kolan i kostek, a także okolicy łędźwiowo-krzyżowej. Zapalenie stawów, wykwity skórne oraz zmiany wielonarządowe występujące w jersiniozie mogą przypominać boreliozę, dlatego też bierze się tę chorobę pod uwagę przy rozpoznawaniu boreliozy. Jednakże podobieństwo objawów w jersiniozie przewlekłej do późnej boreliozy powoduje, że diagnostyka różnicowa jest wręcz niemożliwa [9].

Jersiniozy jelitowe są często nierozpoznawane, ponieważ konieczne jest wykonanie odpowiednich badań mikrobiologicznych i serologicznych w celu prawidłowego zdiagnozowania tej choroby. Diagnostyka serologiczna polega na wykryciu przeciwciał pojawiających się w surowicy w odpowiedzi na zakażenie *Yersinia*. Najpierw pojawiają się immunoglobuliny klasy M, następnie klasy G i klasy A. Przeciwciała IgM pozostają w surowicy przez 2 do 6 miesięcy, natomiast IgG i IgA nawet wiele miesięcy po zakażeniu. Najczęściej stosowaną metodą diagnostyki serologicznej jest test immunoenzymatyczny (ELISA), który pozwala na wykrycie przeciwciał IgM, IgG i IgA w próbce surowicy. Test należy wykonać dwukrotnie w odstępach 14-dniowych w celu oceny dynamiki poziomu przeciwciał. Diagnostyka różnicująca zakażenie *Y. enterocolitica* od *Y. pseudotuberculosis* jest istotna ze względu na wrażliwość tych gatunków na penicylinę – *Y. pseudotuberculosis* jest wrażliwa, a *Y. enterocolitica* jest penicylinooporna [7].

Y. pestis

Y. pestis różni się od *Y. enterocolitica* i *Y. pseudotuberculosis* tym, że nie ma rzęsek, w związku z tym nie ma możliwości ruchu, jest przenoszony przez pchły oraz atakuje płuca drogą kropelkową. Właściwości te zawdzięcza czynnikom wirulencji, które nabył w toku swojej ewolucji.

Gatunek *Y. pestis* wyodrębnił się z *Y. pseudotuberculosis* mniej niż 6 tys. lat temu, inkorporując nowy odpowiedzialny za większą zjadliwość plazmid pPla/pPCP1. Następnym krokiem było pozyskanie *Yersinia murine toxin* (YMT) w plazmidzie pFra/pMT1 oraz inaktywacja kilku genów, co umożliwiło transmisję bakterii przez pchły. Kolejnym krokiem we wzroście zjadliwości *Y. pestis* było pojawienie się mutacji I259T w aktywatorze plazminogenu Pla, który okazał się kluczowym czynnikiem odpowiedzialnym za zakażenie aerogenne i płucną postać dżumy [10]. Szacuje się natomiast, że *Y. enterocolitica* i *Y. pseudotuberculosis* różnicowały się miliony lat temu, a ich odległość genetyczna odpowiada różnicy pomiędzy *E. coli* i *Salmonella* sp. [1].

Y. pestis jest bakterią wywołującą dżumę, która charakteryzuje się w podstawowej postaci – dymienicznej – ropnym zapaleniem węzłów chłonnych, w postaci septycznej

– martwicą naczyń dystalnych, których widok odpowiada za używaną w średniowieczu nazwę „czarna śmierć”, oraz w postaci płucnej – zapaleniem płuc z krwiopluciem i blyskawicznym przebiegiem. Rezerwuarem zarazka są zwierzęta dzikie i domowe, ale szczególną rolę przypisuje się szczurom. Chorobę przenoszą pchły, a przede wszystkim pchły szczurze. W historii rozpoznaje się trzy pandemie dżumy. Pierwsza opisana pandemia dżumy to tzw. zaraza Justyniana, która rozpoczęła się w VI wieku i obejmowała swym zasięgiem basen Morza Czarnego, Morza Śródziemnego, ale dotarła również do Europy Północnej i Środkowej. Druga pandemia, która rozpoczęła się w XIV wieku, obejmowała podobny obszar Europy, północnej Afryki i Bliskiego Wschodu i odpowiadała za śmierć około 30% populacji. Pod koniec XIX wieku we wschodniej Azji i Indiach rozpoczęła się współczesna pandemia dżumy, która wciąż trwa. W XXI wieku najwięcej przypadków notuje się w Demokratycznej Republice Kongo, na Madagaskarze i w Peru, ale choroba ta występuje endemicznie także w innych krajach – w Afryce, Azji, Ameryce Południowej i Północnej. Obecnie śmiertelność wynosi około 7%. Dżuma jest wrażliwa na antybiotyki, ale nieleczona cechuje się bardzo wysoką śmiertelnością (do 100% w postaci płucnej) [11, 12].

W patomechanizmie zakażeń wszystkimi gatunkami *Yersinia* kluczową rolę odgrywają czynniki zjadliwości, do których należą adhezyny, które odpowiadają za przyłączanie się do komórek gospodarza, oraz system sekrecyjny typu III (T3SS) wraz z białkami aktywnymi Yops oraz białkami opiekuńczymi (czaperonami) regulującymi działanie T3SS [13]. System sekrecyjny typu III (T3SS), który po przyłączeniu się do komórek gospodarza wprowadza białka Yops hamujące odpowiedź obronną komórek gospodarza, a następnie prowadzi do apoptozy, jest zakodowany w plazmidzie pYV/pCD1, który posiadają również patogenne biotypy *Y. enterocolitica* i *Y. pseudotuberculosis*. Yops hamują GTPazy Rho, uszkadzają cytoszkielet aktynowy, hamują produkcję cytokin prozapalnych i za sprawą licznych mechanizmów prowadzą do śmierci komórki. Inne struktury odpowiedzialne za zjadliwość to antygen pH6, który chroni przed fagocytozą przez makrofagi, a także pozwala na przyczepianie się do komórek nabłonka jelit. Antygen F1 z kolei jest odpowiedzialny za niedopuszczenie do wchłaniania bakterii przez komórki gospodarza. Dużą rolę w hamowaniu odporności nieswoistej odgrywają również lipoproteina, lipopolisacharyd, a także proteaza Pla [10]. Ważną rolę pełni również system sekrecyjny typu VI (T6SS), który odpowiada za patogenność, reakcję na bakterię i inne organizmy oraz sytuacje stresowe [14].

Wszystkie gatunki *Yersinia* w tkankach gospodarza formują mikrokolonie, które sprawiają, że bakterie na zewnątrz komunikują się z komórkami odpornościowymi gospodarza, natomiast bakterie wewnątrz mikrokolonii komunikują się między sobą. Uważa się, że jest to element ochrony bakterii przed czynnikami toksycznymi zwalczającymi intruzów [15].

Do niedawna sądzono, że *Yersinia pestis* nie jest zdolna do życia poza organizmami gospodarza i przenosiela, a wybuchy epidemii zależą od wielu współistniejących na danym obszarze czynników dotyczących stanu odporności i liczebności rezerwuaru, przenosieli i populacji ludzkich. W ostatnich latach odkryto jednak, że zjadliwe szczepy *Y. pestis* mogą przeżywać w glebie, co rzuciło nowe światło na możliwe sposoby krążenia zarazki w środowisku [16].

Y. pestis poza podstawową drogą zakażenia przez ukłucie pchły może również przenosić się innymi sposobami, które

mają niebagatelne znaczenie dla współczesnej pandemii, ponieważ obecnie większość przypadków zakażeń następuje drogą kropelkową przy postaci płucnej. Odnotowuje się także zakażenie przez zadrapanie chorego zwierzęcia, kontakt z zakażonym zwierzęciem w czasie sekcji, z materiałem zakaźnym w laboratorium, a także przypadki zakażenia na skutek spożycia mięsa wielbłądziego [11].

W pierwszej dekadzie XXI wieku najwięcej przypadków dżumy stwierdzono w Demokratycznej Republice Kongo – ponad 100 tys., a w sumie na świecie ponad 20 tys. przypadków, z czego zdecydowana większość była notowana w z Afryce [17]. W latach 1998–2016 na Madagaskarze odnotowano 5819 podejrzanych przypadków, które były rozpoznane serologicznie przy użyciu F1RDT (Rapid Test wykrywający antygen F1), z czego potwierdzono mikroskopowo 3628. Z tych przypadków 1057 zakończyło się śmiercią (18%). Zdecydowana większość przypadków miała formę dymieniczą [18]. Natomiast w 2017 roku doszło do dużego wybuchu choroby, który objął około 2400 przypadków, większość w postaci płucnej (78%), przy czym tylko 32 przypadki zostały potwierdzone mikrobiologicznie [19].

Rozpoznanie laboratoryjne *Y. pestis* polega na hodowli tej bakterii pochodzącej z materiału pobranego z zajętych węzłów chłonnych, krwi lub płwociny na typowych podłożach uzupełnionych o testy biochemiczne. Możliwe jest wykazanie swoistości materiału za pomocą przeciwciał znakowanych fluoresceiną, swoistymi fagami, wykrywaniem antygeny, serologicznym wykrywaniem antygeny F1 w ostrych przypadkach i u ozdrowieńców oraz PCR. Wstępne rozpoznanie polega na oglądaniu pod mikroskopem preparatów barwionych metodą Grama lub błękitem metylenowym z barwnikiem Waysona, co pozwala ujawnić Gram-ujemne pałeczki zabarwione w kształcie agrafki. Nowoczesne metody rozpoznania choroby opierają się na spektrometrii masowej [17].

Profilaktyka dżumy na terenie endemicznym polega na unikaniu przez ludzi kontaktu z martwymi gryzoniami, odszczurzeniu siedzib ludzkich, zasłanianiu dolnych partii ciała, unikaniu kontaktu z chorymi kotami i psami [11]. Ze względu na utrzymujące się ogniska endemiczne tej choroby trwają prace nad wprowadzeniem szczepionki profilaktycznej, która powinna zapewniać długotrwałą odporność, łatwej do podania, oraz szczepionki leczniczej, która powinna dawać szybką odpowiedź w celu przerwania łańcucha epidemiologicznego w ognisku choroby. Jednak pomimo istnienia 17 kandydatów do 2019 roku nie udało się wprowadzić takich szczepionek [20].

PODSUMOWANIE

W artykule opisano chorobotwórcze pałeczki *Yersinia*. Z trzech patogennych gatunków na terenie Polski występuje przede wszystkim *Y. enterocolitica*, odpowiedzialna za zapalenie jelit i węzłów chłonnych krezkowych. Chociaż w większości wypadków jersinioza ma przebieg łagodny, to u osób z obniżoną odpornością choroba może zakończyć się nawet śmiercią. Źródłem zakażenia dla człowieka jest mięso zakażonych zwierząt, surowe mleko, rośliny i woda skażone odchodami zakażonych zwierząt. *Y. enterocolitica* jest bakterią zimnolubną. Gatunek *Y. pseudotuberculosis* występuje w Polsce dużo rzadziej. Trzeci chorobotwórczy gatunek to *Y. pestis*, który w przeszłości uśmiercił miliony ludzi. W artykule omówiono patomechanizmy odpowiadające za

zjadliwość bakterii z rodzaju *Yersinia* towarzyszące zakażeniom. Przedstawiono aktualną sytuację epidemiologiczną na świecie, sposoby rozpoznania laboratoryjnego dżumy oraz metody jej profilaktyki.

Źródło finansowania

Publikacja jest finansowana przez Instytut Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w ramach realizacji projektu badawczego numer 19020.

PIŚMIENNICTWO

1. Czerkies M, Raczkowska A, Brzostek K. Quo vadis *Yersinia pestis*? Ewolucja patogennych gatunków z rodzaju *Yersinia*. *Post Mikrobiol.* 2009; 48(3): 181–196.
2. Janowska M, Jędrzejewska B, Janowska J. Jersinioza – nowe wyzwanie współczesnej medycyny. *Med Og Nauk Zdr.* 2012; 18(3): 257–260.
3. Bancercz-Kisiel A, Szweda W. Yersiniosis – a zoonotic foodborne disease of relevance to public health. *Ann Agric Environ Med.* 2015; 22(3): 397–402. doi: 10.5604/12321966.1167700
4. Huovinen E, Sihvonen LM, Virtanen MJ, et al. *BMC Infect Dis.* 2010; 10: 122. <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/10/122>
5. Kasprzak J, Domańska E, Małkińska-Horodyska M. Sytuacja epidemiologiczna jersiniozy (zakażenie jelitowe) w województwie kujawsko-pomorskim w latach 2011–2013. *Probl Hig Epidemiol.* 2014; 95(4): 844–853.
6. Fukushima H, Shimizu S, Inatsu Y. *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. Detection in Foods. *J Path.* 2011; 735308. doi: 10.4061/2011/735308
7. Chlebicz A, Śliżewska K. Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as Zoonotic Foodborne Diseases: A Review. *Int J Environ Res Public Health.* 2018; 15: 863.
8. Wielkoszynski T, Moghaddam A, Bäckman A, et al. Novel diagnostic ELISA test for discrimination between infections with *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. *Eur J Clin Microbiol Inf Dis.* 2018; 37: 2301–2306. <https://doi.org/10.1007/s10096-018-3373-9>
9. Berghoff W. Chronic Lyme Disease and Co-infections: Differential Diagnosis. *Open Neurol J.* 2012; 6: 158–178.
10. Demeure C, Dussurget O, Fiol GM, et al. *Yersinia pestis* and plague: an updated view on evolution, virulence determinants, immune subversion, vaccination and diagnostics. *Microbes Infect.* 2019; 21(5–6): 202–212.
11. Raoult D, Mouffok N, Bitam I, et al. Plague: history and contemporary analysis. *J Infect.* 2013; 66(1): 18–26.
12. WHO Newsroom. 31 Oct 2017. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/plague> (access: 2021.12.20)
13. Atkinson S, Williams P. *Yersinia* virulence factors – a sophisticated arsenal for combating host defences. *F1000Res.* 2016; 5.
14. Yang X, Pan J, Wang Y, Shen X. Type VI Secretion Systems Present New Insights on Pathogenic *Yersinia*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018; 8: 260.
15. Davis KM. All *Yersinia* are not created equal: phenotypic adaptation to distinct niches within mammalian tissues. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018; 8: 261.
16. Ayyadurai S, Houhamdi L, Lepidi H, et al. Long-term persistence of virulent *Yersinia pestis* in soil. *Microbiology.* 2008; 154: 2865–2871.
17. Butler T. Plague gives surprises in the first decade of the 21st century in the United States and worldwide. *Am J Trop Med Hyg.* 2013; 89(4): 788–93.
18. Andrianaivoarimanana V, Piola P, Wagner DM, et al. Trends of human plague, Madagascar, 1998–2016. *Emerg Infect Dis.* 2019; 25(2): 220–228.
19. Barbieri R, Signoli M, Chev e D, et al. *Yersinia pestis*: the natural history of plague. *Clin Microbiol Revs.* 2020; 34(1). <https://doi.org/10.1128/CMR.00044-19>
20. Sun W, Singh AK. Plague vaccine: recent progress and prospects. *NPJ Vaccines.* 2019; 4: 11.