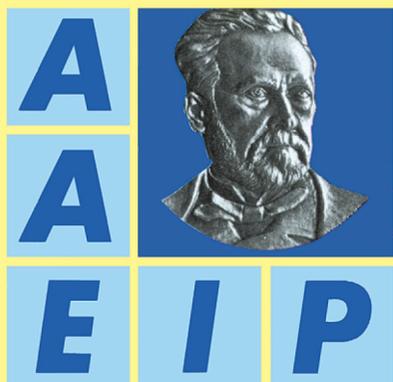


---

# ASSOCIATION DES ANCIENS ELEVES DE L'INSTITUT PASTEUR

---



**JUIN 2005**  
**Vol. 47 - N° 183**  
**IMMUNOLOGIE**

---



# SOMMAIRE

<b>LE MOT DU PRÉSIDENT</b>	p. 51	<b>VIE DE L'ASSOCIATION</b>	p. 86
<b>IMMUNOLOGIE</b>		<b>NOUVELLES DE L'INSTITUT PASTEUR</b>	
● <b>LA TRAQUE DES LYMPHOCYTES SPÉCIFIQUES D'AGENTS PATHOGÈNES OU D'ANTIGÈNES TUMORAUX :</b> vers de nouveaux outils d'exploration des réponses immunes	p. 52	* Enseignement	p. 88
<i>Marie-Lise GOUGEON, Annick LIM et Fabrice LEMAITRE</i>		* Recherche	p. 90
● <b>STRATÉGIES INNOVANTES POUR LE DÉVELOPPEMENT DE NOUVEAUX VACCINS</b>	p. 61	<b>TRIBUNE LIBRE</b>	
<i>Laleh MAJLESSI et Claude LECLERC</i>		● Les données sur le contenu normal des immunoglobulines chez les Albanais	p. 94
● <b>IL Y A VINGT ANS DISPARAISAIT JACQUES OUDIN (1908-1985)</b>	p. 68	<i>As Arben HOXHA</i>	
<i>Guy BORDENAVE</i>		● Jean LORIS-MELIKOFF	p. 96
<b>HISTOIRE</b>		<i>Michel BARME</i>	
● <b>ELIE METCHNIKOFF (1845-1916)</b>	p. 79	<b>INFORMATIONS</b>	p. 97
<i>Albert DELAUNAY</i>		<b>LIVRES</b>	
● <b>METCHNIKOFF vu par Emile ROUX</b>	p. 85	● Nos lectures	p. 98
● <b>ELIE METCHNIKOFF : un souvenir d'enfance d'André LWOFF</b>	p. 85	● Parutions récentes	p. 99
		<b>CONSEIL D'ADMINISTRATION, BIENFAITEURS ET SECRÉTARIAT</b>	p. 100

## COTISATION ET ABONNEMENT<sup>1</sup>

Cotisation annuelle (2005) .....	26 euros
Abonnement (2005) au tarif préférentiel pour les membres de l'Association .....	40 euros
Abonnement d'un an : 2005 (4 numéros) pour les non membres .....	52 euros
Prix du numéro .....	13 euros

<sup>1</sup> Tarifs dégressifs pour les couples adhérents, les retraités et les étudiants (voir Rubrique "Vie de l'Association").

Bulletin publié par **L'ASSOCIATION DES ANCIENS ELEVES DE L'INSTITUT PASTEUR**

Directeur de la Publication : Docteur **Michel DUBOS**

La revue comprend 52 pages avec les publicités

ISSN 0183-8849 - Inscription à la Commission paritaire N° 0 310 G 86175 - Dépôt légal 2<sup>ème</sup> trimestre 2005

Conception-Edition : OPAS RCS Paris B 333 953 123

41, rue Saint-Sébastien - 75011 PARIS - Tél. 01 49 29 11 20

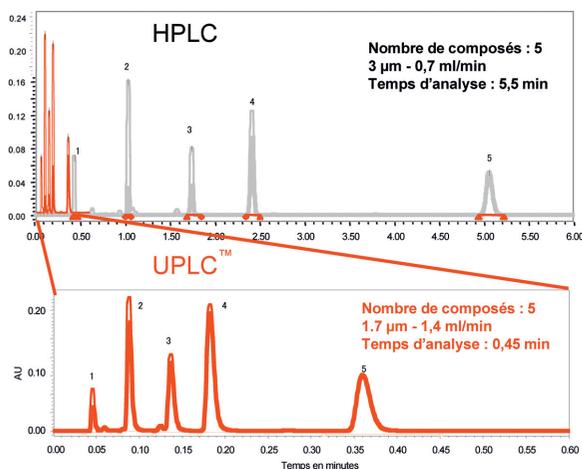
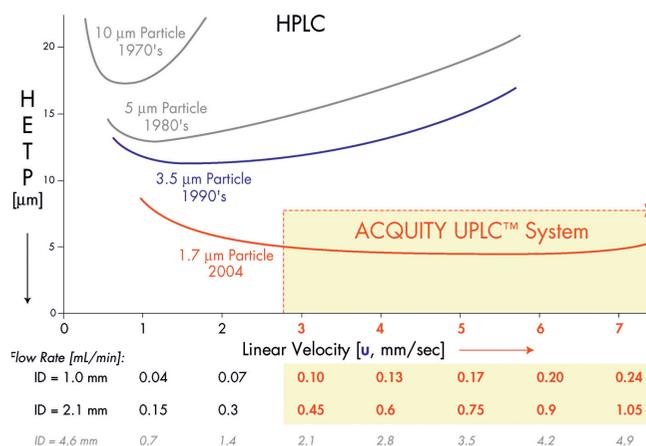
Editeur Conseil : J.P. KALFON - Impression en UE.

## L'Ultra Performance LC™ : l'avenir de la chromatographie liquide

Des avancées technologiques significatives ont été réalisées récemment dans le domaine des phases stationnaires et de la conception des systèmes chromatographiques. La technologie Ultra Performance LC ou UPLC™ respecte les principes de la CLHP classique tout en améliorant la vitesse, la sensibilité et la résolution des analyses.

La chromatographie liquide est une technique largement utilisée dans les laboratoires depuis une trentaine d'années. L'évolution des phases stationnaires représente l'un des moteurs principaux du développement de cette technique. Les principes fondamentaux sont expliqués par la courbe de Van Deemter qui décrit la relation existant entre le nombre de plateaux et la vitesse linéaire. La taille des particules représente une des variables et la courbe de Van Deemter peut être utilisée pour prévoir les performances chromatographiques (Figure 1), [1].

Figure 1 - Courbes de Van Deemter montrant l'évolution des granulométries au cours des 30 dernières années. ▶



La figure 1 montre que l'utilisation d'une granulométrie inférieure à 2  $\mu\text{m}$  entraîne un gain significatif en efficacité et que celle-ci est maintenue à des débits plus élevés. C'est sur cette approche que repose la technologie UPLC. Elle permet de mettre au point des séparations à l'aide de colonnes courtes et /ou de débits plus élevés en augmentant à la fois la vitesse, la résolution et la sensibilité. La puissance de l'UPLC est illustrée sur la figure 2 qui compare la séparation d'un mélange de 5 composés en HPLC et en UPLC.

◀ Figure 2 - Le graphe supérieur représente la superposition des chromatogrammes obtenus en HPLC (colonne de 3  $\mu\text{m}$ ) et en UPLC (colonne de 1,7  $\mu\text{m}$ ) pour la séparation de cinq composés. Pics par ordre d'élution : thiourée, toluène, propylbenzène, butylbenzène et hexylbenzène. Le graphe inférieur représente un grossissement de la séparation en UPLC et montre le gain en vitesse (temps d'analyse < 0,5 minutes) et le maintien de la résolution.

## La chimie des petites particules

L'UPLC utilise une nouvelle particule poreuse qui résiste aux pressions élevées. En 2000, Waters a mis sur le marché la première génération de colonnes à particules hybrides, les colonnes XTerra®, qui combinent à la fois les atouts des phases à base de silice et polymériques ; elles sont stables du point de vue mécanique, possèdent une haute efficacité, et travaillent sur une gamme étendue de pH. Afin de garantir une meilleure stabilité mécanique requise par l'UPLC, la technologie hybride de seconde génération a été développée [2] ; il s'agit de la technologie ACQUITY UPLC.

Pour bénéficier pleinement de l'apport des petites particules (vitesse, résolution et sensibilité), la technologie liée à l'instrumentation a dû aussi évoluer ; pompe, injecteur et détecteurs ont été optimisés pour répondre aux contraintes des pressions élevées et des pics plus fins. Plus particulièrement, avec le système ACQUITY UPLC, les volumes morts sont réduits et les taux d'échantillonnage des détecteurs sont plus élevés.

## Conclusion



Au moment où les scientifiques ont atteint les limites de la CLHP traditionnelle, l'UPLC ouvre une voie nouvelle et offre des perspectives aux techniques séparatives et aux couplages avec la spectrométrie de masse. Les nouvelles technologies présentes dans le système ACQUITY UPLC permettent d'améliorer simultanément la vitesse, la résolution et la sensibilité en chromatographie liquide.

◀ Figure 3 - Système ACQUITY UPLC.

© 2005 Waters Corporation. Ultra Performance LC, UPLC, ACQUITY UPLC et XTerra sont des marques déposées de Waters Corporation.

### RÉFÉRENCES

- [1] Van Deemter JJ, Zuiderweg FJ, and Klinkenberg A. Chem. Eng. Sci. 1956 ; 5 : 271.  
[2] Wyndham KD, O'Gara JE, et al Anal. Chem. 2003 ; 75 : 6781-6788.

### RENSEIGNEMENTS

Waters SAS  
BP 608  
78056 Saint-Quentin-en-Yvelines Cedex  
Tél. : 0 820 885 885  
eMail : france@waters.com



## LE MOT DU PRÉSIDENT

Lorsqu'en 1888 l'Institut Pasteur est inauguré, on ne peut faire à son sujet aucune comparaison : c'est un établissement unique en son genre qui va devenir un établissement modèle<sup>1</sup>. Les grandes découvertes et les avancées scientifiques notoires issues de ses laboratoires et de ceux des Instituts Pasteur hors de France, justifient la place primordiale que tient encore aujourd'hui dans le monde cet Institut. Et comment ne pas évoquer l'enseignement de la microbiologie initié dès 1889, restructuré et diversifié à partir de 1950, mais toujours dispensé avec le même souci : transmettre les connaissances, mais également et surtout inculquer et valoriser "la foi scientifique qui donne l'ardeur au travail, l'imagination qui inspire les idées, la persévérance qui les poursuit, la critique qui les contrôle, la rigueur expérimentale qui les prouve..." ?<sup>2</sup>

Anciens élèves ou stagiaires qui avons bénéficié en direct (et non de façon livresque) de cet enseignement, nous en portons le sceau, consciemment ou non. Il nous appartient d'exprimer notre fierté d'avoir été "formés" dans l'une des plus prestigieuses institutions, d'en favoriser l'accès au plus grand nombre grâce à nos actions d'entraide et de contribuer à diffuser le résultat des recherches qui y sont actuellement conduites et qui entretiennent sa renommée.

Ne voyez pas là l'expression d'un orgueil débridé ou d'un sentiment qui relève du chauvinisme intellectuel, ni les propos d'un nostalgique qui se réfugie dans le culte du passé. Bien au contraire ! Et j'aurai, en d'autres circonstances, l'occasion de vous dire combien l'AAEIP doit évoluer et s'adapter.

Mon désir est de poursuivre ici mon action de sensibilisation à la **nécessité d'une implication de tous** pour maintenir et développer le dynamisme de notre Association et tout particulièrement, dans le cas présent, sur le sujet des **Journées scientifiques régionales** placées sous l'égide de l'AAEIP. La finalité et l'enjeu de ces journées scientifiques ont été largement présentés dans un précédent Bulletin<sup>3</sup>. Rappelons que leur organisation est confiée au groupe d'anciens élèves et stagiaires d'une région, avec le soutien logistique de l'Association. Elles sont l'occasion, pour ce groupe, de se mobiliser autour d'un projet commun et d'entretenir la vitalité de notre Association en renforçant les liens entre ses membres.

J'ai conscience que la plupart de ceux d'entre vous encore en activité sont, aujourd'hui plus qu'il y a quelques années, victimes du rythme effréné qu'impose la vie professionnelle. Certains, sollicités pour organiser une telle journée scientifique, refusent par "manque de temps", d'autres sont prêts à accéder à notre requête "pour nous faire plaisir". Soyons clairs : il ne s'agit pas de satisfaire avec complaisance quelque envie futile de certains responsables de notre Association mais bien de se sentir tous concernés par la vie - et la survie ! - de l'AAEIP.

Adhérer à notre Association (et acquitter régulièrement sa cotisation) est le premier geste qui matérialise notre attachement aux valeurs que nous défendons et qui assure le fonctionnement quotidien de notre groupement. Mais passée cette étape, l'avenir ne sera assuré que par l'engagement effectif du plus grand nombre, par son implication sous diverses formes (y compris la simple participation à une manifestation organisée par des collègues), parfois par l'acceptation d'une charge de travail supplémentaire mais très temporaire, et en toute circonstance, par une réelle volonté de soutenir notre grande famille, de manifester sa fierté de lui appartenir et d'attirer en son sein de nouveaux membres qui, à leur tour, auront en charge de contribuer au rayonnement de la culture et de la mission pastoriennes.

Docteur Michel DUBOS

<sup>1</sup> C'est à son image qu'ont été créés plus tard l'Institut Lister (Londres), l'Institut Koch (Berlin), l'Institut Rockefeller (New-York), l'Institut Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro)...

<sup>2</sup> Docteur Emile ROUX. Discours prononcé lors de la séance solennelle de rentrée à l'Université de Lille, le 5 novembre 1898.

<sup>3</sup> "Le mot du Président", 3<sup>ème</sup> trimestre 2003, n° 176, p. 111.



## LA TRAQUE DES LYMPHOCYTES SPÉCIFIQUES D'AGENTS PATHOGÈNES OU D'ANTIGÈNES TUMORAUX : VERS DE NOUVEAUX OUTILS D'EXPLORATION DES RÉPONSES IMMUNES

Marie-Lise GOUGEON<sup>1</sup>, Annick LIM<sup>2</sup>, Fabrice LEMAITRE<sup>3</sup>  
Institut Pasteur, Paris

*Les auteurs spécialistes des interactions lymphocytes-virus, nous présentent les technologies les plus récentes d'analyse des réponses immunitaires physiologiques et pathologiques. Grâce à ces connaissances, naissent de nouveaux espoirs pour le traitement des maladies auto-immunes, de certains cancers comme le mélanome et de l'allergie. Le suivi des essais des futurs vaccins devrait aussi bénéficier de ces outils performants pour l'analyse des réponses immunitaires recherchées. Nous remercions les auteurs pour cette revue très*

### RÉSUMÉ

L'étape clé des réponses cellulaires contre une grande variété d'agents pathogènes est la reconnaissance par le récepteur T $\alpha\beta$  (TCR)<sup>3</sup> de peptides présentés dans le contexte des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) à la surface des cellules présentatrices d'antigène. Récemment, de nouveaux outils ont été développés, reposant sur la multimérisation de complexes CMH-peptides, capables de se lier spécifiquement au TCR et permettant d'isoler *ex vivo* les clones de lymphocytes T spécifiques d'antigènes et de les caractériser. Leur répertoire peut être étudié grâce à la technologie Immunoscope qui, au travers de l'analyse des spectres de taille des régions CDR3<sup>4</sup>, permet d'identifier des expansions clonales et de suivre *ex vivo*, à l'aide d'amorces spécifiques, des clones de lymphocytes T dans des situations physiologiques et pathologiques. Le développement de ces technologies sur une grande échelle devrait contribuer de façon significative à la mise au point de nouvelles thérapies visant à détruire plus spécifiquement les clones de cellules tumorales ou de cellules auto-immunes, et devrait aider au développement de nouveaux vaccins, dont l'efficacité sur le plan immunologique sera analysée et modulée au niveau clonal.

Les réponses immunes spécifiques d'un antigène mettent en jeu des lymphocytes T et B. Les lymphocytes T sont au centre de la réponse immunitaire humorale et cellulaire. L'étape clé des réponses cellulaires contre une grande variété d'agents pathogènes est la reconnaissance par le récepteur T $\alpha\beta$  (TCR) de peptides présentés dans le contexte des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I ou de classe II à la surface des cellules présentatrices d'antigène (APC)<sup>5</sup>. Celles-ci sont généralement les cellules dendritiques, macrophages et lymphocytes B. L'efficacité de l'immunité T repose sur deux propriétés essentielles : 1- l'immense diversité du répertoire du récepteur T à l'antigène, engendrée par recombinaison des gènes codant pour les chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  du TCR, qui permet la reconnaissance d'une variété importante de peptides antigéniques ; 2- la spécificité des réponses T assurée par la présence d'un TCR propre à chaque lymphocyte T. La reconnaissance par le TCR de peptides antigéniques est traduite en

une série de signaux qui conduisent à l'activation, l'expansion clonale et la production par les cellules T de **molécules effectrices**, telles que des **cytokines** ou des **granules de cytotoxicité** (Fig. 1).

Une meilleure compréhension du mode d'action des cellules T dirigées contre des virus, bactéries ou tumeurs, requiert des approches permettant d'identifier les lymphocytes spécifiquement répondeurs, dont la fréquence parmi la totalité des lymphocytes est très faible. Récemment, de nouveaux outils ont été développés, reposant sur la multimérisation (tétramères) de complexes CMH-peptides capables de se lier spécifiquement au TCR et permettant d'isoler *ex vivo* les clones de lymphocytes T spécifiques. Ces clones peuvent ensuite être caractérisés phénotypiquement et fonctionnellement par une analyse multiparamétrique, le répertoire du TCR peut être analysé par la technologie Immunoscope, et des sondes clonotypiques peuvent être développées permettant le suivi *ex vivo* d'un clone donné. Ces

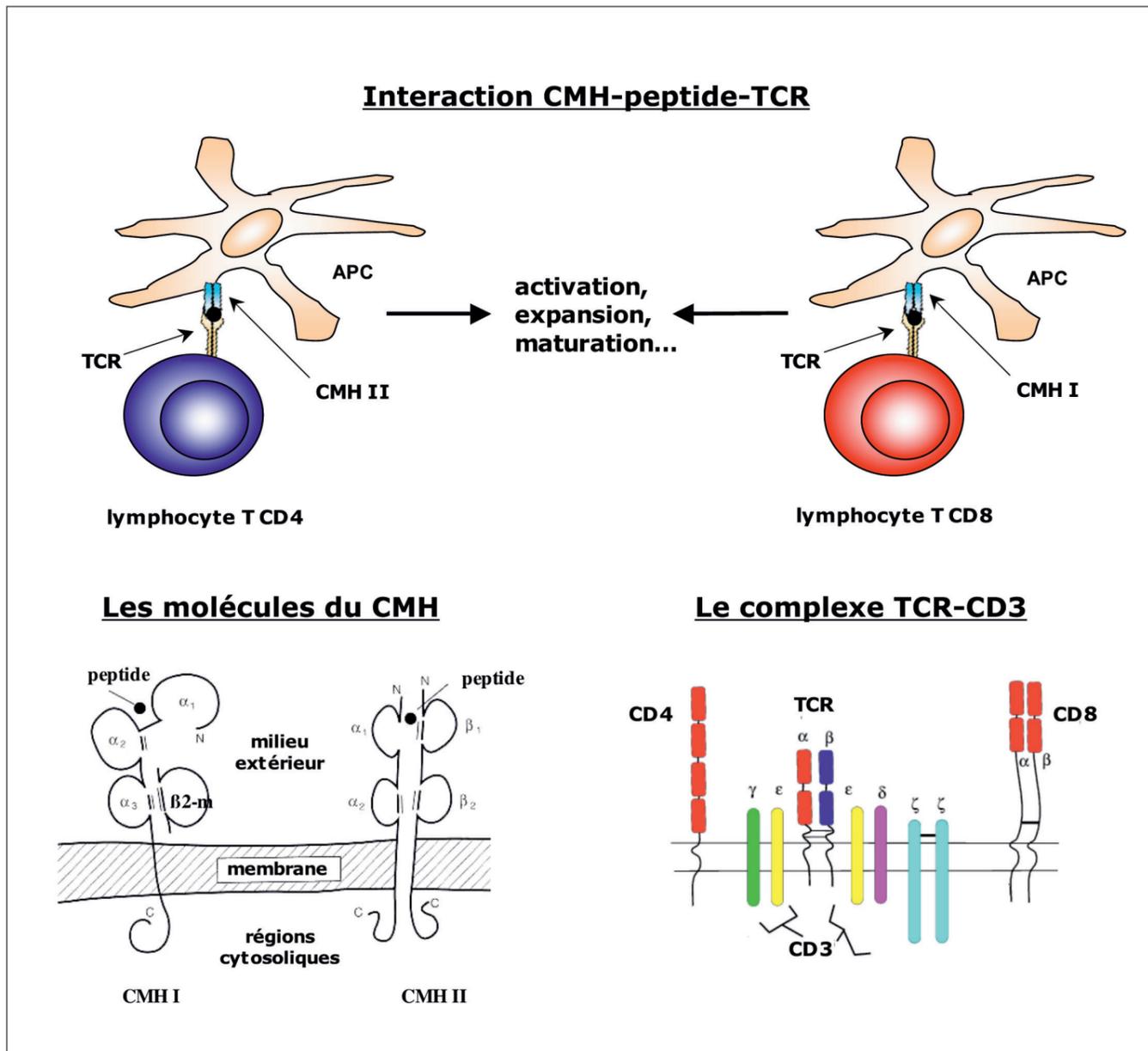
<sup>1</sup> Chef de l'Unité d'Immunité anti-virale, Biothérapies et Vaccins, Inserm U668, Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, 75015 Paris.

<sup>2</sup> Unité d'Immunité anti-virale, Biothérapies et Vaccins, Inserm U668, Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, 75015 Paris.

<sup>3</sup> Le récepteur des cellules T ou TCR (pour T cell receptor) est formé par deux chaînes codées par les gènes  $\alpha$  et  $\beta$ .

<sup>4</sup> CDR3 pour (Third complementary determining region). Ce sont des régions déterminant la complémentarité (zones hyper variables) par opposition au reste du domaine variable constituant la charpente (frame work ou fr).

<sup>5</sup> APC pour (Antigen Presenting Cell).



**Figure 1 : Reconnaissance par le récepteur T de peptides présentés dans le contexte du CMH.** Les lymphocytes T, par leurs récepteurs (représentés en jaune), reconnaissent, à la surface d'une cellule présentatrice d'antigène (APC), des peptides antigéniques (en noir) présentés par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) (représenté en bleu) de classe II pour les T CD4 et de classe I pour les T CD8. Les cellules présentatrices d'antigènes (APC) sont des cellules dendritiques, des macrophages, des lymphocytes B, etc.

Les molécules de classe I du CMH sont des dimères résultant de l'association non covalente d'une chaîne lourde  $\alpha$  et d'une chaîne légère, la  $\beta$ -2 microglobuline. Les molécules de classe II du CMH sont des dimères constitués d'une chaîne lourde  $\alpha$  et d'une chaîne légère  $\beta$ . La reconnaissance des peptides antigéniques par les lymphocytes T est traduite en une série de signaux qui conduisent à l'activation et à l'expansion clonale de ces cellules et à leur production de molécules effectrices.

Le récepteur T pour l'antigène est constitué des chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  associées au complexe CD3 constitué lui-même des chaînes  $\gamma$ ,  $\epsilon$ ,  $\delta$ , et  $\zeta$ . Lors de l'interaction entre le TCR et le complexe CMH-peptide, les molécules d'adhésion CD4 et CD8 permettent le renforcement de l'interaction entre le TCR et le complexe peptidique en interagissant avec la molécule du CMH II ou I respectivement.





nouveaux outils sont décrits dans cette revue et quelques exemples de leur utilisation sont donnés pour la dissection de réponses immunes physiologiques et pathologiques, ainsi que pour le suivi d'immunothérapie du cancer ou de réactions allergiques.

## I - DISSECTION DE LA RÉPONSE T À L'AIDE DE TETRAMERES CMH-PEPTIDE

### A. PRÉPARATION DES COMPLEXES CMH-PEPTIDE

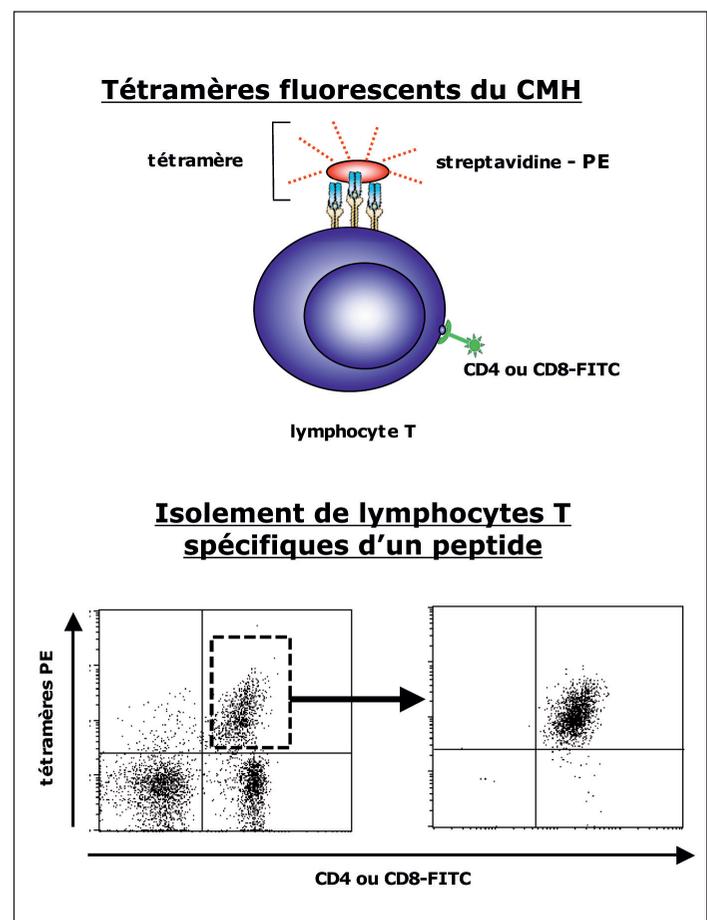
#### 1- Les complexes CMH I-peptide

La technologie des tétramères CMH I-peptide, permettant de marquer les lymphocytes T CD8 exprimant un récepteur reconnaissant spécifiquement ce complexe, a été décrite pour la première fois en 1996 [1]. Le processus de préparation de ces molécules se décompose en cinq étapes principales. Après clonage des séquences codantes de la chaîne lourde de la molécule de CMH et de la chaîne légère (la bêta-2-microglobuline) dans un vecteur d'expression bactérien, les deux chaînes formant la protéine sont produites sous la forme de corps d'inclusion totalement insolubilisés. Ces molécules sont alors renaturées par dilution en présence du peptide désiré, comme un épitope d'antigène de mélanome, puis biotinylées de façon enzymatique, et purifiées par chromatographie. Elles sont enfin tétramérisées avec des streptavidines fluorescentes avant leur utilisation en cytométrie de flux.

Comme cela est illustré dans la figure 2, l'incubation de lymphocytes avec les tétramères CMH-peptide fluorescents (couplés à la phycoérythrine, PE) et leur marquage simultané avec des anticorps anti-CD8 couplés à la fluorescéine (FITC), permet de repérer les lymphocytes T CD8 exprimant un TCR spécifique du complexe CMH-peptide (fenêtre d'analyse de la fig. 2) et de les quantifier. La caractérisation phénotypique de cette population peut être réalisée à l'aide d'une analyse multiparamétrique en cytométrie de flux, en combinant le marquage tétramérique avec celui obtenu avec des anticorps spécifiques de marqueurs membranaires caractérisant des sous-populations (mémoires, naïves, effectrices, cellules activées, etc.) et de marqueurs spécifiques de molécules effectrices (cytokines, chimio-kines, perforine...) détectées dans le cytoplasme [2].

#### 2 - Les complexes CMH II-peptide

Contrairement aux tétramères du CMH I-peptide, l'utilisation de tétramères CMH II-peptide est encore peu développée chez l'homme. Seuls quelques groupes maîtrisent cette technologie et plusieurs stratégies sont encore utilisées pour mener à bien la production de tels réactifs. Au cours des cinq dernières années, nous avons mis en place cette méthode dans notre laboratoire en utilisant la stratégie décrite en 1999 par l'équipe de William Kwok [12]. Celle-ci est assez différente de celle utilisée pour les molécules du CMH I, puisque les deux chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  formant les monomères de CMH II sont co-produites sous la forme soluble par des cellules d'insectes et assemblées lors de



**Figure 2 : Principe d'isolement de lymphocytes T CD4 et T CD8 spécifiques d'un peptide après liaison via le TCR de complexes tétramériques CMH-peptide.** Les molécules tétramériques CMH-peptide fluorescentes permettent de marquer les lymphocytes T exprimant un TCR reconnaissant spécifiquement ce complexe, et de les analyser en cytométrie de flux sur la base de la co-expression de la molécule CD4 (ou CD8) couplée à la fluorescéine (FITC) et du TCR spécifique du tétramère couplé à la phycoérythrine (PE). L'analyse en cytométrie de flux permet de définir les populations positives pour le marqueur étudié, la positivité étant définie par le quadrant. Une fenêtre d'analyse (pointillée) permet de définir les populations double positives, de déterminer leur fréquence au sein des lymphocytes T et de les isoler.

leur synthèse. Les monomères ainsi obtenus sont purifiés par chromatographie d'affinité et biotinylés de façon enzymatique, puis sont ensuite chargés avec le peptide d'intérêt et tétramérisés de la même façon que les monomères de CMH I. Nos travaux sur la validation et l'optimisation de l'utilisation de ces tétramères en cytométrie de flux pour marquer des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> nous ont permis de montrer que ces réactifs possèdent une conformation et une aptitude à fixer des peptides adéquats tout à fait comparables à celles des molécules natives correspondantes, et qu'ils sont capables de marquer de façon spécifique des clones de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> correspondant aux peptides utilisés pour les générer [8].



**B. COMPLEXES TETRAMERIQUES OUTILS DE DISSECTION DE LA RÉPONSE IMMUNE**

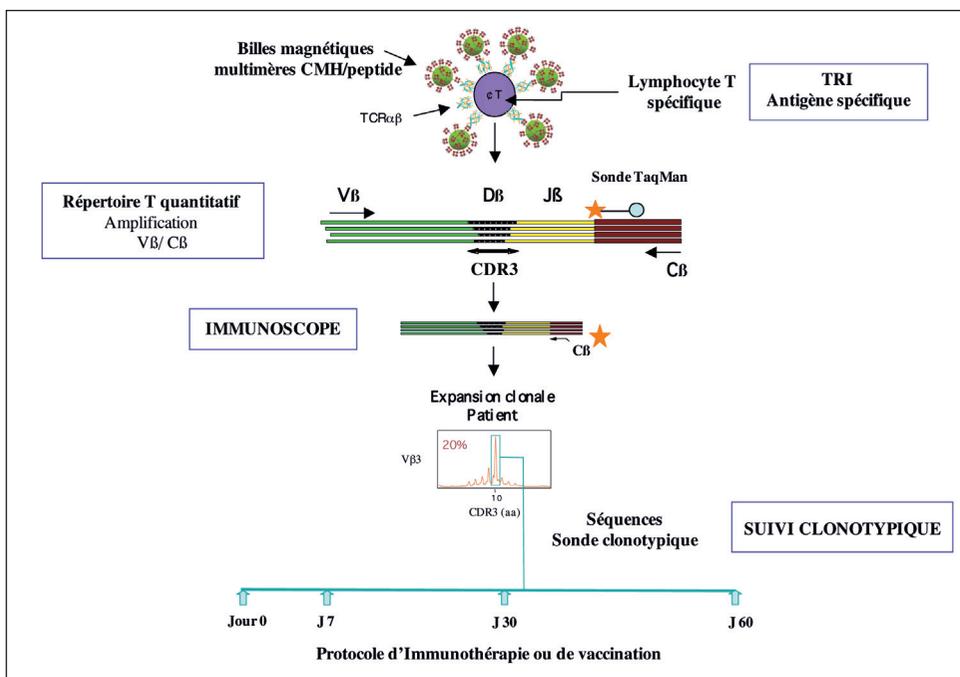
Cette technologie a ouvert de nouvelles voies pour la dissection de la réponse immune [6]. La fréquence des lymphocytes T répondeurs à un peptide viral, bactérien ou tumoral peut ainsi être déterminée comme schématisé dans la figure 2. Cette approche a modifié la perception de la dynamique d'une réponse immunitaire. Ainsi, le marquage de cellules T avec le complexe CMH I-peptide a permis de montrer qu'au pic d'une réponse anti-virale, une mobilisation importante des T CD8 spécifiques est détectée, la fréquence de ces cellules pouvant être très élevée. Par exemple, lors de l'infection de souris BALB/c par le virus de la chorioméningite lymphocytaire (CML), plus de 50% des T CD8 apparaissent spécifiques de l'épitope viral NP. Cette réponse antivirale est associée à une expansion clonale importante puisque, entre les jours 3 et 5 de l'infection, le temps de doublement des cellules T spécifiques du virus est estimé à environ 6h. Par ailleurs, l'analyse multiparamétrique de cellules T fixant un complexe tétramérique a révélé qu'un des mécanismes d'échappement du virus au système immunitaire est représenté par la persistance de clones T spécifiques du virus mais n'exprimant plus de fonctions effectrices. Les complexes MHC-peptide permettent aussi d'évaluer l'affinité du TCR des cellules recrutées, une corrélation directe étant observée entre l'intensité de fluorescence des cellules T marquées avec le complexe tétramérique et l'avidité de leur TCR pour ce complexe. Ainsi, des lymphocytes T spécifiques d'antigènes du mélanome ayant une forte avidité pour le complexe tétramérique lysent plus efficacement les cellules tumorales exprimant le peptide correspondant. Enfin, comme cela est détaillé ci-dessous, la composition fine d'une réponse immune au regard du répertoire du TCR peut être analysée en combinant le tri de populations spécifiques d'un complexe multimérique avec l'analyse de leur répertoire à l'aide de l'approche **Immu-**

**noscope**, qui permet de caractériser les différents clones T participant à une réponse immune et de déterminer leur contribution relative.

**II - ANALYSE DU RÉPERTOIRE DES RÉCEPTEURS T ET B PAR L'APPROCHE IMMUNOSCOPE**

**A. LE TCR ET LA DIVERSITÉ DU RÉPERTOIRE**

Le TCR est un hétérodimère capable d'interagir directement avec le complexe CMH - peptide. Deux types d'hétérodimères ont été décrits,  $\alpha\beta$  et  $\gamma\delta$ . Les gènes codant pour les chaînes  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , sont produits par recombinaison de segments géniques. Chez l'homme, il y a 43 segments variables (V) fonctionnels et 50 segments de jonction (J) dans le locus  $\alpha$ , et 42 gènes V, 2 segments de diversité (D) et 13 segments J dans le locus  $\beta$ . Un gène codant une chaîne  $\beta$  du TCR contiendra un segment variable  $V\beta$  associé à un segment  $J\beta$ . Au niveau de la jonction entre V et J, sont insérés quelques acides aminés codés par le segment D (diversité) et des insertions nucléotidiques ou délétions contribueront aussi à la diversité. La chaîne  $\beta$  est ainsi constituée des segments  $V\beta$ - $DB\beta$ - $J\beta$  connectés à un segment unique constant. La chaîne  $\alpha$  résultera du réarrangement  $V\alpha$ - $J\alpha$ . La grande diversité du répertoire T résulte de plusieurs mécanismes, notamment - la jonction combinatoire V-J et V-D-J pour les chaînes lourdes - l'addition et délétion optionnelle de nucléotides - l'association combinatoire des chaînes lourdes et légères. La région hypervariable CDR3 (3<sup>rd</sup> complementary determining region) accroît considérablement la diversité, elle est codée par la jonction V(D)J et diffère pour chaque cellule en taille et en séquence. Elle a un rôle essentiel dans la reconnaissance de l'antigène, interagissant directement avec le peptide antigénique présenté par la molécule du CMH (Fig. 3).



*Figure 3 : Analyse du répertoire du TCR par l'approche Immunoscope et suivi clonotypique. Après sélection de cellules T antigène-spécifiques à l'aide de billes magnétiques couplées à des multimères CMH-peptide, un échantillon d'ADNc est amplifié à l'aide d'amorces spécifiques  $V\beta$  et  $C\beta$ , suivi d'une réaction d'élongation avec une sonde nucléotidique TaqMan fluorescente spécifique de  $C\beta$  (ou  $J\beta$ ). Les produits de RT-PCR sont analysés sur un séquenceur automatique et les bandes sont exprimées sous forme de pics. Une expansion clonale peut être visualisée par l'apparition d'un pic, l'identification des séquences CDR3 réalisée, et des amorces clonotypiques définies. Un suivi clonotypique ex vivo peut ainsi être réalisé dans des protocoles d'immunothérapie ou de vaccination.*



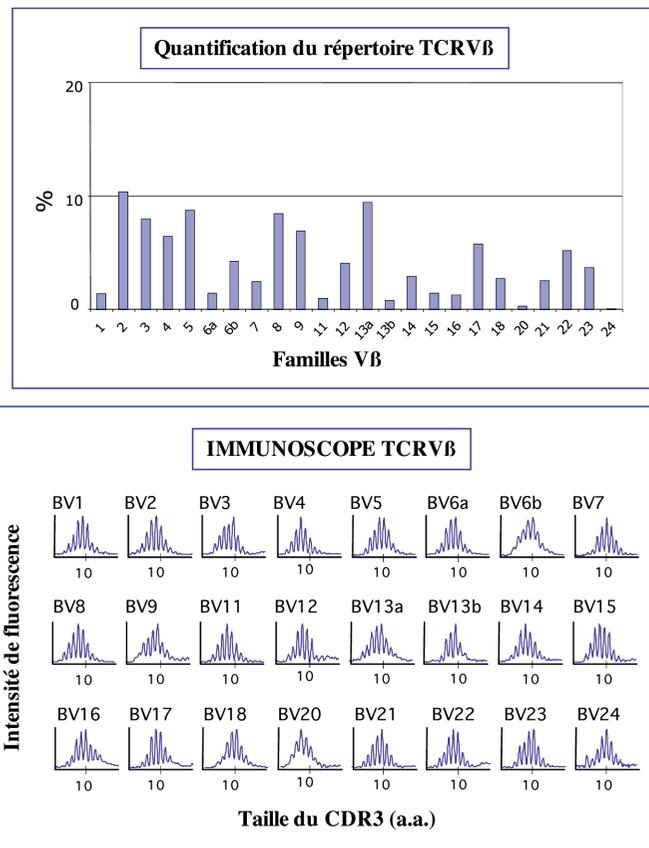
Grâce à l'approche **Immunoscope**, décrite ci-dessous, la diversité du répertoire des lymphocytes T a pu être évaluée. Ainsi il y a environ  $10^6$  chaînes  $\beta$  différentes dans le sang, chacune s'associant avec 25 chaînes  $\alpha$  différentes. La limite inférieure de la diversité totale du TCR  $\alpha\beta$  dans le sang serait donc de  $25 \cdot 10^6$  TCR différents [3]. En ce qui concerne le compartiment des cellules T mémoires, la diversité des chaînes  $\beta$  n'est que de  $1 \cdot 10^5$ , chacune s'associant à une seule chaîne  $\alpha$ . Ainsi, le compartiment mémoire contribue pour moins de 1% à la diversité totale des T $\alpha\beta$  [3].

### B. ANALYSE IMMUNOSCOPE DU RÉPERTOIRE T

Notre laboratoire a développé l'approche **Immunoscope** qui, au travers de l'analyse des CDR3, permet d'étudier le répertoire des lymphocytes T dans différentes situations physiologiques et pathologiques, d'identifier des expansions clonales et de suivre *ex vivo* des clones de lymphocytes T. Cette approche a été décrite dans plusieurs publications [3, 9, 13] (Fig. 3). Un échantillon d'ADNc est amplifié à l'aide d'amorces spécifiques de chacune des 24 familles V $\beta$  et d'une amorce C $\beta$ . Le produit d'amplification est ensuite soumis à une réaction d'élongation avec une sonde oligonucléotidique fluorescente spécifique de C $\beta$  ou J $\beta$ . Les produits de RT-PCR<sup>6</sup> sont séparés et analysés sur un séquenceur automatique afin de déterminer le spectre de taille des régions CDR3. Les bandes sont exprimées sous forme de pics, la surface de chaque pic correspondant à l'intensité de la bande. Pour chaque famille V $\beta$  ou BV dans la classification actuelle, une distribution gaussienne de la taille des différents CDR3 (centrée sur 9-10 acides aminés (a.a)) est observée pour un répertoire normal. Une expansion clonale peut être détectée par déviation de la distribution gaussienne, les cellules proliférant étant repérées par l'émergence de certains pics (Fig. 3 et 4).

L'analyse quantitative du répertoire permet de définir le pourcentage respectif d'utilisation de chaque famille V $\beta$  par la population lymphocytaire (Fig. 4). L'identification de séquences de la région CDR3 correspondant à des populations clonales permet de dessiner des amorces clonotypiques afin d'effectuer un suivi clonotypique *ex vivo* et de déterminer ainsi la fréquence du clone T correspondant dans une population complexe telle que des lymphocytes totaux sanguins, intra-tumoraux ou des biopsies (Fig. 3).

L'approche Immunoscope permet de détecter et de suivre *ex vivo*, avec des amorces clonotypiques, des cellules T dont la spécificité antigénique est connue, telles que les cellules cytotoxiques (CTL) contre des antigènes tumoraux ou viraux [9, 13], mais elle ne permet pas de définir la spécificité antigénique d'un clone T répondant sur la seule base de la



**Figure 4 : Analyse du répertoire T V $\beta$  d'un donneur contrôlé.** L'analyse quantitative du répertoire permet de définir le pourcentage respectif d'utilisation de chacune des familles V $\beta$  (ou BV) par la population totale de lymphocytes T. Pour chaque famille V $\beta$ , une distribution gaussienne de la taille des différents CDR3 (centrée sur 9 ou 10 acides aminés, a.a) est observée.

séquence des chaînes du TCR. De nouvelles approches ont donc été développées, combinant le tri de cellules T spécifiques d'un peptide à l'aide de billes magnétiques couplées à des multimères CMH-peptides et l'analyse du répertoire avec l'approche Immunoscope [8, 9]. Lorsque cette approche est appliquée à des cellules T cytotoxiques (CD8<sup>+</sup>) par la liaison à un complexe CMH I-peptide (Fig. 3), ce qui permet de détecter *ex vivo* dans des PBMC<sup>7</sup> de donneurs sains des clones spécifiques du peptide immunodominant de la matrice du virus Influenza, ou des clones spécifiques de l'antigène de mélanome Melan-A/MART. La fréquence de détection des clones est supérieure à  $4 \cdot 10^{-5}$ . En revanche, cette approche ne permet pas la détection de clones T spécifiques du peptide du mélanome Mage-3, dont la fréquence

<sup>6</sup> RT-PCR pour Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (réaction de polymérisation en chaîne après transcription inverse).

<sup>7</sup> PBMC pour Peripheral Blood Mononuclear Cells.



dans des donneurs sains est de l'ordre de  $10^{-7}$  à  $10^{-8}$  [9]. La combinaison du tri de cellules T auxiliaires ( $CD4^+$ ) à l'aide de billes magnétiques CMH II-peptide avec l'analyse Immunoscope permet de détecter *ex vivo* des clones T spécifiques de l'hémagglutinine A du virus Influenza à la fréquence de  $10^{-5}$  à  $10^{-6}$  [8]. Ce seuil de détection est proche de celui de la technique ELISPOT (1/300.000) mais très inférieur à celui de la technique de cytométrie de flux quantifiant des cellules T productrices de cytokines (1/5.000), ces deux techniques permettant de déterminer la fréquence de cellules T répondant spécifiquement à une stimulation antigénique par la synthèse d'une cytokine donnée (IFN- $\gamma$ , IL-2, TNF- $\alpha$ , etc.).

### C. ANALYSE IMMUNOSCOPE DU RÉPERTOIRE B

Très récemment, nous avons adapté la méthode Immunoscope à l'étude du répertoire des lymphocytes B humains, en utilisant des amorces spécifiques des gènes VH (VH1 à VH7) et JH (JH1 à JH6). L'analyse de lymphocytes B de donneurs sains a montré que les familles VH3 (22 gènes) et VH4 (11 gènes) sont utilisées en majorité (60% et 20% respectivement) lors des réarrangements des gènes du récepteur B (BCR)<sup>8</sup>, ainsi que le segment JH4. Les profils Immunoscope des tailles de CDR3 des BCR sont gaussiens pour les familles les plus exprimées mais, comparés aux cellules T, ils sont différents sur deux aspects :

- 1- le nombre de pics représentant un CDR3 donné est supérieur ;
- 2- la taille moyenne des pics CDR3 est proche de 15 acides aminés alors qu'elle est de 10 acides aminés pour les cellules T.

L'estimation de la diversité globale du répertoire VH est proche de  $10^8$  réarrangements, la taille du répertoire B reposant sur la diversité des CDR3 et sur les mutations somatiques VH (LIM *et al.*, article soumis à publication). Ces résultats sont compatibles avec le fait que chaque cellule B périphérique peut être définie par son BCR unique.

## III - APPLICATION DE CES OUTILS A L'ETUDE DE CLONOTYPES SPÉCIFIQUES D'AGENTS PATHOGÈNES OU D'ANTIGÈNES TUMORAUX

### A. DISSECTION DE LA MÉMOIRE IMMUNITAIRE T

La réponse immunitaire adaptative dépend de la sélection, la différenciation et la prolifération de lymphocytes T naïfs en réponse à une stimulation antigénique, suivie de leur différenciation en effecteurs, puis de leur élimination. La mémoire immunitaire est alors mise en place. Bien que la mémoire représente un élément fondamental de l'immunité, son origine, les voies de différenciation vers les cellules T mémoires et les facteurs influençant leur persistance sont très mal connus. Par exemple, on ignore si le pool de cellules T mémoires est homogène ou bien s'il est constitué de plusieurs sous-populations indépendantes, chacune spécialisée dans la surveillance d'un territoire

immun. Il a été proposé que les cellules T mémoires puissent être subdivisées en mémoire centrale ( $T_{CM}$ ) et mémoire effectrice ( $T_{EM}$ ), sur la base de l'expression du récepteur de chimio-cytokine CCR7 et du marqueur de "homing" CD62L. Les cellules T  $CD8^+ CCR7^-$  sont effectrices car elles expriment des granules de perforine et sont cytotoxiques *ex vivo*, alors que les T  $CD8^+ CCR7^+$  ont besoin d'une stimulation pour acquérir ces fonctions [14]. Deux modèles de différenciation de cellules T mémoires ont été proposés :

- 1- les  $T_{EM}$  sont issues de précurseurs présents dans le pool de  $T_{CM}$  ou bien
- 2- l'expression de CCR7 divise le répertoire T mémoire en deux sous-populations distinctes, d'origine différente et engendrées dans des organes lymphoïdes distincts.

L'approche Immunoscope a permis de tester ces hypothèses. Pour chaque sous-population T, la composition clonale, la diversité et la dynamique du répertoire total VB ont été étudiées, ainsi que le répertoire de clones T mémoires spécifiques du peptide M<sub>58-66</sub> de la matrice du virus Influenza A d'un donneur sain HLA-A2\*. Les résultats suggèrent que les deux populations  $T_{CM}$  et  $T_{EM}$  sont indépendantes. En effet, leurs répertoires VB sont stables, les clonotypes testés sont conservés dans les deux populations pendant plusieurs mois, et la majorité des séquences TCR $\beta$  ne sont trouvées que dans une des deux sous-populations à un temps donné. Chez le donneur HLA-A2\*, quatre des six clonotypes spécifiques du virus Influenza sont détectés uniquement dans les  $T_{CM}$  [4]. Plus récemment, une étude plus approfondie a été réalisée dans le modèle murin de la réponse à l'antigène mâle H-Y, utilisant deux approches complémentaires i.e. l'analyse du répertoire du TCR et des expériences de transfert adoptif de  $T_{CM}$  et  $T_{EM}$  spécifiques de H-Y. Les études de répertoires ont montré que 2/3 des clones  $T_{CM}$  et  $T_{EM}$  dérivent d'un précurseur commun naïf. La dynamique *in vivo* et les capacités de réponse de ces deux populations sont très différentes : les  $T_{CM}$  sont stables en absence de restimulation et elles répondent intensément à une stimulation de rappel, engendrant des  $T_{CM}$  et des  $T_{EM}$ . Au contraire, les  $T_{EM}$  ont une durée de vie courte en absence d'antigène et elles ne sont pas capables de répondre à une stimulation antigénique secondaire [5]. L'approche Immunoscope a donc permis de disséquer sur le plan clonal la mémoire T et elle révèle que la qualité des cellules mémoires est plus importante que leur quantité. Cette constatation doit être prise en compte dans le domaine de la vaccinologie [15].

### B. IDENTIFICATION DE CELLULES TUMORALES ET SUIVI DE PROTOCOLES DE CHIMIOTHÉRAPIE ET D'IMMUNOTHÉRAPIE

La possibilité de suivre des cellules tumorales *ex vivo* au travers de l'analyse Immunoscope dépend de l'expression par ces cellules de récepteurs pour l'antigène. Cette approche a été utilisée pour révéler l'expansion clonale de cellules T matures chez des enfants dont le déficit immunitaire combiné sévère lié

<sup>8</sup> BCR pour B Cell Receptor.

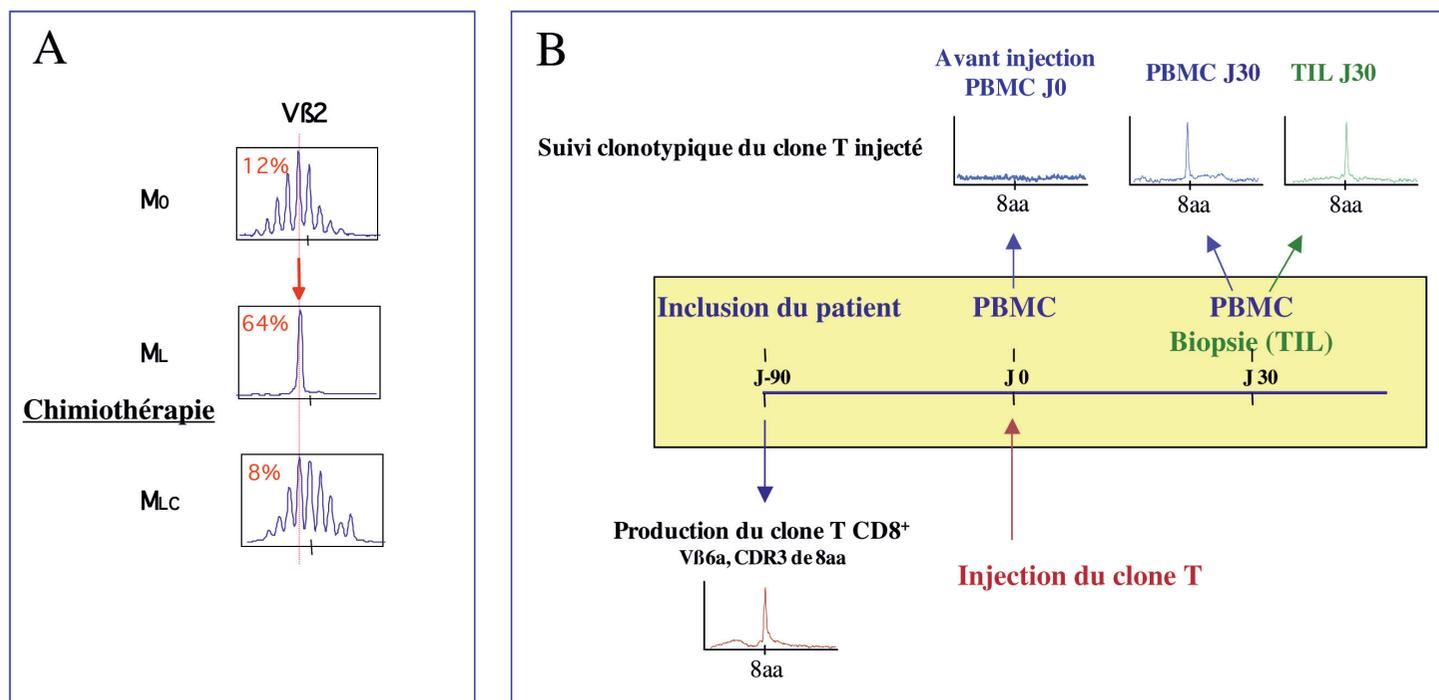


Figure 5 : Suivi clonotypique ex vivo de cellules tumorales et de cellules immunes.

A- Prolifération d'un clone T tumoral (ML) après correction génique d'un déficit immunitaire combiné sévère (Mo), disparaissant après une **chimiothérapie** (MLC) ; la diversité du répertoire T est retrouvée et paraît similaire à celle détectée avant l'expansion du clone tumoral (Mo).

B- Suivi clonotypique dans le cadre d'un protocole d'**immunothérapie adoptive**. Lors de l'inclusion dans le protocole d'un patient souffrant d'un mélanome, du sang périphérique est prélevé et les lymphocytes T sont stimulés par l'antigène Melan-A/Mart1. Un clone T cytotoxique spécifique de l'antigène tumoral a été obtenu in vitro après stimulation de ses lymphocytes et lui a été injecté par voie intraveineuse au jour J0. Les séquences des CDR3 ont été réalisées et des sondes clonotypiques spécifiques de chacun des clones ont été obtenues. Le suivi clonotypique du clone injecté est réalisé après prélèvement du sang périphérique et biopsie de la tumeur (TIL), un mois après l'injection. Grâce à une amorce clonotypique, ce clone est repéré et sa fréquence déterminée à la fois dans les PBMC et dans les TIL.

à l'X (SCID-X1) a été corrigé par le transfert de cellules souches CD34<sup>+</sup> transduites avec le gène  $\gamma c$ , déficient chez ces enfants [7]. La combinaison de la technique Immunoscope et de l'analyse clonotypique quantitative a révélé l'expansion, 31 mois après la correction génique, d'un clone T VB2, représentant 64% des cellules T  $\alpha\beta$  (Fig. 5A). Ces cellules de type leucémique ont intégré le vecteur rétroviral utilisé pour corriger le déficit à proximité du promoteur du proto-oncogène *LMO2*, induisant l'expression aberrante de *LMO-2* [7]. Le traitement du patient avec une **chimiothérapie appropriée** a permis de détruire ce clone de cellules tumorales, et l'efficacité du traitement a été confirmée par l'approche Immunoscope, qui montre un retour à des valeurs normales du pourcentage de cellules T VB2 associé à un profil gaussien de la population VB2 (Fig. 5A).

L'identification moléculaire de certains antigènes tumoraux reconnus par des lymphocytes T CD8 cytotoxiques a suscité de nouvelles thérapies pour induire *ex vivo* des lymphocytes anti-tumoraux utilisables dans des protocoles d'**immuno-**

**thérapie adoptive**. En particulier, l'antigène Melan-A/Mart1 est un bon candidat car il est fortement exprimé sur les cellules de mélanome et il stimule *in vivo* des clones T retrouvés dans les TIL (lymphocytes infiltrant les tumeurs), suggérant qu'il est immunogène. Récemment, l'influence de l'infusion<sup>9</sup> de lymphocytes T CD8 anti-Melan-A/Mart1 autologues à des patients souffrant de mélanome a donné des résultats encourageants, notamment la régression des lésions tumorales chez certains d'entre eux. Dans une étude en collaboration avec l'équipe de Francine JOTEREAU et Nathalie LABARRIÈRE (INSERM U463, Nantes), l'influence de l'infusion de clones T anti-Melan-A à des patients souffrant de mélanome a été évaluée à la fois sur le plan clinique et sur le plan immunologique. Les mécanismes d'homéostasie des clones T après leur infusion et leur mode d'action ont été également étudiés. Les clones T CD8 cytotoxiques ont été isolés *in vitro* à partir des cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC) des patients après une stimulation avec l'antigène Melan-A/Mart1. Les séquences des CDR3 ont été réalisées, ce qui nous a permis de générer des

<sup>9</sup> Infusion : injection de cellules.



sondes clonotypiques spécifiques de chacun des clones, afin de suivre *ex vivo* l'évolution des clones T injectés aux patients (Fig. 5B). Avant infusion, le clone n'était pas détecté dans les PBMC ; en revanche on pouvait le retrouver, 30 jours après infusion, dans les PBMC et dans les TIL de certains patients. Après thérapie, la fréquence des cellules T spécifiques de Melan-A/Mart1, déterminée par le marquage tétramérique CMH I-peptide, ainsi que leur avidité et leur fonction cytotoxique, étaient augmentées. Il est intéressant de noter que, chez un patient qui répond favorablement à cette thérapie (dont certaines lésions cancéreuses ont régressé), le répertoire TCR V $\beta$  des CTL spécifiques du tétramère Melan-A/Mart1 apparaît différent avant et après infusion du clone, suggérant un phénomène de recrutement de nouveaux clones anti-tumoraux par le clone infusé (V. VIGNARD *et al.*, article sous presse). Un mécanisme similaire a été suggéré par des travaux récents montrant que la régression d'une lésion de mélanome sous l'influence d'un vaccin utilisant l'antigène du mélanome MAGE-A3 est concomitante avec l'apparition dans le sang et les métastases de nouveaux clonotypes [11].

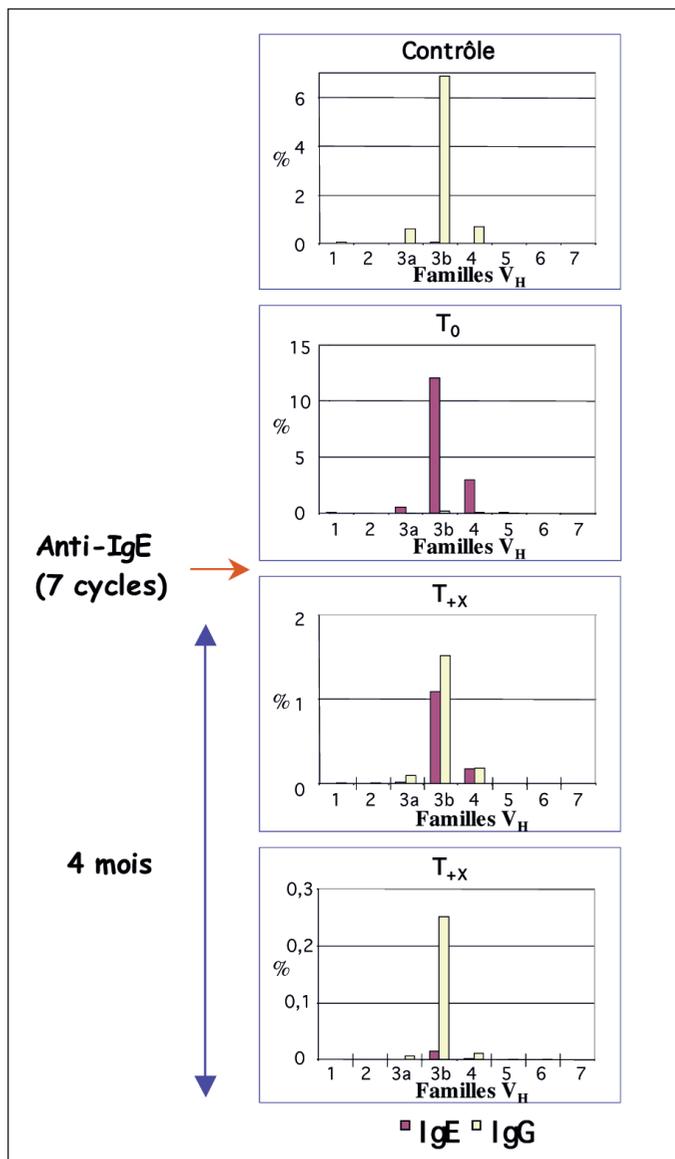
**C. ETUDE DE L'AUGMENTATION DU RÉPERTOIRE DES IGE CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS D'ECZÉMA ATOPIQUE ET INFLUENCE D'UNE IMMUNOTHÉRAPIE**

L'approche Immunoscope que nous avons récemment développée pour étudier le répertoire du BCR a été utilisée pour analyser le répertoire de patients ayant un niveau élevé d'IgE sériques (collaboration avec le Dr. Martin MEMPEL, Munich). Les cellules B purifiées sur la base de l'expression du marqueur CD19 ont été analysées pour l'utilisation des 7 familles de gènes V $H$  et des gènes C $\mu$ , C $\gamma$  et C $\epsilon$ . Le répertoire Immunoscope B des donneurs contrôles et des patients montre une utilisation préférentielle des gènes V $H3$  et V $H4$ , quel que soit l'isotype de l'Ig ( $\mu$ ,  $\gamma$  ou  $\epsilon$ ) associé (Fig. 6).

Chez les patients, on observe des expansions oligoclonales au niveau des BCR IgE. Sous l'influence d'un traitement par des anticorps anti-IgE, la présence dominante de cellules B IgE $^+$  est progressivement remplacée par des cellules B exprimant des IgG (Fig. 6). L'identification des expansions clonales et leur devenir sous l'influence du traitement est en cours d'exploration.

**CONCLUSION**

Le développement récent de technologies permettant d'étudier le recrutement de clones T antigènes spécifiques, de les suivre *ex vivo*, de les caractériser et d'évaluer leur devenir lors de biothérapies, ouvre de nouvelles perspectives dans le suivi immunologique d'essais vaccinaux, d'immunothérapie du cancer, de traitements de maladies auto-immunes (telles que le lupus ou la sclérose en plaques), ou de thérapies contre l'allergie. Le développement de ces technologies sur une grande échelle, permettant leur utilisation routinière, devrait contribuer



**Figure 6 : Etude du répertoire IgE chez des patients atteints d'eczéma atopique et influence d'une immunothérapie.** Analyse de l'utilisation des gènes V $H$  par les cellules B CD19 $^+$  IgG $^+$  ou IgE $^+$  d'un donneur contrôle ou d'un patient avant et après traitement par 7 cycles d'anticorps anti-IgE pendant 4 mois. L'Immunoscope B montre une utilisation préférentielle des gènes V $H3$  et V $H4$ , quel que soit l'isotype associé. Avant traitement, les cellules B du patient expriment des IgE de façon dominante. Pendant et après le traitement, une diminution, puis une disparition, des B IgE $^+$  et une augmentation des B IgG $^+$  est observée, le profil devenant similaire à celui du donneur contrôle. Les valeurs en ordonnées représentent le pourcentage de cellules B exprimant la famille de gènes indiquée rapporté au total des cellules B (exprimant des IgM, IgG ou IgE).

de façon significative à la mise au point de nouvelles thérapies visant à détruire plus spécifiquement les clones de cellules tumorales ou auto-immunes et au développement de nouveaux vaccins dont l'efficacité pourra être analysée et modulée au niveau clonal.



## BIBLIOGRAPHIE

1. ALTMAN JD, MOSS PA, GOULDER PJ, BAROUCH DH, McHEYZER-WILLIAMS MG, BELL JI, McMICHAEL AJ, DAVIS MM. Phenotypic analysis of antigen-specific T lymphocytes. *Science* 1996, **274** (5284) : 94-96.
2. ALTMAN JD. Flow cytometry applications of MHC tetramers. *Methods Cell Biol.* 2004 ; **75** : 433-452.
3. ARSTILA TP, CASROUGE A, BARON V, EVEN J, KANELLOPOULOS J, KOURILSKY P. A direct estimate of the human  $\alpha\beta$  T cell receptor diversity. *Nature* 1999, **286** : 958-961.
4. BARON V, BOUINEAUD C, CUMANO A, LIM A, ARSTILA TP, KOURILSKY P, FERRADINI L, PANNETIER C. The repertoire of circulating human CD8+ central and effector memory T cell subsets are largely distincts. *Immunity* 2003, **18** : 193-204.
5. BOUINEAUD C, GARCIA Z, KOURILSKY P, PANNETIER C. Lineage relationships, homeostasis, and recall capacities of central- and effector-memory CD8 T cells *in vivo*. *J Exp Med.* 2005, **201** : 579-590.
6. BOUSSO P. Generation of MHC-peptide tetramers : a new opportunity for dissecting T-cell immune responses. *Microbes and Infection* 2000, **2** : 425-429.
7. HACEIN-BEY-ABINA S *et al.* LMO-2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. *Science* 2003, **302** : 415-419.
8. LEMAÎTRE F, VIGUIER M, CHO M-S, FOURNEAU J-M, MAILLÈRE B, KOURILSKY P, VAN ENDERT PM & FERRADINI L. Detection of low frequency human antigen specific CD4<sup>+</sup> T-cells using MHC class II multimers bead sorting and Immunoscope analysis. *European J Immunol.* 2004, **34** : 2941-2949.
9. LIM A, BARON V, FERRADINI L, BONNEVILLE M, KOURILSKY P, PANNETIER C. Combination of MHC-peptide multimer-based T cell sorting with the Immunoscope permits sensitive ex-vivo quantitation and follow-up of human CD8+ T cell immune responses. *J Immunol Methods* 2002, **261** : 177-194.
10. LIM A, TRAUTMANN L, PEYRAT L, COUEDEL C, DAVODEAU F, ROMAGNÉ F, KOURILSKY P, BONNEVILLE M. Frequent contribution of T cell clonotypes with public TCR features to the chronic response against a dominant EBV-derived epitope : application to direct detection of their molecular imprint on the human peripheral T cell repertoire. *J Immunol.* 2000, **165** : 2001-2011.
11. LURQUIN C, LETHE B, DEPLAEN E, CORBIERE V, THEATE I, VAN BAREN N, COULIE PG, BOON T. Contrasting frequencies of anti-tumor and anti-vaccine T cells in metastases of a melanoma patient vaccinated with a MAGE tumor antigen. *J Exp Med.* 2005, **201** : 249-57.
12. NOVAK EJ, LIU AW, NEPOM GT & KWOK WW. MHC class II tetramers identify peptide-specific human CD4(+) T cells proliferating in response to influenza A antigen. *J Clin Invest.* 1999, **104** : R63-67.
13. PANNETIER C, EVEN J, KOURILSKY P. T cell repertoire diversity and clonal expansions in normal and clinical samples. *Immunol Today* 1995, **16** : 176.
14. SALLUSTO F, LENIG D, FORSTER R, LIPP M, LANZAVECCHIA A. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature* 1999, **401** : 708-712.
15. SEAMAN MS *et al.* Subsets of memory cytotoxic T lymphocytes elicited by vaccination influence the efficiency of secondary expansion *in vivo*. *J Virol.* 2004, **78** : 206-215.



## STRATÉGIES INNOVANTES POUR LE DÉVELOPPEMENT DE NOUVEAUX VACCINS

Laleh MAJLESSI et Claude LECLERC<sup>1</sup>  
Institut Pasteur, Paris

*Dans cet article, les auteurs rappellent utilement les données classiques et exposent avec précision les connaissances actuelles sur le fonctionnement et l'élaboration des nouveaux vaccins. Les vastes et diverses perspectives ainsi ouvertes par les avancées récentes de la biologie moléculaire et de la bio-informatique sont porteuses d'un immense espoir pour tous ceux que préoccupent l'apparition ou la résurgence de maladies infectieuses et par les cancers frappant de nombreuses populations dans le monde.*

### RÉSUMÉ

Malgré les succès remarquables remportés par la vaccination dans l'éradication de la variole et dans la réduction de l'incidence de nombreuses maladies telles que la poliomyélite ou la rougeole, les maladies infectieuses restent la principale cause de décès dans le monde. Les technologies de développement de vaccins utilisées jusqu'à présent, relativement empiriques, s'avèrent aujourd'hui limitées et insuffisantes pour combattre des maladies telles que le paludisme, le syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) ou la tuberculose de l'adulte. De plus, il existe un besoin grandissant en vaccins thérapeutiques capables de traiter des infections chroniques comme le SIDA ou des pathologies comme les cancers. Les avancées récentes dans la compréhension de l'interaction entre les composantes du système immunitaire de l'hôte et les micro-organismes pathogènes, la connaissance grandissante du génome des pathogènes ainsi que le développement de nouvelles technologies permettant de les exploiter ouvrent d'innombrables possibilités d'approches rationnelles pour le développement de nouveaux candidats vaccins.

Pour être efficace, un vaccin doit : (i) induire des réponses immunitaires protectrices chez un large pourcentage d'individus et contre tous les sérotypes du pathogène, (ii) induire une "mémoire immunitaire", (iii) être efficace chez des individus nouveau-nés, adultes ou âgés, et (iv) être stable et dénué d'effet secondaire. Afin de satisfaire à ces critères, il est nécessaire de faire évoluer les méthodes utilisées jusqu'ici pour le développement des candidats vaccins. Nous discuterons ici de certaines propriétés essentielles du système immunitaire ainsi que des applications potentielles de la connaissance grandissante du génome des pathogènes pour la découverte de nouveaux immunogènes protecteurs et pour le développement de nouvelles stratégies d'immunisation.

### I. IMMUNITÉ INNÉE ET IMMUNITÉ ADAPTATIVE : CARACTÉRISTIQUES MAJEURES

De nombreuses cellules et molécules, avec chacune sa fonction biologique unique, sont impliquées dans la défense de l'organisme hôte contre les pathogènes ou les cellules cancéreuses. Ces composantes appartiennent à deux compartiments majeurs du système immunitaire, les compartiments inné et adaptatif. **L'immunité innée** a la particularité d'être rapidement induite, *i.e.*, en quelques minutes après l'exposition aux microorganismes. Les cellules essentiellement impliquées dans le système immunitaire inné sont les granulocytes, les cellules "natural killer" (NK), les macrophages et les cellules dendritiques (DC). À l'opposé, la mise en place de la **réponse immunitaire adaptative** nécessite quelques jours, voire quelques semaines.

Les cellules du système adaptatif sont les lymphocytes B, les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> et T CD8<sup>+</sup>, spécifiques d'antigènes (Ag) dérivés des pathogènes. Les lymphocytes B et T sont des cellules aux propriétés uniques, capables de reconnaître les Ag d'une manière hautement spécifique, due à l'immense diversité de leurs récepteurs pour l'Ag, qui sont l'immunoglobuline (Ig) pour les cellules B et le récepteur pour l'Ag des cellules T (TCR). Les lymphocytes B et T répondent plus rapidement et plus efficacement lors d'une exposition secondaire au même Ag, un phénomène nommé "mémoire immunitaire". Cette dernière constitue la base essentielle de la protection par vaccination préventive. Pour induire une immunité protectrice de longue durée, un vaccin se doit donc non seulement d'activer efficacement les lymphocytes B et T spécifiques des immunogènes protecteurs, mais aussi de stimuler de façon appropriée les cellules de l'immunité innée qui déterminent le type de réponse adaptative induite.

<sup>1</sup> Chef de l'unité de Biologie des régulations immunitaires, INSERM E352, Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, 75015 Paris, France. Tél : 01 45 68 86 18,

télé : 01 45 68 85 40 - Courriel : lmajless@pasteur.fr, cleclerc@pasteur.fr

Nous rappelons que Madame Claude LECLERC a reçu le prix 2004 de la Ligue contre le cancer.



## A. CELLULES DU SYSTÈME IMMUNITAIRE INNÉ

Une cellule souche commune, dérivée de la moelle osseuse, donne naissance aux globules rouges, plaquettes et globules blancs (leucocytes) qui seront déversés dans le sang. Les leucocytes sont constitués de granulocytes, de macrophages, de DC, de lymphocytes (B et T) et de cellules NK. **Les macrophages et les DC** sont les cellules essentielles de l'**immunité innée**. Ils constituent 2 à 5 % des leucocytes du sang et y circulent pendant 1 à 2 jours avant de migrer vers les tissus sans jamais retourner dans le sang. Ces cellules sont spécialisées dans l'échantillonnage et la capture de microorganismes dans leur environnement. Elles appréhendent ensuite les Ag dérivés des pathogènes et créent un contexte pro-inflammatoire dans lequel elles présentent des peptides dérivés de ces Ag aux lymphocytes T par l'intermédiaire des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). **Les macrophages** sont hautement spécialisés dans la capture des Ag de la périphérie et jouent un rôle essentiel dans le contrôle des infections par des bactéries ou parasites intracellulaires. **Les DC**, en plus de la capture efficace de l'Ag, présentent des caractéristiques uniques dans le transfert de l'Ag vers les organes lymphoïdes drainants dans l'apprêtement et la présentation de l'Ag, ainsi que dans l'activation des lymphocytes T. Compte tenu du rôle primordial des DC dans l'induction de la réponse immune primaire et, donc dans la vaccination, nous allons nous y intéresser de plus près.

### 1. Cellules dendritiques

Les DC sont définies par leur morphologie, les molécules exprimées à leur surface et leur capacité unique à attirer les lymphocytes T naïfs<sup>3</sup>, puis à interagir avec eux. Les DC résident notamment au niveau des sites potentiels d'entrée des pathogènes tels que la peau et les surfaces des muqueuses mais sont également présentes dans les organes lymphoïdes [3, 22].

Au repos, les DC dites "immatures" sont spécialisées dans la capture d'Ag. Puis ces cellules appréhendent l'Ag protéique capturé en peptides qu'elles présentent, en association avec des molécules CMH de classe I ou de classe II, aux lymphocytes T. Les DC immatures doivent se différencier en cellules matures pour acquérir la capacité de stimuler les cellules T naïves. C'est l'interaction avec un pathogène ou avec des molécules produites par celui-ci qui induit l'activation et la maturation des DC, ce qui crée un contexte inflammatoire et de co-stimulation, favorable à la présentation antigénique aux lymphocytes T spécifiques. Les DC activées migrent vers les ganglions lymphatiques drainants où l'immunité adaptative est initiée pour éliminer le pathogène, puis pour permettre la mise en place d'une mémoire immunitaire.

Le phénomène de maturation représente une caractéristique majeure des DC. Cette maturation se manifeste par la perte de la capacité de capture de l'Ag et par l'augmentation de

l'expression des molécules de CMH et des molécules de co-stimulation en surface ainsi que par la production des facteurs solubles appelés "cytokine" et "chémokines" pro-inflammatoires. Cet état de maturation confère aux DC la capacité d'activer les lymphocytes T naïfs et, par conséquent, est indispensable à la mise en place de réponses immunes adaptatives.

### 2. Dérivés microbiens activateurs de l'immunité innée

Certains composés dérivés des pathogènes sont capables d'interagir avec des récepteurs exprimés par des cellules de l'immunité innée. Ces molécules possèdent des motifs qui restent invariants d'un microorganisme à un autre. Elles sont absentes chez des organismes multicellulaires évolués, et sont ainsi perçues comme de véritables «signatures moléculaires d'infection». Ces composés constituent de puissants inducteurs de la maturation des DC en interagissant principalement à travers les membres d'une famille de récepteurs, appelés les "Toll-like receptors"<sup>4</sup> (TLR)<sup>4</sup>.

Chez l'homme, onze TLR distincts ont été décrits. L'ADN bactérien, l'ARN simple brin ou double brin viral, des lipopeptides, des lipopolysaccharides et la flagelline sont parmi les principaux ligands dérivés de pathogènes qui interagissent avec les TLR. Un certain nombre de composés synthétiques, mimant ces ligands naturels, sont également capables d'interagir avec ces récepteurs. La signalisation par les TLR active l'expression des gènes codant pour des facteurs pro-inflammatoires [24]. Les DC acquièrent alors la capacité à activer les lymphocytes T, tout en orientant la réponse de ces derniers vers la production des cytokines appropriées, permettant de combattre les agents viraux ou bactériens. Cette induction de la maturation des DC aboutissant à la génération des réponses immunes adaptatives exerce un effet adjuvant sur ces réponses. La connaissance de ces phénomènes est donc indispensable pour la mise au point de vaccins efficaces.

## B. CELLULES DU SYSTÈME IMMUNITAIRE ADAPTATIF

### 1. Lymphocytes B

Les Ig, récepteurs des lymphocytes B pour l'Ag et les Ig sécrétées par ces cellules reconnaissent directement l'Ag. Pour éliminer les microorganismes, les anticorps, Ig spécifiques d'un Ag donné, agissent par divers mécanismes effecteurs : (i) la neutralisation, qui empêche la fixation des bactéries ou des virus à leurs récepteurs sur les cellules épithéliales et qui bloque également l'action des toxines et des enzymes bactériennes. De nombreux vaccins utilisés avec succès, tels que les vaccins contre la variole ou la poliomyélite, protègent l'organisme hôte grâce à la génération d'anticorps neutralisants [37] ; (ii) "l'opsonisation", qui consiste à recouvrir les microorganismes ou les produits microbiens par des anticorps spécifiques. Ce processus peut améliorer, des centaines de fois, l'efficacité de la capture

<sup>3</sup> Lymphocytes T non activés.

<sup>4</sup> Voir l'article du Bulletin : Les récepteurs de la famille Toll et l'activation de la réponse immunitaire innée, 2002, vol. 171, p. 183.



des pathogènes par l'intermédiaire des récepteurs pour les Ig, exprimés par les macrophages et les DC ; (iii) l'activation du système dit du "complément", qui consiste en l'activation en cascade d'un certain nombre d'enzymes effectrices.

## 2. Lymphocytes T

L'immunité à médiation cellulaire implique l'action directe des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> auxiliaires (Th) ou CD8<sup>+</sup> cytotoxiques (CTL). Les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> ou CD8<sup>+</sup> reconnaissent des peptides antigéniques d'une dizaine d'acides aminés, présentés respectivement par des molécules du CMH de classe II ou de classe I. La nature de la réponse à médiation cellulaire est variable. Elle est essentiellement déterminée par le profil des cytokines sécrétées par des lymphocytes T CD4<sup>+</sup>. La différenciation des cellules T CD4<sup>+</sup> naïves en sous-populations de cellules T effectrices a une implication majeure dans la défense de l'hôte. En effet, l'efficacité des cellules T CD4<sup>+</sup>, activées à la suite de l'infection ou de l'immunisation, est non seulement dépendante de leur spécificité mais également de leur phénotype Th1 ou Th2.

● **Les lymphocytes Th1** produisent essentiellement de l'interleukine 2 (IL-2) et de l'interféron  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). Ce type de réponse favorise l'immunité cellulaire et aboutit généralement à une intense activité phagocytaire, primordiale dans le contrôle des pathogènes intracellulaires comme *Mycobacterium tuberculosis*. Une vaccination efficace contre de tels pathogènes, aboutissant à une infection chronique, est corrélée généralement avec l'induction des réponses de type Th1. Il est important de noter que de nombreux ligands de TLR sont de puissants inducteurs de l'expression de l'interleukine IL-12, une cytokine sécrétée par les DC qui joue un rôle clé dans l'orientation des réponses T CD4<sup>+</sup> vers le type Th1.

● **Les réponses de type Th2** favorisent les réactions allergiques aux Ag environnementaux, la résistance aux infections helminthiques et peuvent assurer une fonction auxiliaire pour combattre des maladies dues à l'inflammation. Les cellules T CD4<sup>+</sup> de type Th2 produisent essentiellement les interleukines IL-4, IL-5 et IL-10.

Les paramètres de l'immunisation, *i.e.*, la dose de l'Ag, la voie d'administration et l'adjuvant utilisés, déterminent le phénotype Th1/Th2 de la réponse générée. L'induction de réponses Th1 est généralement possible par injection de faibles doses d'Ag et en utilisant des adjuvants orientant la réponse vers le type Th1, notamment les ligands naturels ou synthétiques des TLR [7].

## II. DÉVELOPPEMENT RATIONNEL DE NOUVEAUX CANDIDATS VACCINS

### A. NOUVELLES STRATÉGIES D'IDENTIFICATION D'IMMUNOGÈNES PROTECTEURS

Plus de 60% des vaccins commercialement disponibles sont des microorganismes atténués ou tués. Les microorganismes

atténués d'intérêt vaccinal peuvent, dans certains cas, présenter un risque de réversion vers l'état de virulence et ainsi, causer des symptômes cliniques, notamment chez des individus immunodéprimés. Par conséquent, de nombreuses approches nouvelles sont basées sur l'identification d'immunogènes protecteurs, dans le but de les administrer après introduction dans des vecteurs d'immunisation sous-unitaires, plus sûrs car non-réplicatifs.

En vaccinologie conventionnelle, l'identification d'Ag protecteurs est en général basée sur la purification des molécules produites par un pathogène et l'analyse de leur reconnaissance par des anticorps ou des cellules T d'individus possédant une immunité protectrice liée, par exemple, à une exposition antérieure. Chaque Ag peut aussi être testé pour sa capacité à induire une immunité protectrice. Cependant, cette approche se heurte à des difficultés pratiques car elle est généralement limitée aux gènes exprimés lors de la culture *in vitro* du pathogène alors que le profil d'expression des gènes pendant l'infection *in vivo* peut être significativement différent.

Des avancées majeures pour l'identification de nouveaux immunogènes sont issues des technologies basées sur la génomique. En effet, le génome de la plupart des pathogènes importants est déjà séquencé ou le sera dans un futur proche [36]. De nombreux outils bioinformatiques ont été développés qui permettent de prédire, en fonction des données intégrées, le profil d'expression, la localisation cellulaire, la fonction ou l'immunogénicité des protéines. L'identification d'immunogènes protecteurs sera, à l'avenir, de plus en plus basée sur l'analyse bioinformatique du génome, combinée à des études d'immunogénicité et de protection dans des modèles animaux, suivies d'études pré-cliniques classiques.

### 1. Identification d'immunogènes T par la bioinformatique

Durant les dernières années, notre compréhension de la structure antigénique reconnue par les récepteurs pour l'Ag des cellules T CD4<sup>+</sup> ou T CD8<sup>+</sup> a évolué de façon notable. La démonstration que les cellules T reconnaissent de courts fragments peptidiques en association avec les molécules du CMH de classe I ou II a ouvert de nouvelles perspectives dans le domaine des vaccins thérapeutiques et prophylactiques. La connaissance des séquences des peptides ou des motifs consensus des peptides présentés par des molécules de CMH a permis d'élaborer de nombreux programmes et algorithmes, capables d'identifier avec précision, sur une protéine ou sur un ensemble de séquences protéiques, de courts motifs antigéniques susceptibles de s'associer avec les molécules de CMH et permettant donc l'identification d'Ag puissants [14, 32]. Cette stratégie a permis, par exemple, d'identifier des centaines de motifs antigéniques T du VIH et de *Mycobacterium tuberculosis* [13].

### 2. Un exemple d'identification d'immunogènes pour les lymphocytes B

Une des études pionnières, basées sur l'identification d'immunogènes par la bioinformatique, a concerné le séro-



groupe B de *Neisseria meningitidis*, un des agents responsables des méningites. Dans cette étude, les gènes codant potentiellement pour des protéines sécrétées ou exportées en surface de ces méningocoques, ont d'abord été identifiés par analyse informatique [28]. De plus, dans une étude parallèle, les gènes dont l'expression augmente à la suite de l'interaction avec les cellules de l'hôte ont été également identifiés [19]. Les gènes ainsi repérés ont été clonés et exprimés, les protéines correspondantes ont été purifiées et des immun-sérums spécifiques ont été préparés contre chacune de ces protéines. L'utilisation de ces immun-sérums a permis d'identifier des protéines immunogènes nouvelles qui s'expriment à la surface des méningocoques lors de l'infection de l'organisme hôte. L'immunisation de souris par les immunogènes ainsi identifiés a montré l'efficacité d'un certain nombre d'entre eux dans la protection contre l'infection par des méningocoques [11]. Certaines de ces molécules sont en cours de validation clinique.

### 3. Un exemple d'identification d'immunogènes pour les lymphocytes T

Une nouvelle stratégie élégante d'identification d'Ag est le "T cell expression cloning" qui a été utilisé sur *Mycobacterium tuberculosis*. Le but de cette technique sensible est d'identifier des Ag protecteurs reconnus par les lymphocytes T humains. Dans cette technologie, une banque d'ADN de *M. tuberculosis* est clonée dans des bactéries *Escherichia coli*. Les clones d'*E. coli* de la collection ainsi obtenue sont individuellement analysés pour leur capacité à être apprêtés par les DC et à être présentés à des lymphocytes T des donneurs appropriés, protégés contre la tuberculose. Les clones d'*E. coli* effectivement capables de stimuler de tels lymphocytes T sont repérés et le gène hétérologue de *M. tuberculosis* qu'ils portent est séquencé, permettant l'identification de l'Ag ainsi reconnu. Certains immunogènes ainsi identifiés ont été utilisés comme vaccins sous-unitaires et ont été capables d'induire des réponses T CD4<sup>+</sup> de type Th1 et des réponses T CD8<sup>+</sup> et ont induit des taux de protection hautement significatifs dans des modèles animaux [35].

### 4. Complémentation génétique de vaccins vivants atténués : l'exemple du BCG

D'après l'estimation faite par l'Organisation Mondiale de la Santé, un tiers de la population mondiale est infecté par *M. tuberculosis*. Cette bactérie intracellulaire a été responsable, durant la dernière décennie, de 8 millions de nouveaux cas d'infection par an, aboutissant à 2 millions de morts chaque année. Le seul vaccin actuellement disponible, le Bacille de Calmette et Guérin (BCG), un mutant atténué de *Mycobacterium bovis*, s'avère d'efficacité variable, voire très limitée dans certaines régions (0—80% d'immunité protectrice), notamment chez les sujets adultes. La nécessité de mettre au point un vaccin plus efficace contre *M. tuberculosis* s'est encore renforcée avec la résurgence de la tuberculose chez les patients atteints du SIDA ainsi qu'avec l'apparition des résistances multiples de *M. tuber-*

*culosis* aux antibiotiques. Le BCG a été élaboré par des passages répétés en laboratoire d'un isolat de *M. bovis* jusqu'à perdre sa pathogénicité dans des modèles animaux. Il a été ensuite utilisé chez l'homme comme vaccin anti-tuberculeux. La base génétique de l'atténuation du BCG par rapport à *M. bovis* parental est maintenant élucidée. Cette atténuation est due à la perte de certaines régions chromosomiques. En effet, des études de génomique comparative ont identifié 14 régions chromosomiques appelées "RD" (region of difference) qui sont présentes dans *M. tuberculosis* mais absentes du BCG [9]. La région RD1 offre un intérêt particulier car elle est absente du génome de toutes les souches mycobactériennes avirulentes. RD1 code, entre autres, pour des immunogènes très puissants comme l'Ag ESAT-6 (Early Secreted Antigenic Target, 6 kDa). Une approche originale pour améliorer l'efficacité du BCG a été initiée à l'Institut Pasteur par l'équipe de Stewart T. COLE. Cette approche a consisté à réintroduire la région RD1 dans le génome du BCG [30] ou de *M. microti*, une autre souche mycobactérienne naturellement atténuée et d'intérêt vaccinal [8], de façon stable par manipulation génétique. Comparé au BCG parental, le BCG complétement par la région RD1 (BCG::RD1) montre un certain degré de virulence et de persistance accrue chez des souris immunocompétentes et, notamment, induit de fortes réponses Th1 spécifiques des immunogènes codés par RD1 chez des souris vaccinées. Cette immunogénicité, ainsi que l'augmentation de la persistance du BCG::RD1, sont en corrélation directe avec la capacité protectrice significativement accrue du BCG::RD1 contre l'inoculation ultérieure ou secondaire de *M. tuberculosis* chez la souris et chez le cobaye [31].

Nous avons récemment montré que, contrairement au BCG parental, le BCG::RD1 a la particularité d'induire le recrutement de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> et T CD8<sup>+</sup> de phénotype activé/effecteur et de DC matures produisant des cytokines et chémokines inflammatoires. La présence de RD1 dans le génome du BCG entraîne donc des modifications profondes de l'interaction entre les mycobactéries et les composantes innées et adaptatives du système immunitaire de l'hôte qui pourraient expliquer la capacité accrue du BCG::RD1 à promouvoir une immunité protectrice contre *M. tuberculosis* [23].

## B. NOUVELLES STRATÉGIES D'IMMUNISATION

L'identification de nouveaux immunogènes représente seulement une des étapes du développement d'un vaccin. En effet, la plupart des Ag, qu'ils soient basés sur des protéines recombinantes purifiées, des peptides synthétiques ou des conjugués saccharidiques ne sont que faiblement immunogènes s'ils sont injectés seuls et nécessitent l'administration conjointe d'adjuvant afin d'induire des réponses immunitaires optimales. De plus, il est nécessaire de sélectionner un adjuvant qui favorise l'induction des mécanismes effecteurs appropriés impliquant les anticorps, les CTL ou les réponses T CD4<sup>+</sup> Th1/Th2, selon le pathogène à combattre. Un adjuvant peut



également être utilisé pour prolonger la durée de la mémoire immunitaire ou pour favoriser des réponses immunes au niveau des muqueuses.

### 1. Adjuvants

Bien qu'un large nombre d'adjuvants d'origines très diverses aient été testés dans des modèles expérimentaux, les sels d'aluminium sont actuellement les seuls adjuvants utilisés chez l'homme. Un grand nombre de nouveaux adjuvants est cependant actuellement en études pré-cliniques ou cliniques [1, 25, 34]. Certains de ces adjuvants sont basés sur des émulsions telles que l'adjuvant incomplet de Freund, avec ou sans addition de composés immunostimulants. D'autres, formulés comme émulsions d'eau dans huile, ou d'huile dans eau, utilisant des huiles minérales ou non minérales métabolisables, sont à l'étude avec divers immunogènes [25].

Bien que les adjuvants soient largement utilisés en vaccination, leur mécanisme d'action reste peu élucidé. Des études récentes commencent à décrypter les bases cellulaires et moléculaires de leurs effets immunologiques, ouvrant ainsi la voie aux approches rationnelles dans la mise au point de nouveaux adjuvants sûrs et efficaces.

De nombreuses données acquises ces dernières années indiquent que la plupart des adjuvants exercent leur effet à travers les TLR exprimés par des cellules du système immunitaire inné. Stimuler les TLR par des adjuvants microbiens comme l'ADN bactérien ou son équivalent synthétique favorise la maturation des DC, leur permettant l'activation de réponses lymphocytaires T de type Th1. De nombreuses études sont en cours afin de déterminer si la stimulation à travers les différents TLRs peut aboutir à l'activation ou à la régulation différentielle des réponses immunitaires. Ces études ouvriront ainsi la possibilité de disposer de composés définis, permettant la manipulation précise des réponses immunitaires.

D'importants efforts sont également déployés pour identifier des adjuvants capables de promouvoir sélectivement des réponses immunes au niveau des muqueuses. Des toxines bactériennes, comme la toxine cholérique ou la toxine thermolabile de *E. coli*, génèrent de fortes réponses immunes quand elles sont administrées avec des Ag protéiques purifiés par voie muqueuse ou encore directement appliquées sur la peau intacte. Cependant, la limite majeure concernant l'utilisation de telles entérotoxines est liée à leur toxicité, particulièrement vis-à-vis du système nerveux central [17]. Certaines toxines ont été génétiquement détoxifiées et leur tolérance est en cours d'évaluation dans des essais pré-cliniques ou cliniques.

### 2. Ciblage des Ag vers les cellules dendritiques

Certaines molécules exprimées à la surface des DC peuvent être utilisées comme cibles par des vecteurs vaccinaux afin de délivrer les Ag spécifiquement vers ces cellules présentatrices d'Ag. Cette stratégie améliore considérablement l'effica-

cité de la capture des immunogènes. Nous avons montré qu'une toxine bactérienne produite par la bactérie *Bordetella pertussis*, appelée l'adenylate cyclase, est capable de cibler les DC en se fixant sur une molécule de surface appelée CD11b [20, 21]. Des immunogènes d'intérêt vaccinal peuvent être génétiquement insérés dans des sites bien caractérisés d'une forme détoxifiée de cette molécule. Le vecteur d'immunisation qui en résulte préserve sa capacité à se fixer sur CD11b à la surface des DC. Une partie de la structure de ce vecteur, portant l'Ag inséré, est ensuite transférée vers le cytoplasme des DC. L'Ag se trouve alors capable de gagner les voies de présentation antigénique par les molécules de CMH classe I et classe II.

Ce vecteur vaccinal est hautement efficace dans la génération des réponses CTL et Th1 spécifiques de toute une variété d'épitopes viraux et tumoraux [12, 15, 16]. Des réponses protectrices préventives ou thérapeutiques ont été obtenues chez la souris contre l'infection par le virus de la chorioméningite lymphocytaire [33] et, plus récemment, contre le papillomavirus responsable de l'induction du cancer du col d'utérus [29].

### 3. Utilisation des pseudo-particules virales pour délivrer l'Ag aux cellules dendritiques

Nous avons récemment mis au point un nouveau vecteur constitué de pseudo-particules virales recombinantes dans lesquelles il est possible d'insérer génétiquement des Ag d'intérêt vaccinal. Ces pseudo-particules, dérivées d'un parvovirus, sont dépourvues de matériel génétique (ADN) et sont, par conséquent, non répliquatives et sûres. Injectées chez la souris, ces pseudo-particules recombinantes, portant un Ag "reporter"<sup>5</sup>, sont capables d'induire de fortes réponses CTL en l'absence de tout adjuvant<sup>5</sup>. La très grande immunogénicité de ces particules est corrélée avec leur forte capture *in vivo* par les DC. Une fois internalisées, ces particules entrent efficacement dans la voie de présentation antigénique CMH de classe I des DC [26, 27]. Des études sont actuellement en cours dans notre laboratoire pour élucider les bases de l'efficacité et le mode d'action de ces pseudo-particules virales qui constituent un nouvel outil prometteur pour la mise au point de nouvelles stratégies de vaccination prophylactique ou thérapeutique.

### 4. Utilisation des microorganismes vivants atténués comme vecteurs d'immunisation

Des virus ou des bactéries intracellulaires atténués, génétiquement manipulés pour exprimer des Ag hétérologues, peuvent être utilisés comme vecteurs pour délivrer des immunogènes au système immunitaire. De tels vecteurs d'immunisation ont l'avantage d'être peu coûteux à produire, permettant une distribution à large échelle. L'utilisation de vecteurs viraux ou bactériens atténués est également attractive car ces vecteurs peuvent générer à la fois une protection contre le pathogène dont ils sont dérivés et une immunité contre l'immunogène hétérologue qu'ils portent. Le risque potentiel de réversion vers

<sup>5</sup> Un antigène pour lequel on dispose d'outils de détection.



l'état de virulence des vecteurs vivants atténués peut être totalement éliminé ou considérablement réduit par l'inactivation et/ou la délétion des gènes impliqués dans la virulence.

Les vecteurs bactériens les plus étudiés actuellement sont les *Salmonella*, les *Listeria*, les *Shigella* et le BCG. Ce dernier représente un vecteur très sûr pour délivrer des Ag hétérologues. En effet, avec plus de trois milliards de doses administrées, le BCG est le vaccin le plus utilisé dans le monde, sans effet secondaire majeur. Des gènes codant pour de nombreux immunogènes hétérologues ont été introduits dans le génome du BCG. Des BCG recombinants portant des Ag viraux (Virus d'Immunodéficience Humain ou Simien), bactériens (*Bordetella pertussis*, *Corynebacterium diphtheriae*) ou parasitaires (*Leishmania major*, *Plasmodium falciparum*) ont été capables de générer des réponses humorales et cellulaires et notamment la production de l'IFN- $\gamma$ . Il est à noter que l'existence d'une immunité préalable contre le BCG ne constitue pas une limite à l'induction d'une immunité à un Ag hétérologue délivré par le BCG [18].

L'infection virale aboutit à la pénétration efficace du virus dans le cytoplasme des cellules hôtes et à la présentation d'Ag produit par ce virus par les molécules de CMH de classe I. Il est possible d'introduire dans le génome des virus, des gènes codant pour un ou plusieurs immunogènes hétérologues. La sûreté du vaccin sera basée sur : (i) la restriction à l'hôte naturel du virus utilisé ou (ii) son atténuation par de nombreux passages ou par la manipulation génétique. Des vecteurs viraux optimaux doivent générer une réponse immune anti-virale limitée pour éviter leur élimination rapide par les réponses immunitaires de l'hôte [6]. Des rétrovirus, alphavirus, adénovirus, le virus *Herpes simplex*, ceux de la vaccine, de la rougeole ou de la fièvre jaune et des virus adéno-associés constituent les principaux vecteurs viraux actuellement à l'étude. Parmi les virus de la vaccine, on peut notamment citer le «Modified Vaccinia Virus Ankara» (MVA), fortement atténué, qui est utilisé dans de nombreux essais pré-cliniques et cliniques et qui a montré son efficacité pour induire des réponses immunes anti-VIH dans des modèles de primates non humains [2].

### 5. Stratégie de primo-immunisation suivie d'une injection de rappel hétérologue

Les protocoles d'immunisation ont consisté jusqu'ici en une ou plusieurs administrations du même vaccin. Récemment, une nouvelle stratégie basée sur une primo-immunisation suivie d'une injection de rappel hétérologue s'est montrée d'une efficacité remarquable dans l'induction de réponses

immunitaires à médiation cellulaire. Il s'agit d'immuniser les individus contre le même immunogène, présenté successivement dans le contexte de deux vecteurs différents. On peut citer, par exemple, l'obtention d'une protection complète et de longue durée contre le paludisme chez des souris immunisées par un adénovirus recombinant exprimant un Ag de *Plasmodium yoelli*, puis recevant une injection de rappel du virus de la vaccine atténué exprimant le même Ag paludéen [10].

En conclusion, les progrès importants réalisés récemment dans la compréhension de la mise en place et des mécanismes d'action de l'immunité innée et acquise, ainsi que les améliorations technologiques dans le développement de nouveaux moyens d'immunisation, permettent de prédire des avancées spectaculaires dans l'élaboration de nouveaux vaccins.

### ABSTRACT

Despite important success of preventive vaccination in eradication of smallpox and in reduction in incidence of poliomyelitis and measles, infectious diseases remain the principal cause of mortality in the world. Technologies used in development of vaccines used so far, mostly based on empirical approaches, are limited and insufficient to fight diseases like malaria, acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) or adult tuberculosis. Moreover, there is urgent need for therapeutical vaccines able to treat infectious diseases already installed and for efficacious vaccines for immunotherapy of non-infectious diseases like cancers. Recent advances in the understanding of the interactions between components of the host immune system and pathogenic microorganisms, large body of data on genome of pathogens, as well as the development of new technologies allowing exploitation of these data, offer tremendous possibilities of rational approaches for generation of new vaccine candidates.

**Mots Clés (Français) :** Vaccins, Cellules Dendritiques, Immunogènes Protecteurs, Identification d'Antigènes, Lymphocytes, Vecteurs d'Immunisation.

**Mots Clés (Anglais) :** Vaccines, Dendritic Cells, Protective Immunogens, Antigen Identification, Lymphocytes, Immunization Vectors.



## BIBLIOGRAPHIE<sup>6</sup>

1. AGUADO T, ENGERS H, PANG T *et al.* *Vaccine* 1999, **17**, 2321-2328.
2. AMARA RR, VILLINGER F, ALTMAN JD *et al.* *Science* 2001, **292**, 69-74.
3. BANCHEREAU J, BRIERE F, CAUX C *et al.* *Annu Rev Immunol.* 2000, **18**, 767-811.
4. BEUTLER B. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2003, **43**, 609-628.
5. BOISGÉRAULT F, MORON G, LECLERC C. *Expert Rev Vaccines* 2002, **1**, 101-109.
6. BONNET MC, TARTAGLIA J, VERDIER F *et al.* *Immunol Lett.* 2000, **74**, 11-25.
7. BRETSCHER PA, HAMILTON D, OGUNREMI O. *Expert Rev Vaccines* 2002, **1**, 179-192.
8. BRODIN P, MAJLESSI L, BROSCHE R *et al.* *J Infect Dis.* 2004, **190**, 115-122.
9. BROSCHE R, GORDON SV, PYM A *et al.* *Int J Med Microbiol.* 2000, **290**, 143-152.
10. BRUNA-ROMERO O, GONZALEZ-ASEGUINOLAZA G, HAFALLA JCR *et al.* *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001, **98**, 11491-11496.
11. COMANDUCCI M, BAMBINI S, BRUNELLI B *et al.* *J Exp Med.* 2002, **195**, 1445-1454.
12. DADAGLIO G, MOREL S, BAUCHE Z *et al.* *Int Immunol.* 2003, **15**, 1423-1430.
13. DE GROOT AS, BOSMA A, CHINAI N *et al.* *Vaccine* 2001, **19**, 4385-4395.
14. FALK K, RÖTZSCHKE O, STEVANOVIC S *et al.* *Nature* 1991, **351**, 290-296.
15. FAYOLLE C, LADANT C, KARIMOVA G *et al.* *J Immunol.* 1999, **162**, 4157-4162.
16. FAYOLLE C, OSICKOVA A, OSICKA R *et al.* *J Virol.* 2001, **75**, 7330-7338.
17. FUJIIHASHI K, KOGA T, VAN GINKEL FW *et al.* *Vaccine* 2002, **20**, 2431-2438.
18. GHEORGHIU M, LAGRANDEIRIE MR, GICQUEL BM *et al.* *Infect Immun.* 1994, **62**, 4287-4295.
19. GRIFANTINI R, BARTOLINI E, MUZZI A *et al.* *Nat Biotechnol.* 2002, **20**, 914-921.
20. GUERMONPREZ P, KHELEF N, BLOUIN E *et al.* *J Exp Med.* 2001, **193**, 1035-1044.
21. GUERMONPREZ P, LADANT D, KARIMOVA G *et al.* *J Immunol.* 1999, **162**, 1910-1916.
22. GUERMONPREZ P, VALLADEAU J, ZITVOGEL L *et al.* *Annu Rev Immunol.* 2002, **20**, 621-667.
23. MAJLESSI L, BRODIN P, BROSCHE R *et al.* *J Immunol.* 2005, **174**, 3570-3579.
24. MEDZHITOV R, PRESTON-HURLBURT P, KOPP E *et al.* *Mol Cell.* 1998, **2**, 253-258.
25. MOINGEON P, HAENSLER J, LINDBERG A. *Vaccine* 2001, **19**, 4363-4372.
26. MORON G, RUEDA P, CASAL I *et al.* *J Exp Med.* 2002, **195**, 1233-1245.
27. MORON VG, RUEDA P, SEDLIK C *et al.* *J Immunol.* 2003, **171**, 2242-2250.
28. PIZZA M, SCARLATO V, MASIGNANI V *et al.* *Science* 2000, **287**, 1816-1820.
29. PRÉVILLE X, LADANT D, TIMMERMAN B *et al.* *Cancer Research* 2005, **65**, 641-649.
30. PYM AS, BRODIN P, BROSCHE R *et al.* *Mol Microbiol.* 2002, **46**, 709-717.
31. PYM AS, BRODIN P, MAJLESSI L *et al.* *Nat Med.* 2003, **9**, 533-539.
32. ROTZSCHKE O, FALK K, STEVANOVIC S *et al.* *Eur J Immunol.* 1991, **21**, 2891-2894.
33. SARON MF, FAYOLLE C, SEBO P *et al.* *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997, **94**, 3314-3319.
34. SINGH M, O'HAGAN D. *Nat Biotech.* 1999, **17**, 1075-1081.
35. SKEIKY YA, OVENDALE PJ, JEN S *et al.* *J Immunol.* 2000, **165**, 7140-7149.
36. SODOYER R, GUY B, BURDIN N *et al.* *Annales Institut Pasteur Actualités* 2002, 119-133.
37. ZINKERNAGEL RM. *Annu Rev Immunol.* 2003, **21**, 515-546.

<sup>6</sup> La bibliographie complète avec le nom de tous les auteurs est disponible sur demande au secrétariat de notre Association.



## IL Y A VINGT ANS DISPARAISAIT JACQUES OUDIN (1908-1985)

Guy BORDENAVE<sup>1</sup>

*Le Professeur Guy BORDENAVE, élève et disciple de Jacques OUDIN, évoque avec ferveur la vie et l'oeuvre de ce grand pastorien qui a fortement contribué à l'avancée des connaissances en immunologie, tant par ses innovations techniques (dont la méthode d'immuno-précipitation en milieu gélyfié) que par ses études sur la diversité antigénique des protéines sériques au sein d'une même espèce animale (allotypie des protéines, idiotypie des anticorps). A travers la description de son oeuvre scientifique, il nous montre les qualités de l'homme, en soulignant sa pensée lucide et sa rigueur intellectuelle.*

### I. INTRODUCTION

Voilà bien longtemps maintenant que nous ne rencontrons plus, dans les allées de cet Institut, cette haute silhouette caractéristique qui, pour nous, fut tellement familière et marquante d'une époque, comme le furent l'éminent scientifique et l'homme de caractère. En paraphrasant un ancien Président de la République, on peut considérer qu'avec la disparition de Monsieur OUDIN, l'immunologie s'est trouvée comme orpheline. Cela procure le sentiment d'avoir assisté, en reprenant des termes en usage en géologie, au dépôt d'une stratification significative. Bientôt, rares seront ceux qui l'auront connu ou côtoyé. Il en résulte un pincement au coeur : n'y a-t-il une part d'injustice dans l'indifférence qu'entraîne ce renouvellement des générations ? Il faudra aussi considérer qu'ayant tellement pris l'habitude de l'appeler ainsi, je ne puisse le désigner autrement que par l'appellation de "Monsieur OUDIN". Les différentes tentatives auxquelles je me suis livré m'ont vite convaincu de l'inanité, sinon de la prétention qu'il y aurait de ma part à une autre attitude. Je n'ai point échappé à la règle ordinaire qui veut qu'une brisure définitive soit souvent nécessaire pour que pleine mesure soit prise de la présomption qu'il y a à imaginer pouvoir, sans risque de profond attachement, tant d'années durant, banalement cheminer aux côtés d'une personnalité d'une telle envergure.

Dans toute la splendeur de la formulation, il s'agissait de quelqu'un pleinement à sa place. Il ne me donna jamais l'impression d'avoir souffert du réductionnisme, qui en assombrit beaucoup, ce tribut acquitté par les sciences pour s'extirper de l'ornière de la tentation castratrice de la préhension globale de l'univers. Sa sagesse l'inclinait à se cantonner aux domaines qu'il avait ouverts, qu'il maîtrisait, qu'inlassablement il revêtait d'un lustre nouveau et à partir desquels il lança bien des pseu-

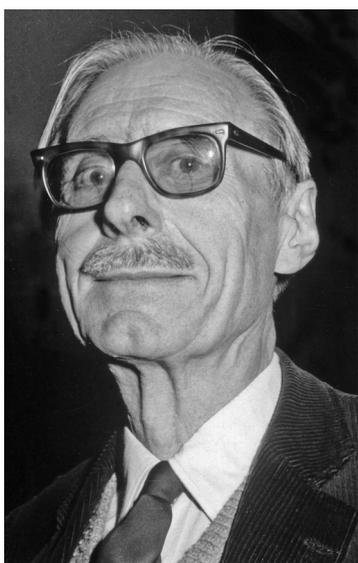


Figure 1 : Monsieur OUDIN en 1983  
(Coll. Institut Pasteur 720)

dopodes. Un des traits saillants de son esprit était d'aller droit à l'essentiel des choses, de percer d'emblée la vérité et la justesse de la réalité. Quel trouble que de partager une portion de vie avec un être qui avait à ce point quelque chose de fondé à dire et participa si puissamment au développement de l'immunologie. On sait mieux aujourd'hui le fabuleux papillon que recélait cette chrysalide dont la métamorphose n'est toujours pas achevée puisque la décennie à peine écoulée ne fut pas sans nous apporter surprises et émerveillements au sujet de la sophistication que ce système comportait. Connut-il quelquefois la sérénité de ceux qui peuvent estimer avoir justifié leur vie ? Je l'ignore. Tout comme je ne sais s'il poursuivait, comme il m'arrive parfois, cette exténuante et insaisissable chimère. Il fut sûrement doté de plus de clairvoyance. Cependant, aussi éloigné soit-on des astreintes ou autres obligations de la société, on ne peut négliger notre appartenance à une espèce animale qui se distingue, en particulier, par un impérieux besoin de la reconnaissance de ceux de sa communauté. Les membres de cette catégorie animale sont également surprenants en ce qu'ils considèrent avec une attention accrue tout congénère qui s'est distingué en quelque manière que ce soit, comme s'il avait alors franchi un seuil, approché une parcelle de vérité. Les humains aiment aussi le poli des marbres funéraires. La mort de quelqu'un ouvre généralement l'écluse de la reconnaissance. Pour Monsieur OUDIN, cette reconnaissance, bien que tardive et par beaucoup jugée incomplète, l'honora durant l'exercice de ses fonctions. Il ressentit sa cessation d'activité professionnelle comme une amputation ; d'ailleurs, disait-il, "la vieillesse est une humiliation et je pars à l'âge [soixante-dix ans] qu'avait mon patron [Michel WEINBERG] lorsqu'il m'accepta chez lui". Oui, l'heure du départ fut cruelle. La vie d'un homme est bien brève, en effet, en regard d'une activité où la curiosité intellectuelle est à ce point exaltée. Elle était saisissante, la lumière qui éclairait son visage lorsqu'il nous enseignait, lui qui fut en permanence à l'affût des faits et passionné par les situations inattendues, de "suivre la trace", usant en cela d'une expression de vénérie, de toute observation nouvelle.

Ce fut un empiriste quasi exclusif qui vouait et enseignait une soumission inconditionnelle au principe philosophique de BOSSUET que LOUIS PASTEUR aurait voulu voir gravé au front de tous les laboratoires : "le plus grand dérèglement de l'esprit est de croire les choses parce qu'on veut qu'elles soient". Il est courant de dire que tout chercheur digne de ce

<sup>1</sup> Professeur associé honoraire à l'Institut Pasteur, ancien chef de l'unité d'Immunophysiologie moléculaire à l'Institut Pasteur, ancien Directeur de recherche au CNRS.



nom est, sans aucune intention péjorative dans l'appellation, un être singulier. Toujours dans le sens le plus noble du terme, Monsieur OUDIN fut singulier, assurément, comme doivent en conserver le souvenir les étudiants qui se succédèrent à ses cours à l'Institut Pasteur. Il se comporta aussi en homme de caractère, dans l'acception gaullienne du terme. La préoccupation de la qualité et de l'originalité dans la production de son laboratoire le souciait en permanence. Ardent défenseur de la langue française, il nous fallait déployer un soin constant à bien l'utiliser puisque, bien sûr, c'est dans l'application stricte des règles que réside l'assurance d'être justement compris. Souvent, il nous répétait ce précepte de BOILEAU :

“Ce qui se conçoit bien s'énonce clairement

Et les mots pour le dire viennent aisément”

qui éveillait encore de forts échos chez les anciens lycéens de notre génération. Il nous disait aussi "La beauté du style scientifique se trouve dans la répétition. Il ne faut jamais hésiter à exprimer autant de fois que nécessaire le même mot lorsqu'on veut désigner une même chose car, si l'on emploie des mots différents, on donne l'impression au lecteur qu'on veut parler d'autre chose. Plus que dans toute autre discipline, il est indispensable, en sciences, de s'accorder sans ambiguïté sur le sens des mots qu'on utilise". Comme toute injustice le voyait s'indigner véhémentement, il s'engagea activement dans l'association *Amnesty International* et embrassa pleinement la cause de la reconnaissance du génocide arménien. La peinture représentait l'un de ses violons d'Ingres et ses aquarelles dénotaient un talent certain. Il vouait une véritable passion à la navigation de plaisance. En avons-nous effectué, en récits, des périples en mer Egée ! L'avons-nous goûté ce silence incomparable dans l'immensité bleue avec le seul bruissement du vent léger dans la voile !

Avant d'aborder la description de son oeuvre scientifique, il me paraît essentiel de préciser qu'il convient de distinguer deux périodes indépendantes dans sa créativité : celle où la démarche intellectuelle a été *a priori*, précédant l'expérimentation - c'est l'époque pour laquelle il gardera toujours une tendresse un peu secrète de l'analyse immunochimique en milieu gélatiné - et celle où cette démarche a été *a posteriori*, suivant l'observation des faits - c'est là que s'inscrivent allotypie et idiotypie. Ces deux périodes ne découlent pas l'une de l'autre et Monsieur OUDIN s'insurgeait contre ceux qui, englobant tout dans une vision faussement synthétique, prétendaient savoir mieux que lui si la mise en évidence de l'allotypie et celle de l'idiotypie procédaient ou non de l'analyse immunochimique en milieu gélatiné. Il affirmait, souvent de méchante humeur, qu'il aurait découvert l'allotypie des protéines et l'idiotypie des anticorps même s'il n'avait pas disposé de la méthode d'analyse immunochimique. Certes, la méthode lui rendit, dans l'avancement technique de sa recherche et l'illustration de ses résultats, le service qu'à notre époque on peut attendre de méthodes qualitatives et quantitatives telles que les dosages radio-immunologique ou enzymo-immunologique, mais elle n'apporta rien du point de vue conceptuel.

## II. L'ANALYSE IMMUNOCHIMIQUE PAR PRÉCIPITATION “ANTIGÈNE-ANTICORPS” EN MILIEU GÉLIFIÉ.

Après la mort de Michel WEINBERG (celui qu'il appelait son premier patron), Monsieur OUDIN entra dans le laboratoire de Chimie microbienne dont le responsable était Pierre GRABAR. Il s'agissait, à l'époque, d'un des rares endroits où étaient appliquées les méthodes d'immunochimie quantitative et, plus

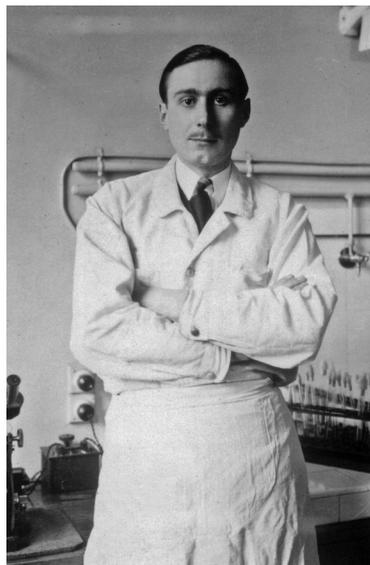


Figure 2 : Monsieur OUDIN, dans son laboratoire, aux premiers temps de sa carrière de chercheur (vers 1935) (Coll. Institut Pasteur 1207)

précisément, celle de HEIDELBERGER et KENDALL qui reposait sur le dosage de l'azote dans les précipités spécifiques obtenus par mélange d'antigène et d'anticorps en des proportions variables. Ces méthodes étaient, certes, très utiles dans l'étude des réactions où un seul antigène intervenait avec ses anticorps mais étaient presque toujours inefficaces lorsque plusieurs antigènes participaient à la réaction, ce qui fait que l'immunochimie ne servait quasiment jamais à l'étude des mélanges d'antigènes.

Identification des antigènes dans un mélange où ils donnent des zones de précipitation distinctes

Monsieur OUDIN se pencha sur ce défi qui préoccupait les immunologistes de son temps : la mise au point d'une méthode simple qui permettrait, en le moins d'opérations possibles, de dénombrer et d'identifier les antigènes d'un mélange grâce aux anticorps dirigés contre eux. Il y apporta une solution magistrale. Il eut l'idée de remplacer le milieu liquide dans lequel on réalisait jusque-là les réactions de précipitation “antigène-anticorps” par un milieu gélatiné qui, en freinant la sédimentation et en empêchant les mouvements de convection, devait permettre de vérifier la justesse de la perception qu'il avait du comportement de plusieurs antigènes différents, réagissant en même temps, dans un même milieu gélatiné, avec leurs anticorps respectifs : ils donneraient naissance à des zones distinctes de précipitation qui évolueraient indépendamment. Il nous conta qu'il confia sa conviction à Catherine, son épouse : “Je crois que j'ai fait une découverte”. J'imagine son émoi en ce moment fabuleux qui peut légitimer une existence entière ou, du moins, l'embellir grandement, émoi comparable à celui de Louis PASTEUR, préparant sa thèse de doctorat, lorsqu'il sépara à la pince, en fonction de l'orientation soit à gauche, soit à droite de leurs facettes, les cristaux de paratartrate double de soude et d'ammoniaque et constata que leurs solutions séparées déviaient la lumière polarisée, l'une vers la gauche, l'autre vers la droite, alors que leur mélange en quantités égales donnait une solution optiquement indifférente. La réaction de PASTEUR est bouleversante. Le choc fut si violent qu'il se précipita hors du laboratoire et, rencontrant un assistant de chimie, le saisit dans ses bras et s'écria : “Je viens de faire une grande découverte... je suis si heureux que je suis tout tremblant et que je ne peux remettre mes yeux au polarimètre”. Ô extraordinaire moment d'élection ! Dans quel coeur de chercheur, même lorsque la



trouvaille est beaucoup plus modeste, cela n'a-t-il chanté ? Bonheur qui domine tellement tous les autres, bonheur indigne, bonheur absolu ! PASTEUR était bel et bien conquis et cet impétueux tourbillon allait engager toute sa vie.

Monsieur OUDIN, dont je ne connais pas mieux la réaction, mit ainsi au point, en 1946, **la méthode d'analyse immunochimique par précipitation "antigène-anticorps" en milieu gélifié** [1, 2]. Il en établit les lois quantitatives et les règles générales. Pendant plus d'un quart de siècle, elle fut l'unique méthode au monde pour dénombrer et identifier les antigènes. Elle permettait en outre de doser antigènes et anticorps. Il ne faut pas croire que cette mise au point (sur le principe et la description de laquelle il soutint sa thèse de doctorat d'Etat) fut un long fleuve paisible. Il éprouva beaucoup de mal, malgré tant et tant de démonstrations expérimentales administrées par l'étude de plusieurs systèmes simples qui, invariablement, donnaient toujours le même résultat, à en faire admettre une des lois fondamentales, à savoir qu'**un antigène ne donne qu'une zone de précipitation avec les anticorps susceptibles de le précipiter**, en dépit du fait que ces anticorps soient hétérogènes. Les esprits étaient influencés par l'idée, qui prévalait à cette époque, que les zones multiples de précipitation observées dans des réactions en milieu gélosé relevaient du phénomène de précipitation périodique observé par LIESEGANG en 1896 en faisant diffuser l'un vers l'autre du bichromate de potassium et du nitrate d'argent dans un milieu gélifié. Il comparait volontiers la lutte (car cela en fut une) qu'il mena à ce sujet à la bataille dans laquelle s'engagea Louis PASTEUR contre l'idée de génération spontanée de la vie.

Les extensions de cette méthode se succédèrent néanmoins rapidement à l'échelle internationale. Elle fournit un des outils de base à l'immunologie fondamentale et à l'immunologie clinique et connut, comme il le soulignait avec quelque ironie teintée de mélancolie, grande fortune sous d'autres noms que le sien. Il lui arrivait de regretter d'avoir dit publiquement : "il faudra un jour appliquer le courant électrique là-dedans". C'était la porte ouverte à l'analyse immuno-électrophorétique qui, finalement, sera réalisée par d'autres. D'ailleurs, lorsqu'on consulte ses documents de laboratoire que sa famille a déposés au service des Archives scientifiques de l'Institut Pasteur, on constate qu'il pratiquait des expériences en ce sens, qui furent interrompues (c'est frappant) en 1954, immédiatement après la description d'une réalisation due à d'autres auteurs. Il nous livra un jour qu'il regrettait la dédicace qu'il avait réservée à Pierre GRABAR (alors son chef de service) en lui remettant un tiré à part de son article princeps [1] extrait des comptes-rendus des séances de l'Académie des Sciences : "A Pierre GRABAR, le grand-père de cette méthode". Il considérait qu'elle n'était pas justifiée. Il reprochait à Pierre GRABAR d'avoir eu cette remarque affligeante : "C'était dans l'air" qui masquait à peine une tendance au discrédit de l'importance de la découverte, peut-être même un certain regret, une certaine envie.

Une difficulté : la discontinuité de la pénétration de la zone de précipitation

Puis il y eut le problème de la discontinuité importante et brutale que présente, dans certaines conditions, la pénétra-

tion de la zone de précipitation dans le milieu gélifié. Il mit en évidence que cette discontinuité se produisait lorsque la concentration des substances diffusibles atteignait une valeur voisine dans la couche supérieure liquide et dans la couche inférieure gélifiée du système dans lequel évoluait la réaction. Il fut plus tard établi par d'autres que des mouvements de convection dans la couche supérieure liquide provoquaient cette rupture. En effet, elle ne se manifeste plus lorsque les deux couches sont gélifiées. De part et d'autre de cette discontinuité, la valeur de la pénétration de la zone de précipitation n'était fonction que de la concentration en antigène ou en anticorps. La méconnaissance de cette perturbation pouvait entraîner des erreurs importantes puisqu'on attribuait à la concentration en antigène, par exemple, des variations de cette pénétration qui ne lui étaient pas imputables. Ce problème le poursuivit jusqu'à sa résolution. Ainsi peut-on trouver, toujours dans ses papiers scientifiques, une lettre très significative et démonstrative de sa préoccupation permanente, qu'il adressa à sa technicienne alors qu'il effectuait, en paquebot, un voyage vers un laboratoire des Etats-Unis d'Amérique. Il y décrivait, avec force détails, la vérification, par pesée, de la graduation, pour prévenir tout risque d'erreur, des pipettes de précision utilisées dans ces manipulations, avant et après leur remplissage avec de l'eau.

La démarche qui ouvrit la voie à l'allotypie des protéines

Monsieur OUDIN travailla alors à la préparation d'une collection d'immunsérums monospécifiques de constituants du sérum sanguin humain. Nanti de cet ensemble, il envisageait de doser, par la méthode dont il avait énoncé les principes et établi les lois, le plus grand nombre possible de constituants du sérum sanguin humain dans l'état normal et divers états pathologiques et de forger ainsi un outil pour le diagnostic de maladies. Sa formation de médecin resurgissait. C'est en oeuvrant à l'élaboration de cette panoplie d'immunsérums qu'il découvrit ce qu'il nomma l'allotypie des protéines, laquelle le détourna de cette voie initialement tracée. Il était saisissant de constater combien il resta toujours attaché à ce projet et combien de fois il tenta de s'y consacrer de nouveau et pleinement. Là encore, on retrouve un trait commun avec Louis PASTEUR qu'il vénérât particulièrement. Jusqu'à la fin de sa vie, PASTEUR exprima son regret d'avoir dû abandonner ses premières études sur la dissymétrie moléculaire. Comme souvent, il y avait là une part de nostalgie de la jeunesse et des heures où le vertige de la découverte enivra. Ces premiers travaux symbolisaient, aussi bien pour l'un que pour l'autre, tout ce qu'il avait fallu laisser sur le bord du chemin au cours de l'irrésistible marche en avant puisque, comme nous l'enseignait Monsieur OUDIN, toute bonne recherche est exponentielle. Faute de temps, bien des études n'avaient pu être menées à un stade plus avancé d'approfondissement et de perfection. Il est aisé d'assurer que son chagrin fut immense lorsque, détrônée par les analyses radio-immunologique et enzymo-immunologique, sa méthode d'analyse immunochimique tombant en désuétude, de plus en plus rares furent ceux qui y recoururent.



### III. L'ALLOTYPIC DES PROTÉINES

S'ouvrit alors ce qu'on peut considérer comme la seconde période de l'exceptionnelle créativité scientifique de Monsieur OUDIN, celle marquée du cachet de la quête d'observations inattendues, de leur exploitation talentueuse et, finalement, de l'art d'en extraire la quintessence.

On savait qu'on peut produire des anticorps contre d'autres anticorps par hétéro-immunisation<sup>2</sup>

Pour bien situer les problèmes dans leur contexte historique, il faut exécuter un retour en arrière d'un grand siècle pour se placer dans l'atmosphère de ces années de la fin du dix-neuvième siècle où l'existence du système immunitaire venait à peine d'être dévoilée et imaginer la surprise et l'émotion avec lesquelles les chercheurs découvraient qu'on pouvait faire produire, par hétéro-immunisation, des anticorps contre d'autres anticorps. Jules BORDET, à l'Institut Pasteur et Paul EHRLICH en Allemagne, participèrent à cette épopée des premiers anti-anticorps qui se solda par une joute célèbre entre ces deux hommes, laquelle joute fut remportée par Jules BORDET.

Pour Paul EHRLICH et ses associés, la seule chose nouvelle pour un organisme à qui l'on injectait un anticorps était son site de combinaison avec le **déterminant antigénique** (structure bien précise sur la substance étrangère introduite, laquelle substance est encore appelée antigène) contre lequel il était dirigé. Pour eux, seul ce site de combinaison suscitait à son tour la formation d'anticorps et, en raisonnant en termes de complémentarité structurale, devait représenter, si l'on autorise une métaphore de nature photographique, le négatif du déterminant antigénique. L'anti-anticorps qui devait donc être dirigé contre le site de combinaison du premier anticorps ne pouvait que rétablir, en son propre site complémentaire, le positif du déterminant antigénique et, par conséquent, se comporter comme lui. Tout cela était très séduisant et recérait de fascinantes perspectives. En particulier, l'anti-anticorps devait pouvoir remplacer l'antigène pour une immunisation dirigée contre lui. Ceci permit à d'autres, beaucoup plus tard, de désigner les anticorps comme les "antigènes de l'intérieur de l'organisme". Il avait même paru raisonnable de prévoir une régulation basée sur ces interactions réciproques pour prévenir les désordres physiologiques qui pouvaient résulter d'une telle vision des choses. Cela ressemble beaucoup à la théorie contemporaine du réseau des interactions entre idiotopes (la plus petite structure qui, sur un idiope, est capable d'être reconnue par un anticorps) et anti-idiotopes. Cependant, les temps n'étaient pas mûrs et cette splendide construction cérébrale de Paul EHRLICH reposait sur une mauvaise interprétation des résultats disponibles à cette époque.

Jules BORDET allait jeter bas ce brillant édifice en démontrant de façon magistrale, éloquente et irréfutable, que les anti-anticorps obtenus par hétéro-immunisation (on les appellera aujourd'hui anti-isotypiques), dont on disposait alors, n'étaient pas dirigés contre le site de combinaison de l'anticorps utilisé

pour leur production, mais contre un marqueur spécifique de l'espèce animale dont provenait cet anticorps immunisant.

On peut produire également par iso-immunisation<sup>3</sup> des anticorps contre d'autres anticorps

C'est dans ce contexte d'idées généralement admises en ce début des années 1950 (pour une protéine donnée, dans une espèce animale donnée, on estimait que n'existait qu'une seule spécificité antigénique, commune à tous les individus de cette espèce) que Monsieur OUDIN entreprit la préparation des immunosérums monospécifiques de constituants du sérum sanguin humain dont il avait besoin pour la réalisation de son projet. Il procéda par iso-immunisation, en injectant à des lapins des complexes "antigène-anticorps" obtenus en mettant en présence antigène et immunosérum d'un autre lapin dirigé contre lui, confiant dans le fait que le seul immunogène (celui qui induit la production d'anticorps) du complexe serait l'antigène puisque les anticorps de lapins étaient réputés dotés d'un seul et même marqueur spécifique d'espèce. Ce procédé permettait aussi de purifier, en quelque sorte, l'antigène, de l'extirper, sans trop de peine et avec sûreté, de la masse des protéines du sérum humain, en le précipitant au moyen d'anticorps produits par d'autres lapins immunisés contre lui. Lorsque ces immunosérums préparés par iso-immunisation étaient de même spécificité (dirigés contre le même antigène), il était légitime de les mélanger. Monsieur OUDIN constata que survenaient souvent de fortes précipitations dans ces mélanges. Sa sagacité et son aptitude à aller à l'essentiel des choses l'amènèrent à concevoir que les lapins avaient réagi contre les anticorps d'autres lapins présents dans les complexes injectés où l'antigène n'était donc pas le seul immunogène. Autrement dit, on pouvait immuniser des animaux contre des protéines sériques d'individus de la même espèce. Instant prodigieux où fut une nouvelle fois démontré que "le hasard ne sert que les esprits préparés". Ce fut l'acte de naissance de la notion **d'allotypie des protéines** [3, 4, 5, 6, 7], car d'emblée il comprit que cette particularité n'était pas l'apanage des immunoglobulines avec lesquelles elle fut mise en évidence mais concernait les protéines en général ; ce fut aussi l'acte de naissance de l'immunogénétique et des manipulations du système immunitaire au moyen d'anticorps. C'est sans doute la genèse de cette histoire qui permit à Rose MAGE (une concurrente américaine) d'écrire "qu'OUDIN découvrit l'allotypie des protéines *inadvertently*". Elle rencontra auprès de lui le succès qu'il est facile d'imaginer. C'est d'autant plus curieux que les Anglo-Saxons utilisent beaucoup plus fréquemment que nous le néologisme "*sérendipité*" pour désigner les observations heureuses et inattendues et ce don de faire des trouvailles. Généralement, ils n'y attachent aucune connotation négative puisqu'ils savent que cela découle d'un conte persan qui narre l'épopée des Seigneurs de Sérendip qui, dotés d'une remarquable prescience, réalisèrent par hasard, au cours de leurs pérégrinations, une série de découvertes originales.

<sup>2</sup> Hétéro-immunisation : immunisation d'un individu par des constituants provenant d'un individu d'une autre espèce animale (note de la rédaction).

<sup>3</sup> Iso-immunisation : immunisation d'un individu par des constituants provenant d'un autre individu de la même espèce animale, mais génétiquement différent (note de la rédaction).



Donc, en plus de leurs marqueurs spécifiques d'espèce que Monsieur OUDIN appela isotypiques et qu'on met en évidence par hétéro-immunisation - ici nous rejoignons Jules BORDET -, les anticorps et les protéines d'une façon plus générale étaient dotés d'autres spécificités antigéniques qu'on peut mettre en évidence par iso-immunisation. Il les nomma, en 1956, les spécificités allotypiques. Elles varient au sein des individus d'une même espèce animale. En termes lapidaires, l'allotypie des protéines reflète, au niveau immunogénique, l'allélisme des gènes de structure des protéines. Suivirent le dépouillement et l'analyse que l'on sait. Monsieur OUDIN identifia les premières spécificités allotypiques des immunoglobulines du lapin et montra qu'elles étaient gouvernées par des **gènes à deux loci indépendants** avec, pour chacun d'eux, un certain nombre d'allèles. On sut plus tard qu'il s'agissait du locus pour la région variable des chaînes polypeptidiques dites lourdes des immunoglobulines et du locus pour la région constante de leurs chaînes légères appelées kappa et que les spécificités allotypiques avaient pour bases structurales des différences dans la séquence des acides aminés de ces chaînes polypeptidiques.

Il établit aussi que cette information génétique était transmise héréditairement selon des lois mendéliennes simples. Il fallait là ne pas étudier trop tôt les sérums des nouveau-nés afin de leur laisser le temps d'éliminer les immunoglobulines

maternelles transmises passivement par le colostrum et le lait et d'exprimer la potentialité de leur propre système immunitaire. Il nous vantait souvent les "lapins de chou" sans le polymorphisme génétique desquels, nous disait-il, il n'aurait pu mettre l'allotypie des protéines en évidence, se moquant au passage de ceux qui entonnaient une antienne à la mode en prétendant qu'on ne pouvait réaliser de génétique avec le lapin. Avant que la structure multichaîne des immunoglobulines ne fût connue, Monsieur OUDIN décrivit la **présence, sur une même molécule d'immunoglobuline, de spécificités allotypiques gouvernées par des gènes à ces deux loci indépendants** dont il venait de révéler la réalité. Ce fut accompli simplement et magnifiquement par la méthode d'analyse par précipitation "antigène-anticorps" à l'interface entre deux milieux liquides (méthode plus communément et improprement appelée "ring test"). La démonstration nécessitait un immunosérum contre deux spécificités allotypiques, régies chacune par un des loci indépendants, immunosérum non précipitant lorsque chacune de ces spécificités était portée par des molécules d'immunoglobulines séparées parce que provenant généralement d'individus distincts et qui devenait précipitant lorsque ces deux spécificités étaient réunies sur la même molécule d'immunoglobuline parce que provenant du même individu (dans le premier cas, il n'y avait pas assez de déterminants antigéniques par molécule pour entraîner une précipitation avec les anticorps bivalents qui y participaient ; dans le second cas, la somme minima des déterminants antigéniques requis par molécule était suffisante pour qu'avec les deux types d'anticorps engagés la précipitation se manifestât). C'est ce qui fut observé et qui faisait dire à Colette B., une de ses collaboratrices, "il est le seul à pouvoir obtenir une telle information à partir de cette économie de moyens". Pour ma part, j'éprouvai, à la description de cette expérience la même satisfaction profonde que me procura la démarche talentueuse de Louis PASTEUR qui, avec ses ballons à col droit contenant un milieu de culture stérilisé, établit l'inégalité de la répartition des micro-organismes dans l'atmosphère.

Les IgG et les IgM, avec des chaînes lourdes différentes, possèdent pourtant des spécificités allotypiques identiques pour ces chaînes lourdes

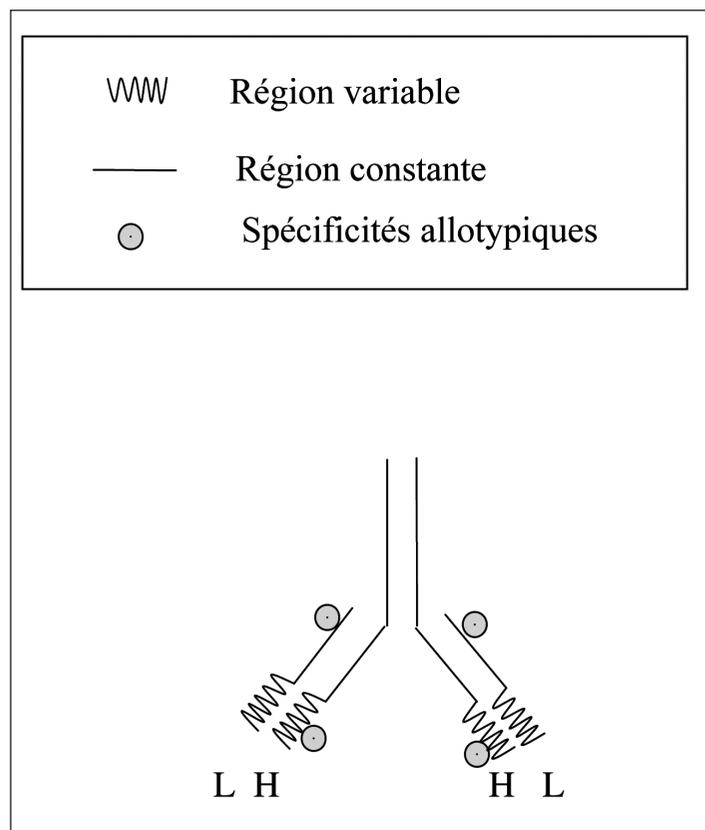


Figure 3 : Localisation sur la molécule d'IgG des spécificités allotypiques des immunoglobulines de lapin mises en évidence par Monsieur OUDIN. Les chaînes légères (L pour "light chain") et lourdes (H pour "Heavy chain") sont représentées.

C'est dans le service de Monsieur OUDIN que fut montré, en 1963, par C. TODD, que les deux classes d'immunoglobulines IgG et IgM - connues pour se distinguer par des chaînes lourdes différentes - possédaient pourtant des spécificités allotypiques identiques pour ces chaînes lourdes. Ce fut le premier fait expérimental qui indiquait la nécessité de deux gènes pour la synthèse d'une même chaîne polypeptidique, en l'occurrence la chaîne lourde des immunoglobulines, ce qui s'opposait au dogme qui sévissait alors : "un gène, une chaîne polypeptidique". Pour protester contre ses mauvaises conditions de travail, Monsieur OUDIN déposa, en 1953, dans un pli cacheté à l'Académie des Sciences, la description de sa découverte sur l'allotypie des protéines. Sa situation ayant évolué, des locaux lui ayant été attribués, il ouvrit ce pli cacheté en 1956.

#### IV. L'IDIOTYPIC DES ANTICORPS

Chemin faisant dans l'approfondissement de l'allotypie des immunoglobulines du lapin, en utilisant toujours le principe des iso-immunisations, non plus au moyen de complexes "antigène-anticorps" mais d'agglutinats "bactéries-anticorps anti-bactériens de lapins", Monsieur OUDIN nota que certains des immunosérums ainsi obtenus ne reconnaissaient que l'immunosérum qui renfermait les anticorps engagés dans l'agglutinat ayant servi à leur préparation. Ils ne reconnaissaient ni cet immunosérum après absorption totale desdits anticorps, ni l'immunosérum prélevé avant toute immunisation sur le donneur de ces anticorps, ni les anticorps que le donneur aurait pu produire contre un antigène sans aucune parenté avec le premier (représenté par les bactéries de l'agglutinat), ni non plus les anticorps produits par d'autres lapins contre la même bactérie. Toutes ces propriétés étaient très différentes de celles manifestées par les sérums anti-allotypiques.

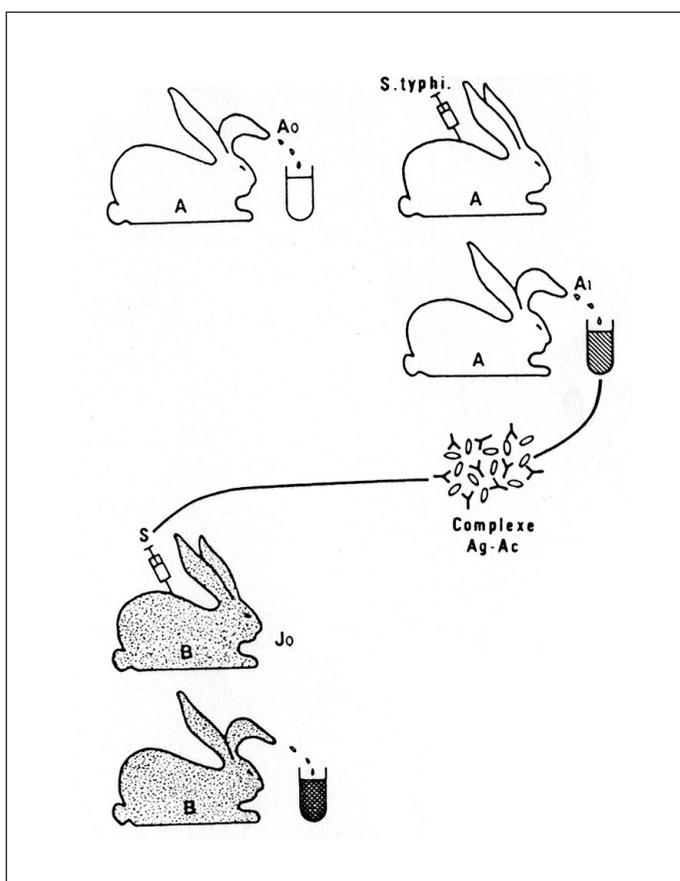


Figure 4 : **Protocole d'une immunisation anti-idiotypique.** Le lapin A est immunisé par *S. typhi*. Le lapin B, de même formule allotypique que A, est immunisé par un agglutinat de *S. typhi*-anticorps anti-*S. typhi* de A. Le lapin B produit des anticorps "anti-idiotypiques" qui sont précipités par le sérum A1, mais non par le sérum A0. (J-F BACH, *Immunologie*, 3<sup>e</sup> édition, p. 281, Flammarion Médecine-Sciences).

Chez chaque individu, les anticorps possédaient donc des spécificités antigéniques apparemment liées à leur fonction de combinaison avec un déterminant antigénique et à sa spécificité (nous retrouvons là Paul EHRlich). Ainsi naquit et fut proposée sur la scène internationale, en 1963, l'**idiotypie des anticorps** (8, 9, 10, 11). Je me souviens du soir où il vint nous annoncer son choix pour qualifier cette propriété qu'il avait mise en évidence : l'idiotypie. Il scrutait nos visages, se demandant si cette appellation n'allait pas susciter nos sourires. Mais il savait surtout la force et l'importance que revêtait la désignation appropriée et celle-là l'était particulièrement. De plus, elle parachevait si remarquablement une trilogie. Il est, d'autre part, bien évident que le respect que nous ressentions nous aurait de toute façon interdit tout sourire. En usant d'une image, certes fort schématique et sans doute un peu réductrice et en employant la terminologie des bactériologistes généticiens de l'époque, c'était un peu comme si les spécificités allotypiques reflétaient une production constitutive alors que les spécificités idiotypiques, pour être perceptibles, appelaient généralement une sorte d'induction : celle provoquée par l'immunisation. Une observation du même ordre fut réalisée indépendamment, la même année, avec des anticorps humains, à l'Institut Rockefeller de New York par l'équipe de Henry KUNKEL. L'idiotypie des anticorps entraîna des expériences déterminantes pour l'appréciation du répertoire potentiel de la diversité des anticorps et pour l'approche de la connaissance de la régulation de son expression. Elle fournit également le matériau de base à la conception élaborée par Niels JERNE du réseau d'interactions entre domaines variables des anticorps et de l'équilibre dynamique du système immunitaire. L'organisme paraît capable de diriger la capacité de reconnaissance de son système immunitaire vers certains des constituants qu'il élabore, les idiotypes, afin de contribuer, dans des conditions non pathologiques, à une part de la régulation de leur production. Cette auto-reconnaissance des éléments du système immunitaire a conduit Niels JERNE à proposer le concept d'image interne à l'organisme, portée par les spécificités idiotypiques des anticorps, des déterminants antigéniques extérieurs à l'organisme que ce système est susceptible de reconnaître. L'approche actuelle de la genèse des maladies auto-immunes s'appuie, en particulier, sur cette notion (en fait, le dérèglement de l'image interne), ce qui renouvelle la préhension de ce problème. C'est le concept du réseau idiotypique qui fit dire récemment (bulletin n° 108 d'octobre 2004 de la Société Française d'Immunologie) à un Membre nouvellement élu de l'Académie des Sciences et sans doute en mal de déclaration tonitruante, à moins que l'ascension dans la notoriété ne confère l'accès aux certitudes et aux ukases d'autant plus cinglants et provocants qu'in vraisemblables, qu'il s'agissait d'une "illusion collective qui s'écroulera quelques années plus tard sous les coups de boutoir de l'immunologie moléculaire et structurale". Puisque les anticorps, les anti-idiotypes, les anti-anti-idiotypes, etc., possédaient des idiotopes, l'idiotypie paraissait avoir considérablement augmenté la diversité des anticorps. Pour illustrer cette proposition, il me semble adapté de reprendre une image qui était chère à



Monsieur OUDIN, celle de deux miroirs placés face à face et qui n'en finissent pas de se renvoyer leur vacuité. Cela n'est pas sans rappeler à la fois la recommandation de Jean COCTEAU : "les miroirs feraient bien de réfléchir avant de renvoyer les images" et surtout le grand double miroir ovale, décrit par Guy DUPRÉ dans son roman *"Comme un adieu dans une langue oubliée"*. Ce miroir se dresse dans un temple japonais shintoïste consacré au culte des soldats morts pour la patrie. C'est devant lui que, le 15 août 1945, l'Empereur, qui renonçait à son ascendance divine, s'inclina une ultime fois et déposa un dernier rameau avant de le refermer à jamais, scellant ainsi son face à face infini. L'un, Monsieur OUDIN, ouvrait une fascinante perspective, l'autre, l'Empereur du Japon, se repliait sur la vénération amère d'une grandeur perdue.

Monsieur OUDIN se souciait, notamment, de deux constatations troublantes. La première touchait un point capital en sciences : la reproductibilité des expériences. Il convient de rappeler qu'il travaillait essentiellement sur le lapin où l'on était un peu englué par ce qu'on pourrait qualifier de caractère très individuel de l'idiotypie qui gênait parfois la reproductibilité. La seconde relevait de cette augmentation quasi-illimitée de la diversité des anticorps que révélait l'idiotypie. Tout cela s'estompa lorsque les souris de souche pure entrèrent en lice. Il fut alors montré, en particulier, que des idiotopes pour le moins très apparentés pouvaient, chez tous les individus d'une même lignée, accompagner les anticorps contre un même déterminant antigénique.

La tentation se manifeste de revenir un bref instant sur cette part de l'apport scientifique de Jules BORDET qui conduisit à la mise en dormance durant plus d'un demi-siècle des idées d'EHRlich et de son école dont on sait aujourd'hui la part de vision prophétique qu'elles renfermaient. Niels JERNE, l'immunologiste théoricien moderne qui introduisit le Darwinisme dans le fonctionnement du système immunitaire, sera nécessaire à leur réveil. Il ne faut pas perdre de vue que cette désaffection reposait paradoxalement sur une interprétation exacte des faits dont on disposait il y a un siècle. Même si "l'inexorable logique" de Paul EHRlich, selon l'expression d'Arthur SILVERSTEIN, finit par s'imposer, elle ne s'étayait alors qu'à une explication erronée des résultats qui émergeaient à cette époque. La science progresse sans doute souvent ainsi : par retouches successives. On doit aussi reconnaître que la pesanteur de ces "marqueurs protéiques spécifiques d'une espèce animale" s'exerçait en de multiples directions puisqu'elle expliquait les difficultés que Monsieur OUDIN eut à affronter et à vaincre lorsqu'il montra, avec l'allotypie des protéines, qu'on pouvait immuniser des animaux contre des protéines sériques d'individus de la même espèce. On peut néanmoins se réjouir de ce que, dans ce bâtiment Metchnikoff auréolé du somptueux héritage que légua l'initiateur des idées de phagocytes et de phagocytose et imposante clef de voûte de l'aurore de l'immunologie, voisinent la salle de réunions où l'entretien de la mémoire de Jules BORDET a été déposé entre nos mains et le médaillon qui honore Monsieur OUDIN (médaillon dont l'idée doit beaucoup à Colette BREZIN et sa réalisation financière, ainsi que l'hommage rendu, à la Direction de l'Institut Pasteur alors assumée par Maxime SCHWARTZ).

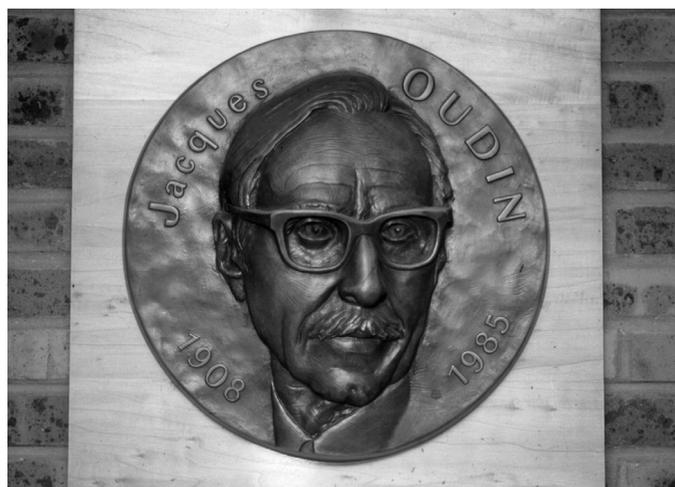


Figure 5 : Médaillon en bronze apposé à droite de l'entrée de la salle Jules Bordet, dans le hall du bâtiment Metchnikoff de l'Institut Pasteur (Coll. Institut Pasteur 2637).

Le rapprochement de ces trois noms en ce lieu est très satisfaisant pour l'esprit. Pouvait-on imaginer plus judicieuse cohabitation qui renforce, s'il en était besoin, une sorte de communauté d'attitude conceptuelle et de démarche expérimentale entre Jules BORDET et Monsieur OUDIN ? Jules BORDET qui découvrit, à l'Institut Pasteur, durant sa première année de travail de laboratoire, ce qu'il est maintenant convenu d'appeler la voie classique de l'activation du complément. Jules BORDET dont Alexander FLEMING dit en lui rendant hommage au nom des scientifiques étrangers lors des cérémonies pour l'attribution du prix Nobel de médecine de l'année 1919 : "l'essence de son travail est la simplicité, simplicité d'attitude, simplicité de technique, il ne travaille pas pour élaborer des théories, mais pour découvrir les faits véritables qui ont trait aux différents aspects de l'immunité". Ceci pourrait s'appliquer, sans une retouche, à Monsieur OUDIN qui administra également la grande leçon que chacun sait d'honnêteté, de courage intellectuel, de qualité et de sobriété de la publication, de quête insatiable de la perfection, d'exemplaire illustration de ce que "la vérité n'est pas ce qui se décrète mais ce qui se cherche".

**Isotypie, allotypie, idiotypie**, est-il nécessaire d'insister sur l'irrésistible façon dont ces termes et ce qu'ils recouvrent, dotés d'un extraordinaire "pouvoir infectieux", se sont imposés ? La manière dont ils furent forgés dénote, en outre, la profonde culture, l'attachement à et la connaissance de la langue grecque de leur auteur. Ils illustrent probablement l'incoercible force de certaines nomenclatures. La postérité fut plus discourtoise à l'égard de Jules BORDET (pardonnez l'affectueuse admiration que j'éprouve pour lui) puisqu'elle préféra les dénominations de complément et d'anticorps introduites par l'école allemande à celles d'alexine et de sensibilisatrice qu'il proposa pour désigner les mêmes substances ; le mot alexine venant de Hans BUCHNER pour indiquer l'activité bactéricide des sérums normaux, néologisme que Jules BORDET conserva pour bien marquer que l'antériorité dans la découverte du complément ne lui était pas imputable.



Il échet donc à Monsieur OUDIN, en particulier, de réconcilier la pensée de ces deux géants scientifiques de l'orée du vingtième siècle que furent Jules BORDET et Paul EHRLICH, par l'identification qu'il opéra des trois sortes de spécificités antigéniques, à la signification différente, dont est naturellement pourvue la molécule d'anticorps : les spécificités isotypiques qui sont communes à tous les individus de la même espèce animale (nous retrouvons là Jules BORDET qui déchiffra correctement les analyses aux résultats desquelles il s'intéressa), les spécificités allotypiques qui reflètent, immunogéniquement, les variations alléliques des gènes de structure qui codent les isotypes et les spécificités idiotypiques qui paraissent liées à la fonction et à la spécificité des anticorps (ici c'est Paul EHRLICH et la justesse de son concept, même si les conclusions qui l'amènèrent étaient entachées d'inexactitude).

## V. EN GUISE DE CONCLUSION

### Des moments privilégiés

Il était des jours, préférentiellement le soir, où nous bénéficions de réunions informelles, comme toujours avec Monsieur OUDIN, éminemment sympathiques, durant lesquelles il nous dévoilait certaines de ses pensées, se livrait en quelque sorte à ceux qui représentaient un peu sa seconde famille. Nous avons tous conservé grande nostalgie de ces moments privilégiés où nous le découvrons, malgré retenue et discrétion, toujours sur le qui-vive, et nous confions aussi un peu. Je vais, pêle-mêle, en rapporter quelques-uns. Grand amateur de pipe, il s'arrêta brutalement de fumer. Il demeura depuis cette époque très friand d'arômes de tabac. Parfois, au cours de ces conversations, il nous demandait de laisser se consumer une cigarette afin de profiter de son parfum. Cela se produisait aussi lorsqu'il nous ouvrait la porte de son bureau, pour la correction d'un écrit, par exemple.

Un soir, ce devait être au début des années 1970, il surgit parmi nous, tout heureux de nous annoncer : "la Maison vient de recruter le major de l'École Vétérinaire de Maisons-Alfort !". Il faut entendre que la "Maison" comme il disait, à laquelle il était profondément attaché, où il accomplit toute sa carrière scientifique (évidemment, maintenant, ce n'est plus la même chose, la "Maison" a été transformée en "entreprise" et l'envie de sourire amèrement gagne lorsqu'on évoque le ludisme de la recherche), traversait une période de très grandes turbulences financières qui obéraient forcément ses possibilités et se répercutaient inmanquablement sur son recrutement. Cet engagement prestigieux symbolisait, comme une bouffée d'oxygène, le signe d'un renouveau, son engouement le manifestait. J'appris beaucoup plus tard et avec un vif plaisir que ce major-là était Geneviève M.

### Nous devînmes des inconditionnels de Jules BORDET

Une autre fois, il survint avec des écrits de Jules BORDET, alors que celui-ci tentait d'élucider le problème de la valence

des anticorps, parvenant, sans mal d'ailleurs, à nous faire partager un enthousiasme ô combien justifié. Jules BORDET soupçonna très vite qu'il fallait établir une distinction entre la stoechiométrie des réactions chimiques et celle de la combinaison de l'antigène et des anticorps. Il postula que cette dernière pouvait se réaliser en des proportions variables. Pour sa démonstration, il conçut un dispositif expérimental où resplendit tout son art de la pédagogie. Imaginez un buvard blanc plongé dans un bain de colorant. Il prend uniformément le colorant. Prenez ensuite un autre buvard blanc de même dimension, mais coupé en morceaux et un bain de colorant identique à l'initial. Les premiers morceaux de buvard immergés dans le colorant en ressortiront fortement teints, mais le liquide se clarifiant graduellement, les derniers morceaux du buvard baignés ne seront plus que faiblement teints. Il y eut un intense débat entre Paul EHRLICH, pour qui la combinaison "antigène-anticorps" était de nature chimique (ce en quoi il avait raison) et irréversible, et Jules BORDET pour qui elle était de nature physique, comme pour les colloïdes, et réversible (ce en quoi il avait à son tour raison). Il est sûrement superflu de préciser le trouble profond que produisit sur nos esprits une démonstration aussi souveraine. Nous devînmes vite des inconditionnels de Jules BORDET. C'était prodigieux pour nous, que de naviguer ainsi dans une telle aisance, une telle somptuosité et de juger des voies par lesquelles il avait fallu cheminer pour parvenir aux certitudes actuelles, sans nous dissimuler que l'époque attendait l'établissement d'autres évidences et qu'il fallait essayer d'y avoir sa part. La recommandation finale était un encouragement appuyé à "lire les bons auteurs". C'est ce même Jules BORDET qui comprit, ce que je découvris plus tard et dont je ne parviendrai sans doute jamais à me lasser, que le système immunitaire, qui venait juste d'être mis au jour, était un système de reconnaissance. Il écrivit, en 1898, à l'âge de vingt-huit ans : "l'immunité n'est qu'une application heureuse et efficace, à la défense de l'organisme, d'une fonction primordiale qui n'en existerait pas moins s'il n'y avait pas de germes pathogènes à la surface du globe mais qui s'est admirablement appropriée, en raison des garanties de survivance qu'elle donne aux êtres vivants, au rôle protecteur qu'elle était à même de remplir". Nous sommes fort éloignés de la conception empreinte de téléonomie d'un système sélectionné pour la seule défense de l'organisme.

En une autre occasion, Monsieur OUDIN nous déclara qu'on ne pouvait envisager plus étrangers à sa démarche que ceux qui révèrent une chose comme vraie parce qu'ils la trouvent belle (je suppose, suivant en cela Thomas d'AQUIN, qui a dit : "le beau est la splendeur du vrai"). Seuls les faits doivent compter, ces faits à propos desquels il nous mettait en garde "ils sont toujours têtus !" comme paraît-il, le déclarait déjà LÉNINE ! Sa hantise de ce qu'il appelait "les parlottes" était bien établie. Elles ne peuvent que déboucher sur la science parlementaire clamait-il : il ne reste qu'à voter sur la question qui se pose ou sur laquelle débouche l'expérimentation pour que la vérité tombe dans l'escarcelle ! Il plaignait vraiment ceux qu'il nommait sans complaisance : "les administrateurs de la science", qui croient avoir vocation à planifier l'imprévisible quand ce n'est pas à exercer un dirigisme scientifique déguisé. Il supportait ces pratiques tant qu'elles n'empiétaient pas sur sa liberté



## Association des Anciens Élèves de l'Institut Pasteur

de travailler qu'il ne concevait que totale et la moindre sujétion provoquait une réaction toujours violente puisque la vérité ne pouvait découler que du travail de laboratoire, de l'expérimentation. Son irascibilité en la matière ne fait-elle pas écho à celle de Louis PASTEUR (rapportée par son neveu A. LOIR) s'adressant à ses collaborateurs (E. ROUX et E. DUCLAUX) au sortir d'une séance de l'Académie de médecine : "On leur parle d'expériences, ils répondent par des discours" ? Il fallait sentir son ironie mordante lorsqu'il envisageait "les grenouilles qui se cherchent un roi" pour désigner ceux, toujours prêts à réclamer ou à imposer des structures assujettissantes. Il appréciait fort les fables de LA FONTAINE. Que de fois avons-nous entendu celle du "Laboureur et ses enfants" dont il nous répétait, inlassablement, "travaillez, travaillez, prenez de la peine" ! Il considérait aussi que "c'est au plus noir du tunnel qu'on reconnaît le vrai chercheur et que, lorsque le vin est tiré, il faut le boire".

Son honnêteté et son intransigeance allaient de pair avec sa rigueur intellectuelle

L'honnêteté représentait pour lui une vertu fondamentale. Son honnêteté intellectuelle et scientifique s'accompagnait d'une intransigeance absolue pour tout ce qui touchait à la reconnaissance et au respect rigoureux des antériorités dans la création. Je me souviens de la tristesse qui voila son regard lorsqu'il m'arriva de lui narrer certaines harangues que Jacques MONOD prisait de tenir aux étudiants que nous étions : "les laboratoires ne regorgent que trop de travailleurs consciencieux et vertueux ! Soyez des WATSON", nous enjoignait-il, du nom de ce chercheur, talentueux certes, qui découvrit la structure de l'acide désoxyribonucléique, retentissante prouesse qui masqua, ou rendit tolérable, sa réputation sulfureuse à l'endroit des résultats et travaux de sa concurrente Rosalind FRANKLIN (on lui pardonna beaucoup car il apporta tellement). En d'autres mots, Jacques MONOD encourageait à réussir à tout prix ce qui était aux antipodes de l'enseignement que nous recevions auprès de Monsieur OUDIN pour qui la réussite ne saurait excuser quoi que ce fût. Son visage se rasséréna lorsque j'en arrivai à la bronca de tout l'amphithéâtre que Jacques MONOD affronta (ce qui n'était pas fait pour lui déplaire) lorsqu'il exhorta au talent "ce talent qui est le génie domestiqué". Savons-nous seulement de quoi nous parlons lorsque nous désignons, avec la pauvreté de nos mots, ceux qui accomplissent un destin et lorsque nous employons le terme de génie ? Et s'il s'agissait d'une délégation ? On ne peut mésestimer en effet l'école de ceux qui, depuis PLATON, entendent que découvrir, c'est se ressouvenir.

Des heures grises

Il y eut des soirs plus sombres comme celui où une de ses collaboratrices nous raconta comment deux éminents chercheurs pastoriens, de renommée internationale, disparurent au cours d'une rafle exécutée à Paris durant la deuxième guerre mondiale. L'un d'eux, au moins, fut victime d'une délation auprès de la Gestapo alors qu'on cherchait, malgré sa réticence, à le dissimuler à l'Institut où il fut finalement appréhendé. Ils

furent engloutis dans la nuit et le brouillard, comme le voulaient les monstres initiateurs. L'Institut Pasteur n'était donc pas ce lieu privilégié que beaucoup aimaient imaginer. Il comportait, lui aussi, son pourcentage de gens néfastes et méprisables. Cette délation très répandue durant l'occupation allemande incarna toujours pour moi comme une seconde débâcle. Elle me révolta d'indescriptible façon et me submergea de honte. Ce pays y a, plus sûrement encore que lors du premier effondrement, perdu son âme, probablement à jamais. Monsieur OUDIN nous livra alors que, au moment où le prix Paul Ehrlich lui fut décerné, en 1960, par les autorités scientifiques allemandes, il s'interrogea beaucoup avant de l'accepter.

Le désintéressement financier des fondateurs de l'Institut Pasteur

Un midi, rentrant de la cérémonie célébrant l'anniversaire de la mort de Louis PASTEUR (ce devait certainement se situer au mois de septembre), il nous incita vivement à prendre l'habitude de rendre hommage à ces illustres prédécesseurs (PASTEUR, ROUX...) qui, non seulement ouvrirent des perspectives prestigieuses mais qui, en abandonnant à l'Institut leurs droits sur les brevets de bien des vaccins et sérums, lui permirent l'épanouissement et le développement dont nous bénéficions. Ce désintéressement financier personnel qui auréola encore davantage leur renommée représenta longtemps un des sceaux des vocations que leur exemple incita. Ces générations seront-elles celles des derniers moines ? Moines sûrement ! Derniers, j'espère bien que non ! En cette occasion, Monsieur OUDIN nous rapporta, le sourire aux lèvres, une anecdote qui courait, touchant E. ROUX, dont la réputation d'autocrate n'était plus à faire. A l'époque de son règne de plus de trente années, les promotions étaient à sa totale discrétion (il faudra attendre le mandat de J. TRÉFOUËL pour qu'un statut des chercheurs scientifiques voie le jour). Il répondit à quelqu'un qui lui demandait de devenir Chef de service : "Des Chefs de service, il y en a à la Samaritaine tandis que les Chefs de laboratoire n'existent qu'à l'Institut Pasteur" !

L'évolution de la recherche scientifique

Certaines fois, la confiance dépassait la vigilance coutumière, comme le jour où il nous dévoila le pessimisme qui l'habitait au sujet de l'évolution de la recherche scientifique en ce pays. Le créateur farouchement solitaire qu'il était, au point de ne pouvoir que se réjouir de ce qu'il ait formé tardivement une équipe alors que n'existait plus pour lui le risque de la stérilisation scientifique, ne voyait dans la structuration actuelle de la recherche qu'un frein qui aurait empêché l'épanouissement de sa personnalité. Le leitmotiv entonné étant point de salut en dehors d'un groupe et de collaborations en nombre impressionnant au point qu'il devient quasi-impossible de discerner quoi revient à qui dans l'élaboration, le développement et l'exploitation d'une expérimentation ; même une thèse n'est plus consi-



dérée comme un apport personnel. Il disait sa perplexité devant tant de barrières et d'obstacles dressés à présent pour accéder à cette voie. Alors qu'on ne sait aujourd'hui apprécier les candidats qu'à grand renfort de mentions et de parcours universitaires prestigieux, il aurait sûrement rencontré grand mal pour s'insérer quelque part avec son baccalauréat subi modestement. Que dirait-il de nos jours, alors qu'il y a déjà plus d'un quart de siècle, il imaginait désormais interdit pour lui cet axe sur lequel toute sa vie professionnelle fut fondée ? Certes, nous sommes éloignés de l'époque, qu'on veut bien admettre paisible, où la recherche scientifique était regardée comme une distraction et le fait des aristocrates et des ecclésiastiques, c'est-à-dire de gens qui disposaient de temps libre et de moyens financiers. Il faut néanmoins convenir que notre héritage ne facilitera pas la tâche de nos successeurs par la prétention de certains d'entre nous à connaître mieux que quiconque ce qui est bon pour l'avenir, à multiplier la coercition et la propension d'autres à la passivité. Combien il nous touchait avec sa défense farouche des études du grec, du latin et du jeu de leurs déclinaisons, perçues comme un outil d'apprentissage "pour former l'esprit". Il appréciait, en fin gourmet, tout ce qui contribuait à l'élévation de la pensée. On devinait chez lui l'aisance que procure l'assimilation d'une éducation qui ouvre l'accès à la culture d'une civilisation et offre la possibilité de la conduire plus avant. Seuls les faits assis sur l'expérimentation comptaient. Sa rigueur lui faisait écarter tout ce qui se plaçait en dehors du champ d'influence de cette logique et, par conséquent, hors de l'entendement humain par elle structuré. C'est avec un plaisir évident qu'il nous annonçait : "la métaphysique recule" ! Oui, il se méfiait de l'abstraction. Il revenait à sa mise en garde habituelle contre les *a priori* et à la difficulté que souvent ils entraînent dans l'observation de ce qui n'est pas attendu (une des permanences de son enseignement avec la constatation qu'il est toujours plus facile de s'intéresser à ce qui a déjà été décrit qu'à ce qui découle de l'inconnu). Il cherchait à nous gagner à son empirisme intransigeant, qui n'avait d'égal que sa profonde méfiance à l'égard des théories. Rien ne l'exaltait davantage que les faits imprévus dans l'analyse desquels s'exerçait magnifiquement sa capacité de dégager l'essentiel. Il nous vantait ce travail du dernier centimètre, inlassablement repris, qui lui faisait mettre et remettre sans cesse sur le métier l'ouvrage et oeuvrer avec un soin jaloux à tous ses écrits. J'avais l'impression de percevoir dans tout cela comme une sorte d'adieu, teinté de nostalgie ainsi probablement que beaucoup d'adieux, à une façon d'appréhender les problèmes, de raisonner, de se saisir expérimentalement des questions. Les astreintes impliquées par les mutations technologiques qui s'imposent à un rythme effréné ne peuvent en effet que déboucher, en particulier, sur une atténuation de l'individualisme. Là, sans doute, résidait la source de l'abattement qui le gagnait lorsqu'il envisageait l'avenir de cette discipline, lui l'ardent défenseur de la recherche fondamentale et du travail personnel. On peut certainement s'interroger sur ce que la pression peut apporter à la recherche scientifique, ce recours à l'esprit de compétition que nous avons ramené du fond des âges primitifs ! Sait-on à quoi cela peut conduire ? Vers les besogneux de la recherche, les adeptes du résultat à tout prix et des génuflexions devant la "mode" du temps ? L'ori-

ginalité, pour s'exprimer, a-t-elle besoin de tels artifices ? La créativité est une chose trop fragile et délicate pour supporter la contrainte. On a l'impression que l'homme serait incapable de travailler pour autre chose que le profit (cela supposerait évidemment une éducation différente) ou la gloire (bien relative assurément dans un tel environnement où la contingence domine). L'humanité se serait-elle mal engagée ?

#### Son regard sur son apport

Fort des observations qui aboutirent aux lois quantitatives de l'analyse immuno-chimique en milieu gélifié, il aimait nous dire : "la nature progresse logarithmiquement". Il considérait aussi qu'avec ses trois contributions à l'avancée de la science il avait réalisé l'effort de renouvellement qui consiste, au cours d'une carrière dans l'industrie, à changer de voie, de spécialisation, à réussir une reconversion. Il proférait encore, avec grand sérieux, cette exclamation que nous jugions mémorable : "il est bon d'inspirer un respect salutaire" car la stratification de la société possédait pour lui une signification qu'il appréciait et qu'il convenait de renforcer. Il nous assénait aussi "il suffit de se baisser pour ramasser" sans paraître effleuré par le raz-de-marée et ses effets dévastateurs que déclenchaient en nous ces propos que la réussite seule autorise. Par mer plus calme, nous étions aussi témoins de sa mélancolie : "en comparaison de tout ce que nous ignorons, ce que nous pouvons apporter n'est qu'une goutte d'eau en regard de l'immensité de l'océan ; où est la place pour l'arrogance de la satisfaction de soi ? D'ailleurs, l'auto-satisfaction c'est l'anéantissement". Finalement, concluait-il, "mon oeuvre est un grand cimetière !". Que voulait-il signifier par là ? Après la mise au point de la méthode d'analyse immuno-chimique par précipitation en milieu gélifié, la mise en évidence de l'allotypie des protéines, très étroitement liée à la formation d'une collection d'immunsérums monospécifiques de constituants du sérum sanguin humain qui lui était nécessaire pour un projet qui lui tint toujours très à coeur, le contraignit à garder ce programme sous le boisseau. C'est encore en développant l'étude de l'allotypie des immunoglobulines du lapin qu'il découvrit l'idiotypie des anticorps, laquelle lui ouvrit des perspectives qui le conduisirent à tout lui consacrer. Comme nous essayions de l'inciter à écrire l'histoire de sa créativité scientifique, il nous répétait invariablement "vous savez bien que je ne suis pas doué pour cela" ! Je demeure convaincu que nous y avons perdu un grand témoignage. Notre inefficacité fut totale car sa pudeur et sa retenue naturelle, trop fortes à contrebalancer, pour qu'il consentît à se livrer, à se jeter tant soit peu en pâture. D'ailleurs, il est vrai que, contrairement à ce qui se passe aujourd'hui, il écrivait peu et, en reprenant son expression, "pour un petit nombre".

J'eus le privilège d'une ultime conversation au cours d'une dernière séance de travail qui nous réunit la veille de son foudroiement. Il me parla de l'ambition, de notre ambition qui doit être illimitée pour tout ce qui touche au travail de recherche. Rien ne permettait d'imaginer, ce soir-là, que la



séparation définitive fût si proche. La seule différence notable fut qu'il ne m'accompagna pas - comme à l'accoutumée - jusqu'au perron du bâtiment Charles Nicolle où un bureau un peu triste et sombre avait été mis à sa disposition et c'est à sa porte que nous nous séparâmes. Lorsque, pour un premier classement à opérer dans ses papiers scientifiques, je fus appelé par Madame OUDIN, j'eus à ouvrir son porte-documents. J'y découvris le journal "Le Monde" qui n'avait pas encore été dépouillé. Ce fut comme une lame fine enfoncée dans le coeur.

Quant à nous qui avons bénéficié d'un aussi haut exemple, que nous reste-t-il, sinon à continuer de répondre à une de ses injonctions familières et que certains reconnaîtront sans doute :

"au travail ! du courage !" et à reprendre l'ancienne formule propitiatoire qu'utilisa Walter KAISER (le traducteur américain de Marguerite YOURCENAR) par un jour d'hiver, tout d'ivoire et d'or selon son expression, alors, qu'avant de les ensevelir, on rassemblait les cendres de l'écrivain dans son châle préféré :

"Que la terre lui soit légère, légère infiniment".

**MOTS-CLÉS :** A la rencontre de Jacques OUDIN et de sa contribution scientifique. Naissance de l'analyse immunochimique en milieu gélifié. Genèse de l'allotypie des protéines. Aboutissement à l'idiotypie des anticorps.

### RÉFÉRENCES

1. OUDIN J. Méthode d'analyse immunochimique par précipitation spécifique en milieu gélifié. *C R Acad Sci*, 1946, **222**, 115-116.
2. OUDIN J. L'analyse immunochimique qualitative. Méthode par diffusion des antigènes au sein de l'immunsérum précipitant gélosé.  
Première partie : *Ann Inst Pasteur*, 1948, **75**, 30-41  
Deuxième partie : *Ann Inst Pasteur*, 1948, **75**, 109-129
3. OUDIN J. Réaction de précipitation spécifique entre des sérums d'animaux de même espèce. *C R Acad Sci*, 1956, **242**, 2489-2490 (document retiré du pli cacheté n° 13.177 déposé le 31 décembre 1953).
4. OUDIN J. L' "Allotypie" de certains antigènes protéidiques du sérum. *C R Acad Sci*, 1956, **242**, 2606-2608.
5. OUDIN J. L'allotypie de certains antigènes protéidiques du sérum. Relations immunochimiques et génétiques entre six des principaux allotypes observés dans le sérum du lapin. *C R Acad Sci*, 1960, **250**, 770-772.
6. OUDIN J. Allotypy of rabbit serum proteins. I. Immunochemical analysis leading to the individualization of seven main allotypes. *J Exp Med*, 1960, **112**, 107-124.
7. OUDIN J. Allotypy of rabbit serum proteins. II Relationship between various allotypes : their common antigenic specificity, their distribution in a sample population, genetic implications. *J Exp Med*, 1960, **112**, 125-142.
8. OUDIN J, MICHEL M. Une nouvelle forme d'allotypie des globulines gamma du sérum de lapin apparemment liée à la fonction et à la spécificité des anticorps. *C R Acad Sci*, 1963, **257**, 805-808.
9. OUDIN J, MICHEL M. Sur les spécificités idiotypiques des anticorps de lapin anti-*Salmonella typhi*. *C R Acad Sci*, 1969, **268**, 230-233.
10. OUDIN J, MICHEL M. Idiotype of rabbit antibodies. I. Comparison of idiotype of antibodies against *Salmonella typhi* with that of antibodies against other bacteria in the same rabbits, or of antibodies against *Salmonella typhi* in various rabbits. *J Exp Med*, 1969, **130**, 595-617.
11. OUDIN J, MICHEL M. Idiotype of rabbit antibodies. II. Comparison of idiotype of various kinds of antibodies formed in the same rabbits against *Salmonella typhi*. *J Exp Med*, 1969, **130**, 619-642.

J'adresse mes plus vifs remerciements à Madame V. CHOISY pour ses pertinentes remarques et pour avoir assuré la dactylographie du manuscrit.



## ELIE METCHNIKOFF (1845 - 1916)

Professeur Albert DELAUNAY<sup>1,1</sup>

Texte annoté par Michel DUBOS

Notre Association a obtenu l'autorisation de reproduire dans ce Bulletin la monographie qu'Albert DELAUNAY a consacrée à METCHNIKOFF en 1987 dans le cadre des manifestations organisées à l'occasion du centenaire de l'Institut Pasteur. A travers ce volet de l' "Histoire des Pasteuriens", l'auteur nous fait partager son admiration pour un savant, zoologiste de formation, qui va devenir l'une des personnalités phares du jeune Institut Pasteur et contribuer largement à son rayonnement. Cette évocation de la vie et de l'oeuvre de METCHNIKOFF est pour nous l'occasion de renouveler notre hommage au Professeur Albert DELAUNAY. Mémorialiste passionné, sa connaissance de l'Institut Pasteur, de sa création à la fin de l'année 1993 où il nous quitta, était prodigieuse ; il était réellement la mémoire de cette Maison à laquelle il vouait un véritable culte. C'est en cela qu'il fut un collaborateur très précieux pour notre Association qu'il soutenait avec beaucoup d'efficacité. Dans ses "notes de la rédaction", extraites de diverses sources<sup>2</sup>, Michel DUBOS apporte certaines précisions à cette biographie du "père de la doctrine phagocytaire".

Elie METCHNIKOFF fait partie de ce petit groupe d'[hommes] qui, déjà, s'étaient attachés à PASTEUR quand fut inauguré l'Institut, rue Dutot<sup>3</sup>. Chercheur remarquable, son oeuvre scientifique devait être couronnée par un Prix Nobel de Médecine. On raconte que STALINE, assistant, en 1941, au départ de troupes pour le front de l'Ouest, avait cherché à exalter leur courage en évoquant le souvenir de grands Russes ; il aurait alors cité, côte à côte, TOLSTOÏ et METCHNIKOFF.

[...] Un très simple récit de sa vie et de son oeuvre devrait suffire à montrer comment ce Pasteurien, né en Russie mais dont Paris conserve les cendres, a beaucoup contribué à la gloire de notre Institut.

### I. UN GARÇON SURDOUÉ (1845-1864)

Elie METCHNIKOFF est né près de Kharkov, le 16 mai 1845. On l'a dépeint comme un enfant tout feu tout flamme et attiré surtout par les sciences naturelles. Entré au lycée de Kharkov en 1856, il se joue de toutes les difficultés qui s'offrent à lui et, déjà, trouve plaisir à prendre connaissance d'un livre fort au dessus de son âge qui est la *Théorie cellulaire* de VIRCHOW. Ses études secondaires sont [...] couronnées par une médaille d'or.

Le voici maintenant à l'Université de Kharkov [... où il opte] pour des études de Biologie. Mais, l'enseignement qu'il reçoit l'ayant rapidement déçu, il s'empresse de mettre un point final à ses mornes études et commence, à 19 ans, un long périple à travers l'Europe, toujours passionné par les problèmes que pose la vie. Il sera absent trois années et se rend d'abord en Allemagne.

### II. L'APPEL DE LA SCIENCE (1865-1882)

Il passera deux mois dans l'île d'Héligoland auprès du grand biologiste COHN puis ira à Giessen, dans le laboratoire du Professeur LEUCKART, et à Genève où, ayant retrouvé son frère et fait connaissance de HERZEN, révolutionnaire russe, il lui arrivera de délaissier un instant les études biologiques pour les thèses politiques. Au-delà, ce sera Heidelberg et, de nouveau, Giessen. Mais ses relations avec LEUCKART sont devenues mauvaises<sup>4</sup> et le voilà qui cherche un autre point de chute. Un double hasard va intervenir à ce moment. D'une part, le ministre de l'Instruction publique russe a décidé de lui accorder, pour deux ans, une bourse d'étude de 1.600 roubles. De l'autre, il reçoit une lettre d'Alexandre KOVALEVSKY, [...] jeune embryo-

<sup>1</sup> Albert DELAUNAY prend en 1936 les fonctions d'Interne de l'Hôpital Pasteur. Trois années plus tard, il rejoint l'Annexe de l'Institut Pasteur à Garches où il crée le service de Pathologie expérimentale et, de 1971 à 1975, il dirige le Département de Documentation et des Relations extérieures à l'Institut Pasteur.

<sup>2</sup> Sources : a) Archives de l'Institut Pasteur, Elie METCHNIKOFF (1845-1916). Site web : <http://www.pasteur.fr/infosci/archives/mtc0.html>

b) Archives de l'Institut Pasteur, Eugène WOLLMAN (1883-1943). Site web : <http://www.pasteur.fr/infosci/archives/wo10.html>

c) Paul BORDET : Immunologie. Collection médico-chirurgicale. Flammarion Médecine-Sciences Ed. (Paris), 1975 ; 14, 15, 50.

d) Albert DELAUNAY : "L'Institut Pasteur des origines à aujourd'hui". France-Empire Ed. (Paris), 1962 ; 367 pages.

e) Albert DELAUNAY : Elie METCHNIKOFF (1845-1916). Conférence à la Station zoologique de Naples, le 12 mars 1982. Bulletin Assoc. Anc. El. Institut Pasteur, 1982, n° 92, 24-30.

f) André EYQUEM : "Elie METCHNIKOFF (1845-1916) : La phagocytose - l'auto-immunisation". Assoc. Anc. El. Institut Pasteur 1981, n° 88, 43-47

g) Pierre LÉPINE : "METCHNIKOFF à l'Institut Pasteur". Assoc. Anc. El. Institut Pasteur 1967, n° 31, 3-11.

h) Henri H. MOLLARET et Jacqueline BROSSOLLET : "Alexandre YERSIN (1863-1943), un pasteurien en Indochine". Belin Ed. (Paris), 1993 ; 61-68, 347.

<sup>3</sup> NDLR. Dans son laboratoire de l'Ecole normale supérieure de la rue d'Ulm, Louis PASTEUR décide en 1877, aidé de C. CHAMBERLAND et de JOUBERT, puis d'E. ROUX et de L. THUILLIER, d'orienter ses recherches vers le domaine médical. Pendant dix ans, ces quatre chercheurs seront intimement mêlés aux travaux de PASTEUR sur le charbon, le choléra des poules et la rage. En 1886, Adrien LOIR (neveu de Mme PASTEUR) et A. YERSIN, sont "préparateurs" dans ce laboratoire de la rue d'Ulm. Le Dr GRANCHER convainc PASTEUR en 1885 de tenter la première vaccination contre la rage chez l'homme, sur Joseph MEISTER ; il assure lui-même la série d'injections qui vont sauver l'enfant et continuera à effectuer le traitement de tous les "mordus" qui consultent PASTEUR à son "cabinet" de l'Ecole normale. Officiellement créé par décret du 4 juin 1887, l'Institut Pasteur fut inauguré le 14 novembre 1888.

<sup>4</sup> NDLR. LEUCKART a, entre temps, publié un mémoire sur les nématodes dans lequel le nom de METCHNIKOFF est à peine cité alors que c'est lui qui a réalisé tout le travail lors de son premier séjour dans le laboratoire à Giessen.



logiste russe, qui lui vante la richesse de la faune napolitaine et insiste sur les qualités de l'Italie. Elie décide aussitôt de partir pour ce pays.

Voyage sans grand intérêt (à ses yeux), et c'est Naples et la rencontre [...] avec KOVALEVSKY. Celle-ci est idyllique et les deux étudiants, impressionnés par le livre de Fritz MÜLLER : *Pour Darwin*, qui vient de paraître, décident d'unir leurs efforts pour entreprendre une étude comparative des feuillettes embryonnaires chez les animaux inférieurs en suivant le devenir de chacun d'eux<sup>5</sup>. La réussite est totale : le développement des animaux inférieurs se fait sur le même plan et d'après les mêmes lois que chez les êtres supérieurs. Par là-même, se trouvait en quelque sorte fondée une science nouvelle : **l'Embryologie comparée**<sup>6</sup>.

En 1867, METCHNIKOFF, de retour en Russie, soutient sa thèse à Saint-Petersbourg et obtient - récompense particulièrement flatteuse - un prix "Von Baer". Il a désormais 22 ans. Que va-t-il faire maintenant ? Il choisit des fonctions d'agrégé à Odessa<sup>7</sup>, mais elles ne lui plaisent pas. Dès 1868, nous le retrouverons à Naples (où il étudie cette fois le développement des éponges et des échinodermes). L'entente avec KOVALEVSKY n'est plus parfaite : il rentre donc en Russie, s'arrête à Moscou et se marie<sup>8</sup>. Hélas, [son épouse] est atteinte de tuberculose. Elie cherche le lieu qui pourrait faciliter sa guérison<sup>9</sup>. Finalement, le couple se trouve à Madère. Mais le mieux ne vient pas. Ludmila succombe le 20 avril 1873. Son mari [...] a l'impression que sa vie est désormais manquée. A petites étapes, il décide de retourner dans son pays natal. A Genève, il tente en vain de se suicider<sup>10</sup>.

Arrivé finalement en Russie, une autre épreuve l'attend. [Il continue à souffrir de sa] maladie d'yeux, si bien qu'il ne peut travailler longtemps au microscope. Il décide, pour cette

raison, de laisser la Biologie pour l'Anthropologie. C'est alors qu'il fera sa première expédition chez les Kalmouks, dans les steppes d'Astrakhan. Revenu à Odessa<sup>11</sup>, il se marie pour la seconde fois. La nouvelle élue s'appelle Olga BELOKOPYTOV [...]. Elie est alors âgé de 30 ans. Si ses relations avec les étudiants sont bonnes, le milieu scolaire est très agité et il ne peut fournir au jeune professeur le calme qui lui conviendrait<sup>12</sup>. Il recommence donc à voyager hors de Russie, en Europe. Sa vue étant redevenue meilleure<sup>13</sup>, il peut désormais passer de longs moments devant son microscope, et il le fait toujours dans le même dessein : préciser cet étrange pouvoir que possèdent les cellules mésodermiques, chez de nombreuses larves d'échinodermes et de coelentérés, d'englober et de détruire des corps étrangers. [Quelle] peut bien être [la finalité] de cette **digestion intracellulaire**<sup>14</sup> ?

Finalement, il décide de s'arrêter à Messine, en Sicile. Le moment étoilé de son existence va sonner.

### III. MESSINE ET LA DÉCOUVERTE DE LA PHAGOCYTOSE (1882-1884)

Ce moment étoilé, METCHNIKOFF lui-même l'a évoqué en un texte qui constitue l'une des pages les plus célèbres de l'Histoire de la Biologie. Il me faut la citer : "... *Un jour que toute la famille<sup>15</sup> était au cirque pour voir d'extraordinaires singes dressés, je restais seul à mon microscope et j'observais la vie des cellules mobiles d'une larve transparente d'étoile de mer, quand une nouvelle pensée m'illumina tout à coup. J'eus l'idée que des cellules analogues devaient servir à la défense de l'organisme contre de nuisibles intrus... Je me disais que - si ma supposition était juste - une écharde, introduite dans le corps*

<sup>5</sup> NDLR. Le livre de MÜLLER "*Pour Darwin*" confirme, par des considérations histologiques, la thèse de DARWIN. On sait aujourd'hui que dans l'évolution de tout animal, il y a formation de 3 feuillettes : l'ectoderme, l'endoderme et le mésoderme. A l'époque, cette évolution est déjà bien connue chez les vertébrés mais ne l'est que peu chez les invertébrés.

<sup>6</sup> NDLR. Autour de METCHNIKOFF et de KOVALEVSKY, la vie napolitaine n'est pas monotone. Les deux jeunes gens ont rencontré deux autres Russes : un physiologiste, SETCHENOF, et un révolutionnaire, BAKOUNINE. Une sorte d'amitié se lie entre l'anarchiste et METCHNIKOFF. A l'automne 1865, le choléra éclate à Naples et METCHNIKOFF quitte la ville pour l'étranger. Il fera successivement de courts séjours à Göttingen chez KEFERSTEIN, puis à Munich chez Von SIBOLT où il commence à s'intéresser à l'embryologie des insectes, avant de retourner à Naples. Nouvelles recherches avec KOVALEVSKY, nouveaux épanchements avec BAKOUNINE. METCHNIKOFF achève alors son étude du développement des céphalopodes qui constituera le sujet de sa thèse de Docteur ès Sciences.

<sup>7</sup> NDLR. Après un court séjour en Crimée où il étudie la faune de la Mer Noire.

<sup>8</sup> NDLR. L'élue se nomme Ludmila FEDOROVITCH.

<sup>9</sup> NDLR. Au printemps 1869, on trouve le couple à La Spezia. Puis ce sera Reichenhall, Montreux, puis Saint Petersburg, puis San Remo, puis Villefranche-sur-Mer. METCHNIKOFF et son épouse malade se rendent plus tard en Normandie, à Saint-Vaast ; là, dans une petite île, le naturaliste étudie les lucernaires.

<sup>10</sup> NDLR. Depuis quelque temps, sa vue s'est profondément altérée. Dans le but de se supprimer, il absorbe de la morphine mais n'en meurt pas ; il opte alors pour une autre solution : il va prendre un bain très chaud puis il va s'exposer au froid. Tard dans la nuit, pour rentrer chez lui, il doit traverser le pont du Rhône. Tout à coup, il remarque, sur ce pont, une nuée d'insectes qui voltigent autour de la flamme d'un réverbère. Devant ces éphémères, il se met à penser : "Comment appliquer à ces insectes la théorie de la sélection naturelle ? Ils ne s'alimentent pas et ne vivent que quelques heures ; ils ne sont donc pas soumis à la lutte pour l'existence ; ils n'ont pas le temps de s'adapter aux conditions ambiantes !". Ses pensées sont à nouveau orientées vers la Science, le lien avec la vie est renoué !.

<sup>11</sup> NDLR. Odessa, où il donne à la fois des leçons dans un lycée et des cours à l'Université.

<sup>12</sup> NDLR. L'agitation à l'Université bat son plein en 1881, après l'attentat qui met fin aux jours du Tsar Alexandre II. La politique laisse METCHNIKOFF assez froid mais, voyant que le travail dans de telles conditions est quasi impossible, il donne sa démission d'universitaire fin 1882.

<sup>13</sup> NDLR. Après avoir quitté ses fonctions à l'Université d'Odessa, METCHNIKOFF se trouve à nouveau en phase dépressive, sa santé est médiocre et il décide une nouvelle fois de disparaître. Pour cela, il s'inocule des spirochètes responsables de fièvre récurrente. Mais il n'en meurt pas ; il n'a qu'une jaunisse et, mieux même, sa vue est améliorée. Il peut donc reprendre ses recherches en embryologie.

<sup>14</sup> NDLR. Digestion autonome assurée par des cellules primitives alors que les larves d'organismes concernés possèdent un système digestif différencié.

<sup>15</sup> NDLR. Le couple METCHNIKOFF quitte la Russie à l'automne 1882, accompagné de deux soeurs et de trois frères d'Olga. Les enfants adorent leur beau-frère qu'ils appellent "Le Prophète".



*d'une larve d'étoile de mer, devait être très vite entourée par les cellules mobiles, ainsi que cela s'observe chez l'homme qui a une écharde au doigt. Aussitôt dit, aussitôt fait. Dans le jardin de notre demeure, jardin où, quelques jours auparavant, nous avons organisé pour les enfants un "arbre de Noël" sur un petit mandarinier, je pris plusieurs épines de rosiers pour les introduire aussitôt sous la peau de superbes larves d'étoiles de mer, transparentes comme l'eau... Le lendemain, à une heure très matinale, je constatai avec joie [que la tentative] avait pleinement réussi ! Cette expérience servit de base à la théorie phagocytaire, au développement de laquelle je consacrai les vingt-cinq années suivantes de ma vie..."*

Dans cette expérience fameuse, c'est bien le génie lui-même qui se manifeste. Ce qu'avait brusquement pressenti METCHNIKOFF, c'était l'analogie intime du phénomène qu'il venait de voir avec celui qui se produit lors de la formation de pus [...] et qui avait été nommé : diapédèse inflammatoire. Là où, chez tous les êtres supérieurs, se produit une infection ou une irritation, les leucocytes se mettent à quitter le courant sanguin pour se réunir en amas. De la sorte, il apparaissait nettement, aux yeux de METCHNIKOFF, que l'essence de l'inflammation réside dans cette réaction des cellules mobiles, l'intervention vasculaire et nerveuse, qui avait été aussi mise en avant, n'ayant qu'une signification secondaire. En bref, **qu'est-ce donc que l'inflammation ?** C'est d'abord une réaction de cellules mésodermiques contre un agent extérieur. Et parmi ces agents, il faut naturellement placer les microbes qui, à la même époque, commençaient à faire beaucoup parler d'eux. Mais quel rôle attribuer aux cellules ? C'est un rôle curateur : l'inflammation doit donc être considérée comme un phénomène bienfaisant.

[...] En 1883, le moment est revenu, une fois de plus, de regagner la Russie. En chemin, notre savant s'arrête quelques jours sur les bords du lac de Garde (c'est là qu'il écrira l'histoire de sa découverte), puis à Vienne où un collègue, consulté, imagine les mots qui feront fortune de **phagocytes** (les cellules) et de **phagocytose** (le phénomène clef de l'inflammation). De retour en Russie, le biologiste cherche d'abord à vérifier l'exactitude de sa conception. La première démonstration sera faite sur de petits crustacés d'eau douce : des daphnies. Il arrive que ceux-ci soient infectés par un champignon parasite appelé *Monospora bicuspidata*. METCHNIKOFF ne tarde pas à remarquer que la guérison ou l'issue mortelle dépendent de l'efficacité de la défense phagocytaire. Puis viennent d'autres expériences, cette fois chez le lapin, avec la bactérie charbonneuse, germe que les travaux de PASTEUR ont récemment mis à l'honneur. Les résultats sont comparables. En 1884, l'ensemble de

ceux-ci est publié dans les *Archives de Virchow*. Hélas, le sujet est trop nouveau. Personne n'y prête attention.

À l'euphorie succède donc, chez METCHNIKOFF, le dépit. A nouveau, il décide de voyager<sup>16</sup>. Quand il est enfin de retour à Odessa, en 1885, les travaux de PASTEUR sur la vaccination antirabique viennent d'être connus et la municipalité de la ville a décidé de fonder une station bactériologique. Pour la diriger, on a fait appel à un jeune biologiste nommé GAMALEÏA. Celui-ci réclame le concours de METCHNIKOFF qui accepte. L'Institut est finalement ouvert en 1886<sup>17</sup>. [...] En l'absence de GAMALEÏA parti faire un stage à Paris<sup>18</sup>, les médecins praticiens s'étonnent de ne trouver sur place que METCHNIKOFF, simple naturaliste. GAMALEÏA de retour, la mésentente entre les deux directeurs s'installe. Bref, comme l'a écrit METCHNIKOFF lui-même : "Les obstacles venaient d'en haut, d'en bas et des côtés".

Autant s'échapper à nouveau. Cette fois, on rencontre le couple à Vienne, à Munich (dans un laboratoire d'où sont venues des critiques sévères sur la phagocytose<sup>19</sup>), enfin à Paris où a lieu une rencontre avec PASTEUR. L'accueil réservé par le grand homme à sa femme et à lui-même est excellent. Nous sommes alors à l'époque où PASTEUR, hanté par le problème de la rage, pensait à fonder un Institut qui lui serait personnel. Il demandait à son visiteur s'il accepterait d'y travailler. Sur le moment, sa réponse restait hésitante : il appréhendait de vivre au milieu d'une cité bruyante.

[Après leur séjour à Paris], Elie et Olga rencontraient KOCH à Berlin. Celui-ci restait d'une grande froideur. Enfin, Odessa mais, là, c'était pour apprendre une catastrophe. Un vaccin anticharbonneux préparé en son absence par la Station bactériologique avait entraîné la mort de milliers de moutons. Certes, METCHNIKOFF n'était pas personnellement coupable ; il était tout de même le responsable. Le coup était donc terrible. Venait de tomber la dernière goutte qui ferait déborder le vase. Le départ pour Paris était décidé. [Les] infatigables voyageurs y arrivent le 15 octobre 1888.

#### IV. PHAGOCYTOSE, INFLAMMATION, IMMUNITÉ [ET RECHERCHES EN MICROBIOLOGIE] À L'INSTITUT PASTEUR (1888-1905)

La construction du nouvel Institut était à peine achevée. Son inauguration aura lieu en novembre. METCHNIKOFF y faisait rapidement connaissance de ses nouveaux collègues<sup>20</sup>. Il se réjouissait de participer à une sorte d'ordre monacal, les hommes ici étant liés par la religion de la science<sup>21</sup>.

<sup>16</sup> NDLR. À la déception et au dépit s'ajoute l'inquiétude car l'état de santé de Mme METCHNIKOFF s'altère. Il devient nécessaire de passer l'hiver dans le Midi mais le choléra fait sa réapparition en Italie. Après avoir traversé l'Espagne, le couple se fixe à Tanger. Olga se rétablit mais les recherches marquent le pas.

<sup>17</sup> NDLR. METCHNIKOFF est nommé Directeur scientifique de la nouvelle institution. En 1885 et 1886, il se livre à de nouvelles expériences sur la phagocytose avec, cette fois, le streptocoque de l'érysipèle et le spirochète de la fièvre récurrente. Tous les résultats vont dans le même sens mais les échos n'en restent pas moins faibles et défavorables.

<sup>18</sup> NDLR. La municipalité d'Odessa a chargé GAMALEÏA de venir étudier auprès de Louis PASTEUR et son équipe la nouvelle méthode de traitement contre la rage.

<sup>19</sup> NDLR. En 1887, se tient à Vienne un congrès d'hygiénistes auquel participent, pour la première fois, des bactériologistes. EMMERICH se livre à une attaque très violente contre les phagocytes. METCHNIKOFF, alarmé, n'hésite pas à se rendre à Munich, dans le laboratoire même d'EMMERICH, pour tenter de le faire revenir à une opinion plus juste.

<sup>20</sup> NDLR. Certains pastoriens se montrent réticents devant l'arrivant. Emile DUCLAUX, en particulier, trouve la théorie de METCHNIKOFF infiniment trop "vitaliste". PASTEUR attribue néanmoins à METCHNIKOFF la direction de tout un service, celui de "Microbie morphologique".



Photo 1. Elie METCHNIKOFF dans son laboratoire à l'Institut Pasteur (Coll. Musée Pasteur : M/943)

Après avoir été ignorée, la doctrine de la phagocytose commençait à faire parler d'elle. [... Elle satisfait en France, mais ailleurs, et particulièrement en Allemagne, elle suscite une forte controverse<sup>21</sup>]. Chaque année, ou presque, un grand congrès devenait un champ clos où les adversaires s'opposaient. En 1890, au Congrès de Berlin, KOCH frappait durement ; LISTER était plus équitable. En revanche, en 1892, un rapport particulier de ROUX imposait presque les vues de METCHNIKOFF. Dès lors, il devenait difficile de contester l'existence d'un lien étroit entre l'Immunité et les fonctions des phagocytes. Pourtant, une nouvelle découverte était venue jeter quelque trouble ; c'était celle de produits solubles dans le sang et doués d'une indiscutable action protectrice (BEHRING, 1891), produits qu'on ne devait pas tarder à désigner sous le nom d'**anticorps**. L'habi-

tude était prise désormais de distinguer en pratique une **immunité cellulaire** et une **immunité humorale**<sup>23</sup>.

En 1892, E. METCHNIKOFF avait fait paraître un volume appelé à devenir classique : *Leçons sur la Pathologie comparée de l'Inflammation*. Tout paraissait s'apaiser quand, brusquement, une découverte inattendue venait tout remettre en question. Un Allemand (PFEIFFER) avait pu montrer qu'au moins dans l'infection cholérique, les phagocytes ne jouent aucun rôle. METCHNIKOFF lui-même, devait reconnaître l'exactitude du fait mais on s'apercevait peu après qu'il ne s'agissait là que d'un fait exceptionnel.

Finalement, c'est à un Belge, Jules BORDET, venu travailler dans le laboratoire de METCHNIKOFF, qu'allait revenir le mérite de lancer une sorte de pont entre ce qui relève des deux types d'immunité déjà connus<sup>24</sup>. En 1900, E. METCHNIKOFF faisait paraître un gros ouvrage intitulé : *L'immunité dans les maladies infectieuses*. Il va de soi qu'il y insistait particulièrement sur les actions phagocytaires. Vingt ans plus tard, Jules BORDET publiait à son tour un [ouvrage de référence] sur la question. Cette fois, ce qui était souligné, c'était l'importance des anticorps et, tout spécialement, de l'alexine (ou complément).

Où en est-on aujourd'hui ? Reconnaissons que, ces dernières années, dans le grand domaine ici envisagé, les changements, les nouveautés, ont presque représenté le pain quotidien du chercheur. Ni METCHNIKOFF ni BORDET n'avaient cru pouvoir distinguer une action des lymphocytes. Or, ces cellules occupent désormais le devant de la scène. Cependant, ne nous détournons pas dédaigneusement de la phagocytose. Celle-ci demeure, et demeurera, une découverte majeure et c'est avec les meilleures raisons que la Direction de l'Institut Pasteur a décidé de donner le nom de METCHNIKOFF au grand bâtiment inauguré le 26 novembre 1984 et qui est tout spécialement consacré à l'**Immunologie**<sup>25</sup>. [...] A partir de 1900, son activité

<sup>21</sup> NDLR. Elie et Olga, sa seule préparatrice, installés dans les laboratoires de la rue Dutot, occupent d'abord un logement à Paris, puis iront passer les étés à Sèvres où a été acquise une petite villa ; à partir de 1905, le couple s'installera définitivement à Sèvres. Au laboratoire, le travail n'a jamais été aussi pressant. Tant que METCHNIKOFF n'était que zoologiste, l'atmosphère qui l'entourait était restée relativement calme et sereine ; or voilà que prend naissance une lutte épique (qui durera jusqu'en 1895, c'est-à-dire jusqu'à la mort de PASTEUR) et que commence du même coup une vie ardente et même fiévreuse.

<sup>22</sup> NDLR. A partir de 1887, il se dessine un nouveau front d'attaque contre la théorie phagocytaire, tenu par des bactériologistes : FODOR, EMMERICH, NUTTALL, NISSEN, BUCHNER, LUBARSCH, BEHRING, FRANCK... Ces opposants apportent quelque chose d'original : leur théorie - qu'on appellera humorale - est la suivante : "Si, dans les conditions naturelles notre organisme parvient à détruire des microbes, ce n'est pas parce que des cellules interviennent ; c'est parce que nous portons dans nos humeurs, en particulier dans notre sang, des principes bactéricides spéciaux". Le tenant de cette thèse qui, peu à peu, se fera le plus acharné est l'Allemand H. BUCHNER. Ce dernier dénommera "alexines" les principes bactéricides - thermolabiles - du sérum. Voici donc face à face phagocytes et alexines. METCHNIKOFF réagit par trois mémoires publiés de 1889 à 1890 dans les *Annales de l'Institut Pasteur* en s'efforçant de détruire les arguments de ses adversaires et en appuyant par de nouvelles preuves le bien-fondé de ses propres conceptions.

<sup>23</sup> NDLR. L'enseignement de la "Microbie technique" à l'Institut Pasteur est inauguré en 1889. Au début, chaque cours comprend 30 leçons et il est répété trois fois par an. Tout l'enseignement est donné par ROUX ; quelques leçons seulement sont réservées à METCHNIKOFF. Ce dernier fait en 1891 une série de leçons sur l'inflammation, manifestation principale de l'action phagocytaire. Là encore, et plus clairement qu'ailleurs, il établit un lien étroit entre la "digestion intracellulaire normale" et la réaction inflammatoire.

<sup>24</sup> NDLR. Rappelons qu'en 1895, Jules BORDET découvre le pouvoir sensibilisateur à l'alexine, grâce à l'expérience dite de "réactivation". Il démontre que la bactériolyse par les immunosérums spécifiques résulte de l'action combinée d'un anticorps (les "sensibilisatrices" de BORDET sont des anticorps) et de l'alexine ; le premier - qui ne se trouve que dans le plasma des animaux vaccinés, et relativement thermostable - sensibilise le microbe à l'action de la seconde - présente dans tous les plasmas et détruite par chauffage à 56°C. Peu après, DENYS et LECLEF montrent que la phagocytose particulièrement active chez les animaux vaccinés résulte de la fixation, sur les microbes, d'anticorps spécifiques qui les rendent plus accessibles à la capture par les phagocytes et auxquels WRIGHT et DOUGLAS, en 1903, donnent le nom d'opsonines.

<sup>25</sup> NDLR. Si la contribution de METCHNIKOFF à la découverte de "l'immunité cellulaire" est très largement connue, il en est tout autrement de son rôle dans la découverte de l'auto-immunisation et dans l'application de ce phénomène à l'immunopathologie. Pourtant, de 1898 à 1908, METCHNIKOFF et son Ecole (Jules BORDET, LEVADITI, BESREDKA, DELEZENNE, LINDEMAN, CANTACUZÈNE) jouent un rôle déterminant dans la conception du mécanisme d'auto-immunisation et dans les premières preuves expérimentales ou cliniques de son existence, grâce à leur préparation d'une série de sérums actifs sur des cellules de divers groupes cytologiques ou histologiques (globules rouges, globules blancs, thrombocytes, rein, foie, moelle osseuse, estomac, poumon, placenta, spermatozoïdes, cerveau, thyroïde).



**Photo 2 : Congrès de Budapest en 1894** (Coll. Musée Pasteur : M/930). Lors de ce congrès, METCHNIKOFF défendit avec passion sa doctrine de la phagocytose et ROUX rapporta les premiers résultats de la sérothérapie antidiphthérique.

Debout, à partir de la gauche :

GABRITCHEVSKY - ROUX - NOCARD - NUTTAL.

Assis, à partir de la gauche : LAVERAN - PERTIK - METCHNIKOFF

scientifique ne se limite plus à l'étude des grands processus immunitaires. Il s'intéresse aussi - et non sans succès - à des problèmes de Bactériologie, comme le choléra<sup>26</sup> et la syphilis. En 1905, SCHAUDINN avait découvert le germe responsable de la syphilis chez l'homme. Peu après, METCHNIKOFF et ROUX retrouvaient le même microbe chez des singes qu'ils avaient infectés<sup>27</sup>. [...] La spécificité du tréponème était désormais établie<sup>28</sup>.

## V. UNE PHILOSOPHIE DE LA VIE (1905-1916)

[...] METCHNIKOFF n'était plus seulement l'homme ardent à découvrir des phénomènes scientifiques ; des problèmes éternels venaient se poser à lui. Et d'abord pourquoi vieillissons-nous ?

[...] Il allait mettre en cause des facteurs divers : alcoolisme, maladies infectieuses (syphilis en tête), artériosclérose... [...] A la suite d'expériences sur des animaux élevés stérilement, ceux qu'on appelle de nos jours "germ-free"<sup>29</sup>, il était conduit à incriminer des toxines spéciales (cytotoxines) sécrétées par les germes intestinaux.

Restait à trouver une thérapeutique. Là encore, METCHNIKOFF faisait preuve de génie en recommandant l'usage de sérums spécialement préparés, véritables précurseurs de celui qu'on devait utiliser, après la guerre de 1945, sous le nom de sérum de Bogomoletz. Mais [il] lui venait aussi une autre idée. Dans certaines régions de l'Europe, les populations jouissent d'une longévité particulièrement étonnante ; cela, semble-t-il, parce qu'elles font un large usage de lait caillé. Il en [serait] par exemple ainsi chez les Kalmouks [...] et le savant décidait de se rendre une seconde fois dans [les steppes d'Astrakan]. Il se mettait à isoler plusieurs bacilles lactiques. Finalement, il mettait en vente une spécialité particulière de lait caillé.

De 1904 à 1914, le laboratoire de METCHNIKOFF, par ses activités et par son originalité, est incontestablement l'un des



**Photo 3 : METCHNIKOFF dans son laboratoire, entouré de ses élèves, en 1911** (Coll. Musée Pasteur : M/950)

<sup>26</sup> NDLR. En dépit de la découverte du vibron cholérique par KOCH en 1883, en Egypte, la spécificité du germe n'est pas encore bien établie. METCHNIKOFF essaie de transmettre la maladie à diverses espèces d'animaux, mais il échoue. Il décide alors de faire une expérience sur lui-même et consomme une grande quantité de vibrions cholériques. Aucune réaction. De même chez son collaborateur LATAPIE, qui a eu le courage de suivre l'exemple de son maître. En revanche, le deuxième garçon de laboratoire, JUPILLE, soumis à la même épreuve, manque de mourir. La difficulté d'inoculation expérimentale du choléra est de nos jours bien connue ; de même, l'absorption de vibrions cholériques par des hommes volontaires n'aboutit que très rarement à l'apparition d'un authentique choléra. Plus tard, un sérum spécifique contre le choléra sera mis au point par METCHNIKOFF, ROUX et SALIMBENI, non sans difficultés d'ailleurs.

<sup>27</sup> NDLR. En 1903, au Congrès de Madrid, METCHNIKOFF reçoit un prix de 5.000 F ; il l'utilise pour acheter deux singes anthropomorphes. Au même moment, ROUX, alors sous-directeur de l'Institut Pasteur, reçoit le prix Osiris d'un montant de 100.000 F. Ces récompenses permettent aux deux pastoriens de commencer d'importantes recherches sur la syphilis pour déterminer son mode de contagion. Ils réalisent la première transmission de la maladie à l'animal de laboratoire en montrant que des chimpanzés, inoculés au niveau de la paupière avec des produits d'origine humaine, présentent tous les symptômes cliniques de l'infection. Ultérieurement, ils réussirent la transmission de l'infection d'un singe à l'autre.

<sup>28</sup> NDLR. Sans prétendre vouloir être exhaustif sur les recherches conduites par METCHNIKOFF en microbiologie, il convient de citer également ses publications sur *Bacillus sporogenes*, responsable de la gangrène gazeuse (1908), son "expédition bactériologique" en Russie (accompagné d' E. BURNET, A. SALIMBENI et YAMANOUCHI) pour étudier le choléra à Moscou, la tuberculose et la peste dans les steppes kalmoukes (1910) et ses travaux sur la transmission expérimentale de la fièvre typhoïde au chimpanzé puis sur la préparation de vaccins contre cette maladie (1911), en collaboration avec BESREDKA - qui avait déjà été l'un de ses élèves à l'Université d'Odessa -.

<sup>29</sup> NDLR. L'élevage aseptique de divers animaux (poussins, jeunes cobayes, têtards, insectes...) a été mis au point dans le laboratoire de METCHNIKOFF par Eugène WOLLMAN entre 1910 et 1914. Eugène WOLLMAN et Alexandre BESREDKA ont été, selon certains biographes, les "élèves préférés" de METCHNIKOFF, et continuèrent son oeuvre tandis que d'autres poursuivaient leur carrière à l'Institut Pasteur (LEVADITI, WEINBERG, POZERSKI, SALIMBENI, MESNIL...) ou essaïaient hors de France (BURNET, Jules BORDET, TARASSÉVITCH...).



## Association des Anciens Élèves de l'Institut Pasteur

phares de l'Institut Pasteur mais aussi l'un des lieux vis-à-vis desquels tout Paris, toute la France, le monde même, éprouvent un irrésistible attrait]. METCHNIKOFF était vraiment devenu "un homme du jour"<sup>30</sup>. [...].

En 1908, METCHNIKOFF avait reçu, de moitié avec EHRLICH, le Prix Nobel de Médecine pour ses recherches sur l'Immunité.

Au printemps de 1909, se rendant à Stockholm, il s'arrêtait en Russie et avait l'idée de rendre visite à TOLSTOÏ, dans son domaine d'Iasnaïa Poliana. Soudain, deux hautes intelligences se trouvaient face à face mais tellement différentes que, de leur rencontre, ne pouvait jaillir la lumière. Tout, en effet, opposait ces deux hommes ; l'un ne croyait qu'à la raison et à l'expérience, l'autre était surtout artiste et mystique. Certes, tous deux poursuivaient le même but, qui était le perfectionnement et le bonheur du genre humain. Mais ils le poursuivaient par des voies quasi opposées. Ainsi METCHNIKOFF disait : "La

Science est la seule issue que l'humanité souffrante trouvera pour assurer son avenir car, seule, elle peut réellement savoir". A cela, TOLSTOÏ répondait que "la connaissance ne sert à rien, que même les travaux de PASTEUR (qui, à la majorité des hommes, semblaient fondamentaux) n'avaient aucune importance véritable". Que souhaitait-il donc, lui, pour le bien de l'homme ? Sa pensée sur le problème était, hélas, très obscure ! Une vague religiosité, telle qu'il l'a définie, par la voix de ses héros, dans *Anna Karénine* et dans *Guerre et Paix*.

Dans les dernières années de sa vie, s'intéressant de plus en plus à des problèmes généraux, E. METCHNIKOFF, frappé par les désharmonies de la nature qu'il découvrait partout, déclarait que vieillesse et mort douloureuse ne seraient pas toujours des fatalités. Un jour viendrait où l'on pourrait - grâce à la science - les vaincre et faire de la mort, finalement, une issue souhaitée. Ainsi naquit cette nouvelle doctrine à laquelle il donna le nom d'**Orthobiose** [...].

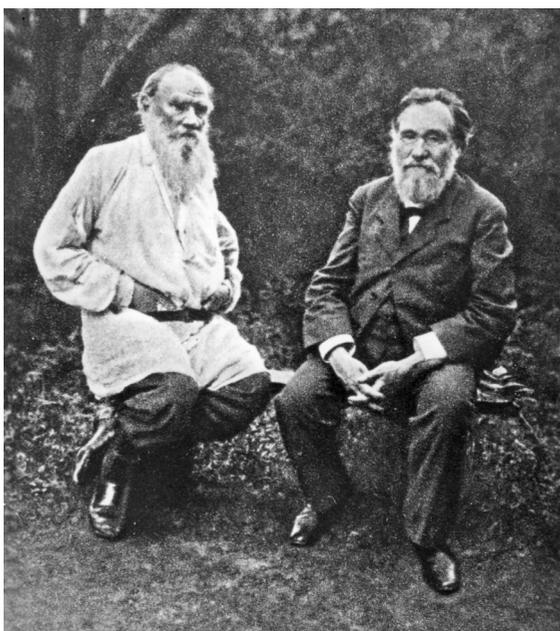


Photo 4 : Elie METCHNIKOFF et Léon Nikolaïevitch TOLSTOÏ dans le domaine d'Iasnaïa Poliana (Coll. Musée Pasteur : M/967)

1914. La guerre éclatait, semant l'inquiétude et la terreur. Cependant, les forces du savant déclinaient de plus en plus. Malgré tout, il réussissait à travailler encore un peu. Il fit même quelques expériences avec l'espoir d'expliquer les raisons de la **mort naturelle** du papillon du ver à soie. Il fit, d'autre part, une remarquable étude sur trois grands de la médecine : PASTEUR, LISTER et KOCH<sup>31, 32</sup>.

L'été 1916 allait être son dernier été<sup>33</sup>. Il mourut le 14 juillet. Après son incinération au Père Lachaise, ses cendres étaient ramenées à l'Institut Pasteur [où elles sont conservées dans la Grande Bibliothèque, devenue Salle des Actes]. "Mais sa belle âme ardente, ses idées audacieuses et fécondes, toute cette riche vie intérieure qui s'était développée en une symphonie harmonieuse et puissante, tout cela ne peut pas être mort, ne peut pas disparaître !... Les idées, l'influence laissées dans la vie doivent persister, elles doivent vivre, elles sont la flamme sacrée qu'on se passe et qui est éternelle" (Olga METCHNIKOFF).

### MOTS-CLÉS

METCHNIKOFF. Phagocytose. Inflammation. Immunité. Bactériologie. Maladies infectieuses. Vieillesse. Orthobiose. Embryologie.

<sup>30</sup> NDLR. Etienne BURNET décrit ainsi le laboratoire : "c'était un salon d'un genre nouveau, un caravansérail scientifique européen [...]. Les visiteurs affluaient à toute heure ; ils apportaient des nouvelles du monde entier, plus vraies que celles des journaux ; par eux, le laboratoire devenait un observatoire. Qui ne s'est assis auprès du bureau chargé de livres [...] ou devant la table d'émail blanc sur laquelle régnait le microscope ? Savants, hommes d'état, artistes, journalistes, actrices, cantatrices, femmes du monde [...] et combien de Russes : ministres du Tsar, grands seigneurs, joueurs de balalaïka, étudiants [...] ; et combien de "tapeurs" de toutes les nationalités ! Ces quelques mètres carrés du laboratoire de METCHNIKOFF, c'était vraiment l'un des sommets de l'Europe, un espace libre, une cellule douée d'immunité [...] contre les préjugés, la vanité, l'égoïsme et le mensonge".

<sup>31</sup> NDLR. Il écrit également un mémoire sur le choléra des nourrissons.

<sup>32</sup> NDLR. Pour l'été 1914, le couple METCHNIKOFF loue une maisonnette retirée, à Saint-Léger-en-Yvelines, qu'il baptise "Norka", ce qui signifie en russe "petit refuge, petit trou". Ils y reviendront durant l'été suivant, mais à la fin de l'année 1915, l'état de santé du savant s'aggrave et ROUX lui propose d'habiter à l'hôpital Pasteur. Le diagnostic de myocardite est porté. En janvier 1916, survient un infarctus pulmonaire compliqué de pleurésie.

<sup>33</sup> NDLR. Au début de juin 1916, son état de santé s'aggrave encore et ROUX conseille au ménage d'aller habiter dans l'ancien appartement de PASTEUR où les pièces sont plus spacieuses et surtout plus fraîches. Quelques jours plus tard, METCHNIKOFF dit à ROUX : "Voyez comme ma vie est liée à l'Institut Pasteur. J'y ai travaillé de longues années ; j'y suis soigné pendant ma maladie ; pour compléter le lien, il faudrait me faire incinérer dans le grand four où l'on brûle les animaux d'expérience et garder mes cendres dans un bocal sur une des armoires de la Bibliothèque". - "Quelle plaisanterie macabre !" dit ROUX. Mais le désir de METCHNIKOFF allait être partiellement exaucé.



### METCHNIKOFF VU PAR ROUX<sup>34</sup>

... "Je maudis l'indisposition qui me retient à la chambre puisqu'elle m'empêche de vous dire, à l'occasion de votre 70<sup>ème</sup> anniversaire, en présence de nos amis, au nom de vos collègues et de vos élèves, notre admiration pour votre oeuvre scientifique et notre affection pour votre personne.

Si, comme le prétend le proverbe, le temps bien employé paraît court, combien ont dû vous sembler brèves les soixante-dix années que vous avez vécues ?

...Aujourd'hui, vous considérez cette doctrine de la phagocytose avec la tranquille satisfaction d'un père dont l'enfant a fait un beau chemin dans le monde. Mais que de tracas elle vous a causés. Son apparition a provoqué des protestations et des résistances et, pendant vingt ans, vous avez combattu pour elle. Il faut avoir vécu dans votre intimité, pendant cette période de lutte, pour comprendre combien la recherche scientifique peut procurer de joie et aussi de tourments à celui qui est passionné par elle. Vous n'évitez aucune occasion de vous expliquer ; je vous vois toujours, au Congrès de Budapest, en 1894, discutant avec vos contradicteurs, le visage enflammé, l'oeil brillant, les cheveux embrouillés ; vous aviez l'air du démon de la science ; mais votre parole et vos arguments irrésistibles soulevaient les applaudissements de l'auditoire.

...La doctrine de la phagocytose est certainement une des plus fécondes de la Biologie ; elle rattache les phénomènes de l'immunité à ceux de la digestion cellulaire, elle nous explique le mécanisme de l'inflammation et celui des atrophies. Elle a vivifié l'anatomie pathologique qui, dans son impuissance à fournir des interprétations acceptables, était restée purement descriptive.

L'observation du rôle des macrophages dans la disparition des éléments nobles des organes altérés vous a conduit à vous occuper des dégénérescences. Beaucoup d'entre elles sont la conséquence des maladies infectieuses et partant évitables ; quant à celles attribuées communément à la vieillesse, elles sont d'après vous presque toujours prématurées. Elles relèvent d'une intoxication chronique ayant son origine dans la fermentation des matières dans le gros intestin. Vous nous avertissez que c'est manquer de prévoyance que d'abandonner à elle-même notre flore intestinale. Nous devons peupler notre tube digestif de microbes bienfaisants et en éliminer les microbes nuisibles. Une grande partie de nos misères physiques et de nos misères morales est due à cette végétation sauvage de l'intestin.

Sans elle, nous atteindrions l'âge de la vieillesse normale qui ne connaît pas l'appréhension de la mort. Vous avez développé le sujet dans vos essais de philosophie optimiste, qui sont bien l'oeuvre la plus originale et la plus suggestive que je connaisse.

...Quand, il y a vingt-sept ans, vous êtes entré dans cet Institut qui venait d'être construit, vous désiriez seulement deux petites pièces où vous puissiez travailler en paix. Vous vous étiez installé au rez-de-chaussée, au fond du couloir de gauche, avec Mme METCHNIKOFF comme préparateur. Les deux chambres où vous vouliez vous isoler ont été bientôt envahies par les travailleurs en quête d'un guide et d'un sujet de recherches. Vous deviez monter au second étage dans un local plus vaste où vos disciples pourraient trouver place. A Paris, comme à Pétrograd, comme à Odessa, vous

deveniez chef d'école et vous avez allumé, dans cet Institut, un foyer scientifique qui a rayonné au loin.

Votre laboratoire est le plus vivant de la Maison, les travailleurs s'y pressent à l'envie. C'est là qu'on discute l'événement bactériologique du jour, qu'on examine la préparation intéressante, qu'on vient chercher l'idée qui sortira l'expérimentateur des difficultés où il est empêtré. C'est à vous qu'on demande le contrôle d'un fait récemment observé, qu'on dévoile la découverte qui, souvent, ne survit pas à votre critique...

Et puis, comme vous lisez tout, que vous savez tout, chacun puise en vous le renseignement dont il a besoin, la substance d'un mémoire qui vient de paraître et qu'il ne lira pas... Votre érudition est si vaste et si certaine qu'elle sert à toute la Maison... Votre ardeur réchauffe l'indolent et donne confiance au sceptique.

Vous êtes un collaborateur incomparable, j'en sais quelque chose, puisque j'ai eu la bonne fortune d'être associé plusieurs fois à vos recherches. En vérité, vous faisiez toute la besogne.

Plus encore que votre science, votre bonté attire ; qui de nous ne l'a ressentie ! J'en ai eu la preuve touchante lorsque, à diverses reprises, vous m'avez soigné comme votre enfant. Vous êtes si heureux d'obliger que vous avez de la reconnaissance pour ceux à qui vous rendez service. Pas plus que vous, Mme METCHNIKOFF ne sait refuser à qui la sollicite et, selon l'expression populaire, votre maison est une maison du bon Dieu...

L'Institut Pasteur vous doit beaucoup, vous lui avez apporté le prestige de votre renommée, et par vos travaux et ceux de vos élèves, vous avez largement contribué à sa gloire. Vous y avez donné l'exemple du désintéressement en refusant tout traitement pendant les années où le budget s'équilibrait difficilement et en préférant aux situations glorieuses et lucratives qui vous étaient offertes, la vie modeste de cette Maison. Resté Russe de nationalité, vous êtes devenu Français par votre choix et vous avez contracté avec l'Institut Pasteur une alliance franco-russe, longtemps avant que les diplomates en aient eu l'idée.

Si nous vivions dans des temps ordinaires, cette salle serait trop petite pour contenir les fils spirituels, les amis, les admirateurs accourus de tous les pays pour fêter vos 70 ans. Dans les circonstances tragiques où nous sommes, quelques amis seulement se pressent autour de vous. Ceux de vos élèves qui font leur devoir à l'armée m'ont expressément chargé d'être l'interprète de leurs sentiments d'affectueuse vénération. D'autres, certainement, pensent à vous en ce jour mais ils ne peuvent le manifester puisqu'ils sont sous le joug de l'ennemi. Je veux parler de CALMETTE, enfermé dans Lille, et de BORDET, et de MASSART, retenus à Bruxelles. Je connais assez leur coeur pour prendre sur moi de vous offrir les hommages qu'ils ne peuvent vous adresser eux-mêmes.

Mon cher Elie METCHNIKOFF, à 70 ans, après un labeur qui suffirait à illustrer plusieurs savants, vous êtes en belle santé, plein d'activité et d'idées ; aussi, nous ne vous souhaitons pas un repos incompatible avec votre tempérament mais une nouvelle période de glorieux travaux...".

### ELIE METCHNIKOFF : UN SOUVENIR D'ENFANCE D'ANDRÉ LWOFF<sup>35</sup>

"... durant ma scolarité, je lisais un nombre incroyable de livres et je décidai soudain d'étudier la biologie afin de m'orienter vers la recherche. Comment l'idée me vint, je ne le sais pas. Peut-être à cause d'Elie METCHNIKOFF qui était un ami de mon père<sup>36</sup>. Lorsqu'un malade était décédé d'une maladie qui intéressait METCHNIKOFF, il se rendait à l'hôpital pour en faire l'autopsie puis venait déjeuner à la maison. Des tubes bouchés d'un tampon de coton sortaient de la poche de son veston et le coton était souillé de sang. Ma pauvre mère était horrifiée.

C'est Elie METCHNIKOFF qui me montra un microbe pour la première fois. C'était en 1915, alors que j'avais 13 ans. Mon père m'avait amené à l'Institut Pasteur. METCHNIKOFF me demanda : "As-tu déjà vu un microbe ?". Je répondis "non". METCHNIKOFF prit alors une lame de verre et la plaça sous le microscope en disant : "C'est un bacille de la typhoïde ; regarde !". J'étais très excité. Je me souviens très bien de ce qui arriva. Je regardai dans le microscope et je ne vis rien. J'étais très impressionné. Tel fut mon premier contact avec les bactéries..."<sup>37</sup>.

<sup>34</sup> NDLR. Pour résumer combien METCHNIKOFF apporta à la Biologie en général et à l'Institut Pasteur en particulier, nous remontons le temps sur 90 années, jusqu'au 16 mai 1915, lorsqu'il est décidé de célébrer le 70ème anniversaire du savant russe. Ce jour-là, le Docteur ROUX, Directeur de l'Institut Pasteur, est malade mais on lit l'allocation qu'il a préparée. Cette allocution brosse un raccourci magistral de toute l'oeuvre et de la personnalité de METCHNIKOFF, en même temps qu'elle nous fait mieux connaître ROUX lui-même ; les principaux passages reproduits ci-dessus sont rapportés par Albert DELAUNAY dans *L'Institut Pasteur des origines à aujourd'hui*. France-Empire Ed. (Paris), 1962, 367 p., 202-205.

<sup>35</sup> Traduction par la Rédaction d'un extrait de : "André LWOFF : *From protozoa to bacteria and viruses, fifty years with microbes*". Annu. Rev. Microbiol., 1971, 25, 1-27.

<sup>36</sup> NDLR. Le père d'André LWOFF, né en Russie, se fixe en France en 1880, fait ses études de médecine à Paris et se spécialise en psychiatrie. Après avoir été médecin-chef de l'hôpital d'Ainay-le-Château, dans l'Allier (où naît André en 1902), il devient médecin des asiles de la Seine. Encore enfant, André LWOFF accompagne fréquemment son père dans son service aux asiles de Maison-Blanche ou de Villejuif.

<sup>37</sup> NDLR. Ce "premier contact" ne laissait pas présager qu'André LWOFF partagerait avec François JACOB et Jacques MONOD le Prix Nobel de Médecine ou de Physiologie en 1965 "pour leurs découvertes sur la régulation génétique de la synthèse des enzymes et des virus".



## VIE DE L'ASSOCIATION

### I. ASSEMBLEE GENERALE 2005

Nous rappelons que l'Assemblée générale 2005 de l'AAEIP se tiendra à **Paris** le vendredi **23 septembre** après-midi, au siège de la **Fondation Simone et Cino del Duca**, 10 rue Alfred de Vigny (Paris VIIIe), fondation placée sous l'égide de l'Institut de France.

Le docteur Jean-Claude MANUGUERRA, responsable de la Cellule d'intervention biologique d'urgence (CIBU) de l'Ins-

titut Pasteur a d'ores et déjà accepté de prononcer une conférence scientifique à l'issue de notre Assemblée générale.

Le programme a été diffusé à la fin du mois de juin.

Réservez dès à présent la date du 23 septembre et soyez nombreux à témoigner de votre attachement à l'AAEIP.

### II. ADMISSIONS

Selon l'approbation du Conseil d'Administration en date du 12 mai 2005, nous avons le plaisir d'accueillir comme nouveaux membres de l'Association les stagiaires et lauréats dont les noms suivent :

- Benoîte BARGETON, scientifique, cours de Biochimie des protéines 2005,
- Jos EVEN, médecin de nationalité luxembourgeoise, cours de Bactériologie systématique, Virologie systématique, Immunologie générale et Immunologie microbienne 1978,
- Elsa JOURDAIN, vétérinaire, cours "Circulation des agents infectieux et maîtrise du risque" 2005,
- Martine JOZAN WORK, médecin, stagiaire dans le département de Virologie 1965,
- Muriel MARAULT, scientifique, cours de Microbiologie générale 2004,

- Ivan MARTINEZ DUNCKER, médecin de nationalité mexicaine, cours de Biologie moléculaire de la cellule 2003,
- Gonçalo MATIAS, vétérinaire de nationalité portugaise, cours "Essais cliniques en milieu tropical" 2004 et cours "Circulation des agents infectieux et maîtrise du risque" 2005,
- Adrien MEGLIO, normalien, cours de Génétique cellulaire et moléculaire 2004,
- Daouda Kassoum MINTA, médecin de nationalité malienne, cours de Mycologie médicale 2005,
- Maurice SCAVIZZI, médecin, cours de Microbiologie et Immunologie 1966,
- Rafaëlle THEODOSE, médecin, cours de Bactériologie médicale 2005,
- Stéphane VINCENT, normalien, cours de Virologie fondamentale 1994

### III. ENTRAIDE

#### A. EMPLOI

*La publication de chaque annonce est gratuite pour tous les membres de l'Association à jour dans le règlement de leur cotisation annuelle. Elle est faite dans deux numéros successifs et, à la demande expresse de l'annonceur, dans un troisième Bulletin. Pour éviter des redites inutiles, veuillez nous prévenir dès que votre annonce ne sera plus justifiée. Le secrétariat tient par ailleurs, à la disposition de ceux que cela intéresse, une liste de cabinets de Conseil en recrutement ayant fait appel à nos services. A tout moment, vous pouvez être informés des annonces déjà parues encore valables et de celles qui ne sont pas encore publiées, en contactant directement le secrétariat (Tél. 01 45 68 81 65 ou Tél/Télec. 01 43 27 72 37).*

#### OFFRES D'EMPLOI

*Elles sont portées à la connaissance des élèves des cours par affichage sur le tableau du hall du Département des enseignements. Pensez plus souvent à nous lorsque vous devez recruter des collaborateurs ; vos offres d'emploi peuvent être communiquées par le secrétariat à des demandeurs dès réception de l'information.*

- Le Service de santé des armées recherche un médecin biologiste, formé à la virologie. Le poste à pourvoir est celui de chef du laboratoire de diagnostic des arboviroses, intégré à l'unité de virologie tropicale de l'Institut de Médecine Tropicale du Service de santé des armées (IMTSSA), à Marseille, et associé au Centre National de Référence des arbovirus. Il comporte des activités techniques et des responsabilités administratives. Le titulaire sera en relation avec des médecins et hôpitaux militaires et civils, en France métropolitaine et outre mer. Il prendra part au réseau d'expertise et de surveillance coordonné par l'Institut National de Veille Sanitaire. Il contribuera en outre aux activités de recherche de l'unité et pourra développer ses propres thématiques.

Une connaissance de l'anglais est fortement recommandée.

Des renseignements peuvent être obtenus au 04 91 15 01 17 ou par mel à l'adresse [imtssa.vro@wanadoo.fr](mailto:imtssa.vro@wanadoo.fr).

#### B. BOURSE AU LOGEMENT

*Vous disposez d'une chambre ou d'un studio à Paris ou en région parisienne susceptibles d'être loués à un étudiant ? Adressez vos propositions à notre secrétariat qui les transmettra aux élèves ou stagiaires (DEA, thésards, post-doc) de l'Institut Pasteur. Offres et demandes de logement sont aussi valables pour les autres régions !*



#### IV. ACTIVITES CULTURELLES

La commission des Activités culturelles propose, pour les 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> trimestre 2005, deux très intéressantes visites :

- La galerie d'Apollon, au musée du Louvre, le mercredi 5 octobre,
- Exposition Camille Claudel, au musée Marmottan, le 3 décembre.

Inscription obligatoire et renseignements complémentaires (horaires, prix) auprès du secrétariat de l'AAEIP

Nous rappelons que les programmes de ces visites sont envoyés aux personnes qui en ont fait la demande. Les personnes intéressées sont priées de se faire connaître au secrétariat de l'AAEIP.

#### V. MARIAGE

Nous avons la joie de faire part du mariage de notre jeune collègue et membre du Conseil d'Administration, **Valérie GUEZ**, avec Monsieur **Marc ZIMMER**, le samedi 28 mai 2005, à Avolsheim (Bas-Rhin).

Que Marc et Valérie trouvent ici l'expression de nos chaleureuses félicitations et tous nos voeux de bonheur.

#### VI. ANNUAIRE : Modifications ou compléments

- Dr Michel HENRY, 23 traverse de Courtrai, 13012 Marseille
- Dr Jérôme MASLIN, Laboratoire de Biologie médicale, CHAB, SP 85024, 00812 Armées.

#### VII. BULLETIN DE L'ASSOCIATION : COMPLETEZ VOTRE COLLECTION

L'Association tient à votre disposition un certain nombre d'anciens numéros de son Bulletin trimestriel, de l'origine de cette publication à aujourd'hui, en particulier, le numéro 161 de l'année 1999, qui comporte la liste des articles publiés à cette date. Toute personne intéressée par certains numéros ou par une (ou plusieurs) année(s) complète(s) est invitée à contacter notre secrétariat.

Vous appréciez notre Bulletin. Il intéressera sûrement certains de vos amis ; communiquez-nous leurs nom et adresse, nous serons heureux de les faire bénéficier de cette offre de numéros anciens et de leur proposer un abonnement.

#### VIII. AVANTAGES POUR NOS ADHERENTS

##### • CARTES DE REDUCTION POUR LES GRANDS MAGASINS

L'Association a le plaisir de rappeler à ses membres adhérents qu'elle tient à leur disposition des cartes de réduction, valables dans différents grands magasins : Bazar de l'Hôtel de Ville, Galeries Lafayette, Nouvelles Galeries (5 à 10 %), Au Printemps (10 %) ... Ces cartes (établies au nom de l'AAEIP), présentées lors du passage en caisse, permettent de bénéficier immédiatement d'une remise et de différents avantages promotionnels. L'AAEIP demandera un chèque de dépôt en échange de la carte. Après utilisation, il conviendra de la ramener aussi rapidement que possible afin qu'un autre membre puisse en bénéficier, l'AAEIP ne disposant que d'une carte pour chaque grand magasin.

##### • ACCES GRATUIT A LA MEDIATHEQUE

Rappelons que la carte de membre de l'AAEIP, validée par la vignette de cotisation annuelle, donne un accès gratuit à la médiathèque de l'Institut Pasteur.

##### • INSCRIPTION AUX EUROCONFERENCES DE L'INSTITUT PASTEUR

*Une réduction de 15 % du prix d'inscription aux Euroconférences de l'Institut Pasteur est consentie aux membres de l'AAEIP à jour dans le règlement de leur cotisation.*

#### IX. MONTANT DES COTISATIONS POUR 2005

Le montant des cotisations et de l'abonnement au Bulletin pour 2005 a été arrêté lors de l'Assemblée générale du 1<sup>er</sup> octobre 2004.

**Cotisation :** Membre actif : 66 € ; Retraité : 55 € ; Couple non retraité : 80 € ; Couple retraité : 65 € ; Tarif **étudiant non titulaire d'un emploi rémunéré** : 25 €.

**Abonnement extérieur :** 52 €.



## NOUVELLES DE L'INSTITUT PASTEUR

## I - ENSEIGNEMENT ET FORMATION

## A - CALENDRIER DES COURS : ANNÉE UNIVERSITAIRE 2005-2006

Cours	Dates	Date de clôture des inscriptions
Analyse des génomes	2 novembre au 6 décembre 2005 (examen inclus)	15 juin 2005
Arthropodes Vecteurs et santé humaine <i>NOUVEAU</i>	18 avril au 16 juin 2006 (examen inclus) (Enseignement dispensé une année sur deux)	15 septembre 2005
Bactériologie médicale	Prochain cours au printemps 2007- (Enseignement dispensé une année sur deux)	-
Biochimie des protéines	9 janvier au 10 février 2006	15 septembre 2005
Biologie moléculaire de la cellule	9 janvier au 3 février 2006 (examen le 21 février 2006)	15 septembre 2005
Circulation des agents infectieux et maîtrise du risque (EPI <sup>1</sup> )	9 janvier au 24 février 2006 (examen inclus)	15 septembre 2005
Développement et plasticité du système nerveux	19 septembre au 14 octobre 2005 (examen le 18 octobre 2005)	15 juin 2005
Epidémiologie et Biostatistiques (EPI) 4 <sup>ème</sup> session <i>NOUVEAU</i>	1 <sup>ère</sup> session : du 2 au 4 novembre 2005 2 <sup>ème</sup> session : du 5 au 9 décembre 2005 3 <sup>ème</sup> session : du 12 au 16 décembre 2005 4 <sup>ème</sup> session : du 2 au 6 janvier 2006	Session 1 : 15 septembre 2005 Session 2 : 15 octobre 2005 Session 3 : 15 octobre 2005 Session 4 : 15 octobre 2005
Essais cliniques et maladies infectieuses et tropicales (EPI)	2 novembre au 2 décembre 2005 (examen inclus)	15 juin 2005
Génétique cellulaire et moléculaire	7 novembre au 16 décembre 2005 (examen inclus)	15 juin 2005
Génétique humaine et maladies infectieuses (EPI) <i>NOUVEAU</i>	13 au 17 mars 2006 (examen inclus)	15 novembre 2005
Génétique de la souris	9 janvier au 10 février 2006 (examen le 13 février 2006)	15 septembre 2005
Immunologie approfondie	2 novembre 2005 au 6 janvier 2006 (examen le 3 janvier 2006 - oral si nécessaire le 6 janvier 2006)	15 juin 2005
Informatique en biologie	9 janvier au 28 avril 2006	15 octobre 2005
Microbiologie générale	5 septembre au 4 novembre 2005 (examen oral pendant le cours - rapport sur les travaux de laboratoire à remettre le 15 novembre 2005)	15 juin 2005
Mycologie médicale	27 février au 7 avril 2006 (examen inclus)	15 novembre 2005
Outils moléculaires et épidémiologie de la tuberculose (en anglais)	3 au 14 avril 2005	15 novembre 2005
Pharmaco épidémiologie et Risque infectieux (EPI)	22 mai au 9 juin 2006 (examen inclus)	15 janvier 2006
Sécurité sanitaire des aliments et analyse de risques (EPI) <i>NOUVEAU</i>	27 mars au 7 avril 2006	15 janvier 2006
Virologie fondamentale	5 septembre au 16 novembre 2005 (examen écrit le 31/10/2005 ; oral les 2 et 3/11 2005 - séminaires les 14, 15 et 16 novembre 2005)	15 juin 2005
Virologie systématique	10 avril au 30 juin 2006 (examen inclus) (Enseignement dispensé une année sur deux)	15 novembre 2005

NB. Le programme des cours pour l'année universitaire 2004-2005 a été publié dans les numéros 180, 1<sup>ère</sup> partie (pages 138-139) et dans le numéro 181 (pages 193 à 196) du Bulletin de l'Association des Anciens Elèves de l'Institut Pasteur.

<sup>1</sup> Ecole pasteurienne d'infectiologie.



## B - PROGRAMME DES NOUVEAUX COURS

### 1 - Arthropodes vecteurs et santé humaine

- Directeur : Pr. Paul REITER, *Unité Insectes et maladies infectieuses, Institut Pasteur*
- Directeur-adjoint : Dr Hervé ZELLER, *unité de Biologie des infections virales émergentes, Institut Pasteur*

*Ce cours, constitué de conférences et de travaux pratiques, est destiné aux candidats ayant une formation en biologie et qui désirent acquérir des connaissances fondamentales sur la transmission et le contrôle des maladies vectorielles.*

- C'est une revue complète de l'histoire naturelle, de l'écologie et de la transmission de maladies transmises par les arthropodes, y compris la physiologie des vecteurs, les modèles mathématiques de dynamique de transmission, les méthodes classiques et novatrices de contrôle et l'impact probable des changements climatiques et de la diversité biologique.
- L'accent est mis sur les méthodes de laboratoire et de terrain, y compris la taxonomie moléculaire, l'échantillonnage statistique, la télédétection et les systèmes d'information géographiques (SIG).
- Approche des problèmes majeurs de santé publique et la méthodologie fondamentale de recherche scientifique.
- Projets d'équipe pour l'examen de problèmes controversés tels que l'usage du DDT pour le contrôle du paludisme et la recrudescence globale des maladies transmises par les moustiques.

Cet enseignement est validé comme l'une des parties du Master (2<sup>e</sup> année) "Sciences de la vie et de la santé" de l'Université de Versailles Saint-Quentin pour les étudiants inscrits dans cet établissement.

A la fin du cours, le Diplôme de l'Institut Pasteur sera délivré. Cet enseignement, dispensé en collaboration avec les Universités Pierre et Marie Curie-Paris 6 et Denis Diderot-Paris 7, peut aboutir à la délivrance d'un **Diplôme interuniversitaire**.

### 2 - Cours d'Epidémiologie et biostatistiques

- Directeur : Dr Arnaud FONTANET, *Unité de Recherche et d'expertise épidémiologie des maladies émergentes, Institut Pasteur*
- Chefs de travaux : Loïc CHARTIER, *Unité de Recherche et d'expertise Epidémiologie des maladies émergentes, Institut Pasteur*  
Stéphane BÉCHET : *Centre de Recherche vaccinale et biomédicale (CRVBm), Institut Pasteur*

*De la théorie biostatistique à la pratique : analyse de données sur Stata*

*Une compréhension parfaite de la langue française sera exigée.*

Cette formation, délivrée dans le cadre de l'Ecole pasteurienne d'infectiologie (EPI), s'adresse à des médecins, vétérinaires, scientifiques et ingénieurs, français et étrangers, souhaitant

acquérir une formation pratique à l'analyse de base de données biomédicales.

L'enseignement comporte quatre sessions, qui peuvent être prises séparément :

- Session 1 : Introduction à l'Epidémiologie et aux Biostatistiques : Arnaud FONTANET et Muriel VRAY (pré-requis : formation biomédicale ou ingénieur minimum baccalauréat + 3)
- Session 2 : Introduction à l'Analyse de données sur Stata : Arnaud FONTANET, Loïc CHARTIER et Stéphane BÉCHET (pré-requis : CESAM ou équivalent ; session 1 acceptée)
- Session 3 : Régression logistique sur Stata : Arnaud FONTANET, Loïc CHARTIER et Stéphane BÉCHET (pré-requis : CESAM ou équivalent et connaissance de Stata)
- Session 4 : Analyse de survie et modèles de Cox sur Stata : Yoann MADEC, Loïc CHARTIER et Stéphane BÉCHET (pré-requis : CESAM ou équivalent et connaissance de Stata)

Les sessions 2 à 4 concernent l'apprentissage d'un logiciel d'analyse statistique, Stata, pour effectuer des analyses élémentaires (description des données, comparaison de moyennes et de proportions entre deux ou plusieurs groupes), et avancées (régression logistique, analyse de survie et modèles de Cox).

Le cours comprendra une alternance de cours théoriques et de travaux dirigés. La salle de cours est équipée de 30 postes informatiques et chaque étudiant aura son propre ordinateur pour les travaux dirigés.

Cet enseignement est validé comme l'une des parties de Master (2<sup>e</sup> année) "Santé publique et management de la santé" de l'Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, pour les étudiants inscrits dans cet établissement. A la fin du cours, le Diplôme de l'Institut Pasteur sera délivré.

### 3 - Cours "Génétique humaine et maladies infectieuses"

Organisé conjointement par l'Institut Pasteur, la Faculté de Médecine Necker et l'Université René Descartes-Paris 5

- Directeurs : Dr Laurent ABEL, *Faculté de Médecine Necker/Université René Descartes-Paris 5 - INSERM U 550*
- Dr Luis QUINTANA-MURCI, *CNRS FRE2849, Unité de Prévention et thérapie moléculaires des maladies humaines, Institut Pasteur*

Ce cours, délivré dans le cadre de l'Ecole pasteurienne d'infectiologie (EPI), s'adresse à des médecins ou des candidats de formation scientifique de niveau fin de 1<sup>ère</sup> année de Master (en particulier en génétique ou immunologie) qui s'intéressent aux effets des maladies infectieuses sur le génome humain et aux méthodes moléculaires et statistiques permettant d'identifier, chez l'homme, les facteurs impliqués dans la réponse aux agents infectieux.

Il a pour objectif de présenter les recherches visant à répondre à deux grandes questions d'intérêt fondamental et médical :

- Comment les maladies infectieuses ont influencé la variabilité



du génome humain au cours de l'histoire,  
- Comment au temps présent, identifier les variants génétiques qui sont impliqués dans la susceptibilité ou la résistance aux maladies infectieuses actuelles.

Pour ces deux aspects, le cours présentera à la fois, les différentes méthodes et stratégies utilisées pour mener à bien ces recherches, ainsi que plusieurs applications à l'étude de différents agents infectieux.

Les principaux sujets abordés seront :

- Génétique des populations, variabilité du génome humain et sélection exercée par les agents infectieux
- Méthodes générales pour identifier les facteurs génétiques humains dans les maladies infectieuses
- Illustrations : paludisme, infections mycobactériennes, infections VIH, infections par les virus oncogènes (HPV, HTLV-1 et HHV-8)

A la fin du cours, le Diplôme de l'Institut Pasteur sera délivré.

#### 4 - Cours "Sécurité sanitaire des aliments et analyse de risques"

- Directeur : Dr Régis POUILLOT, *Centre Pasteur du Cameroun, BP 1274, Yaoundé, Cameroun*
- Directeur-adjoint : Dr Jean-Christophe AUGUSTIN, *Ecole nationale vétérinaire d'Alfort*

Ce cours, délivré dans le cadre de l'Ecole pasteurienne d'infectiologie (EPI), s'adresse aux étudiants avec formation biomédi-

cale de niveau minimum baccalauréat + 3 (connaissances minimum et intérêt dans le domaine des probabilités, de la modélisation et de la statistique). Une compréhension parfaite de la langue française est exigée.

Il a pour objectif la formation à l'analyse des risques associés aux aliments contaminés. Le cours est orienté sur la pratique de l'évaluation, notamment quantitative, des risques. Les cours théoriques alternent avec les travaux dirigés. Les étudiants sont amenés à développer le protocole d'un projet. Un contrôle des connaissances est effectué par examen écrit final.

Le cours est divisé en deux sections d'inégale durée :

- Généralités : Maladies d'origine alimentaire et impact économique, micro-organismes pathogènes et contamination des aliments ; législations ; nécessité d'une approche nouvelle.
- Analyse de risques : Les différents éléments de l'analyse de risques, approche qualitative et quantitative. Evaluation scientifique des risques (dose-réponse, évaluation de l'exposition, estimation du risque) et aspects méthodologiques : identification d'un couple pathogène / aliment, collecte de données, modélisation de la dose-réponse, de l'exposition, de l'évaluation du risque, interprétation des résultats, stratégies associées de réduction du risque, limites de l'approche. Application à différentes options de gestion des risques nationales et internationales et application à la communication sur les risques. Rédaction d'un rapport.

A la fin du cours, le Diplôme de l'Institut Pasteur sera délivré.

## II - RECHERCHE

### A - SHIGELLA : LA STRATÉGIE DU GLAIVE ET DU BOUCLIER

Des chercheurs de l'Institut Pasteur<sup>2</sup> et de l'Inserm associés à une équipe de l'Imperial College de Londres<sup>3</sup> viennent d'expliquer pourquoi les bactéries *Shigella flexneri*, responsables de dysenteries mortelles, comportent plusieurs variants (sérotypes), optimisant ainsi leur virulence. Cette découverte, publiée dans *Science*, est essentielle dans le contexte de la recherche vaccinale : pour être efficace, un vaccin doit en effet protéger contre les différents sérotypes de la bactérie. Pour en savoir plus :

<http://www.pasteur.fr/actu/presse/com/mcommuniques/0Shigella.htm> (Source : BIP 25/02/2005).

### B - L'ART DU CAMOUFLAGE DU PARASITE RESPONSABLE DU PALUDISME

Des chercheurs de l'Institut Pasteur<sup>4,5</sup> et du CNRS ont mis au jour les mécanismes originaux qui permettent au parasite res-

pensible du paludisme de tromper le système immunitaire des personnes qu'il infecte. En collaboration avec des chercheurs du Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research de Melbourne<sup>6</sup>, ils ont révélé, dans deux articles publiés dans *Cell*, la stratégie originale utilisée par le parasite pour modifier avec une très grande efficacité la composition de sa "signature" immunologique. Cette capacité à déguiser sa présence empêche l'organisme des personnes infectées de produire des défenses permettant d'éliminer les cellules infectées. La compréhension de ces mécanismes devrait permettre de développer plus efficacement des outils de lutte contre ce fléau qui tue un enfant toutes les 30 secondes en Afrique et entre 1 et 3 millions de personnes par an dans le monde. Pour en savoir plus :

<http://www.pasteur.fr/actu/presse/com/mcommuniques/05Paludisme.htm> (Source : BIP 15/04/2005).

<sup>2</sup> Unité de Pathogénie microbienne moléculaire et unité INSERM 389, dirigée par Philippe SANSONETTI ; unité de Résonance magnétique nucléaire des biomolécules, URA. 2185 CNRS INSERM U 389, dirigée par Muriel DELEPIERRE ; plate-forme de Microscopie électronique, Institut Pasteur, dirigée par Marie-Christine PRÉVOST.

<sup>3</sup> Centre for Molecular Microbiology and Infection, Department of Infectious Diseases, Faculty of Medicine, Flowers Building, Imperial College London.

<sup>4</sup> Unité des Interactions hôte-parasite de l'Institut Pasteur, dirigée par Artur SCHERF.

<sup>5</sup> Plate-forme d'Imagerie dynamique de l'Institut Pasteur, dirigée par Spencer SHORTE.

<sup>6</sup> The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, Melbourne, Australie.



### C - LA SENSIBILITÉ AUX INFECTIONS DU NOUVEAU-NÉ DÉCRYPTÉE

Une équipe<sup>7</sup> mixte Institut Pasteur-Inserm a décrypté d'importants mécanismes de mise en place du système immunitaire chez le nouveau-né.

Cette étude permet de comprendre pourquoi les nourrissons sont sensibles aux infections précoces qui provoquent une mor-

talité importante, particulièrement dans les pays en développement. La compréhension de ces mécanismes ouvre la voie à de nouveaux types de traitements et de vaccins adaptés à la protection des nouveau-nés. Pour en savoir plus :

<http://www.pasteur.fr/actu/presse/com/communiqués/05-immun-nouveau-ne.htm> (Source : BIP 20/04/2005).

## III - ELECTIONS ET NOMINATIONS - CREATIONS D'UNITES

### A - RENOUELEMENT DES CONSEILS DE L'INSTITUT PASTEUR

#### 1 - CONSEIL D'ADMINISTRATION

##### a) Élection des membres du Conseil d'Administration (15 mars 2005)

L'Assemblée de l'Institut Pasteur a élu à son Conseil d'Administration les 16 membres suivants :

- 4 candidats dans le collège des membres choisis en raison de leur compétence scientifique, dont trois au moins exerçant leur activité à l'Institut :
  - M. **Antoine GESSAIN**, chef de l'unité d'Epidémiologie et de physiopathologie des virus oncogène, Institut Pasteur
  - Mme **Agnès LABIGNE**, chef de l'unité de Pathogénie bactérienne des muqueuses, Institut Pasteur,
  - M. **Daniel LOUVARD**, directeur de la section de Recherche, Institut Curie.
  - Mme **Christine PETIT**, chef de l'unité de Génétique des déficits sensoriels, Institut Pasteur
- 2 candidats dans le collège des membres appartenant au personnel non scientifique de l'Institut Pasteur, ayant au moins dix ans d'ancienneté :
  - M. **Jean-Yves FLEURANCE**, technicien supérieur
  - Mlle **Patricia TORTEVOYE**, ingénieur
- 4 candidats choisis en raison de leur compétence administrative, dont deux au moins exerçant, ou ayant exercé, leur activité dans des institutions ou services de caractère scientifique :
  - M. **Alain FISCHER**, chef de service, hôpital Necker (unité d'Immunologie et d'hématologie pédiatriques)
  - M. **Benoît LESAFFRE**, directeur général du CIRAD (Centre de Coopération internationale en recherche agronomique pour le développement)
  - M. **Didier SICARD**, ancien chef de service de Médecine interne, hôpital Cochin
  - Mme **Rose-Marie VAN LERBERGHE**, directrice générale de l'AP-HP

- 6 candidats choisis en raison de leur compétence financière, industrielle, commerciale ou juridique :

- M. **François AILLERET**, directeur général honoraire d'EDF, président de l'AFNOR
- M. **Renaud DENOIX DE SAINT MARC**, vice-président du Conseil d'Etat
- M. **Jean-Pierre JOUYET**, ancien directeur du Trésor, ambassadeur chargé des questions économiques internationales
- M. **Bruno REMOND**, conseiller maître à la Cour des Comptes
- M. **Jean-Christophe RUFIN**, président d'Action contre la Faim
- M. **Marc TESSIER**, président de France Télévision  
(Source : BIP 15/03/2005).

##### b) Election du Bureau (Conseil d'Administration du 23 mars 2005)

**François AILLERET** a été élu **président** du Conseil d'Administration de l'Institut Pasteur lors de sa réunion du 23 mars 2005.

Ont été également élus : **Jean Pierre JOUYET** et, **vice-président** ; **Charles LANTIERI**, **trésorier** et **Agnès LABIGNE**, **secrétaire**.

Le **Directeur général** a fait au Conseil d'Administration la déclaration suivante : *“Je remets mon mandat à la disposition du Conseil, ce qui ne signifie aucunement que je démissionne, mais que le Conseil, s'il le désire, peut disposer de mon mandat avant que celui-ci n'expire officiellement le 31/12/2005.*

*Je ne serai pas candidat à un deuxième mandat de Direction de ma propre initiative. Je pense ainsi laisser au Conseil toute la liberté d'action qu'il peut souhaiter”.* Après que plusieurs membres se sont exprimés en ce sens, le Président a félicité Philippe KOURILSKY pour sa prise de position digne et courageuse. Lire le communiqué de presse : [http://www.pasteur.fr/actu/presse/com/communiqués/05CA\\_23mars.htm](http://www.pasteur.fr/actu/presse/com/communiqués/05CA_23mars.htm)  
(Source : BIP 24/03/2005)

<sup>7</sup> Unité de Biologie des régulations immunitaires & équipe Inserm 352, dirigée par Claude LECLERC.



## Association des Anciens Élèves de l'Institut Pasteur

### 2 - CONSEIL SCIENTIFIQUE

a) **Membres élus** (17 mars 2005), les 2 membres élus au Conseil scientifique sont **Claude LECLERC** et **Antoine DANCHIN** (Source : BIP 18/03/2005).

#### b) Membres nommés :

- Madame **Paola RICCIARDI-CASTAGNOLI**, Professeur à l'Université de Milano-Bicocca est nommée pour un 2<sup>ème</sup> mandat (D/05 - 16 - n° 030 et BIP 29/04/2005).
- M. **Robin WEISS**, Professeur à l'Université College London (BIP 29/04/2005).
- M. **Arnaud FONTANET\***, Chef de laboratoire à l'Institut Pasteur (Unité d'Epidémiologie des maladies émergentes) et
- M. **Jean-François NICOLAS\***, Professeur à l'Institut Pasteur, Chef de l'unité de Biologie moléculaire du développement sont nommés membres du Conseil scientifique de l'Institut Pasteur (D/05 - 16 - n° 031 et BIP 29/04/2005).

### B - PROMOTIONS

Sont nommés

- Professeur de Classe exceptionnelle 2 : **Philippe SANSONETTI**
- Professeur de Classe exceptionnelle 1 : **Bernard DUJON**
- Professeur : **Agnès LABIGNE**
- Chef de service : **Chantal BIZET** (Conseil d'administration du 23 mars 2005)
- Professeur émérite : **Pierre TIOLLAIS**
- Professeurs honoraires, après 4 ans d'éméritat : **Henri BUC** et **Gérard BUTTIN** (Source : BIP 08/04/2005).

### C - DIRECTION DES COURS

(Conseil d'Administration de l'Institut Pasteur lors de sa réunion du 23 mars 2005).

- M. **Antoine GESSAIN**, chef de l'unité d'épidémiologie et physiopathologie des virus oncogènes à l'Institut Pasteur et Monsieur **René HOUIN**, Professeur à l'Université Paris 12 (UMR 956 BIPAR) sont reconduits dans leurs fonctions de **Directeurs du cours "Circulation des agents infectieux et maîtrise du risque"** appartenant à l'Ecole pasteurienne d'Infectiologie. Ces décisions sont prises pour une durée de 2 ans à partir de l'année universitaire 2005-2006 (ISG/BC/05.3/14).
- M. **Alain CHAFFOTTE**, Chef de laboratoire (unité de Repliement et modélisation des protéines à l'Institut Pasteur) et Monsieur **Jean-Michel Betton**, Directeur de recherche au CNRS (unité de Repliement et modélisation des protéines à l'Institut Pasteur), sont reconduits dans leurs fonctions de **Directeurs du cours de Biochimie des protéines**. Ces décisions sont prises pour une durée de 2 ans à partir de l'année universitaire 2005-2006 (ISG/BC/05.3/9).

\* en remplacement de MM. Paul T. BREY et Antoine GESSAIN, parvenus en fin de mandat.

- M. **Ian Paul REITER**, Professeur et chef de l'unité de Recherche Insectes et maladies infectieuses à l'Institut Pasteur et Monsieur **Hervé ZELLER**, Chef de laboratoire à l'Institut Pasteur (unité de Biologie des infections virales émergentes) sont nommés respectivement **Directeur et Directeur-adjoint du cours "Arthropodes vecteurs et santé humaine"**. Cette décision est prise pour une durée de 2 ans à partir de l'année universitaire 2005-2006 (ISG/BC/05.3/7).

- M. **Arnaud FONTANET**, Chef de laboratoire et Chef de l'unité de Recherche et d'Expertise Epidémiologie des maladies émergentes à l'Institut Pasteur et Mme **Muriel VRAY**, chercheur à l'Inserm (unité de Recherche et d'Expertise Epidémiologie des maladies émergentes à l'Institut Pasteur), sont reconduits respectivement dans leurs fonctions de **Directeur et de Directeur-adjoint du cours "Essais cliniques et maladies infectieuses et tropicales"** appartenant à l'Ecole pasteurienne d'infectiologie. Ces décisions sont prises pour une durée de 2 ans à partir de l'année universitaire 2005-2006 (ISG/BC/05.3/16).

- M. **Jean-Jacques PANTHIER**, Professeur à l'Université Pierre et Marie Curie (Paris 6), directeur de l'UMR 955 INRA/ENVA de Génétique moléculaire et cellulaire et Monsieur **Xavier MONTAGUTELLI**, Chef de laboratoire (unité de Génétique des mammifères à l'Institut Pasteur), Responsable de l'Animalerie centrale, sont reconduits respectivement dans leurs fonctions de **Directeur et de Directeur-adjoint du cours de Génétique de la souris**. Ces décisions sont prises pour une durée de 2 ans à partir de l'année universitaire 2005-2006 (ISG/BC/05.3/10).

- M. **Stéphane BÉCHET**, Ingénieur en bases de données, Centre de recherche vaccinal et biomédical, Institut Pasteur, est nommé **Chef de travaux du cours "Epidémiologie et Biostatistiques"** de l'Ecole pasteurienne d'infectiologie. Cette décision est prise pour une durée de 2 ans à partir de l'année universitaire 2005-2006 (ISG/BC/05.3/15).

- M. **Patrick TRIEU-CUOT**, Chef de laboratoire et Chef de l'unité de Recherche Biologie des bactéries pathogènes à Gram positif à l'Institut Pasteur, Monsieur **Alain PHILIPPON**, Professeur à la Faculté de Médecine Cochin Port-Royal, sont reconduits dans leurs fonctions de **Directeurs du cours de Bactériologie médicale**. Ces décisions sont prises pour une durée de 2 ans à partir de l'année universitaire 2005-2006 (ISG/BC/05.3/8).

- Mme **Dominique RUEFF-JUY**, Directeur de recherche au CNRS (unité d'Immunophysiopathologie infectieuse à l'Institut Pasteur) et Monsieur **Antonio FREITAS**, Professeur et Chef de l'unité de Biologie des populations lymphocytaires à l'Institut Pasteur, sont reconduits dans leurs fonctions de **co-directeurs du cours d'Immunologie approfondie**. Ces décisions sont prises pour une durée de 2 ans à partir de l'année universitaire 2005-2006 (ISG/BC/05.3/11).



#### D - CRÉATION D'UNITÉS

- 1 - Création de l'unité postulante de **Biologie cellulaire des lymphocytes**, rattachée au département d'Immunologie et placée sous la direction de M. **Andrès ALCOVER** (séance extraordinaire du C.A. du 12 janvier 2005).
- 2 - Création des unités postulantes à compter du 1<sup>er</sup> mai 2005 :
  - **Biologie cellulaire des Trypanosomes** (département de Parasitologie), sous la direction de **Philippe BASTIN**, chargé de recherche 1<sup>ère</sup> classe à l'Inserm.
  - **Génétique fonctionnelle de la souris** (département de Biologie du développement), sous la direction de **Jean-Jacques PANTHER**, Professeur à l'université Paris VI.
- 3 - Transformations d'unités postulantes en unités de recherche, à compter du 1<sup>er</sup> mai 2005 :
  - **Dynamique du génome** (département de Structure et dynamique des génomes) restant sous la direction de **Benoît ARCANGIOLI**, chef de laboratoire à l'Institut Pasteur.

• **Biologie cellulaire du parasitisme** (département de Biologie cellulaire et infection), restant sous la direction de **Nancy GUILLÉN**, directeur de recherche 2<sup>e</sup> classe au CNRS.

- 4 - Re-créations d'unités à partir du 1<sup>er</sup> mai 2005 :
  - Dans le département de Biologie cellulaire et Infection :
    - **Signalisation moléculaire et activation cellulaire** (**Alain ISRAËL**)
    - **Biologie des interactions cellulaires** (**Alice DAUTRY**)
  - Dans le département de Virologie
    - **Régulations des infections rétrovirales** (**Françoise BARRÉ-SINOUSI**)
  - Dans le département d'Immunologie :
    - **Immunité cellulaire antivirale** (**François LEMMONIER**)

#### 5 - PROLONGATION

Le laboratoire de **Recherche et Développement de Pharmacologie des régulations neuro-endocrines** est prolongé jusqu'au 31 décembre 2005. Il reste sous la responsabilité de Madame **Catherine ROUGEOT**, Chef de laboratoire à l'Institut Pasteur (C.A. 21 avril 2005) (D/05 - 16 - n° 021).

### IV - DISTINCTIONS

Le 10 février 2005, Philippe KOURILSKY a remis les insignes de commandeur de l'Ordre national du Mérite à **Guy BLAUDIN DE**

**THÉ**, émérite dans l'unité d'épidémiologie et physiopathologie des virus oncogènes, dirigée par Antoine GESSAIN.

### V - APPEL D'OFFRES

Appels d'offres "infections nosocomiales"

Un programme de recherche stratégique sur l'infection nosocomiale (PSION) entre l'Assistance Publique des Hôpitaux de Paris et l'Institut Pasteur est mis en place. Ce partenariat a pour objectif de favoriser l'émergence de projets de recherche impli-

quant des réseaux formés par des hospitaliers (infectiologues, biologistes) et des chercheurs pasteurien sur tous les aspects liés aux infections nosocomiales : génétique des populations, épidémiologie, résistance aux agents infectieux, etc. Pour en savoir plus : <http://www.pasteur.fr/infosci/appels/psion.pdf> (Source : BIP 21/04/2005).

### MUSÉE PASTEUR

Le Musée Pasteur est une source de documentation inégalable.  
Pensez à en proposer la visite à vos proches, vos amis, vos enfants.

Ce musée propose des souvenirs pasteurien, des ouvrages, des objets pratiques et des supports pédagogiques.

Ce sont des cadeaux très appréciés par vos collègues étrangers.

Pensez à vous en munir lors de vos déplacements.

- Ouverture au public :  
de 14h à 17h, du lundi au vendredi (sauf en août et jours fériés)  
Tél. 01 45 68 82 82. Courriel : a.perrot@pasteur.fr



## TRIBUNE LIBRE

### A. TAUX PHYSIOLOGIQUE DES IMMUNOGLOBULINES CHEZ DES ALBANAIS

*Professeur As Arben HOXHA<sup>1</sup>  
Faculté de Médecine, Tirana (Albanie)*

*Nous sommes heureux de publier ici un travail original présentant les résultats du dosage des immunoglobulines dans une population particulière et qui montre que pour l'établissement de valeurs usuelles, il faut tenir compte du contexte. Nous remercions notre collègue Albanais, le Professeur Arben HOXHA, de nous avoir communiqué ce témoignage.*

#### RÉSUMÉ

*L'auteur a déterminé sur une population de 305 individus cliniquement sains, hommes et femmes de 19 à 25 ans, les taux sériques d'IgG, IgA et IgM. A partir des résultats obtenus, il a calculé la valeur moyenne des immunoglobulines et l'écart type (sigma) correspondant. Les valeurs sont inférieures à celles obtenues dans d'autres populations occidentales.*

Le taux des immunoglobulines plasmatiques constitue une des bases de l'étude de la situation immunitaire d'un individu. L'évaluation du taux des immunoglobulines permet de mettre en évidence des déficits immunitaires humoraux innés ou acquis et diverses pathologies (cirrhose du foie, passage d'une hépatite aiguë à une forme chronique, gammopathies monoclonales, certaines glomérulonéphrites...).

Afin d'évaluer les variations physiologiques ou pathologiques des diverses classes d'Ig (IgG, IgA et IgM) il est indispensable, dans un premier temps, d'étudier leur taux physiologique dans une population donnée, chez les personnes saines, à un âge où le taux de ces immunoglobulines est stable (après la puberté et avant le vieillissement).

Le but de l'étude : détermination du taux normal des

trois principales classes d'immunoglobulines (IgG, IgA et IgM) chez les Albanais.

#### I - MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les IgG A et M ont été dosées chez 305 albanais de sexe féminin (204) et masculin (101) (étudiants, soldats, sportifs) âgés de 19 à 25 ans. Le prélèvement est effectué à jeun (5 ml de sang/personne) et l'analyse du sérum est effectuée par immunonéphélométrie à l'aide d'un autoanalyseur Technicon II. Les antisérums et les standards sont de DAKO (Danemark).

#### II - RÉSULTATS

Pour chaque sérum et chaque classe d'immunoglobuline, la moyenne des résultats et l'écart type ( $\sigma$ ) sont calculés. Les résultats sont présentés dans le tableau I.

**Tableau I : Résultats du dosage des IgG, IgA et IgM (exprimés en g/l) obtenus pour les sérums examinés**

Immunoglobulines	Hommes		Femmes	
	Taux	%	Taux	%
IgG	11,97	1,4	10,98	1,7
IgA	2	0,58	2,6	0,69
IgM	1,04	0,37	1,19	0,38

Selon ces données, les IgG chez les hommes étaient en moyenne de 9 % supérieures à celles des femmes et les IgM inférieures (12, 46 %) à celles des femmes.

Les résultats obtenus par les chercheurs étrangers<sup>2</sup> sont présentés dans le tableau II.

<sup>1</sup> Cours IP 1979.

<sup>2</sup> Etudes faites sur des populations non albanaises.



Tableau II : Les taux des immunoglobulines d'après les données de la littérature

Auteurs	IgG (en g/l)		IgA (en g/l)		IgM (en g/l)	
	Normal	$\sigma$	Normal	$\sigma$	Normal.	$\sigma$
BACH JF [1]	12,1	-	2,5	-	0,93	-
BAZIN H. [2]	12,3	-	3,28	-	1,32	-
BERTHAUX F. & MOULIAS R. [3]	12	-	2,2	-	1,2	-
DE DOMINICIS A <i>et al.</i> [4]	11,86	2,5	2,6	0,33	1,2	0,31
EASTHAM RD [5]	11,5	1,75	2,5	0,5	1,3	0,25
GRIECO MH, MERINEY DK [6]	12,4	2,2	2,8	0,7	1,2	0,35
Institut Behring [7]	11,4	1,85	2,05	35,5	1,375	0,35
JACOTOT G. et coll. [8]	10	-	3	-	1	-
PILOT J, PELTIER AP [9]	12	2	2,8	0,7	1,2	0,35
PIPITONE V, ALBANO A [10]	13	2	2,88	0,605	0,8	0,29
ROITT I [11]	12	2	2,7	0,65	1,25	0,375
SANDOR G [13]	11,3	1,76	2,3	0,54	1,24	0,35
STANWORTH DR, TURNER MV [14]	13,5	-	3,35	-	1,5	-
TURK JL [15]	12,4	2,2	2,8	0,7	1,2	0,35
VAISMAN A, PARIS-HAMELIN A [16]	12,63	1,75	3,94	0,455	1,16	0,275
<b>Notre résultat</b>	<b>11,3</b>	<b>1,6</b>	<b>2,04</b>	<b>0,65</b>	<b>1,14</b>	<b>0,38</b>

### III - DISCUSSION

Le taux normal des diverses classes d'immunoglobulines diffère chez les personnes d'une même famille et évidemment chez les individus d'un même peuple. Ceci semble lié aux variations physiologiques en raison des diversités génétiques, des traditions de nutrition et du niveau économique de la population, conditionnant la nourriture consommée.

Le but de notre étude est de déterminer une norme technique chez un groupe de personnes cliniquement saines, qui servira à apprécier si le taux des diverses classes d'immunoglobulines déterminé par l'autoanalyseur Technicon II, montre une augmentation ou une diminution ou un niveau normal chez un malade en Albanie.

Donc, le but de cette étude n'est pas d'apprécier les normes des immunoglobulines dans l'ensemble de la population albanaise, ce qui nécessiterait naturellement la réalisation d'un nombre bien plus élevé d'examen chez une population saine.

Comme nous le voyons dans les résultats exposés, il y a une légère différence du taux des immunoglobulines entre les femmes et les hommes. La même constatation est retrouvée également par d'autres chercheurs lors d'études réalisées chez des populations saines, naturellement avec des contingents plus nombreux. Dans leurs études, ces chercheurs soulignent que, jusqu'à 30 ans, le niveau des IgM chez les hommes est plus bas

que chez les femmes, mais après 30 ans, les résultats sont identiques pour les deux sexes [13].

D'après les résultats obtenus par d'autres auteurs, les taux des diverses classes d'immunoglobulines varient dans certaines limites. Parmi les auteurs que nous avons cités : les taux sont de 10 g/l [9] à 13,5 g/l [14] pour les IgGs, de 2,005 g/l [8] à 3,94 g/l [16] pour les IgA et de 0,8 g/l [11] à 1,5 g/l [14] pour IgM.

Les valeurs que nous avons trouvées en général (chez les femmes et chez les hommes), étaient un peu plus basses que celles obtenues par les autres chercheurs. Cette situation est peut-être liée à la situation économique difficile pour une grande partie des albanaises (l'Albanie est un pays en voie de développement et aussi le pays européen où le revenu national moyen par habitant est le plus bas). Pour cette raison, la majorité de la population ne peut avoir une alimentation équilibrée qui contient tous les éléments indispensables, surtout les protéines et manque d'une quantité suffisante d'acides aminés indispensables à la synthèse des différentes classes d'immunoglobulines par les cellules plasmocytaires. Les mêmes résultats sont trouvés par d'autres auteurs. Ce phénomène a été nommé malnutrition protéino-calorique.

Nos résultats ont été obtenus par l'étude d'un nombre limité de cas (un peu plus de 300) et ne peuvent servir de norme nationale. Cette étude mériterait d'être élargie.



## BIBLIOGRAPHIE

1. BACH JF. *Immunologie*, 3<sup>ème</sup> édition Flammarion Médecine Sciences Ed., 1976, 752
2. BAZIN H. Le système immunologique du tractus gastro-intestinal. *Médecine et Hygiène* 1982, **40**, 2849
3. BERTHAUX P, MOULIAS R. Techniques en Immunologie. Paris 1975, 23
4. DE DOMINICIS A. Il significato diagnostico delle immunoglobuline seriche (IgG,IgA,IgM) nelle epatopatie. *Il Fegato* 1975, vol *xxi*, Fasc.1,51
5. EASTHAM RD. Abrégé de constantes biologiques, Paris 1978, 188
6. GRIECO MH, MERINE DK. Immunodiagnosis for Clinicians, London 1983, 87
7. Institut Behring, Masson, 1977, 155
8. JACOTOT B, REINERT PH, REYES F, SOBEL A, SYLVESTRE R. Abrégé de Immunopathologie, Paris 1978, 39
9. PILLOT J, PELTIER AP. Techniques en Immunologie, Paris 1973, 19
10. PIPITONE V. Some aspects of delayed hypersensitivity and humoral immunity in chronic hepatitis. *In: Immunology of the Liver*. London 1971, 204
11. ROITT I, RABSON A. Immunologie Médicale, Maloine, Paris 2002, 42
12. SANDBERG ET. Immunodeficiencies in hereditary and metabolic diseases. *In: Clinical Immunology, Principles and Practice*, Mosby, New York 1996, 796-802.
13. SANDOR G. Sémiologie biologique des protéines sériques. Paris 1975, 61
14. STANWORTH DR, TURNER MW. Immunochemical analysis of immunoglobulins and their subunit London 1978, 3
15. TURK JL. Immunologie Medical London 1969, 157
16. VAISMAN A, PARIS-HAMELIN A. Travaux pratiques de sérologie et d'immunologie Paris 1969, 126
17. WALDMANN TH A, NELSON DL. Inheretid Immunodeficiencies. *In: Samter's Immunologic Diseases Vol.I ,Fifth edition, Little, Brown and Company New York 1995, 393.*

### B. JEAN LORIS-MELIKOFF

Né en 1862 à Tiflis, Jean (Hovanès) LORIS-MÉLIKOFF vient en 1882 à Paris, y fait ses études de médecine et soutient sa thèse en 1888.

Elève du cours de microbiologie de l'Institut Pasteur en 1889, il entre dans le laboratoire de METCHNIKOFF en 1900 où il y travaille jusqu'en 1906 puis de nouveau, de 1908 à 1920. Ses travaux et ses publications scientifiques portent sur le choléra, le *B. perfringens* et la tuberculose.

Naturalisé Français mais Arménien d'origine et de coeur, Jean LORIS-MÉLIKOFF va déployer une intense activité en faveur de son pays victime du génocide perpétré par les Turcs. Il organise des meetings internationaux, trouve un sou-

tien auprès de personnalités telles que CLÉMENCEAU, Anatole FRANCE, Francis de PRÉSENSÉ, Jean JAURÈS. Il est co-fondateur de la revue "Pro Arménia" dont il est l'un des principaux animateurs.

Jean LORIS-MÉLIKOFF est décédé à Paris en 1931 ; l'Institut Pasteur a pris en charge les frais de ses funérailles.

Pour le centenaire du mouvement arménophile en Europe, Marat KHARAZIAN a rédigé une plaquette "Jean LORIS-MÉLIKOFF, ressuscité de l'oubli" dont un exemplaire est parvenu à l'Association des Anciens Elèves de l'Institut Pasteur<sup>3</sup> (AAEIP).

Michel BARME

<sup>3</sup>. Les membres de l'AAEIP qui désirent avoir des renseignements complémentaires sur l'activité de Jean LORIS-MELIKOFF dans la "question arménienne" peuvent s'adresser au secrétariat.



## INFORMATIONS

### I - CONGRÈS ET COLLOQUES<sup>1</sup>

#### — Août 2005 —

##### ■ 7-12 août à Bratislava (Slovaquie)

##### **22nd International Conference on yeast genetics and molecular biology.**

→ J. KOLAROV, Dpt of Biochemistry, Faculty of Science, Comenius University, Mlinska Dolina CH-I, 84215 Bratislava, Slovaquie. Tél. 421 2 6029 6539, téléc. 412 2 6029 6452, courriel [kolarov@yeast2005.org](mailto:kolarov@yeast2005.org) (Source : *Bull. Soc Fr Microbiol*, 20, 1, 2005)

##### ■ 21-25 août à Copenhague (Danemark)

##### **ECB12 : 12th European congress on Biotechnology.**

→ Site web : <http://www.efbweb.org/events/eventview.htm> (Source : *Bull. Soc Fr Microbiol*, 20, 1, 2005)

##### ■ 27-31 août à Marseille

##### **Pseudomonas 2005**

→ Atout Organisation Science. Téléc. 04 96 15 12 51, courriel : [pseudomonas2005@atout-org.com](mailto:pseudomonas2005@atout-org.com) - Site web : [www.atout-org.com/pseudomonas2005](http://www.atout-org.com/pseudomonas2005) (Source : *Bull. Soc Fr Microbiol*, 20, 1, 2005)

##### ■ 29 août-2 septembre à Neuchâtel (Suisse)

##### **5th International conference on Tick and tick-borne pathogens.**

→ I. BERTOLI, University of Neuchâtel, Institute of zoology, rue Emile-Argand 11, case postale 2, CH-2007 Neuchâtel, Suisse. Tél. 41 32 718 3051 ou 3066, téléc. 41 32 718 30 01, courriel : [TTP5@unine.ch](mailto:TTP5@unine.ch) (Source : *Bull. Soc Fr Microbiol*, 20, 1, 2005)

#### — Septembre 2005 —

##### ■ 4-9 septembre à Madrid (Espagne)

##### **13th International biodeterioration and biodegradation Symposium (IBBS-13).**

→ D.A. MORENO, Dpt de Ingeniera y Ciencia de los Materiales, Escuela Superior de Ingenieros Industriales, Universidad Politecnica de Madrid, 2 Jose Gutierrez Abascal, E-28006 Madrid, Espagne. Tél. 34 913 363 164, téléc. 34 913 363 007, courriel : [moreno@materials.upm.es](mailto:moreno@materials.upm.es) (Source : *Bull. Soc Fr Microbiol*, 20, 1, 2005)

##### ■ 11-14 septembre à Malte (Ile de Malte)

##### **The Second European Influenza Conference.**

→ Link Inc., Tolstraat 9, 2000 Antwerpen, Belgique. Tél. 32-3 232 93 42, téléc. 32-3 232 17 04, mél. [info@linkc.be](mailto:info@linkc.be) (Source : *Bull. Soc Fr Microbiol*, 20, 1, 2005)

##### ■ 22-26 septembre à Istanbul (Turquie)

##### **13th World Congress of Pathology and Laboratory Medicine.**

→ G.M. KUZZEY, Local Organizing Committee, Dpt of Pathology, Faculty of Medicine, Hacettepe University, Ankara 06100, Turquie. Tél. 90 312 305 1429 - Site web : [www.waspalm2005.org](http://www.waspalm2005.org) (Source : *Bull. Soc Fr Microbiol*, 20, 1, 2005)

##### ■ 28-30 septembre à Montpellier

##### **IX<sup>èmes</sup> journées de Mycobactériologie de langue française.**

→ C. CARRIÈRE et Ph. VAN DE PERRE - Lab. Bactériologie, CHU Montpellier, Hôp. Arnaud de Villeneuve, 371 avenue du Doyen Giraud, 34000 Montpellier Cedex 5. Tél. 04 67 33 58 87 (86), téléc. 04 67 33 58 93, courriel : [c-carriere@chu-montpellier.fr](mailto:c-carriere@chu-montpellier.fr) ou [p-van\\_de\\_perre@chu-montpellier.fr](mailto:p-van_de_perre@chu-montpellier.fr) (Source : *Bull. Soc Fr Microbiol*, 20, 1, 2005)

#### — Novembre 2005 —

##### ■ 15-18 novembre à Toulouse

##### **L'Immunologie : de la physiologie à la pathologie.**

→ Secrétariat de la SFI, Institut Pasteur, 28 rue du Dr Roux, 75724 Paris Cedex 15. Tél. 01 45 68 81 64, téléc. 01 45 67 46 98, courriel : [sgouel@pasteur.fr](mailto:sgouel@pasteur.fr) (Source : *Bull. Soc Fr Microbiol*, 20, 1, 2005)

##### ■ 28-30 novembre à Lille

##### **Carrefour européen des Biotechnologies.**

→ Euro Santé, Parc Euro Santé, 310 avenue Eugène Avinée, 59120 Loos Lez Lille. Tél. 03 28 55 90 60, téléc. 03 28 55 90 61, courriel [contact@eurosante.com](mailto:contact@eurosante.com) (Source : *Bull. Soc Fr Microbiol*, 20, 1, 2005)

##### ■ 30 novembre à Paris

##### **L'antibiogramme au 21<sup>ème</sup> siècle (deuxième partie)**

→ Secrétariat de la SFM, 28 rue du Dr Roux, 75724 Paris Cedex 15. Tél. 01 45 68 81 79, téléc. 01 45 67 46 98, courriel : [cmurphy@pasteur.fr](mailto:cmurphy@pasteur.fr) (Source : *Bull. Soc Fr Microbiol*, 20, 1, 2005)

### II - CONFÉRENCES

#### EUROCONFÉRENCES<sup>2</sup> :

##### **Maîtrise des agents anti-infectieux**

*Mastering anti-infectious therapies*

20-21 Octobre 2005 (October 20-21 2005)

Comité scientifique

C. CARBON, N. GUIISO, O. LORTHOLARY,

S. R. NORRBY

##### **Thérapie génique et cellulaire**

*Gene and cell therapy*

1-2 Décembre 2005 (December 1st-2 2005)

Organisé conjointement par

Institut Pasteur Euroconférences & l'Inserm

Comité scientifique

F. CANDOTTI, M. CAVAZZANA-CALVO, J. M. HEARD,

M.G. RONCAROLO

<sup>1</sup> Les congrès et colloques ne sont mentionnés qu'une fois.

<sup>2</sup> Une remise de 15 % sur le prix des inscriptions aux Euroconférences est accordée aux membres de l'AAEIP à jour de leur cotisation annuelle.



## LIVRES

## NOS LECTURES

### □ PRATIQUE DES ESSAIS CLINIQUES EN AFRIQUE

Docteur Jean-Philippe CHIPPAUX -  
IRD Editions, coll. Didactiques. 2004, 320 p.  
213 rue La Fayette, 75480 Paris Cedex 10.

Le Docteur J.-Ph. CHIPPAUX a développé dans son ouvrage la notion d' "essais cliniques" dans le sens le plus large, abordant tous les domaines qui y sont afférents et toutes les questions qu'ils soulèvent.

En premier lieu, il a effectué un rappel historique, judicieux et nécessaire pour en expliquer la genèse et l'intérêt. Si l'homme, dès l'Antiquité, a cherché les voies et les moyens de combattre les nuisances, et notamment les maladies, sa quête méthodologique marque les étapes de son évolution réflexive. Après l'observation et l'empirisme, qui ont été dominants pendant la longue période précédant les XVI<sup>ème</sup>/XVII<sup>ème</sup> siècles, apparaît l'époque du raisonnement déductif appuyé sur de nouveaux moyens intellectuels et matériels. S'exprime alors le souhait d'éclairer les phénomènes de la nature et de la vie par la recherche des causes et l'analyse critique de l'expérimentation. En Biologie, en Pharmacologie, en Médecine, on instaure les essais chez l'animal, puis chez l'homme, ainsi que les méthodes comparatives.

Les dernières phases de cette évolution, surtout si l'on considère le développement quasi exponentiel de la progression des sciences biomédicales depuis quelques décennies, ont impliqué la prise en compte de choix éthiques et la mise en œuvre d'un appareil juridique.

Comme le souligne de façon remarquable dans son "avant-propos" Jean-Philippe CHIPPAUX, "l'essai clinique (... expérimentation pratique sur l'homme dont le paradigme est ancien, mais la définition très récente...) n'est ni l'acte thérapeutique qui engage le médecin vis-à-vis d'un patient au cours de ce "colloque singulier" qu'est la consultation médicale, ni l'expérience de laboratoire effectuée dans le cadre d'une recherche fondamentale ou explicative. Il respecte l'éthique du premier et la rigueur méthodologique et technique de la seconde.

Et, précisément, dans son ouvrage, l'auteur fait un exposé quasi exhaustif - ce qui n'empêche pas sa clarté - des caractéristiques de la méthodologie des essais pré-cliniques et cliniques, notant leurs fondements, décrivant le schéma procédural : techniques à appliquer, séquences et soins à observer, obstacles à éviter. Cet exposé fait état de toutes les disciplines qui ont une part dans les essais : biomédicales, mathématiques (informatique et statistiques)..., avec une relation minutieuse de leurs rôles et de leurs liens.

Il s'intéresse parallèlement à l'esprit éthique qui doit sous-tendre la conduite des essais cliniques. Il insiste avec force sur la nécessité de la rigueur, tant dans la préparation du proto-

cole que dans le suivi de son déroulement et dans son évaluation, dont dépendent la qualité des résultats et leur applicabilité.

Les chapitres sur les essais cliniques en général, qui représentent environ les trois-quarts de l'ouvrage, sont suivis de la description détaillée de leur application au cas des expérimentations menées en Afrique. Les aspects culturels, sociologiques, sanitaires, épidémiologiques, climatiques, géographiques, logistiques, politiques et économiques sont examinés avec minutie pour en tirer des conclusions précises sur la façon pertinente d'élaborer la mise en œuvre et la pratique de ces actions.

Il convient de souligner la richesse de l'approche par Jean-Philippe CHIPPAUX de tous les thèmes évoqués ci-dessus, fondée sur une réflexion scientifique et humaniste mûrie et maîtrisée.

Elle se manifeste par une connaissance approfondie des diverses disciplines utiles, un souci permanent de l'éthique, une large pratique du terrain qui donnent toute leur valeur et tout leur sens aux propositions et conclusions formulées par l'auteur.

Il faut noter aussi que l'ouvrage comporte un instrument informatif précieux : index des termes usuels ; bibliographie ; tables statistiques ; textes réglementaires et guides de bonnes pratiques.

Le Docteur J.-Ph. CHIPPAUX, tout en donnant des indications essentielles pour qui veut mener à bien des études cliniques en Afrique, a traité son sujet avec une telle ampleur et une perception si aigüe de l'actualité que son livre a, selon moi, vocation à intéresser un vaste public : au premier chef, bien sûr, l'ensemble des praticiens et chercheurs impliqués dans les diverses sciences biomédicales, mais aussi toutes les personnes responsables de la veille sanitaire et de la protection des patients, les universitaires, etc.

Jean-Claude KRZYWKOWSKI

### □ LA VARIOLE

Jean-François SALUZZO, PUF, Collection "Que sais-je",  
2004, 128 p.

Petit volume d'une collection bien connue qui s'adresse au grand public, mais que les spécialistes peuvent consulter avec fruit.

L'introduction expose le problème dans son actualité retrouvée : maladie "pestilentielle" ou "quarantenaire", exclusivement liée à l'homme depuis des millénaires, une des plus terribles, avec la peste, le choléra, le typhus ; c'est aussi la première à laquelle fut opposée un vaccin (JENNER, 1796), dont l'application, dans les conditions optimales, permit d'aboutir à l'éradication du fléau en 1977, la seule parfaitement réussie pour l'instant. Alors qu'on la croyait devenue une maladie du



passé, le développement de la menace terroriste, concrétisée aux Etats-Unis en septembre 2001, en fit une arme biologique pour la prévention de laquelle les recherches de nombreux laboratoires dans le monde sont mobilisés.

Suivent huit chapitres qui exposent les différents aspects que pose la variole et dont les derniers, reconnaît l'auteur, n'auraient pu être écrits il y a quelques années. Après *l'historique*, viennent *l'impact social et démographique* de la variole dans les différents continents depuis le XVI<sup>e</sup> siècle, puis *le virus* et ses propriétés, *la maladie, la lutte contre la variole* (variologisation et vaccination, l'évolution des techniques de préparation du vaccin au XIX<sup>e</sup> et XX<sup>e</sup> siècles, les vaccins dits de "seconde génération"). Ensuite vient *l'éradication de la maladie* : le concept d'éradication et les premières tentatives infructueuses (fièvre jaune, paludisme), les stratégies successives du programme mises en place à partir de 1959 ; les dernières étapes et la certification, officiellement proclamée le 8 mai 1980 lors de la 33<sup>ème</sup> Assemblée mondiale de la santé. La destruction des stocks de virus variolique, qui en est la conséquence, se fait dans de nombreux pays mais, à l'heure actuelle, elle n'est pas encore achevée. J.-F. SALUZZO aborde alors le problème du *virus de la variole comme arme biologique*. Contrairement à ce que l'on pense communément, son utilisation remonte au moins au XVIII<sup>e</sup> siècle et, après une éclipse due au succès de la vaccination jennérienne, elle fut à nouveau envisagée au cours de la deuxième guerre mondiale par les Japonais, puis pendant la guerre froide, par les Soviétiques. Dans son dernier chapitre, l'auteur aborde le problème des *Poxvirus, vecteurs de gènes*. Autorisées par le développement des techniques de biologie moléculaire, de nouvelles approches pouvaient être envisagées pour la préparation des vaccins, utilisant des souches de virus de la vaccine modifiées ou d'autres *Poxvirus*. Les investigations ont déjà permis d'obtenir des vaccins vétérinaires et d'autres perspectives restent ouvertes.

Dans sa conclusion, J.-F. SALUZZO s'étonne que les autorités américaines aient investi, en 2002 et 2003, 800 millions de dollars pour reconstituer les stocks de vaccin, alors que le programme d'éradication de la variole avait coûté, à l'époque, 23 millions de dollars. Il admet que le contexte d'émergence et de réémergence de nombreux agents associés à des maladies infectieuses (VIH, Ebola, *Hantavirus*, West Nile, *Coronavirus*, etc.) a entraîné une crainte mondiale qui a abouti à la promotion du principe de précaution.

Mais ces considérations l'amènent à poser des questions cruciales : "*Y a-t-il un intérêt d'éradiquer un germe, si celui-ci peut devenir une source d'arme de guerre biologique ? Peut-on réellement envisager d'arrêter les vaccinations dans ces conditions ?*"

L'auteur veut toutefois conclure sur une note raisonnablement optimiste : l'emploi des *Poxvirus* "*comme vecteur de gènes pourrait constituer un nouveau chapitre dans l'histoire des vaccins et ouvrir celui de la thérapie génique. Technologies dont on peut espérer qu'elles contribueront à la révolution de la médecine de demain*".

Jean-François SALUZZO est docteur ès-sciences et docteur en pharmacie. Il connaît bien son sujet, d'autant mieux qu'il a travaillé plusieurs années à l'Institut Pasteur, Outre-mer, puis à Paris, et mène actuellement des études sur les vaccins contre les viroses émergentes.

En définitive, ce petit volume est écrit d'une plume alerte et fort bien documentée (bien que la bibliographie soit réduite à cinq références qui permettront aux lecteurs intéressés d'aller plus loin sur des points que l'auteur, faute de place, n'a pu qu'esquisser) ; il vient à son heure et sera utilement consulté par tous ceux qui ont oublié le fléau terrifiant que représentait la variole il y a encore quelques décennies, et par tous ceux qui ne l'ont jamais connu, mais qui, depuis septembre 2001, ne doivent plus l'ignorer.

Alain CHIPPAUX

## PARUTIONS RECENTES

### ❑ PREMIER SEJOUR

René FAUCON - Editions des Ecrivains, 147-149, rue Saint-Honoré, Paris. 603 pages.

### ❑ SAINT PASTEUR MARGINAL ET RÉVOLUTIONNAIRE

Corinne MAÏER - Editions Le Bord de l'Eau, BP 61. 33360 LATRESNE. Site web : [www.editionsbdl.com](http://www.editionsbdl.com) Courriel : [bordeleau@wanadoo.fr](mailto:bordeleau@wanadoo.fr)

### ❑ LE SYNDROME DE RETT - UNE MALADIE GÉNÉTIQUE

Ouvrage collectif réalisé par l'Association française du Syndrome de Rett (24 avenue de la Côte Vermeille, 66740 Laroque des Albères). 396 pages, 10 €.

### ❑ DU JARDIN AU MUSEUM EN 516 BIOGRAPHIES

Philippe JAUSSAUD et Edouard-Raoul BRYGOO\*  
Muséum d'Histoire Naturelle - Publications scientifiques.  
Case postale 39, 57 rue Cuvier, 75231 Paris Cedex 05. 39 €  
TTC + frais de port

### ❑ DICTIONNAIRE TRILINGUE DE L'IMMUNOLOGIE

(Anglais/français/Allemand), de Henri VAN HOOF, traducteur à l'Institut Marie Harps (Bruxelles). La maison du dictionnaire. ISBN : 2-85608-179-7. Code livre : 3.24.12.107.

### ❑ VIET NAM. UNE COOPÉRATION EXEMPLAIRE

Henri VAN REGEMORTER (1925-2002) Parcours d'un militant. Textes réunis par Nicole SIMON-CORTÈS et Alain TEISSONNIÈRE avec un message du général GIAP. Ed. L'Harmattan. ISBN : 2-7475-7198-X.



## Association des Anciens Élèves de l'Institut Pasteur

**PRÉSIDENT FONDATEUR : Pierre BRYGOO**, Docteur en Médecine †  
**PRÉSIDENT D'HONNEUR : Professeur Philippe KOURILSKY**, Directeur général de l'Institut Pasteur

### CONSEIL D'ADMINISTRATION

#### ----- CONSEILLERS ÉLUS ET CONSEILLERS A VIE\* -----

##### A) MEMBRES DU BUREAU

- Président : **Michel DUBOS**, Docteur en médecine
- Vice-présidents : **Jean-Luc GUESDON**, Docteur ès sciences  
**Pr. Pierre SALIOU**, Docteur en médecine
- Trésoriers : **Jean-Paul PENON**, Docteur en pharmacie  
**Robert LE VAGUERESSE**, Docteur en médecine
- Secrétaires généraux :  
**Alain CHIPPAUX**, Docteur en médecine  
**Pr. Philippe LAGRANGE**, Docteur en médecine
- assistés de **Jean-Claude KRZYWKOWSKI**, Pharmacien
- Archivistes : **Alain CHIPPAUX**, Docteur en médecine  
**Jean-Claude KRZYWKOWSKI**, Pharmacien

##### B) RESPONSABLES DE COMMISSIONS

- Entraide : **Jean-Paul SALEUN**, Docteur en médecine
- Regain : Pr. **Marie-José SANSON-LE PORS**, Docteur en médecine
- Admissions : **Michel BERNADAC**, Docteur vétérinaire
- Finances : **Jean-Paul PENON**, Docteur en pharmacie
- Informatique et multimédia : **Philippe CRUAUD**,  
Docteur en pharmacie
- Activités culturelles : **Andrée DEVILLECHABROLLE**,  
Docteur en médecine
- Régionalisation : Pr. **Pierre SALIOU**, Docteur en médecine
- Bulletin : **Paulette DUC-GOIRAN**, Docteur en médecine

- Stagiaires et Relations internationales :  
**Mireille HONTEBEYRIE**, Docteur en pharmacie  
**Christel DEPIENNE**, Ingénieur agronome
- Annuaire : **Bernard VACHER**, Docteur vétérinaire\*

##### C) AUTRES CONSEILLERS

- Pr. **Henri Michel ANTOINE**, Docteur en médecine\*
- Pr. **Edith BAR-GUILLOUX**, Docteur ès sciences
- Pr. **Michel BARME**, Docteur en médecine
- Paul T. BREY**, Docteur ès sciences
- Damien CARLIER**, Docteur vétérinaire
- Philippe DESPRES**, Docteur ès sciences
- Robert DUMAS**, Docteur en pharmacie
- René GAUMONT**, Docteur vétérinaire
- Valérie GUEZ**, Docteur ès sciences
- Maurice HUET**, Docteur en médecine
- Pierre INIGUEZ**, Docteur ès sciences
- Yvonne LE GARREC**, Docteur en pharmacie\*
- Claude MARQUETTY-MECHALI**, Pharmacien
- Pr. **Alain PHILIPPON**, Docteur vétérinaire
- François POTY**, Docteur en médecine
- Jean-Yves RIOU**, Docteur en médecine
- Françoise TAILLARD**, Docteur en médecine
- Jacques THÉBAULT**, Docteur en pharmacie\*
- Daniel VIDEAU**, Docteur vétérinaire\*
- Stephan ZIENTARA**, Docteur vétérinaire

#### -----CONSEILLERS DÉSIGNÉS PAR LA DIRECTION DE L'INSTITUT PASTEUR-----

**Marie-Hélène MARCHAND**, Directeur-délégué à la Communication

**Isabelle SAINT GIRONS**, Directeur de l'Enseignement

#### -----CONSEILLERS HONORAIRES-----

**Marie-Claire CARRÉ**, Docteur en médecine  
Pr. **Bernard DAVID**, Docteur en médecine  
Pr. **Jean-Claude TORLOTIN**, Docteur en pharmacie

Pr. **Pierre VERGEZ**, Docteur en médecine  
**Pierre VILLEMIN**, Docteur vétérinaire  
Pr. **Elie L. WOLLMAN**, Sous-directeur honoraire de l'Institut Pasteur

### BIENFAITEURS

Nous remercions la Direction générale de l'Institut Pasteur,  
ainsi que les nombreux amis qui contribuent généreusement au succès des activités de l'Association.

### ADRESSE ET SECRÉTARIAT

**AAEIP, Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, F-75724 Paris Cedex 15**  
Tél. et télécopie : 01.43.27.72.37 - Tél. 01.45.68.81.65. Site Web : <http://www.pasteur.fr>, rubrique "Enseignement"  
CCP : 13.387.59 D Paris

**SECRÉTARIAT : Véronique CHOISY** - courriel : [vchoisy@pasteur.fr](mailto:vchoisy@pasteur.fr)