



INSTITUT DE FRANCE  
Académie des sciences

# *Comptes Rendus*

---

## *Biologies*

Maxime Schwartz

**The Pasteurian contribution to the history of vaccines**

Volume 345, issue 3 (2022), p. 93-107

Published online: 13 September 2022

Issue date: 10 November 2022

<https://doi.org/10.5802/crbio.83>

**Part of Special Issue:** Pasteur, a visionary

**Guest editor:** Pascale Cossart (Professeur de l'Institut Pasteur, France – Secrétaire perpétuel honoraire de l'Académie des sciences)



This article is licensed under the  
CREATIVE COMMONS ATTRIBUTION 4.0 INTERNATIONAL LICENSE.  
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



*Les Comptes Rendus. Biologies* sont membres du  
Centre Mersenne pour l'édition scientifique ouverte  
[www.centre-mersenne.org](http://www.centre-mersenne.org)  
e-ISSN : 1768-3238



---

Pasteur, a visionary / *Pasteur, un visionnaire*

# The Pasteurian contribution to the history of vaccines

## *La contribution Pasteurienne à l'histoire des vaccins*

Maxime Schwartz<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, F75015 Paris, France

E-mail: [maxime.schwartz@pasteur.fr](mailto:maxime.schwartz@pasteur.fr)

**Abstract.** Vaccination, the transmission of “vaccine”, a benign disease of cows, to immunize human beings against smallpox, was invented by Jenner at the end of the eighteenth century. Pasteur, convinced that the vaccine microbe was an attenuated form of the smallpox microbe, showed that, similarly, attenuated forms of other microbes immunized against animal diseases. When applying this principle to rabies, he realized that, in this case, the vaccine was in fact composed of dead microbes. One of his students immediately exploited this result to devise a vaccine against typhoid. The vaccines against diphtheria and tetanus, in 1921, opened a new route, that of immunization with molecules from the pathogenic microbes. Molecular biology then allowed the production of the immunogenic molecules by microorganisms such as yeast, or immunization by genetically modified viruses or messenger RNA inducing our own cells to produce these molecules.

**Résumé.** La vaccination, transmission de la vaccine, maladie bénigne des vaches, pour immuniser les humains contre la variole, a été inventée par Jenner à la fin du XVIII<sup>e</sup> siècle. Pasteur, convaincu que le microbe de la vaccine est une forme atténuée de celui de la variole, montre que des formes atténuées d'autres microbes immunisent des animaux contre des maladies. Lors de l'application à la rage, il comprend que la préparation vaccinale qu'il utilise dans ce cas est en fait constituée de microbes tués. Conclusion aussitôt exploitée par l'un de ses élèves dans la conception d'un vaccin contre la typhoïde. Les vaccins contre la diphtérie et le tétanos, en 1921, ouvrent une troisième voie, celle de l'immunisation par des molécules provenant des microbes pathogènes. La biologie moléculaire va permettre la production de ces molécules immunogènes par des micro-organismes tels que des levures, ou bien l'immunisation par des virus génétiquement modifiés ou par de l'ARN messenger, conduisant nos propres cellules à produire ces molécules.

**Keywords.** Vaccines, Pasteur, Rabies, Typhoid, Diphtheria, Tuberculosis, Messenger RNA.

**Mots-clés.** Vaccins, Pasteur, Rage, Typhoïde, Diphtérie, Tuberculose, ARN messenger.

*Published online: 13 September 2022, Issue date: 10 November 2022*

**La version française de l'article est disponible à la suite de la version anglaise**

Since the emergence of the COVID-19 pandemic at the end of 2019, the subject of vaccines has been on everyone's lips. Therefore, it is perhaps worth taking

a look at the history of what is one of the most effective weapons that man has found to fight infectious diseases. In this year when we are celebrating the

bicentenary of Pasteur's birth, it is an opportunity to recall the major role that he and his students or successors at the Pasteur Institute played in this history.

### 1. Variolisation and vaccination (1796)

The notion of vaccination originated from an observation dating back to Antiquity, namely that people hit by certain epidemic diseases once are generally not hit a second time.

At least since the 16th century, and perhaps since the 11th century, the Chinese took advantage of this observation to protect children against smallpox, an extremely common epidemic disease, which caused pustules on the skin and claimed a very large number of victims. They practiced variolisation, which consisted of taking material from the pustules of patients with a mild form of the disease and inoculating healthy children with it in various ways. The children then usually contracted a mild form of smallpox, but were protected in later epidemics.

The practice was introduced in Europe, and particularly in England, in the early 18th century by Lady Mary Montagu, wife of the English Ambassador to Constantinople. Although effective, the practice was nonetheless very dangerous, causing death at a frequency estimated between 0.5% and 2%.

It was then, at the end of the 18th century, that an English country doctor, Edward Jenner, made a considerable improvement to variolisation. He had noticed that a benign cow disease, vaccinia, resembled smallpox, resulting in pustules on the udder. Cowgirls that contracted this benign disease, with the appearance of a few pustules on their arms, were protected during smallpox epidemics. He then had the idea of transmitting vaccinia from an infected cowgirl to a child and later inoculating the child with smallpox. The child did not contract the disease. The name vaccination was then given to this operation, which was improved over the years, in particular by taking the vaccine pulp directly from the cow. Its generalization, thanks to an international campaign led by WHO was to lead to the worldwide eradication of this disease in 1980 [1].

### 2. Pasteur's first vaccines: chicken cholera (1879) and anthrax (1881)

Jenner's discovery was based on the existence of a benign disease in animals that was close to a very

dangerous human disease. This was an exceptional situation. Moreover, Jenner was not aware that infectious agents caused smallpox and vaccinia. This was not the case for Pasteur, a century later.

Pasteur assumed that microbes caused both diseases and that vaccinia could represent an attenuated form of smallpox. He then wondered whether attenuated forms of other microbes could also protect against the diseases they caused.

In 1879–1880, he obtained, partly by chance, a first success in the case of chicken cholera, a frequent disease in poultry farms [2]. He showed that by letting age cultures of the bacteria responsible for this disease, now called *Pasteurella multocida*, the bacteria lost their virulence and were attenuated. And when he injected these attenuated bacteria into chickens, they were then protected against the virulent bacteria.

He then attacked the anthrax of sheep and cattle. A disease that was devastating livestock farms in France and other European countries. He had already taken an interest in this disease because, following the work of the Frenchman Casimir Davaine and the German Robert Koch, he had confirmed that it was caused by a particular bacterium, *Bacillus anthracis* [3]. This was the first demonstration that a contagious disease was caused by a microbe. In the case of anthrax, Pasteur showed that, as was the case with chicken cholera, it was possible to obtain an attenuated variety of the responsible bacterium and that the inoculation of this bacterium protected against the virulent bacterium. Following a request from a skeptical veterinarian, he gave a demonstration in a farm of Seine et Marne, in Pouilly-le-Fort in June 1881 [4]. Fifty sheep were put at his disposal. Twenty-five of them were inoculated with the attenuated bacterium and then, a few weeks later, the virulent bacterium was inoculated into the fifty sheep. Only those that had been previously inoculated with the attenuated bacteria survived. This experience convinced a large part of the French population of the validity of his theories on vaccination.

There remained to convert the rest of the world. He was given the opportunity to do so at the International Congress of Medicine in London, in August 1881. During this congress he declared [5]: "I have given to the expression of vaccination an extension that science, I hope, will consecrate as a tribute to the

merits and immense services rendered by one of the greatest men of England, your Jenner.”

Pasteur had thus shown that it was possible to vaccinate against a disease by using the microbe responsible for it, provided that it was possible to attenuate it, make it lose its virulence. It was a method to obtain vaccines. So it is sometimes said that if Jenner invented vaccination, Pasteur invented vaccines.

When Pasteur vaccinated at Pouilly-le-Fort, he had no idea of the mechanism whereby the bacteria were attenuated. It was not until a century later that the attenuation of this bacterium was found to result from the loss of one of two plasmids responsible for its virulence [6]. It should be noted in passing that Pasteur was very lucky because this loss of plasmids is quite chancy and the bacteria used in Pouilly-le-Fort could either have lost neither of their two plasmids, in which case the 25 vaccinated sheep would have died very quickly, or they could have lost both plasmids and, being too attenuated, they would not have immunized and the 25 supposedly vaccinated sheep would have died like the others after being injected with virulent bacteria! Nowadays, in order to vaccinate livestock in case of an epidemic, a strain that has lost one of the plasmids is available and it is no longer necessary to proceed to the attenuation of the virulent strain each time [7].

### 3. Rabies (1885)

Although the success of the anthrax vaccine had a considerable impact, many people, especially physicians, continued to question Pasteur's theories. To convince them, a disease-affecting human beings had to be tackled. Pasteur chose rabies, which mainly affected dogs and wolves but could also affect humans bitten by rabid animals. Even if it was not very frequent in France, this disease spread terror. As Émile Duclaux [8], a disciple of Pasteur, recalls, “Rabies weighs on the imagination. It evokes visions of legends, of furious patients, inspiring terror in all those around them, tied up and screaming, or suffocating between two mattresses.” For Pasteur, defeating this disease was the assurance of convincing even the doctors of the validity of his theory.

In the search for a vaccine against rabies, Pasteur encountered enormous difficulties due, as we now know, to the fact that the “microbe” of rabies was not a bacterium, like the microbes of chicken cholera or

anthrax, but a virus. He could not see it under the optical microscope nor cultivate it, as he had done with the bacteria of chicken cholera and anthrax.

However, Pasteur managed to “cultivate” the virus by transmitting it from animal to animal. To do this, he took advantage of the observation made in 1879 by the physician Paul-Henri Duboué that the virus was located in the nervous system, in the brain and spinal cord. He also took advantage of the observation, made by the veterinarian Pierre Victor Galtier, that rabies could be transmitted to rabbits, an animal that was much less dangerous to handle than dogs. He maintained his virus by inoculating samples of the spinal cord of a rabbit that had died of rabies into the brain of a healthy rabbit. By transferring his virus from rabbit to rabbit, he obtained what he called a “fixed” virus, which gave a relatively short incubation period, always the same, of about a week. The spinal cord of these rabbits became the source of the virus. Without knowing it, Pasteur was the first virologist!

There remained to attenuate this virus. To do this, he undertook to dry the spinal cords from rabid rabbits in dry air and found that the virulence, as he had hoped, gradually diminished, and that the inoculation of the attenuated cords rendered the dogs immune to non attenuated ones (Figure 1). These tests showed that immunity was obtained after about 15 days. Since it usually takes longer than that for a man bitten by a rabid dog to contract rabies, Pasteur thought that it might be possible, by vaccinating very quickly after the bite, to establish immunity before the virus had time to spread to the brain. We all know how he was led, on July 6, 1885, to vaccinate a human being for the first time, the little 9-year-old Alsatian Joseph Meister, who had been seriously bitten by a rabid dog [9]. To do this, as had been the case for dogs, he used a somewhat unexpected method, similar to mithridatization, an ancient procedure aimed at making people resistant to a poison by having them absorb increasing doses of it. He first inoculated spinal cord that had dried out for 14 days, thus totally devoid of virulence, and then spinal cord that had dried for shorter and shorter periods of time, to end up with a totally virulent one. Joseph Meister did not get rabies, nor did the 350 or so people who were bitten and treated in Pasteur's laboratory during the following 8 months. In view of this spectacular result, the Academy of Sciences launched an interna-



**Figure 1.** Pasteur in his laboratory at the École Normale Supérieure, by Albert Edelfelt. It shows Pasteur holding a flask in which the spinal cord of a rabbit that died of rabies is suspended.

tional subscription that allowed the construction of the Pasteur Institute.

Scientifically, the most important, but the least known, consequence of this vaccination against rabies was the following. While Pasteur initially thought that his vaccine would be made of live attenuated virus, as had been the case for chicken cholera and anthrax, he came to the conclusion that what he had thought of as an attenuation of the virus during the drying of the spinal cord, was in fact a destruction of the virus. And he concluded that it was not live attenuated virus that induced immunity, but a “vaccinating substance” associated with the virus, probably killed virus [10]. From a theoretical point of view, this totally changed the ideas that he had of the induction of immunity. Initially, Pasteur thought that attenuated microbes depleted in the host a component essential for the development of microbes of the same species and thus of the virulent form. Such

an interpretation could no longer hold if immunization was obtained with killed microbes. On a practical level, this opened the way, next to live attenuated vaccines, to vaccines consisting of killed microbes.

At the same time, the Americans Daniel Salmon and Theobald Smith demonstrated that immunity against *Salmonella* could be induced in animals with killed bacteria [11].<sup>1</sup>

The first example of a vaccine based on a killed microbe, and widely distributed, was that against typhoid.

#### 4. Typhoid (1888–1914) (22)

At the end of the 19th century, typhoid fever, caused by an enterobacterium called *Salmonella typhi*, was a widespread and often fatal disease. The contamination most often results from ingestion of water or food contaminated by the stools of sick people. This disease killed two of Pasteur’s daughters, and almost killed his son during the 1870 war.

One of Pasteur’s collaborators, André Chantemesse, became interested in typhoid as soon as he joined Pasteur’s laboratory and immediately began to work on a vaccine. In view of Pasteur’s conclusions in the case of the rabies vaccine, and probably those of Salmon and Smith on another *Salmonella*, he decided to try and immunize animals by using heat killed microbes. In this, his student Fernand Widal assisted him. It was a success, materialized by two articles published in 1888 and 1892 [12, 13].

After this pioneering work, further research was carried out in England and Germany to improve the vaccine [14–16]. Researchers in these two countries conducted the first human trials in 1896–1897. The successes obtained, particularly by the British, led the French to consider vaccinating the troops, where it was known that the disease tended to occur during conflicts. Another major actor intervened at this

<sup>1</sup>Today, the rabies vaccine, administered to people bitten by a rabid or presumed rabid animal, is made of virus grown in cultured cells, purified and then inactivated by a chemical agent. Although there have been no cases of human rabies in France since 1924, about 150 countries are still severely affected. It is estimated that about 50,000 people die each year worldwide from this disease. However, according to the WHO, several hundred thousand people could be saved each year thanks to the vaccine.

point, the physician of the Army Health Service, Hyacinthe Vincent. Vincent, a professor at the Val-de-Grâce, was quick to understand the benefits that vaccination against this disease would have for the army. Having experimented on guinea pigs, and then on himself and his students, he convinced the military authorities to implement this vaccination in the army.

At the beginning of 1914, a senator, Léon Labbé, introduced a bill to make the anti-typhoid vaccination compulsory in the whole French army. The law was passed on March 28. The production of the vaccine and its distribution were entrusted to the Val-de-Grâce for the Army and to the Pasteur Institute for the Navy.

The following August, war was declared. From the beginning of the conflict, typhoid raged. The soldiers affected were permanently put out of action and the mortality rate was twelve percent. Faced with this epidemic, which was bound to grow, it was urgent to apply the Labbé law. Vaccination was systematically carried out from October onwards on young recruits.

It soon became clear that vaccination against *Salmonella typhi* alone was not sufficient to protect against typhoid. Indeed, *Salmonella paratyphi* A and B, which are very close to this bacterium, cause a disease almost identical to real typhoid. These bacteria, although closely related, are sufficiently different that immunization against one does not protect against the others. Vaccination against these two paratyphoids was therefore combined with vaccination against typhoid itself. This was the T.A.B. vaccine administered to the armies starting in 1916. Later on, the anti-diphtheria and anti-tetanus valences were added to this vaccine, which thus became the famous TABDT vaccine that all those who have done military service remember because of its rather unpleasant side effects!

The systematic vaccination campaign was a magnificent success. The results were spectacular: while the number of sick people in the armies was about 9000 cases per month at the end of 1914, it was only 130 in 1917. It has been estimated that vaccination protected about one million soldiers from the disease during the war and prevented 150,000 deaths [17].<sup>2</sup>

<sup>2</sup>Today, because of the level of hygiene in our country, typhoid vaccination is no longer necessary. However, it is still

## 5. Diphtheria and tetanus: serotherapy (1894) and vaccines (1923)

In Pasteur's time, diphtheria was a major cause of death among children. In France, tens of thousands of children died in horrible suffering, suffocating from the false membranes that formed in their throats. In 1888–1889, the Pasteurians Émile Roux and Alexandre Yersin showed that the bacterium responsible secreted a toxin responsible for all the symptoms of the disease [18]. Two years later, a Danish physician, Knud Faber, found that the same was true for the bacterium responsible for tetanus, a terrible disease that can result from deep and dirty wounds [19]. In the same year, 1890, Emil Behring and Shibasaburo Kitasato, in Robert Koch's laboratory in Berlin, made a major discovery. Injecting guinea pigs with diphtheria or tetanus toxin partially inactivated with iodine compounds (iodoform, iodine trichloride) protected them against the disease resulting from an injection of the corresponding bacillus. Moreover, the blood of these immunized animals contains an anti-poison, an antitoxin [20]. This consisted, as will be known later, of antibodies.

The Behring group in Germany and the Roux group in France then undertook clinical trials to see if injecting serum from immunized animals, in this case horses, could save children with diphtheria. In 1894, both groups achieved the same result: the survival rate of children treated with what was called "serotherapy" was 75%, whereas it was only 40% for untreated children [21]. Improvements in treatment later increased the survival rate after serotherapy to 90%. As for anti-tetanus serotherapy, still used today in case of deep wounds, it allowed, thanks to the serum prepared by the Pasteur Institute, to save millions of lives on the battlefields of the First World War. Let us add that serotherapy has recently undergone a remarkable revival, through the development of monoclonal antibodies.

But why not inject the partially inactivated toxin directly into children, in order to immunize them preventively, as was done with guinea pigs?

recommended for people traveling to countries where the risk of contamination remains. The current vaccine, made up of molecules from the bacillus, is much more purified and no longer has the very unpleasant side effects of the 1914 vaccine.

The reason was that the toxin could not be inactivated sufficiently to make it risk-free without losing its ability to immunize.

The Pasteurian Gaston Ramon solved this problem in the 1920s. He found that treating the toxin with formalin inactivated it completely without causing it to lose its ability to induce immunity [22]. This inactivated toxin was to become the basic component of the diphtheria vaccine, which is still in use today, and thanks to which diphtheria has disappeared from industrialized countries. The history of tetanus vaccination was similar to that of diphtheria vaccination. Thanks to this vaccine, tetanus cases became exceptional in our countries. Similar work to that of Ramon was carried out simultaneously by the British immunologists Alexander Glenny and Barbara Hopkins [23].

The diphtheria and tetanus vaccines were the first vaccines made up neither of live attenuated microbes nor of killed microbes, but of molecules derived from pathogenic microorganisms, the attenuated toxins.

It is worth noting that Ramon did not only invent vaccines against diphtheria and tetanus. He also discovered the role of adjuvants, those compounds that greatly increase the effectiveness of vaccination [24]. The adjuvants he used were substances that were “irritating” to the tissues. These included: agar-agar, tapioca, corn oil, egg lecithin and saponin. However, soon after, in 1926, British and German researchers obtained superior results with aluminum hydroxide, which has been widely used since then.

We cannot leave this mention of historical vaccines without mentioning the one against tuberculosis.

## 6. Tuberculosis (1921)

Throughout history, and throughout the world, this disease has been one of the great scourges of humanity. In France, at the beginning of the 20th century, it was known as “the great killer”, causing the death of about 150,000 people each year. The bacterium responsible was identified in 1882 by Robert Koch [25]. Hence the name “Koch’s bacillus”, which is still often used along with its scientific name, *Mycobacterium tuberculosis*.

The great Pasteurian discovery in this field was that of a vaccine against this disease, made in part at the Pasteur Institute in Lille and in part at the Pasteur Institute in Paris. It was the work of a physician,

Albert Calmette, one of Pasteur’s lieutenants, and a veterinarian, Camille Guérin, recruited by Calmette at the Pasteur Institute in Lille in 1897.

In 1900, they began looking for an attenuated variety of the bovine tuberculosis bacillus that also affected humans. They cultivated this bacillus on potato slices impregnated with beef bile and glycerine (the beef bile being there to prevent the aggregation of bacteria). Every three weeks, a small amount of the bacteria that have multiplied are transplanted onto a new potato slice. After 231 successive transplants and 13 years of efforts, Calmette and Guérin obtained in 1921 a bacterial culture that no longer caused tuberculosis but induced protective immunity in newborns against this disease [26]. This was to be BCG, which was for a long time the most widely used vaccine in the world.

Thanks to BCG, but also to the use of antibiotics and improved hygiene conditions, tuberculosis has become rare in developed countries (about 5000 cases per year and a few hundred deaths in France, compared with 150,000 deaths at the beginning of the 20th century). However, it continues to kill about 1.5 million people each year in developing countries.

## 7. Vaccines and molecular biology (1980–2020)

At this stage, vaccines can be divided into three broad categories: based on live attenuated microbes, killed microbes or molecules from microbes, which can be called “subunit” or “molecular” vaccines (Table 1). The latter are the Holy Grail for the vaccine industry because they are much better defined than the others and less susceptible to side effects. For these subunit vaccines, it has sometimes been possible to chemically synthesize an analogue of the molecule from the microbe, which ensures even greater purity.

Finally, we shall look at the role played in recent years by molecular biology in the development of new vaccines, including those against COVID-19.

The first successful use of molecular biology (genetic engineering) in the design of a vaccine for human use was in the preparation of the vaccine against hepatitis B. This disease was a worldwide problem. At the end of the 1980s it was estimated that about 2 billion people were infected with this virus, 350 million of them suffering from chronic hepatitis and 600,000 dying each year from it. In addition, chronic infection

**Table 1.** Examples of the three types of vaccines

Living attenuated	Killed	Moleculars (sub-unit)
Smallpox	Pertussis (whole-cell)	Diphtheria
Poliomyelitis (oral)	Poliomyelitis (injected)	Tetanus
Tuberculosis (BCG)	Influenza	<i>Haemophilus influenzae</i> b
Measles	Rabies	Pneumococcus
Mumps	Hepatitis A	Meningococcus
Rubella	Japanese encephalitis	Typhoid Vi
Yellow fever		Pertussis (acellular)
Chickenpox		

can result in primary liver cancer. All conventional approaches to finding a vaccine proved impractical because of the impossibility to grow the virus *in vitro*.

In the mid-1980s, Pierre Tiollais' group at the Pasteur Institute embarked on a highly innovative approach at the time. In collaboration with the group of Francis Galibert, a pharmacist and molecular biologist then at the Saint-Louis Hospital, they were the first to clone and sequence the genome of this virus. The gene coding for the virus envelope protein was then introduced into animal cells which began to continuously secrete empty virus particles. These formed the basis of a vaccine that was put on the market in 1989 [27, 28]. A similar approach was pursued shortly thereafter in the United States, with the animal cells being replaced by yeast. The latter, which was easier to obtain and less expensive, eventually replaced the French vaccine. The COVID vaccines released this year by Novavax and Sanofi Pasteur fall into this same category of genetically engineered viral proteins.

A modern variant in the search for live vaccines is the use of recombinant microorganisms. In this case, genes from a pathogenic microorganism are introduced into the genetic makeup of a non-pathogenic microorganism. Such a recombinant microorganism is likely to induce immunity against the pathogenic microorganism in question. Thus, a veterinary rabies vaccine was constructed in the late 1980s by introducing a rabies virus envelope gene into vaccinia virus [29]. This vaccine, incorporated in baits distributed in forests and fields, contributed to the disappearance from our country of rabies, which was prevalent until a few years before in foxes and other wild animals. The use of a recombinant microorgan-

ism has also been tried, albeit without success, by the Pasteur Institute, in the search for a vaccine against COVID-19. In this case the gene for the virus spike protein (S gene) was introduced into the attenuated measles virus that had long been used on a large scale as a vaccine against this disease. A similar approach was used successfully in AstraZeneca and Janssen vaccines. In these cases, the coronavirus S gene was introduced into an adenovirus, which unlike the previous vaccines (rabies and measles) is a simple vector unable to replicate.

Finally, let us come to the messenger RNA vaccines. Messenger RNA was discovered at the Pasteur Institute in 1961. Its existence was postulated when François Jacob and Jacques Monod presented the famous operon model for the regulation of gene expression in bacteria [30]. It was identified in the following months, independently by François Jacob and François Gros, who were then spending a few months in American laboratories [31, 32]. At that time, no one had the idea of using this messenger RNA as a vaccine, for several reasons. One was the extreme instability of this molecule. The other was that no one was looking for new forms of vaccines, as the existing ones were quite satisfactory.

It was only in the 1990s, following the development of molecular biology and the emergence of new diseases such as AIDS, that the idea of using DNA and then messenger RNA as a vaccine began to emerge. The objective in both cases was to make the cells of the vaccinated person produce the vaccine protein themselves. The success with DNA has been disappointing so far. With messenger RNA, on the other hand, success has been achieved in controlling the COVID-19 pandemic [33]. This required, on the one



hand, finding methods to stabilize the RNA, making it resistant to ribonucleases and immune reactions and, on the other hand, inserting this RNA into lipid microparticles allowing their penetration into cells.

## 8. Conclusion

In this history of the discovery of vaccines, the question of their mechanism of action has been left aside. This is the domain of immunology, a discipline born precisely from the work on vaccines, but which is no longer limited to the study of protection against infectious agents, and touches on many other fields

### *Version française*

Depuis l'émergence, fin 2019, de la pandémie de COVID-19, le sujet des vaccins est sur toutes les lèvres. Aussi n'est-il peut-être pas inutile de faire un retour sur l'histoire de ce qui est l'une des plus efficaces des armes que l'homme ait trouvées pour lutter contre les maladies infectieuses. En cette année où l'on célèbre le bicentenaire de la naissance de Pasteur, c'est l'occasion de rappeler le rôle majeur que lui-même et ses élèves ou successeurs, à l'Institut Pasteur, ont joué dans cette histoire.

### 1. Variolisation et vaccination (1796)

La notion de vaccination tire son origine d'une observation datant de l'Antiquité, à savoir que les personnes frappées une première fois par certaines maladies épidémiques ne le sont généralement pas une seconde fois.

Au moins depuis le XVI<sup>e</sup> siècle et peut-être depuis le XI<sup>e</sup>, les chinois tirèrent parti de cette observation pour protéger les enfants contre la variole, une maladie épidémique, extrêmement fréquente, se traduisant notamment par la présence de pustules sur la peau, et qui faisait un très grand nombre de victimes. Ils pratiquèrent la *variolisation*, qui consistait à prélever du matériel présent dans les pustules de malades atteints d'une forme peu grave de la maladie, et à l'inoculer de diverses manières à des enfants en bonne santé. Les enfants contractaient alors généralement une forme bénigne de variole, mais étaient protégés lors d'épidémies ultérieures.

such as autoimmune diseases, transplant rejection, allergies or cancer.

This article has highlighted the importance of Pasteur's contribution both to the discovery of the vaccine concept and to the development of some of them. By removing the specter of infectious diseases as deadly as smallpox, tuberculosis, diphtheria or poliomyelitis, particularly in developed countries, vaccines have represented a major factor in the increase of life expectancy in the human species.

### Conflicts of interest

The author has no conflict of interest to declare.

Cette pratique fut introduite en Europe, et notamment en Angleterre, au début du XVIII<sup>e</sup> siècle par lady Mary Montagu, épouse de l'ambassadeur d'Angleterre à Constantinople. Pour être efficace, cette pratique n'en était pas moins fort dangereuse et l'on a estimé de 0,5% à 2% la fréquence des décès dus à la variolisation.

C'est alors, à la fin du XVIII<sup>e</sup> siècle, qu'un médecin de campagne anglais, Edward Jenner, apporta une amélioration considérable à la variolisation. Il avait constaté qu'une maladie bénigne des vaches, la *vaccine*, ressemblait à la variole, se traduisant notamment par l'apparition de pustules sur leur pis. Or les vachères qui contractaient cette maladie bénigne avec apparition de quelques pustules sur leurs bras étaient protégées lors d'épidémies de variole. Il eut alors l'idée de transmettre la vaccine d'une vachère à un enfant et d'inoculer ensuite à celui-ci la variole. Il ne contracta pas la maladie. Le nom de *vaccination* fut alors donné à cette opération, dont le perfectionnement, notamment par prélèvement de la pulpe vaccinale directement chez la vache, et sa généralisation grâce à une campagne internationale menée par l'OMS devait permettre l'éradication mondiale de cette maladie en 1980 [1].

### 2. Les premiers vaccins de Pasteur : choléra des poules (1879) et charbon (1881)

La découverte de Jenner était fondée sur l'existence, chez l'animal, d'une maladie bénigne proche d'une

maladie humaine fort dangereuse. C'était là une situation exceptionnelle. Par ailleurs, Jenner n'avait pas conscience que variole et vaccine étaient dues à des agents infectieux. Ce qui ne sera pas le cas pour Pasteur, un siècle plus tard.

Celui-ci, en effet, présume que ces deux maladies sont dues à des microbes et suppose que celui de la vaccine pourrait représenter une forme atténuée de celui de la variole. Il se demande alors si des formes atténuées d'autres microbes pourraient également protéger contre les maladies qu'ils provoquent.

En 1879–1880, il obtient, en partie grâce au hasard, un premier succès dans le cas du choléra des poules, une maladie fréquente dans les basses-cours [2]. Il montre qu'en laissant vieillir des cultures de la bactérie responsable de cette maladie, aujourd'hui appelée *Pasteurella multocida*, cette bactérie perd sa virulence, elle est atténuée. Et lorsqu'il injecte ces bactéries atténuées à des poules, celles-ci sont ensuite protégées contre la bactérie virulente.

Il s'attaque ensuite au charbon des ovins et des bovins. Une maladie qui dévastait les élevages, en France comme dans d'autres pays d'Europe. Il s'y était déjà intéressé car, suite aux travaux du Français Casimir Davaine puis de l'Allemand Robert Koch, il avait confirmé qu'elle était due à une bactérie particulière *Bacillus anthracis* [3]. C'était la première démonstration qu'une maladie contagieuse était due à un microbe. Dans le cas du charbon, Pasteur montre que, comme c'était le cas avec le choléra des poules, on peut obtenir une variété atténuée de la bactérie responsable et que l'inoculation de celle-ci protège contre la bactérie virulente. Suite à une demande de vétérinaires sceptiques, il en fait une démonstration à grand spectacle dans une ferme de Seine-et-Marne, à Pouilly-le-Fort en juin 1881 [4]. Cinquante moutons sont mis à sa disposition. À vingt-cinq d'entre eux il fait inoculer la bactérie atténuée puis, quelques semaines plus tard, la bactérie virulente est inoculée aux cinquante moutons. Seuls survivent ceux qui avaient été précédemment inoculés avec la bactérie atténuée. Cette expérience convainc une grande partie de la population française de la validité de ses théories sur la vaccination.

Reste à convertir le reste du monde. L'opportunité lui en est donnée au Congrès international de médecine de Londres, en août 1881. Au cours de ce congrès il déclare [5] : « J'ai donné à l'expression de vaccination une extension que la science, je l'es-

père, consacrera comme un hommage aux mérites et immenses services rendus par l'un des plus grands hommes de l'Angleterre, votre Jenner. »

Pasteur avait donc montré que l'on pouvait vacciner contre une maladie en faisant appel au microbe responsable de celle-ci, à condition de pouvoir l'atténuer, lui faire perdre sa virulence. C'était une méthode pour obtenir des vaccins. Aussi dit-on parfois que, si Jenner a inventé la vaccination, Pasteur a inventé les vaccins.

Lorsque Pasteur procède à la vaccination de Pouilly-le-Fort, il n'a aucune idée du mécanisme intervenant dans l'atténuation de la bactérie. Ce n'est qu'un siècle plus tard que l'on découvrira que l'atténuation de cette bactérie résulte de la perte de l'un des deux plasmides qui lui confèrent la virulence [6]. Notons au passage que Pasteur a eu beaucoup de chance car cette perte de plasmides est assez aléatoire et les bactéries utilisées à Pouilly-le-Fort auraient pu, soit ne perdre aucun de ses deux plasmides, auquel cas les 25 moutons vaccinés seraient morts très rapidement, soit elles auraient pu perdre les deux plasmides et, trop atténuées, elles n'auraient pas immunisé et les 25 moutons prétendument vaccinés seraient morts comme les autres après l'injection des bactéries virulentes! De nos jours, pour vacciner le bétail en cas d'épidémie on dispose d'une souche qui a perdu l'un des plasmides, donc atténuée, et il n'est donc plus besoin de procéder à chaque fois à l'atténuation de la souche virulente [7].

### 3. La rage (1885)

Même si le succès du vaccin contre le charbon eut un impact considérable, beaucoup continuaient à mettre en doute les théories de Pasteur, particulièrement les médecins. Pour les convaincre, il fallait s'attaquer à une maladie affectant l'homme. Pasteur choisit la rage, qui affectait principalement les chiens et les loups mais qui était susceptible d'affecter les êtres humains mordus par des animaux enragés. Même si elle n'était pas très fréquente en France, cette maladie semait la terreur. Comme le rappelle Émile Duclaux [8], disciple de Pasteur « La rage pèse sur les imaginations. Elle évoque des visions de légende, de malades furieux, inspirant la terreur à tout leur entourage, attachés et hurlants, ou bien asphyxiés entre deux matelas. » Pour Pasteur, vaincre cette maladie, c'était l'assurance de

convaincre même les médecins de la validité de sa théorie.

Dans la recherche d'un vaccin contre la rage, Pasteur rencontre d'énormes difficultés dues, nous le savons maintenant, à ce que le « microbe » de la rage n'est pas une bactérie, comme les microbes du choléra des poules ou celui du charbon, mais un virus. Il ne pouvait donc le voir au microscope optique ni le cultiver, comme il l'avait fait avec les bactéries du choléra des poules et du charbon.

Pasteur parvient pourtant, en quelque sorte, à « cultiver » le virus en le transmettant d'animal en animal. Pour ce faire, il tire parti de l'observation, faite en 1879 par le médecin Paul-Henri Duboué, que le virus se localise dans le système nerveux, dans le cerveau et la moelle épinière. Il met en outre à profit l'observation, faite par le vétérinaire Pierre Victor Galtier, que la rage peut être transmise au lapin, animal beaucoup moins dangereux à manipuler que le chien. Il maintient donc son virus en inoculant de la moelle épinière de lapin venant de mourir de la rage dans le cerveau d'un lapin en bonne santé. En transférant ainsi son virus de lapin à lapin il obtient ce qu'il appellera un virus « fixe » qui donne une durée d'incubation relativement courte et toujours la même, d'environ une semaine. La moelle épinière de ces lapins enrégés devient donc, pour lui, la source de virus. Sans le savoir, Pasteur fut ainsi le premier virologue!

Reste à atténuer ce virus. Pour ce faire, il entreprend de faire sécher ces moelles épinières dans un air sec et constate que la virulence, comme il l'espérait, diminue progressivement, et que l'inoculation des moelles atténuées immunise les chiens contre les moelles virulentes (Figure 1). Ces essais lui montrent que l'immunité est obtenue après une quinzaine de jours. Or il faut généralement plus de temps que cela pour qu'un homme mordu par un chien enrégé ne contracte la rage. Pasteur se dit donc qu'il pourrait être possible, en vaccinant très rapidement après la morsure, d'établir une immunité avant que le virus ne se propage jusqu'au cerveau. On sait comment il est conduit le 6 juillet 1885, à faire vacciner un être humain pour la première fois, le petit Alsacien Joseph Meister, âgé de 9 ans, gravement mordu par un chien enrégé [9]. Pour ce faire, comme cela avait été le cas pour les chiens il fait appel à une méthode quelque peu inattendue, s'apparentant à la mithridatisation, cette ancienne procédure visant à rendre



**FIGURE 1.** Pasteur dans son laboratoire à l'École Normale supérieure, par Albert Edelfelt. On y voit Pasteur tenir un flacon dans lequel est suspendue la moelle épinière d'un lapin mort de la rage.

résistant à un poison en faisant absorber des doses croissantes de celui-ci. Il fait en effet inoculer d'abord des suspensions de moelles ayant desséché pendant 14 jours, donc totalement dépourvues de virulence, puis des moelles séchées pendant des durées de plus en plus courtes, pour finir avec une moelle totalement virulente. Joseph Meister n'aura pas la rage, non plus que les quelques 350 personnes mordues traitées dans le laboratoire de Pasteur durant les 8 mois qui suivront. Au vu de ce résultat spectaculaire, l'Académie des sciences lance une souscription internationale qui va permettre l'édification de l'Institut Pasteur.

Scientifiquement, la conséquence la plus importante, mais la plus méconnue, de cette vaccination contre la rage fut la suivante. Alors qu'initialement Pasteur pensait que son vaccin serait constitué de virus vivant atténué, comme cela avait été le cas pour le choléra des poules et le charbon, il parvint

à la conclusion que ce qu'il avait considéré comme une atténuation du virus lors de la dessiccation de la moelle était en fait une destruction du virus. Et il conclut que ce n'était pas du virus vivant atténué qui induisait l'immunité, mais une « substance vaccinale » associée au virus, sans doute du virus tué [10]. Sur le plan théorique cela modifiait totalement les idées que l'on pouvait se faire de l'induction de l'immunité. Initialement, Pasteur pensait que les microbes atténués épuisaient dans l'organisme un composant essentiel au développement des microbes de la même espèce et donc de la forme virulente. Une telle interprétation ne pouvait plus tenir si l'immunisation était obtenue avec des microbes tués. Sur un plan pratique, cela ouvrait la voie, à côté des vaccins vivants atténués, à des vaccins consistant en des microbes tués.

Notons qu'au même moment, les Américains Daniel Salmon et Theobald Smith démontraient que l'on pouvait induire chez l'animal une immunité contre une salmonelle avec des bactéries tuées [11].<sup>1</sup>

Un premier exemple de vaccin à base de microbe tué, et largement diffusé, fut celui contre la typhoïde.

#### 4. La typhoïde (1888–1914) (22)

A la fin du XIXe siècle, la typhoïde, due à une entérobactérie appelée *Salmonella typhi*, est une maladie très répandue et souvent mortelle. La contamination se fait le plus souvent par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés par des selles de malades. Cette maladie avait emporté deux des filles de Pasteur, et avait failli emporter son fils pendant la guerre de 1870.

Un collaborateur de Pasteur, André Chantemesse, s'intéresse à la typhoïde dès son entrée dans le laboratoire de Pasteur et s'engage aussitôt dans la recherche d'un vaccin. Au vu des conclusions de Pasteur dans le cas du vaccin contre la rage, et sans doute

de ceux de Salmon et Smith sur une autre salmonelle, il décide de tenter d'immuniser des animaux en faisant appel à des microbes tués par la chaleur. En cela, il est secondé par son élève Fernand Widal. C'est un succès, matérialisé par deux articles publiés en 1888 et 1892 [12, 13].

Après ces travaux de pionniers, des recherches complémentaires sont effectuées, en Angleterre et en Allemagne, visant à améliorer le vaccin [14–16]. Les chercheurs de ces deux pays effectuent les premiers essais sur l'homme en 1896–1897. Les succès obtenus, notamment par les Britanniques, conduisent les Français à envisager la vaccination des troupes, chez lesquelles on sait que la maladie a tendance à sévir en cas de conflit. Ici s'introduit un autre acteur majeur, le médecin du Service de santé des armées Hyacinthe Vincent. Celui-ci, professeur au Val-de-Grâce, comprend très vite l'intérêt qu'aurait pour l'armée la vaccination contre cette maladie. Ayant expérimenté sur des cobayes, puis sur lui-même et ses élèves, il convainc les autorités militaires de mettre en place cette vaccination dans l'armée.

Début 1914, un sénateur, Léon Labbé, dépose un projet de loi pour rendre obligatoire la vaccination antityphoïdique dans toute l'armée française. La loi est votée le 28 mars. La production du vaccin et sa distribution sont confiées au Val-de-Grâce pour l'Armée de terre et à l'Institut Pasteur pour la Marine.

Le mois d'août suivant, c'est la déclaration de guerre. Dès le début du conflit, la typhoïde sévit. Les soldats touchés sont mis durablement hors de combat, et la mortalité est de douze pour cent. Devant cette épidémie, qui ne peut que prendre de l'ampleur, il est urgent d'appliquer la loi Labbé. La vaccination est pratiquée systématiquement à partir d'octobre sur les jeunes recrues.

Assez rapidement, il s'avère que la vaccination contre la seule *Salmonella typhi* n'est pas suffisante pour protéger contre la typhoïde. En effet, des salmonelles très proches de cette bactérie, les *Salmonella paratyphi* A et B, causent une maladie quasiment identique à la typhoïde véritable. Or ces bactéries, bien que très proches, sont suffisamment différentes pour qu'une immunisation contre l'une ne protège pas contre les autres. La vaccination contre ces deux paratyphoïdes est donc associée à celle contre la typhoïde proprement dite. C'est le vaccin T.A.B. administré aux armées à partir de 1916. À celui-ci seront ultérieurement ajoutées les valences antidiphthérique

<sup>1</sup> Aujourd'hui, le vaccin contre la rage, administré à des personnes mordues par un animal enragé ou présumé tel, est constitué de virus cultivé sur cellules en culture, purifié, puis inactivé par un agent chimique. Même si l'on ne compte plus de cas de rage humaine en France depuis 1924, environ 150 pays en restent durement frappés. On estime à environ 50 000 morts par an dans le monde du fait de cette maladie. Cependant, selon l'OMS, plusieurs centaines de milliers de personnes seraient sauvées chaque année grâce au vaccin.

et antitétanique, et ce sera le fameux vaccin TABDT dont tous ceux qui ont fait le service militaire se souviennent du fait de ses effets secondaires assez déplorables !

La campagne systématique de vaccination signera un bulletin de victoire. Le résultat sera spectaculaire : alors que le nombre de malades dans les armées était d'environ 9000 cas par mois à la fin de 1914, il n'était plus que de 130 en 1917. On a estimé que la vaccination a protégé environ un million de soldats de la maladie pendant la durée de la guerre et évité 150 000 décès [17].<sup>2</sup>

## 5. Diphtérie et tétanos : sérothérapie (1894) et vaccins (1923)

À l'époque de Pasteur, la diphtérie était une cause majeure de mortalité chez les enfants. En France des dizaines de milliers d'entre eux mouraient dans des souffrances horribles, suffoquant du fait des fausses membranes qui se formaient dans leur gorge. En 1888–1889, les pasteurien Émile Roux et Alexandre Yersin montrent que la bactérie responsable sécrète une toxine, responsable de tous les symptômes de la maladie [18]. Deux ans plus tard un médecin danois, Knud Faber, constate qu'il en est de même pour la bactérie responsable du tétanos, cette maladie terrible qui peut résulter de blessures profondes et souillées [19]. La même année, en 1890, Emil Behring et Shibasaburo Kitasato, dans le laboratoire de Robert Koch à Berlin, font une découverte capitale. L'injection à des cobayes de toxine diphtérique ou tétanique partiellement inactivée avec des composés iodés (iodoforme, trichlorure d'iode) les protège contre la maladie résultant d'une injection du bacille correspondant. Bien plus, le sang de ces animaux immunisés contient un antipoison, une antitoxine [20]. Il s'agissait, on le saura plus tard, d'anticorps.

Les groupes de Behring en Allemagne et de Roux en France entreprennent alors des essais cliniques visant à rechercher si l'injection de sérum d'animaux

immunisés, en l'occurrence des chevaux, pourrait sauver des enfants atteints de diphtérie. En 1894, les deux groupes parviennent au même résultat : le taux de survie des enfants traités par ce que l'on a appelé la « sérothérapie » est de 75% alors qu'il n'est que de 40% chez les enfants non traités [21]. Des améliorations apportées au traitement permettront de faire monter le taux de survie après sérothérapie à 90%. Quant à la sérothérapie antitétanique, encore utilisée de nos jours en cas de blessure profonde et souillée, elle permettra, grâce au sérum préparé par l'Institut Pasteur, de sauver des millions de vies sur les champs de bataille de la Première Guerre mondiale. Ajoutons que la sérothérapie a connu récemment un remarquable renouveau, à travers le développement des anticorps monoclonaux.

Mais pourquoi ne pas injecter directement la toxine partiellement inactivée aux enfants, de manière à les immuniser préventivement, comme on le faisait avec les cobayes ? C'est qu'on ne savait pas inactiver suffisamment la toxine, afin qu'elle soit dépourvue de risque, sans lui faire perdre sa capacité à immuniser.

Ce problème est résolu dans les années 1920 par le pasteurien Gaston Ramon. Celui-ci constate que le traitement de la toxine par du formol l'inactive totalement sans lui faire perdre sa capacité à induire l'immunité [22]. Cette toxine inactivée allait devenir le constituant de base du vaccin antidiphtérique, encore utilisé actuellement, et grâce auquel la diphtérie a disparu des pays industrialisés. La vaccination contre le tétanos connaîtra la même histoire que celle contre la diphtérie. Grâce à ce vaccin, les cas de tétanos deviendront exceptionnels dans nos pays. Un travail similaire à celui de Ramon a été réalisé simultanément par les immunologistes britanniques Alexander Glenny et Barbara Hopkins [23].

Les vaccins antidiphtérique et antitétanique ont été les premiers vaccins constitués ni de microbes vivants atténués, ni de microbes tués, mais de molécules provenant de micro-organismes pathogènes, les toxines atténuées.

Notons que Ramon n'a pas seulement inventé les vaccins contre la diphtérie et le tétanos. Il a également découvert le rôle des adjuvants, ces composés qui accroissent considérablement l'efficacité de la vaccination [24]. Les adjuvants qu'il a utilisés étaient des substances « irritantes » pour les tissus. Parmi celles-ci, figuraient : l'agar-agar, le tapioca,

<sup>2</sup>Aujourd'hui, du fait du niveau d'hygiène régnant dans notre pays, la vaccination antityphoïdique n'y est plus nécessaire. Par contre, elle reste recommandée pour les personnes se rendant dans des pays où le risque de contamination demeure. Le vaccin actuel, constitué de molécules provenant du bacille, beaucoup plus purifié, ne présente plus les effets secondaires très désagréables du vaccin de 1914.

l'huile de maïs, la lécithine d'œuf et la saponine. Cependant peu après, en 1926, des chercheurs britanniques et allemands obtiendront des résultats supérieurs avec l'hydroxyde d'aluminium, qui sera très largement utilisé depuis cette date.

On ne peut quitter cette évocation des vaccins historiques sans mentionner celui contre la tuberculose.

## 6. La tuberculose (1921)

Depuis toujours, et dans le monde entier, cette maladie a été l'un des grands fléaux de l'humanité. En France, au début du XXe siècle, elle était connue comme « la grande tueuse », causant la mort d'environ 150 000 personnes chaque année. La bactérie responsable avait été identifiée en 1882 par Robert Koch [25]. D'où le nom de « bacille de Koch », encore souvent utilisé en même temps que son nom scientifique, *Mycobacterium tuberculosis*.

La grande découverte pasteurienne dans ce domaine fut celle d'un vaccin contre cette maladie, effectuée en partie à l'Institut Pasteur de Lille et en partie à l'Institut Pasteur à Paris. Elle fut l'œuvre d'un médecin, Albert Calmette, l'un des lieutenants de Pasteur et d'un vétérinaire, Camille Guérin, recruté par Calmette à l'Institut Pasteur de Lille en 1897.

En 1900, ils entreprennent de rechercher une variété atténuée du bacille de la tuberculose bovine qui affecte également l'homme. Ils cultivent ce bacille sur des tranches de pomme de terre imprégnées de bile de bœuf et de glycérine (la bile de bœuf étant là pour empêcher l'agrégation des bactéries). Toutes les trois semaines, une petite quantité des bactéries qui se sont multipliées sont repiquées sur une nouvelle tranche de pomme de terre. Après 231 repiquages successifs et 13 années d'efforts, Calmette et Guérin obtiennent en 1921 une culture bactérienne qui ne provoque plus la tuberculose mais qui induit une immunité protectrice contre cette maladie chez le nouveau-né [26]. Ce devait être le BCG, qui sera longtemps le vaccin le plus utilisé au monde.

Grâce au BCG, mais aussi à l'usage des antibiotiques et à l'amélioration des conditions d'hygiène, la tuberculose est devenue rare dans les pays développés (environ 5000 cas par an et quelques centaines de décès en France, à comparer aux 150 000 morts du début du XXe siècle). Cependant, elle continue à tuer environ 1.5 million de personnes chaque année dans les pays en développement.

## 7. Vaccins et biologie moléculaire (1980–2020)

À ce stade on peut diviser les vaccins en trois grandes catégories : à base de microbes vivants atténués, de microbes tués ou de molécules provenant des microbes, que l'on peut qualifier de vaccins « sous-unitaires » ou « moléculaires » (Tableau 1). Ces derniers constituent le Graal pour les industries du vaccin car ils sont beaucoup mieux définis que les autres et moins susceptibles d'effets secondaires. Pour ces vaccins sous-unitaires on est parfois parvenu à synthétiser chimiquement un analogue de la molécule provenant du microbe, ce qui assure une pureté encore plus grande.

Nous allons voir, pour terminer, le rôle joué ces dernières années par la biologie moléculaire dans le développement de nouveaux vaccins, y compris ceux contre la COVID-19.

La première utilisation réussie de la biologie moléculaire (génie génétique) dans la conception d'un vaccin à usage humain a été la préparation de celui contre l'hépatite B. Cette maladie constituait un problème mondial. À la fin des années 1980 on estimait qu'environ 2 milliards de personnes étaient infectées par ce virus, 350 millions d'entre eux souffrant d'une hépatite chronique et 600 000 décédant chaque année de cette maladie. De plus une infection chronique peut résulter en un cancer primaire du foie. Toutes les approches classiques de recherche d'un vaccin se révélèrent impraticables du fait de l'impossibilité de cultiver le virus.

Au milieu des années 1980 le groupe de Pierre Tiollais, à l'Institut Pasteur, s'engagea dans une approche très novatrice à l'époque. En collaboration avec le groupe de Francis Galibert, un pharmacien et biologiste moléculaire alors à l'hôpital Saint-Louis, ils furent les premiers à cloner et séquencer le génome de ce virus. Le gène codant la protéine d'enveloppe du virus fut alors introduit dans des cellules animales qui se mirent à sécréter de manière continue des particules virales vides. Celles-ci constituèrent la base d'un vaccin mis sur le marché en 1989 [27, 28]. Une approche similaire a été poursuivie peu après aux États-Unis, les cellules animales ayant été remplacées par des levures. Celui-ci, plus facile à obtenir et moins coûteux remplaça finalement le vaccin français. Les vaccins contre la COVID mis cette année sur le marché par Novavax et Sanofi Pasteur entrent dans cette même catégorie de protéines virales produites grâce au génie génétique.

TABLEAU 1. Exemples des trois types de vaccins

Vivants atténués	Tués	Moléculaires (sous-unitaires)
Variole	Coqueluche (à germes entiers)	Diphthérie
Poliomyélite (oral)	Poliomyélite (injectable)	Tétanos
Tuberculose (BCG)	Grippe	<i>Haemophilus influenzae</i> b
Rougeole	Rage	Pneumocoque
Oreillons	Hépatite A	Méningocoque
Rubéole	Encéphalite Japonaise	Typhoïde Vi
Fièvre jaune		Coqueluche (acellulaire)
Varicelle		

Une variante moderne de la recherche de vaccins vivants consiste en l'utilisation de micro-organismes recombinants. Dans ce cas, il s'agit d'introduire dans le patrimoine génétique d'un micro-organisme non pathogène des gènes provenant d'un micro-organisme pathogène. Un tel micro-organisme recombinant est susceptible d'induire une immunité contre le micro-organisme pathogène en question. C'est ainsi qu'un vaccin vétérinaire contre la rage a été construit à la fin des années 1980 par l'introduction d'un gène de l'enveloppe du virus rabique dans le virus de la vaccine [29]. Ce vaccin, incorporé dans des appâts répartis dans les forêts et les champs, a contribué à faire disparaître de notre territoire la rage qui prévalait il y a quelques années encore chez les renards et autres animaux sauvages. C'est également l'utilisation d'un micro-organisme recombinant qui a été tentée, malheureusement sans succès, par l'Institut Pasteur, dans la recherche d'un vaccin contre la COVID-19. Dans ce cas le gène de la protéine de spicule du virus (gène S) a été introduit dans le virus atténué de la rougeole utilisé à grande échelle comme vaccin contre cette maladie. Une approche similaire a été utilisée avec succès dans les vaccins AstraZeneca et Janssen. Dans ces cas, le gène S du coronavirus a été introduit dans un adénovirus, lequel contrairement aux précédents vaccins (rage et rougeole) est un simple vecteur incapable de se répliquer.

Venons-en enfin aux vaccins à ARN messenger. Profitons-en pour rappeler que c'est à l'Institut Pasteur qu'a été découvert l'ARN messenger, en 1961. Son existence a été postulée lors de la présentation par François Jacob et Jacques Monod du fameux modèle de l'opéron, relatif à la régulation de l'expres-

sion des gènes chez les bactéries [30]. Il fut identifié dans les mois qui suivirent, indépendamment par François Jacob et François Gros, alors en séjour pour quelques mois dans des laboratoires américains [31, 32]. À l'époque, personne n'eut l'idée d'utiliser cet ARN messenger comme vaccin, pour de multiples raisons. L'une était l'extrême instabilité de cet ARN. L'autre était que personne n'était à la recherche de nouvelles formes de vaccins, celles qui existaient alors donnant toute satisfaction.

Ce n'est que dans le courant des années 1990, suite au développement de la biologie moléculaire et de l'émergence de nouvelles maladies comme le sida, qu'a commencé à se faire jour l'idée d'utiliser de l'ADN puis de l'ARN messenger comme vaccin. L'objectif, dans les deux cas était de faire en sorte que les cellules de la personne vaccinée produisent elles-mêmes la protéine vacciante. Les succès, avec l'ADN, ont été décevants jusqu'à maintenant. Avec l'ARN messenger, par contre le succès a été au rendez-vous dans le contrôle de la pandémie de COVID-19 [33]. Cela a nécessité, d'une part de trouver des méthodes permettant de stabiliser l'ARN, en le rendant résistant aux ribonucléases et aux réactions immunitaires et, d'autre part, d'insérer cet ARN dans des microparticules lipidiques permettant leur pénétration dans les cellules.

## 8. Conclusion

Dans cet historique de la découverte des vaccins, la question de leur mécanisme d'action a été laissée de côté. Celle-ci relève de l'immunologie, une discipline née précisément des travaux sur les vaccins mais qui ne se limite plus, aujourd'hui, à l'étude de

la protection contre les agents infectieux, et touche à bien d'autres domaines comme les maladies auto-immunes, le rejet des greffes, les allergies ou le cancer.

Cet article a mis en avant l'importance de la contribution pasteurienne tant à la découverte du concept de vaccin qu'à l'élaboration de certains d'entre eux. En éloignant le spectre de maladies infectieuses aussi meurtrières que la variole, la tuberculose, la diphtérie ou la poliomyélite, particulièrement dans les pays développés, les vaccins ont représenté un facteur majeur dans l'augmentation de l'espérance de vie dans l'espèce humaine.

### Conflit d'intérêt

L'auteur n'a aucun conflit d'intérêt à déclarer.

### References

- [1] H. Bazin, *L'histoire des vaccinations*, John Libbey Eurotext, Paris, 2008.
- [2] L. Pasteur, "Sur les maladies virulentes, et en particulier sur la maladie appelée vulgairement *choléra des poules*", *C. R. hebdomadaires des séances de Acad. Sci.* **90** (1880), p. 239-248.
- [3] L. Pasteur, J. Joubert, "Étude sur la maladie charbonneuse", *C. R. hebdomadaires des séances de Acad. Sci.* **84** (1877), p. 900-906.
- [4] L. Pasteur, C. Chamberland, É. Roux, "Compte rendu sommaire des expériences faites à Pouilly-Le-Fort, près de Melun, sur la vaccination charbonneuse", *C. R. hebdomadaires des séances de Acad. Sci.* **92** (1881), p. 1378-1383.
- [5] L. Pasteur, "An address on vaccination in relation to chicken cholera and splenic fever", *Br. Med. J.* **2** (1881), no. 1076, p. 283-284.
- [6] M. Mock, A. Fouet, "Anthrax", *Annu. Rev. Microbiol.* **55** (2001), p. 647-671.
- [7] M. Sterne, "Variation in *Bacillus anthracis*", *Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Ind.* **8** (1937), p. 271-349.
- [8] É. Duclaux, *Pasteur, Histoire d'un esprit*, Masson et Cie, Paris, 1896, 363 pages.
- [9] L. Pasteur, "Méthode pour prévenir la rage après morsure", *C. R. Acad. Sci.* **101** (1885), p. 765-772.
- [10] L. Pasteur, "Lettre de M. Pasteur sur la rage", *Ann. Inst. Pasteur* **1** (1887), p. 1-18.
- [11] D. E. Salmon, T. Smith, "On a new method of producing immunity from contagious diseases", *Proc. Biol. Soc. Wash.* **3** (1884-1886), p. 29-33.
- [12] A. Chantemesse, F. Widal, *De l'immunité contre le virus de la fièvre typhoïde conférée par des substances solubles*, Charaire, Sceaux, 1888.
- [13] A. Chantemesse, F. Widal, "Étude expérimentale sur l'exaltation, l'immunisation et la thérapeutique de l'infection typhique", *Ann. Inst. Pasteur* **6** (1892), p. 755-782.
- [14] A. E. Wright, M. D. Dub, "On the association of serous haemorrhages with conditions of defective blood-coagulability", *Lancet* **148** (1896), p. 807-809.
- [15] A. E. Wright, D. Semple, "Remarks on vaccination against typhoid fever", *Br. Med. J.* **1** (1897), p. 256-259.
- [16] R. Pfeiffer, W. Kolle, "Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Schutzimpfung des Menschen gegen Typhus abdominalis", *Dtsch. Med. Wschr.* **22** (1896), p. 735-737.
- [17] A. Perrot, M. Schwartz, *Le Génie de Pasteur au secours des Poilus*, Odile Jacob, Paris, 2016, 43-52 pages.
- [18] É. Roux, A. Yersin, "Contribution à l'étude de la diphtérie", *Ann. Inst. Pasteur* **2** (1888), p. 629-661.
- [19] K. Faber, "Die Pathogenie des Tetanus", *Berlin Klin. Woch.* **27** (1890), p. 717-720.
- [20] E. Behring, S. Kitasato, "Ueber das Zustandekommen der Diphterie-Immunität bei Thieren", *Dtsch. Med. Wschr.* **16** (1890), p. 1113-1114.
- [21] E. Roux, L. Martin, A. Chaillou, "Trois cent cas de diphtérie traités par le sérum antidiphtérique", *Ann. Inst. Pasteur* **8** (1894), p. 640-661.
- [22] G. Ramon, "Sur le pouvoir flocculant et sur les propriétés immunisantes d'une toxine diphtérique rendue anatoxique [anatoxine]", *C. R. Acad. Sci.* **177** (1923), p. 1338-1340.
- [23] A. T. Glenny, B. E. Hopkins, "Diphtheria toxoid as an immunizing agent", *Br. J. Exp. Pathol.* **4** (1923), p. 283-288.
- [24] G. Ramon, "Sur la toxine et sur l'anatoxine diphtériques. Pouvoir flocculant et propriétés immunisantes", *Ann. Inst. Pasteur* **38** (1924), p. 1-10.
- [25] R. Koch, "Die Ätiologie der Tuberkulose", *Berlin Klin. Woch.* **19** (1882), p. 221-230.
- [26] A. Calmette, C. Guérin, B. Weill-Hallé, "Essais de prémunition par le BCG contre l'infection tuberculeuse de l'homme et des animaux", *Bull. Acad. Méd.* **91** (1924), p. 787-796.
- [27] F. Galibert, E. Mandart, F. Fitoussi, P. Tiollais, P. Charnay, "Nucleotide sequence of the hepatitis B virus genome (subtype ayw) cloned in *Escherichia coli*", *Nature* **281** (1979), p. 646-650.
- [28] M. F. Dubois, C. Pourcel, S. Rousset, C. Chany, P. Tiollais, "Excretion of hepatitis B surface antigen particles from mouse cells transformed with cloned viral DNA", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **77** (1980), p. 4549-4553.
- [29] J. Blancou, M. Artois, B. Brochier, I. Thomas, P. P. Pastoret, P. Desmettre, B. Languet, M. P. Kiény, "Innocuité et efficacité d'un vaccin antirabique recombinant des virus de la vaccine et de la rage administré par voie orale au renard, au chien et au chat", *Ann. Rech. Vet.* **20** (1989), p. 195-204.
- [30] F. Jacob, J. Monod, "Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins", *J. Mol. Biol.* **3** (1961), p. 318-356.
- [31] F. Gros, H. Hiatt, W. Gilbert, C. G. Kurland, R. W. Risebrough, J. D. Watson, "Unstable ribonucleic acid revealed by pulse labelling of *Escherichia coli*", *Nature* **190** (1961), p. 581-585.
- [32] S. Brenner, F. Jacob, M. Meselson, "An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis", *Nature* **190** (1961), p. 576-581.
- [33] S. Pascolo, "Vaccines against COVID-19: priority to mRNA-based formulations", *Cells* **10** (2021), p. 2716.