

O TYM JAK RYWALIZACJA LUDWIKA PASTEURA Z ROBERTEM KOCHEM DOPROWADZIŁA DO STWORZENIA KILKU SZCZEPIONEK I DLACZEGO „EKSPERYMENT Z POUILLY-LE-FORT” BYŁ PERFEKCYJNY

On how rivalry between Louis Pasteur and Robert Koch lead to development of several vaccines and why “the experiment at Pouilly-le-Fort” was impeccable

Anna Biała, Elżbieta Kołaczowska (Kraków)

Streszczenie

Teraz, w czasach pandemii COVID-19, być może bardziej niż kiedykolwiek, rozumiemy jak ważne są narzędzia do walki z chorobotwórczymi patogenami. Narzędzia takie jak szczepionki. Dwóch wybitnych badaczy żyjących w XIX wieku, Ludwik Pasteur i Robert Koch stworzyli kilka z nich, przynosząc nadzieję ludzkości i zapoczątkowując tworzenie kolejnych szczepionek. Ci uznani badacze nie byli jednak przyjaciółmi, nie współpracowali ze sobą, ale to właśnie ich legendarna rywalizacja doprowadziła do wielu przełomowych odkryć. Warto pamiętać te wydarzenia, nie tylko jako fakty historyczne, ale także po to aby zrozumieć jak działa nauka i dlaczego warto i trzeba być ambitnym.

Abstract

Nowadays, in the times of the COVID-19 pandemy, probably more than ever, we appreciate importance of preventive and therapeutic approaches to fight off pathogens. Vaccines in particular. Two distinguished scientists of the 19th century, namely Louis Pasteur and Robert Koch designed and developed several of them bringing hope to the human kind, and initiating new vaccine studies and developments. The two, however, were not friends, not did they cooperate, and in fact it was the legendary rivalry between them that led to critical discoveries. We should keep this story in mind and not let it be forgotten, not for historical reasons only but rather to appreciate and understand mechanisms of scientific discoveries and why being ambitious is not that bad after all.

Wstęp

Drogi Czytelniku, czy zastanawiałeś się kiedyś jak obecnie wyglądałby świat bez szpitali, bez wykształconych lekarzy gotowych ratować życie i zdrowie pacjentów oraz bez narzędzi współczesnej medycyny? Jak wyglądałoby życie ludzi w XXI wieku bez rewolucji mającej miejsce ponad 100 lat temu, dzięki której medycyna, dotychczas w dużej mierze oparta na półprawdach a nawet zabobonach, przemieniła się w prawdziwą naukę? Otóż droga od „ery ciemności” w naukach biologicznych i medycznych do „epoki oświecenia i postępu” była bardzo długa i usłana

nieustannym błędzeniem w mroku pośród niewiedzy i uprzedzeń, prowadząc często do bezradności wobec cierpienia i licznych błędów podczas nieudolnych prób ratowania ludzkiego życia. Istnieje wiele opowieści o wielkich przełomach w dziedzinie medycyny – rozpoczynając od odkrycia narkozy, przez zrozumienie znaczenia antyseptyki, czy w końcu opis pierwszej próby operacji „przenajświętszego” organu, czyli ludzkiego serca (w celu poznania wielu z nich warto sięgnąć po książki Jürgena Thorwalda). Znaczna większość tych historii to relacje ukazujące niezmierny trud podejmowany w bezinteresownej walce o ratowanie życia, jednak tylko nieliczne

opowieści odkrywają mroczne tajemnice o prawdziwej naturze zmagania naukowców z najgroźniejszymi chorobami świata.

Jedną z tych chorób była cholera, której epidemie dziesiątkowały ludzi w XIX wieku. Choroba ta stała się także jedną z przyczyn rywalizacji dwóch wielkich naukowców o pierwszeństwo, sławę, pieniądze i prestiż. Robert Koch i Ludwik Pasteur, Niemiec i Francuz, skromny doktor z prowincji i zamożny badacz (Tabela 1). To między nimi toczył się głośny wyścig o miano prawdziwego odkrywcy przyczyn cholery. Który z nich ostatecznie zwyciężył w tym naukowym pojedynku i czy walka zawsze była w pełni uczciwa?

Początki tej historii sięgają czasów, w których tylko nieliczni wierzyli, że prawdziwą przyczyną chorób mogą być drobnoustroje takie jak bakterie lub wirusy. W tamtym czasie bezkrytycznie przyjmowano teorię samoródtwa, według której żywe organizmy mogły powstawać z materii nieożywionej. Nawet wybitni lekarze ślepo wierzyli w ten fałszywy dogmat mówiący o samoistnym rozwoju chorób, sprzeciwiając się tym samym doniesieniom o istnieniu zarazków. Swoje niedowierzanie tłumaczyli brakiem naukowych dowodów na ich rzeczywiste występowanie, niejednokrotnie twierdząc, że jak dotąd nikt nie udowodnił „istnienia w powietrzu śladów życia”. Epidemie nie były zjawiskiem niezwykłym – pojawiały się na wielu

Tabela 1. Różnice w poglądach naukowych oraz przebiegu kariery zawodowej pomiędzy Robertem Kochem a Ludwikiem Pasteurem. Na podstawie [1], zmodyfikowane. Grafiki pobrano ze strony www.wikipedia.org/ (grafiki należą do Domeny publicznej).

Robert Koch
[1843–1910]



Ludwik Pasteur
[1822–1895]



wykształcenie medyczne	wykształcenie chemiczne
uważał, że wszystkie mikroorganizmy są patogenami, dany patogen odpowiada za konkretną chorobę	uważał, że niektóre mikroorganizmy są pożyteczne, a inne patogenne
mikroorganizmy powinny być zwalczane przez człowieka	mikroorganizmy mogą być użyteczne dla człowieka (np. w procesie fermentacji)
mikroorganizmy nie podlegają mutacjom i nie powinny być modyfikowane	mikroorganizmy ulegają mutacjom i mogą być modyfikowane
popierał koncepcję ewolucji Darwina	popierał koncepcję ewolucji Lamarcka
laureat Nagrody Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny w 1905 r. za badania nad gruźlicą	nie został uhonorowany Nagrodą Nobla /zaczęto ją przyznawać dopiero po jego śmierci (1895), od 1901 r./
założyciel Instytutu Roberta Kocha w Berlinie (1891)	założyciel Instytutu Pasteura w Paryżu (1887)

kontynentach i w przeciągu wielu wieków, lecz sposoby ich zwalczania pozostawały nieskuteczne, ponieważ przyczyn poszczególnych chorób szukano w glebie, „zgniłym” powietrzu, a nawet w zjawiskach nadprzyrodzonych [23]. Zmiana w dotychczasowym postrzeganiu podłoża chorób oraz pierwszy miłowy krok w dziedzinie medycyny miał miejsce dopiero w roku 1847, a wszystko zaczęło się od gorączki połogowej. Obecnie wiadomo, że przyczyną tej uogólnionej infekcji poporodowej było przedostanie się do krwioobiegu pacjentki drobnoustrojów przeniesionych na niesterylnych narzędziach chirurgicznych, odzieży lub ciele ówczesnych medyków [6]. Aż do połowy XIX wieku sądzono jednak, że to bliżej nieokreślone szpitalne „zaburzenia atmosferyczne” wywołują gorączkę połogową. Być może jeszcze przez wiele kolejnych lat nie poznano by przyczyny przepełnionych oddziałów położniczych i ponadprzeciętnej liczby zgonów pacjentek tuż po porodzie, gdyby nie odkrycie Ignacego Semmelweisa (1818–1865), który powiązał epidemię gorączki połogowej z brudnymi rękami lekarzy. Lekarze ci bezpośrednio po zakończonej pracy w prosektorium znajdującym się na terenie szpitala kierowali się na sale oddziału położniczego, aby badać przebywające tam pacjentki lub odbierać porody, podczas gdy na innym oddziale, którego lekarze nie mieli dostępu do prosektorium, śmiertelność była dużo mniejsza [18]. Nikt nie podejrzewał, że na narzędziach chirurgicznych oraz na ubraniach, a nawet ciele lekarzy, mogą być przenoszone przeróżne śmiertelne zarazki. Dopiero Ignacy Semmelweis po raz pierwszy świadomie zaczął mówić o ich istnieniu określając je mianem „trupiego jadu” i podejmując walkę o wprowadzenie podstawowych zasad higieny szpitalnej (tak jak rozumiemy je dzisiaj).

Wydał więc zalecenie, aby przed wejściem na sale położnicze zarówno studenci, goście oraz cały personel medyczny, dezynfekowali ręce w roztworze podchlorynu wapnia w celu usunięcia wszelkich potencjalnie niebezpiecznych drobnoustrojów. Niewątpliwie było to przełomowe wydarzenie w historii medycyny i choć początkowo Semmelweisa i jego zarządzenie wyśmiewano, to z czasem okazało się, że stało się ono podstawą współczesnej antyseptyki, a dzisiaj Uniwersytet w Budapeszcie nosi jego imię [23]. Ludwik Pasteur jako jeden z nielicznych od początku należał do zwolenników poglądów Semmelweisa, a dodatkowo zainspirowany jego teorią postanowił dostarczyć dowodów na istnienie niewidocznych zarazków, a tym samym obalić teorię samoródtwa.

Ludwik Pasteur (1822–1895) obecnie jest powszechnie uważany za prekursora nowoczesnej im-

munologii oraz mikrobiologii, głównie za sprawą prowadzonych przez niego w XIX wieku badań dotyczących procesów fermentacji, zakaźnej teorii rozwoju chorób oraz szczepionek ochronnych przeciw cholerze drobiu, wąglikowi, a także wścieklicznie [26]. Pierwsze odkrycia dokonane przez Ludwika Pasteura w dziedzinie mikrobiologii zostały zapoczątkowane przez badania nad fermentacją piwa i wina. Pasteur dowiódł, że za te procesy odpowiedzialne są namnażające się drożdże, a nie proces dekompozycji, jak to sugerowali wcześniej Jöns Jacob Berzelius i Justus von Liebig [22]. Badania te doprowadziły następnie Pasteura do postawienia hipotezy, że również choroby ludzi i zwierząt są powodowane przez mikroorganizmy. Na miejsce teorii samoródtwa stworzył nową, poprawną „teorię zarazków”. W przeciwieństwie do poglądów Semmelweisa odkrycie Pasteura spotkało się z większym poparciem, a społeczeństwo stopniowo przyjęło do wiadomości prawdziwą naturę chorób [24].

Pierwsze sukcesy – szczepionka przeciwko cholerze drobiu

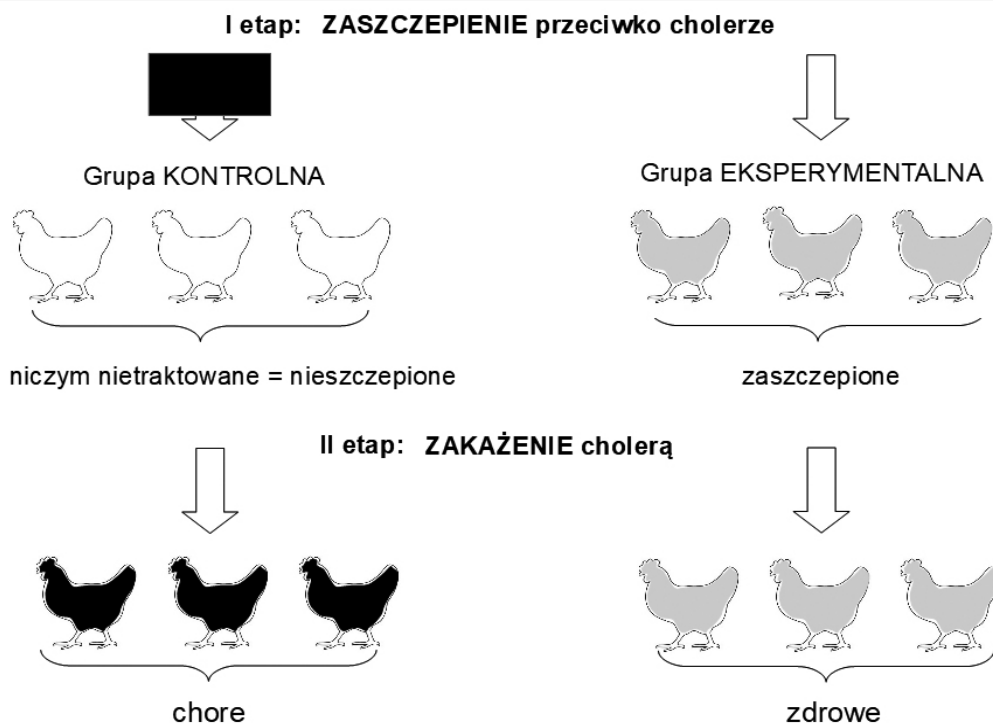
Kolejne ważne odkrycie Pasteura miało miejsce w 1879 roku i dotyczyło choroby zwanej cholerą drobiu wywoływaną przez bakterie *Pasteurella multocida* [14]. Choroba ta rozprzestrzenia się poprzez kontakt pomiędzy chorymi ptakami, skażoną wodę i zanieczyszczoną bakteriami paszę. Najbardziej narażone są kury, indyki, gęsi oraz kaczki. U zarażonych ptaków obserwuje się drgawki, nieskoordynowane trzepotanie skrzydłami oraz pojawienie się lepkiej wydzieliny pokrywającej pióra otaczające oczy i dziób. Zgon spowodowany jest działaniem endotoksyn (toksyn bakteryjnych) uwalnianych przez bakterie do krwi, przez którą są one rozprowadzane po całym organizmie [15]. Na podstawie obserwacji hodowli bakterii wywołujących tę chorobę, Pasteur wysunął wniosek, że mogą one utracić swój chorobotwórczy charakter jeżeli podda się je ciągłej hodowli laboratoryjnej. Wykorzystując tę wiedzę przeprowadził eksperyment, podczas którego zaszczepił kury należące do grupy eksperymentalnej taką osłabioną (atenuowaną) formą bakterii wywołującej cholerę drobiu - użył kultur bakterii, które dzięki długiemu przechowywaniu i tzw. pasażowaniu (przenoszeniu części kultur bakteryjnych do kolejnych naczyń hodowlanych w celu zmniejszenia liczebności namnażających się komórek bakteryjnych) utraciły swój zakaźny charakter (Ryc. 1).

Grupę kontrolną stanowiły natomiast osobniki, które takiej szczepionki nie otrzymały. W następnym

etapie eksperymentu kury należące do obu grup zostały zainfekowane zjadliwym szczepem bakterii, co spowodowało pojawienie się objawów choroby u osobników z grupy kontrolnej, natomiast u kur z grupy eksperymentalnej zaobserwowano brak oznak zachorowania tj. odporność na zachorowanie (Ryc. 1) [27]. Eksperyment ten stał się początkiem dalszych badań Pasteura nad szczepieniami ochronnymi.

sa) zawierającego bakterie węgliką (Ryc. 2 I. A) - prowadzi to do pojawienia się nudności, krwawych wymiotów, biegunki, bólu brzucha oraz głowy, utraty apetytu. Możliwe jest także wystąpienie bólu gardła, problemów z połykaniem i obrzęku szyi spowodowanego zagnieżdzeniem się bakterii węgliką w gardle,

- przez wdychanie powietrza zawierającego



Ryc. 1. Pierwsze sukcesy Ludwika Pasteura w szczepieniu zwierząt. W 1879 roku Ludwik Pasteur zaszczepił z sukcesem kury przeciwko cholercze drobiu podając im niezjadliwą formę bakterii *Pasteurella multocida* wywołującej tę chorobę. Zwierzęta kontrolne nie zostały poddane szczepieniu, podczas gdy ptaki z grupy eksperymentalnej zostały zaszczepione. Następnie obie grupy zostały zarażone *P. multocida*. Ponieważ przeżyły tylko kury zaszczepione, eksperyment ten uznano za pierwsze skuteczne szczepienie wykonane przez Pasteura.

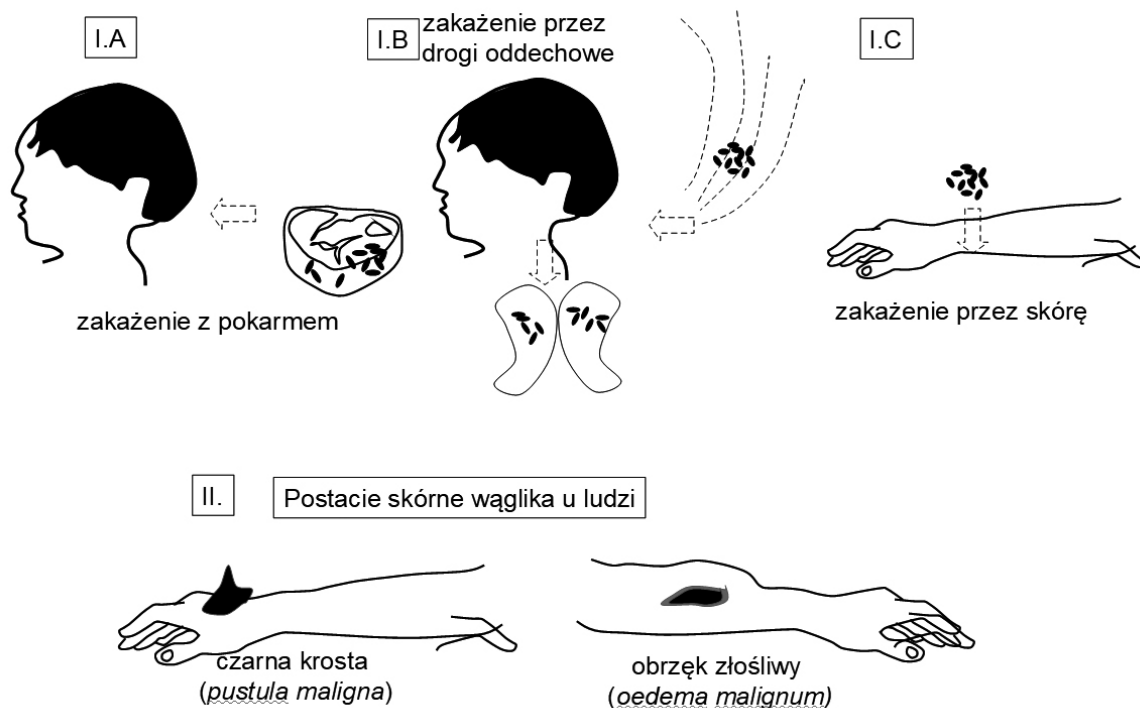
Rywalizacja o węgliką i szczepionka przeciwko tej chorobie

W wieku 58 lat Ludwik Pasteur rozpoczął badania nad chorobą wywołowaną przez bakterię węgliką. W 1878 roku epidemia węgliką stanowiła poważne niebezpieczeństwo dla mieszkańców Francji (oraz szerzej, Europy), a także zwierząt hodowlanych, atakując śmiertelnie ludzi i zabijając znaczną część owiec, kóz, koni, bydła [27]. Dzisiaj wiemy, że węglik to zakaźna choroba wywołowana przez bakterię - laseczkę węgliką (*Bacillus anthracis*), która należy do grupy bakterii Gram-dodatnich. Jest to choroba głównie zwierzęca, ale może też zostać przeniesiona na ludzi przez kontakt z zarażonymi zwierzętami lub pochodzącymi od nich produktami. Ludzie mogą się zarazić węgliką na 3 sposoby (Ryc. 2):

- przez spożycie pokarmu (najczęściej mię-

żywe bakterie lub ich formy przetrwalnikowe (Ryc. 2 I. B) - początkowo objawy postaci wziewnej węgliką są podobne do symptomów grypy, jednak pojawiają się dodatkowo duszności, nudności, a ostatecznie dochodzi do za-
 paści oddechowej,

- przez skórę (Ryc. 2 I. C) - w miejscu wnikięcia przetrwalników w skórę po około 2-5 dniach tworzy się niewielka grudka, która powiększa się i przekształca w bezbolesny wrzód (Ryc. 2 II.). Po 7-10 dniach powstaje czarny strup otoczony obrzękiem. Może też dochodzić do nacieku zapalnego skóry (Ryc. 2 II.). W obu przypadkach węzły chłonne drenujące zainfekowany obszar mogą być opuchnięte i powiększone. Skórna postać węgliką pozostaje najczęściej bezbolesna i ogranicza się do skóry właściwej [9].



Ryc. 2. Schemat ilustrujący możliwe drogi zakażenia ludzi bakteriami *Bacillus anthracis* odpowiedzialnymi za wywoływanie wąglika. (I.A) U ludzi może dojść do zakażenia wąglikiem poprzez zjedzenie pokarmu zawierającego bakterie, (I.B) dostanie się do płuc żywych bakterii lub ich form przetrwalnikowych przez drogi oddechowe lub (I.C) poprzez zakażenie skóry. (II) Zakażenie wąglikiem może się manifestować w jednej z dwóch form, owrzodzenia wypełnionego płynem, przechodzącego w krostkę o czarnym zabarwieniu (*pustula maligna*) lub jako tzw. obrzęk złośliwy (*oedema malignum*) - twardy, głęboki i niebolesny naciek zapalny tkanek. Szczegółowy opis objawów wąglika znajduje się w tekście.

Bakterie wąglika wydzielają silne toksyny, które są odpowiedzialne za wysoką śmiertelność, zwłaszcza w przypadku infekcji pokarmowej i płucnej. Badania nad opracowaniem skutecznej metody walki z epidemią wąglika przebiegały bardzo dynamicznie – rozpoczął się pierwszy etap konfrontacji dwóch badaczy, ale to Robert Koch wiódł prym w rywalizacji o miano odkrywcy przyczyny i sposobu leczenia wąglika. W tym miejscu warto przybliżyć kilka istotnych zdarzeń z życia tego niemieckiego badacza, by dokładniej poznać podłoże konfliktu uczonych. Robert Koch (1843–1910), młodszy od Pasteura o 21 lat, uważany jest za pioniera współczesnej bakteriologii. Z wykształcenia fizyk oraz mikrobiolog, pracował również jako chirurg podczas wojny francusko-pruskiej (1870-1871), a karierę badacza rozpoczął w Wolsztynie, polskim mieście, które w czasie drugiego rozbioru Polski weszło w granice Królestwa Pruskiego pod nazwą *Wollstein* [16]. Robert Koch jako pierwszy opracował skuteczną metodę izolacji kultur bakterii, odkrył i opisał cykl życiowy laseczek wąglika, prątków gruźlicy i przecinkowca cholery [12].

Obecnie znany jest także jako twórca postulatów Kocha, które opisują warunki jakie muszą zostać spełnione, aby móc określić czy dany drobnoustrój jest przyczyną choroby. Brzmiały one następująco

i obecnie wydają się oczywistymi:

- zarazek musi być obecny we wszystkich przypadkach osobników chorych na określoną chorobę.
- zarazek musi zostać wyizolowany od nosiciela choroby i ma być hodowany w postaci czystej kultury.
- zarazki pozyskane z czystej kultury muszą wywoływać tę samą chorobę po wprowadzeniu do organizmu osobnika zdrowego.
- zarazek wyizolowany z organizmu osobnika eksperymentalnie zarażonego musi być identyczny z kulturą pierwotną [4].

Stosując się do powyższych zasad oraz bazując na dotychczasowych pracach Pasteura Robert Koch eksperymentalnie udowodnił, że bakterie *Bacillus anthracis* są bezpośrednią przyczyną wąglika. Jako pierwszy odkrył, że bakterie wąglika w niekorzystnych dla nich warunkach mogą przyjąć formy przetrwalnikowe i pozostawać uśpione zachowując długo wszystkie pierwotne właściwości aż do czasu zmiany warunków na korzystne i ponownej aktywacji [4]. Robert Koch izolując bakterie wąglika z tkanki owcy, która padła w wyniku zarażenia tą chorobą, po raz pierwszy opracował skuteczną metodę hodowli tych bakterii, a także użył ich do zainfekowania osobników innego gatunku (myszy), aby eksperymentalnie

wykazać zakaźny charakter bakterii *Bacillus anthracis*. Warto podkreślić wyjątkową sumiennosc i pokore jaką cechowała tego mlodego badacza, który powtarzal proces zakazenia myszy bakteriami węgliką przez ponad 20 pokoleń tych gryzoni, aby miec pewnośc, że u osobników w kazdym pokoleniu rozwiną się objawy choroby. Dopiero otrzymawszy jednoznaczne wyniki ogłosil swoje odkrycie przedstawiając skrupulatne zapiski z eksperymentów [4]. Kolejnym aspektem, który wymagal udoskonalenia byl sam fakt hodowli bakterii, praktykowany jak dotad wylacznie przez Pasteura. Koch postanowil udoskonalic metode hodowli drobnoustrojów prowadząc testy nowych skladników stanowiących podloze naczyinia hodowlanego. Wykorzystując zjawisko zelowania zachodzace po zmieszaniu skladników takich jak bulion i zelatyna lub agar, stworzyl stale podloza do hodowli bakterii, które są znacznie prostsze do otrzymania i użycia, niz płynne hodowle Pasteura. Asystent Kocha, Julius Richard Petri (1852–1921), opracowal dodatkowo nowy typ naczyinia laboratoryjnego – szalkę Petriego, co jeszcze bardziej ulatwilo hodowle i obserwację bakterii pod mikroskopem [4].

W dosc krótkim czasie sukcesy mlodego badacza z Niemiec spotkaly się z uznaniem wielu przedstawicieli srodowiska naukowego, którzy coraz liczniej zaczeli opowiadac się po stronie zwolenników poddawanej dotad w watpliwosc teorii zarazków. Wieśc o dzialalnosci Roberta Kocha dotarla takze do Pasteura, który z rezerwą odnosil się do swojego rywala, niewatpliwie czujac zazdrośc, że tak doceniane osiagniecie (izolacja bakterii węgliką) bylo dzielem mlodego lekarza pochodzacego z prowincji, czlowieka malo znanego w kregach uczonych, do których nalezyl rowniez Pasteur, a dodatkowo rodowitego Niemca. Niejednokrotnie bowiem w swoich pracach, czy tez podczas przemowien, Ludwik Pasteur podkrešlal swojå niecheć wobec obywateli Niemiec, w związku ze skutkami wojny francusko-pruskiej. Robert Koch nie pozostawal jednak obojętny na dosc nieprzychylne nastawienie francuskiego badacza traktujac go w sposob rownie chlodny. Niektóre źródła donoszą, że jedną z pierwotnych przyczyn tego naukowego konfliktu byla własnosc wspomniana wczesniej wojna, w której zwyciestwo Niemiec spowodowalo przejęcie terenów Alzacji i Lotaryngii, dotychczas nalezacych do Francji. Na uwage zasluguje fakt, że wśród żołnierzy wojsk francuskich znalazl się jedyny syn Ludwika Pasteura – Jean Baptiste Pasteur, co na pewno nie poprawialo sytuacji [24].

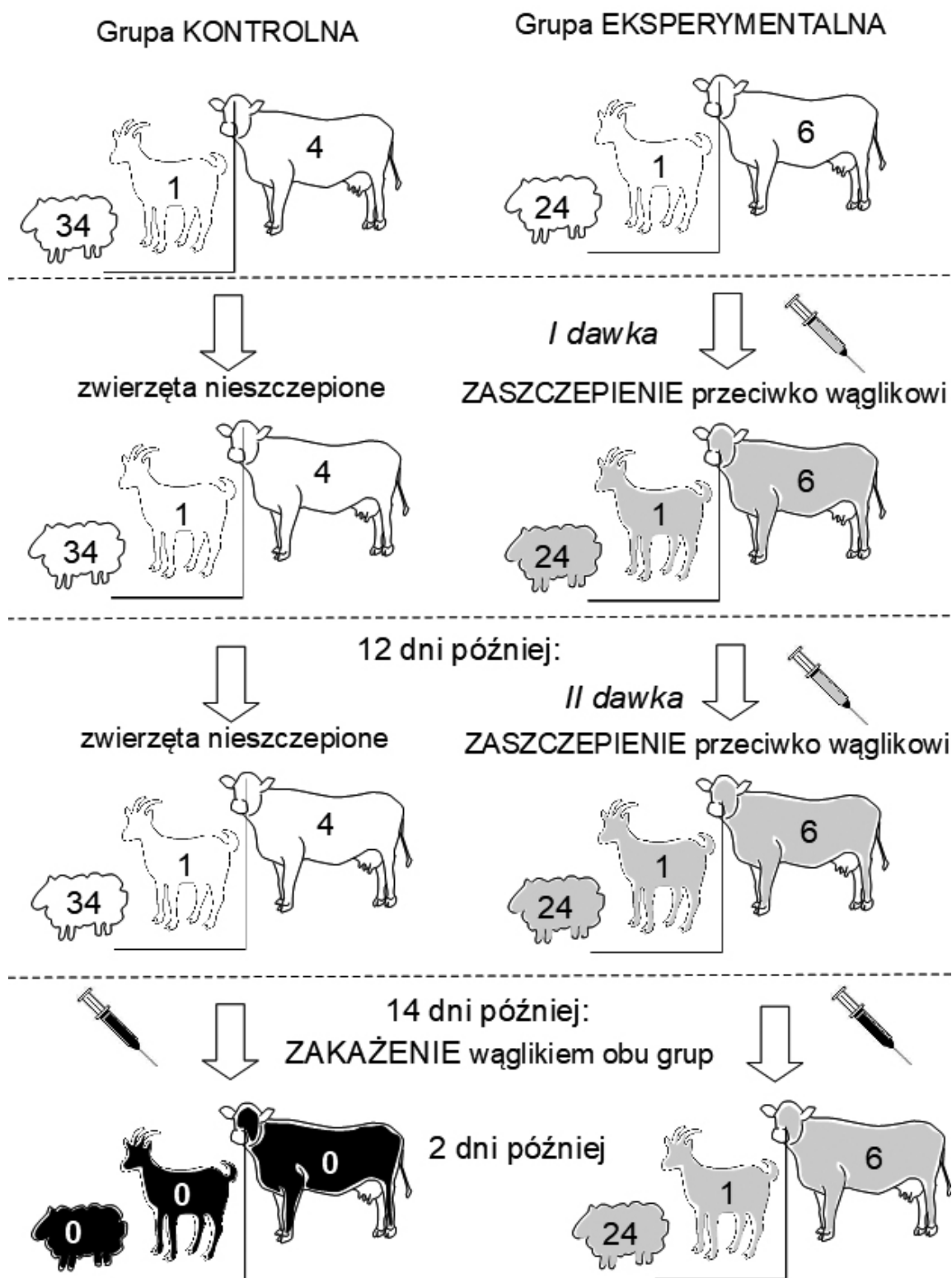
Rozpoczynając badania nad węglikiem Pasteur wkroczyl na teren zajety juz wczesniej przez Roberta Kocha, tym samym poglabiając wrocie juz stosunki.

W zaistniałej sytuacji obydwaj badacze ochoczo korzystal z kazdej mozliwej okazji wymiany zlosliwych uwag w licznych polemikach naukowych. Ludwik Pasteur w swoich pracach dotyczacych węgliką z rozmyslem nie wspominal o wczesniejszych osiagnieciach swojego rywala, a nazwe nadana przez Kocha laseczkom węgliką – *Bacillus anthracis* uporczywie zastepowal okrešleniem bacteridia, kontynuujac swoje badania nad sposobami zwalczania tej choroby [10].

Poczatkowo Pasteur podjal się próby atenuacji bakterii węgliką. W optymalnych warunkach laboratoryjnych bakterie węgliką hodowal przez 8 dni przy jednostajnym przeplywie powietrza i temperaturze otoczenia w zakresie temperatur 42–43°C. W takiej hodowli z czasem stopniowo tracily zjadliwosc, stajac się nieszkodliwymi dla zwierzat takich jak kroliki, owce i swinki morskie. Wyniki tych prób byly jednak niewystarczajace dla Pasteura, który w kolejnych eksperymentach uzyl dichromianu potasu jako dodatkowego czynnika oslabiajacego bakterie, który wykazal się znacznie szybszym i skuteczniejszym dzialaniem [3]. Zadowalajacy efekt eksperymentu pozwolil Pasteurowi wyznaczyc sobie kolejny cel, jakim stalo się stworzenie szczepionki przeciw węglikowi. Jednak w naukowych kregach badaczy XIX wieku pojawily się osoby, które watplyly w skutecznośc badan nad szczepionkami. Jedną z takich osob byl Hippolyte Rossignol (1837–1919) – lekarz weterynarii z Melun we Francji, który sceptycznie odnosil się do teorii Pasteura oraz wynikow jego eksperymentow laboratoryjnych, dlatego wyzwal Pasteura na naukowy pojedynek, by powtorzyl jeden ze swoich testow w warunkach naturalnych [5].

Eksperyment z Pouilly-le-Fort i jego konsekwencje

Przeprowadzenie eksperymentu zaplanowano na farmie Pouilly-le-Fort, polozonej na poludniowych obrzezach Paryza (Francja). 28 kwietnia 1881 roku Ludwik Pasteur podpisal umowe z przedstawicielami miejscowej spolecznosci, którzy zobowiazali się dostarczyc zwierzeta niezbedne do przeprowadzenia eksperymentu. Dotychczasowe badania nad szczepionką przeciwko węglikowi Pasteur prowadzil wylacznie na owcach, natomiast podpisanie umowy wiazalo się z dodatkowym ryzykiem wykonania próby szczepien rowniez krow i koz. Publiczny eksperyment szczepien przeciw węglikowi rozpoczel się 5 maja 1881 roku i obejmowal podanie, w odstępie 12 dni, dwóch dawek szczepionki o różnym stopniu zjadliwosci (Ryc. 3) [5]. Miejscowi farmerzy dostarczyli 70 zwierzat gospodarskich: 10 krow, 2 kozy i 58 owiec. Pierwsze szczepienie Pasteur wykonal na



Ryc. 3. Najbardziej spektakularny sukces Ludwika Pasteura w szczepieniu zwierząt gospodarskich – „eksperyment z Pouilly-le-Fort”. Pomiędzy 5 maja a 2 czerwca 1881 roku Pasteur przeprowadził eksperyment na 70 zwierzętach gospodarskich – krowach, kozach i owcach – szczepiąc część z nich, w dwóch dawkach, przeciwko wąglikowi bakteriami *Bacillus anthracis* o dwóch stopniach zjadliwości. W pierwszej (I) dawce zwierzęta otrzymały bakterie o bardzo niskiej zjadliwości, a w drugiej (II) dawce bakterie te miały wyższą zjadliwość, choć ciągle były atenuowane. Zwierzęta z grupy kontrolnej nie były poddane szczepieniu. Po ponad 3 tygodniach, 31 maja, wszystkie zwierzęta zostały zakażone *B. anthracis*. Po dwóch dniach sprawdzono stan zwierząt i okazało się, że przeżyły tylko (wszystkie) zwierzęta zaszczepione, natomiast (wszystkie) zwierzęta niepoddane tej procedurze padły. „Eksperyment z Pouilly-le-Fort” był wielkim triumfem idei szczepień i samego Pasteura.

24 owcach, 1 kozie oraz 6 krowach, używając szczepionki zawierającej bakterie o umiarkowanej niskiej zjadliwości (Ryc. 3). Pozostała część zwierząt stanowiła w tym eksperymencie grupę kontrolną, która nie otrzymała szczepionki. Druga dawka szczepionki, zawierająca bakterie pochodzące z kultury o wyższej zjadliwości, została podana tym samym zwierzętom eksperymentalnym 17 maja 1881 roku (Ryc. 3). Ponownie wszystkie zwierzęta przeżyły szczepienie i nie zaobserwowano u nich skutków ubocznych. Dwa tygodnie później, 31 maja 1881 roku, obie grupy badanych osobników (eksperymentalna i kontrolna) zostały zainfekowane szczepem bakterii wąglika o wysokiej zjadliwości [5].

Ostatni etap eksperymentu miał miejsce 2 czerwca 1881 roku, kiedy to 200-osobowa publiczność miała ocenić skuteczność szczepień ochronnych przeciw wąglikowi. Pośród obserwatorów znaleźli się między innymi przedstawiciele rządu, politycy, weterynarze, rolnicy, kawalerzyści oraz reporterzy lokalnych gazet [22]. Spośród 70 zwierząt gospodarskich poddanych eksperymentowi w Pouilly-le-Fort, stwierdzono zgon wszystkich osobników należących do grupy kontrolnej (niezaszczepionej), natomiast wszystkie osobniki, które przyjęły 2 dawki szczepionki, przeżyły (Ryc. 3). Nie stwierdzono u nich także żadnych oznak choroby [5]. Wyniki próby były jednoznaczne – szczepienia ochronne są skutecznym, a zatem niezbędnym narzędziem w walce z epidemią wąglika. Przeprowadzenie tak spektakularnego eksperymentu zapewniło Pasterowi pozyskanie wielu zwolenników oraz sławę, która pozwoliła rozpowszechnić stosowanie szczepionki, w tym zachęcić do jej stosowania na obszarach o największej zachorowalności na wąglika. W roku 1882 – a zatem rok po eksperymencie – na terenie Francji 85 000 krów zostało zaszczerpionych przeciw wąglikowi, natomiast już w roku 1884 liczba zaszczerpionego bydła wzrosła do 3,4 miliona osobników [3].

Szczepionki dla ludzi

Szczepionka przeciwko cholercie – 1:0 dla Kocha

Zachęcony sukcesami pierwszych stworzonych przez siebie szczepionek, jednak przeznaczonych tylko dla zwierząt, Pasteur zainteresował się tworzeniem szczepionek ratujących życie ludzkie. Ale również na tym polu nie był sam, gdyż Robert Koch postawił sobie ten sam cel. Pierwszą chorobą, z którą się zmierzili, była cholera, zagrażająca życiu infekcja przewodu pokarmowego, głównie jelit cienkich, powodowana przez różne szczepy bakterii znanej dzisiaj jako przecinkowiec cholery *Vibrio cholerae*. Cholera jest ostrą, bolesną i często śmiertelną choro-

bą, która powoduje wystąpienie przewlekłych biegunk oraz wymiotów, w krótkim czasie prowadząc do gwałtownego odwodnienia organizmu, ostrej niewydolności nerek, poważnych zaburzeń elektrolitowych i zgonu. Do zakażenia dochodzi w skutek spożycia zanieczyszczonej przez bakterie przecinkowca cholery żywności lub wody.

W XIX wieku epidemie cholery pojawiały się w wielu miejscach na całym świecie począwszy od Indii, w których odnotowano pierwszą pandemię cholery w roku 1817 [13]. Bakterie *Vibrio cholerae* zostały po raz pierwszy zaobserwowane przez Filippo Paciniego (1812–1883) w 1854 roku, co jednak pozostało niezauważone. Dlatego o miano badacza odpowiedzialnego za powiązanie ich z prawdziwą przyczyną epidemii cholery ponownie walczyli Ludwik Pasteur i Robert Koch. W 1883 roku Robert Koch wraz z zespołem badawczym podróżowali z Berlina do Aleksandrii w Egipcie, gdzie choroba ta dziesiątkowała żyjących tam ludzi [17].

Przybywając na miejsce nie spodziewali się, że dojdzie tam do bezpośredniej konfrontacji ze współpracownikami Ludwika Pasteura, który nadzorował działania swojego zespołu pozostając w tym czasie w Paryżu. W skład zespołu z Francji weszli między innymi: Isidore Straus, Emile Roux, Edmond Nocard oraz Louis Thuillier [13]. Dwie wrogie formacje naukowców i badaczy konkurowały ze sobą o pierwszeństwo w wyizolowaniu bakterii wywołującej cholere, podejmując ciągłe (jednak wciąż nieudane) próby zarażania tą bakterią zwierząt, konieczne do prowadzenia dalszych badań. Dwa miesiące po przybyciu zespołu francuskiego do Aleksandrii doszło do wydarzenia, które całkowicie odmieniło oblicze tej zacieklej rywalizacji – Louis Thuillier uległ zarażeniu cholere i zmarł. Pozostali członkowie grupy Pasteura powrócili do Paryża składając oficjalny raport dla Stowarzyszenia Biologów we Francji i przyznając, że nie udało im się powiązać występowania epidemii cholery z żadnym znanym już mikroorganizmem. Natomiast Robert Koch i jego współpracownicy nieustannie podejmowali próby wyizolowania patogenu wywołującego cholere głównie z błony śluzowej jelit osób, które zmarły właśnie na tę chorobę. Wykonanie licznych sekcji zwłok pozwoliło badaczom wywnioskować, że bakteria *Vibrio cholerae* jest ściśle związana z występowaniem cholery w danym środowisku, lecz nie byli w stanie jednoznacznie stwierdzić, czy jest ona przyczyną czy skutkiem tej choroby [13]. Pod koniec roku 1883 Robert Koch udał się w podróż do Kalkuty w Indiach, skąd docierały doniesienia o kolejnym ognisku występowania choroby. Jak się później okazało była to dobra decyzja, ponieważ

7 stycznia 1884 roku Koch ogłosił, że wyizolował bakterię z błony śluzowej jelita pacjenta, który zmarł w wyniku zarażenia cholera. W swoim doniesieniu Koch szczegółowo opisał także charakterystyczne cechy tej bakterii, między innymi kształt – „bakteria ta jest trochę zgięta, wyglądem przypomina przecinek”, stąd też jej obecna nazwa – przecinkowiec cholery [13]. Dalsze badania grupy z Niemiec pozwoliły jednoznacznie sklasyfikować bakterię *Vibrio cholerae* jako bezpośrednią przyczynę cholery, a jednocześnie zakończyć kolejny z etapów rywalizacji Pasteura i Kocha, przechylając tym razem szalę zwycięstwa na stronę niemieckiego badacza.

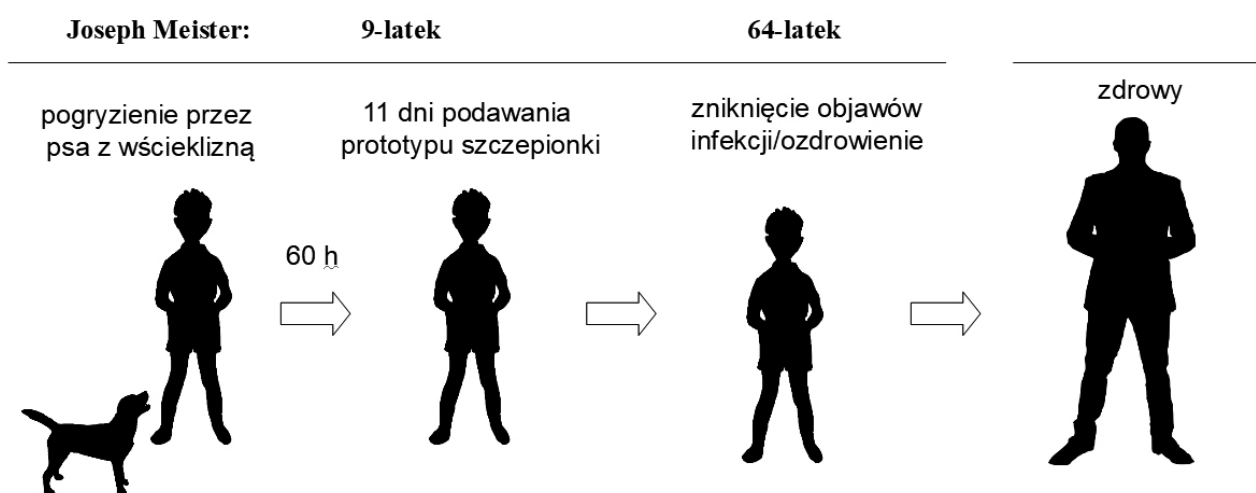
Szczepionka przeciwko wściekliznie: 1:0 dla Pasteura

Kolejne badania Ludwika Pasteura dotyczyły poznania mikrobiologicznego podłoża wścieklizny. Należy podkreślić, że w tych badaniach ważny udział miał też inny badacz, Pierre Roux (1853–1933). Kluczowe znaczenie miały także konsultacje Pasteura z lekarzami weterynarii, którzy wykonywali pośmiertne badania zwierząt zarażonych wirusem wścieklizny [14].

Wścieklizna jest wirusową chorobą odzwierzęcą o ostrym przebiegu, prowadzącą do rozwoju zapalenia mózgu, a w konsekwencji do śmierci [28]. Wścieklizna cechuje się jednym z najwyższych wskaźników śmiertelności spośród znanych nam zakażeń. Nawet dzisiaj rocznie z powodu wścieklizny umiera od 30 do 70 tys. osób – chorobę przeżywają pojedyncze

osoby, te, które zostaną zaszczepione jeszcze przed wystąpieniem objawów lub zakażone przez mniej zjadliwie szczepy wirusa. Dodatkowo, jeżeli istnieje podejrzenie zarażenia wirusem wścieklizny, niezwykle ważne jest szybkie podanie pacjentowi surowicy zawierającej przeciwciała wytworzone przez wcześniej zaszczepione zwierzęta, ponieważ w wielu przypadkach jest to kluczowy element leczenia ratujący życie [21]. Do zarażenia dochodzi zwykle przez ugryzienie lub zadrapanie przez zwierzę chore na wściekliznę - w większości przypadków są to lisy, psy, koty, skunksy lub nietoperze. Wirus może również zostać przeniesiony na człowieka w wyniku kontaktu śliny zarażonego zwierzęcia z błonami śluzowymi lub z uszkodzoną skórą (np. otwartą raną). Początkowymi objawami wścieklizny są gorączka, mrowienie kończyn, kłucie lub pieczenie w miejscu wnikięcia wirusa. W miarę rozprzestrzeniania się zakażenia na centralny układ nerwowy dochodzi do postępującego i śmiertelnego w skutkach zapalenia mózgu i rdzenia kręgowego [28].

Louis Pasteur rozpoczynając badania dotyczące wścieklizny wybrał jako obiekty badawcze króliki zamiast psów, którymi zajmowali się weterynarze, ponieważ u królików objawy chorobowe po zarażeniu wścieklizną pojawiały się wcześniej. Eksperymenty Pasteura opierały się na przenoszeniu czynnika chorobotwórczego z jednego zwierzęcia na drugie. Głównym objawem wścieklizny jest uszkodzenie układu nerwowego, dlatego to właśnie od mózgu badanych zwierząt rozpoczęto próby wyizolowania drobnoustroju. Początkowo wykonywano śródmózgowe



Ryc. 4. Pierwsze szczepienie przeciw wściekliznie wykonane na człowieku. 6 lipca 1885 roku Pasteur zaszczepił przeciw wściekliznie 9-letniego chłopca – Josepha Meistera, który został pogryziony przez chorego na wściekliznę psa. Po upływie około 60 godzin od ugryzienia przez zwierzę z oznakami infekcji wirusem wścieklizny Pasteur rozpoczął podawanie chłopcu prototypu szczepionki przeciw wściekliznie, składającego się z materiału pozyskanego z rdzenia kręgowego pochodzącego od zarażonego wirusem wścieklizny królika. Kuracja zastosowana przez Pasteura trwała 11 dni i ostatecznie doprowadziła do ustąpienia objawów infekcji wirusem wścieklizny u chłopca. Joseph Meister wyzdrowiał i dożył wieku 64 lat, a obecnie znany jest jako pierwsza w historii osoba, u której skutecznie zastosowano szczepionkę przeciw wściekliznie. Sylwetki pobrano ze strony www.onlygfx.com/ (licencja CC0).

nakłucia pobierając próbki płynu mózgowo-rdzeniowego zwierząt i poddawano je badaniu. Z czasem Pasteur zmienił taktykę i izolował rdzeń kręgowy, który następnie był suszony, a w kolejnym etapie jego fragmenty w formie szczepionki były podawane zdrowym zwierzętom, które po kontakcie z zarażonymi zwierzętami okazywały się być w pełni odporne. Pasteur zaobserwował, że nie trzeba tworzyć osłabionej formy czynnika chorobotwórczego, gdyż samo wysuszenie rdzenia kręgowego powoduje neutralizację czynnika zakaźnego [20]. 6 lipca 1885 roku, kiedy badania nad szczepionką przeciw wściekliznie wciąż prowadzono w laboratorium na zwierzętach, Pasteur wykonał pierwsze szczepienie przeciw tej chorobie na człowieku. Osobą tą był 9-letni chłopiec Joseph Meister, który 4 lipca około godziny 8:00 rano został pogryziony w 14 miejscach – na rękach, nogach oraz biodrach, przez chorego na wściekliznę psa [20]. Chłopiec wraz z matką zgłosili się do lekarza Josepha Granchera (1843–1907), do jednego ze szpitali ogólnych w Paryżu. Jednak Grancher znając aktualny postęp badań Pasteura postanowił przekonać go, aby podjął próbę uratowania chłopca, ponieważ była to jedyna szansa ocalenia życia młodego Josepha. Leczenie rozpoczęło 6 lipca, 60 godzin po ataku zwierzęcia.

Zabieg ten polegał na wstrzyknięciu chłopcu fragmentu suszonego przez 15 dni (od 21 czerwca) rdzenia kręgowego pochodzącego od zarażonego wirusem wścieklizny królika. Od 7 do 16 lipca Pasteur kontynuował podawanie szczepionki zawierającej materiał z rdzenia kręgowego (przy czym w dniu 7 i 8 lipca podano po dwie dawki szczepionki), który

był suszony kolejno przez 15, 14, 12, 11, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 dni (Tabela 2). Objawy choroby zaczęły stopniowo zniknąć, chłopiec wyzdrowiał i dożył wieku 64 lat (zapewne żyłby dłużej, ale zginął śmiercią tragiczną) (Ryc. 4). [20]. W kontekście prezentowanej tutaj historii warto zaznaczyć, że Koch nigdy nie pracował nad szczepionką przeciw wściekliznie, natomiast niektóre źródła donoszą, że odradzał jej stosowania [24].

Szczepionka przeciwko gruźlicy: 0:0 ale...

Zatrzymanie rozprzestrzeniania się gruźlicy oraz stworzenie szczepionki przeciwko tej chorobie było kolejnym wyzwaniem dla Pastuera i Kocha. Gruźlica jest chorobą zakaźną wywoływaną przez bakterie – prątki gruźlicy *Mycobacterium tuberculosis*. Zakażenie następuje głównie drogą oddechową – bakterie przenoszone są wraz z powietrzem od osoby chorej do zdrowej, a prątki gruźlicy najczęściej osadzają się w płucach, jednak wraz z krwią i limfą mogą zostać przeniesione do wszystkich tkanek organizmu, powodując specyficzne zmiany. Jednym z najbardziej typowych objawów gruźlicy jest dokuczliwy kaszel utrzymujący się przez wiele tygodni, może mu towarzyszyć odkasztuszanie dużej ilości śliny, krwi, ból i duszności w klatce piersiowej, gorączka, osłabienie oraz utrata masy ciała [25]. Możliwe jest także zarażenie się prątkiem bydłowym *Mycobacterium bovis* poprzez spożycie mleka od zakażonego bydła. Obecnie taka droga zakażenia została wyeliminowana dzięki odpowiedniej polityce rolnej, w tym mleczarskiej, ale była istotną drogą transmisji

Tabela 2. Przebieg przygotowywania pierwszej w historii szczepionki przeciw wściekliznie oraz kolejne etapy jej podawania Josephowi Meisterowi przez Ludwika Pasteura. Na podstawie publikacji [19], w której zawarte jest zdjęcie tabeli z osobistymi, odręcznymi notatkami Ludwika Pasteura (zmodyfikowane). Daty odnoszą się do roku 1885.

data podania szczepionki	początek suszenia materiału z rdzenia kręgowego	czas suszenia materiału z rdzenia kręgowego
6 lipiec	21 czerwiec	15 dni
7 lipiec	23 czerwiec	14 dni
7 lipiec	25 czerwiec	12 dni
8 lipiec	27 czerwiec	11 dni
8 lipiec	29 czerwiec	9 dni
9 lipiec	1 lipiec	8 dni
10 lipiec	3 lipiec	7 dni
11 lipiec	5 lipiec	6 dni
12 lipiec	7 lipiec	5 dni
13 lipiec	9 lipiec	4 dni
14 lipiec	11 lipiec	3 dni
15 lipiec	13 lipiec	2 dni
16 lipiec	15 lipiec	1 dzień

gruźlicy przed wynalezieniem pasteryzacji. Nazwa tego procesu pochodzi od nazwiska jego twórcy, Ludwika Pasteura i oznacza obróbkę cieplną mleka w temperaturze poniżej 108°C, która niszczy całkowicie komórki wegetatywne (aktywne życiowo) drobnoustrojów chorobotwórczych, choć nie ich formy przetrwalnikowe [7].

Dzięki pasteryzacji mleka udało się ograniczyć transmisję (rozprzestrzenianie się) zakażeń powodujących nie tylko gruźlicę, ale także błonicę, płonicę czy brucelozę. Sam fakt, że nazwy tych ostatnich chorób brzmią dzisiaj egzotycznie, wskazuje jak są obecnie rzadkie. Na wynalezieniu pasteryzacji kończy się jednak wkład Ludwika Pasteura w walkę z gruźlicą. Choroba ta osiągnęła skalę epidemii na przełomie XVIII i XIX wieku głównie na terenach Europy i Ameryki Północnej i została nazwana „Białą Plagą”, była też w większości przypadków nieuleczalna [8]. Pierwsze ważne odkrycia dotyczące gruźlicy zostały dokonane przez Roberta Kocha, który zajmował się badaniem przyczyn, skutków oraz metod leczenia tej choroby. W 1882 roku jako pierwszy wyizolował prątki gruźlicy w czystej hodowli, bezpośrednio identyfikując je jako czynnik chorobotwórczy [2]. W celu potwierdzenia swojego odkrycia Koch zakażył wyizolowanymi bakteriami świnki morskie oraz króliki, obserwując pojawienie się objawów gruźlicy u badanych zwierząt. Idąc krok dalej, w roku 1890 podczas przemówienia na Międzynarodowym Kongresie Medycyny, Koch ogłosił odkrycie białka o nazwie tuberkulina, działającego hamująco na wzrastanie i przenoszenie bakterii prątków gruźlicy u badanych przez niego świnek morskich [11]. Warunkiem zablokowania wzrostu bakterii w organizmie była ekspozycja na tuberkulinę przed i po zarażeniu gruźlicą. Świat obiegrała wiadomość o potencjalnym odkrywcę leku na gruźlicę, a Koch zyskał sławę. W szczególności wykazał on, że pacjenci z gruźlicą i osoby zdrowe (stanowiące kontrolę w badaniach) reagują odmiennie na miejscowe wstrzyknięcie niskich dawek tuberkuliny. Chociaż w miejscu wstrzyknięcia niskich dawek tuberkuliny u pacjentów wystąpiło charakterystyczne zaczerwienie, to u zdrowych osób nie wystąpiła żadna reakcja na jej podanie. Koch postawił hipotezę, że tuberkulina nie działa bezpośrednio na bakterie, lecz stymuluje komórki gospodarza. Miał nadzieję, że stosowanie tuberkuliny ułatwi diagnostykę i pomoże w leczeniu gruźlicy. Tak narodził się test nadwrażliwości typu opóźnionego (ang. *delayed-type hypersensitivity*, DTH), który jest nadal używany do diagnozowania osób zakażonych gruźlicą i znany jest jako „próba tuberkulinowa” (średnica zaczerwienienia od 6 mm do 12–15 mm wskazuje

na przebycie choroby bądź otrzymane szczepienie, a powyżej górnego zakresu – na aktywną chorobę). W międzyczasie rozpoczęto badania kliniczne tuberkuliny jako szczepionki terapeutycznej, a oficjalny raport z tych badań opublikowano w 1891 roku [11]. Opisano w nim reakcje łącznie 1061 pacjentów z gruźlicą narządów wewnętrznych i 708 pacjentów z gruźlicą tkanek zewnętrznych, którzy byli wcześniej leczeni tuberkuliną. Próby te ujawniły, że wyleczono tylko kilka osób; statystycznie, wskaźnik skuteczności wyleczenia nie różnił się od tego u nieleczonych pacjentów. W związku z tym w raporcie stwierdzono, że chociaż tuberkulina jest cenna w diagnostyce gruźlicy, wyniki leczenia gruźlicy z jej użyciem są rozczarowujące [11]. Chociaż próby Kocha leczenia gruźlicy okazały się jego największą porażką, nadal pozostał osobą szanowaną w kręgach naukowych, a jego badania nad gruźlicą zostały uhonorowane Nagrodą Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny w 1905 roku.

Podsumowanie

Opisane powyżej wydarzenia z życia dwóch niewątpliwie wybitnych naukowców pokazują często pomijane w zapisach historycznych oblicze nauki. Ta ostatnia ma służyć powszechnemu dobru społeczeństwa, poszerzać horyzonty, rozwijać umiejętności poznawcze i sprawiać, by kolejne okresy w dziejach świata już nigdy nie powróciły do „ery ciemności”. Jednak gdzieś pomiędzy wielkimi odkryciami niekiedy czają się wzajemna rywalizacja badaczy, walka o sławę i prestiż, a w niektórych przypadkach także konflikty polityczne. Wydawać by się mogło, że tego rodzaju konkurencja i spory naukowe do niczego nie prowadzą, nie służą postępowi, a wręcz go ograniczają. Przedstawiona w tym artykule historia pokazuje, że naukowe potyczki, wyścigi i rywalizacja dwóch badaczy w XIX wieku pozwoliły zbudować fundamenty współczesnej medycyny – bakteriologię i immunologię, oraz stworzyć kilka szczepionek.

W XX wieku historia ta powtórzyła się w postaci równie zajadłej rywalizacji o pierwszeństwo odkrycia wirusa powodującego AIDS. Luc Montagnier (Francuz, profesor z Instytutu Pasteura w Paryżu) i Robert Gallo (Amerykanin) udowodnili, że powoduje go wirus HIV, ale to już zupełnie inna historia (opisana uprzednio we Wszechświecie [19]).

Bibliografia:

1. Artenstein A. (2009). *Vaccines: A Biography*. Springer, New York. s. 47.
 2. Barberis I., Bragazzi N. L., Galluzzo L., Martini M. (2017). The history of tuberculosis: from the first historical records to the isolation of Koch's bacillus. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, 58: 9-12.
 3. Berche P. (2012). Louis Pasteur, from crystals of life to vaccination. *Clinical Microbiology and Infection*, 18: 1-6.
 4. Brock T. (1999). *Robert Koch: A Life in Medicine and Bacteriology*. ASM Press, Washington. s. 143.
 5. Bucchi M. (1997). The public science of Louis Pasteur: the experiment on anthrax vaccine in the popular press of the time. *History and Philosophy of the Life Sciences*, 19: 181-209.
 6. Carter K., Carter B. (2005). *Childbed Fever: A Scientific Biography of Ignaz Semmelweis*. Routledge, New York. s. 70-79.
 7. Currier R., Widness J. (2018). A Brief History of Milk Hygiene and Its Impact on Infant Mortality From 1875 to 1925 and Implications for Today: A Review. *Journal of Food Protection*, 81: 1713-1722.
 8. Daniel T. M. (2006). The history of tuberculosis. *Respiratory Medicine*, 100: 1862-1870.
 9. Goel A. (2015). Anthrax: A disease of biowarfare and public health importance. *World Journal of Clinical Cases*, 16: 20-33.
 10. Hume E. (2006). *Bechamp Or Pasteur?: A Lost Chapter in the History of Biology*. Bechamp.org, Castlemaine. s. 60-66.
 11. Kaufmann S. H., Schaible U. E. (2005). 100th anniversary of Robert Koch's Nobel Prize for the discovery of the tubercle bacillus. *Trends in Microbiology*, 13: 469-475.
 12. Lerner B. W., Lerner L. (2006). "Robert Koch". *World of Microbiology and Immunology*. Gale, Detroit. s. 326.
 13. Lippi D., Gotuzzo E. (2014). The greatest steps towards the discovery of *Vibrio cholerae*. *Clinical Microbiology and Infection*, 20: 191-195.
 14. Lombard M., Pastoret P. P., Moulin A. M. (2007). A brief history of vaccines and vaccination. *Revue Scientifique et Technique*, 26: 29-48.
 15. Mbuthia P. G., Njagi L. W., Nyaga P. N., Bebor L. C., Minga U., Kamundia J., Olsen J. E. (2008). *Pasteurella multocida* in scavenging family chickens and ducks: carrier status, age susceptibility and transmission between species. *Avian Pathology*, 37: 51-57.
 16. McGrath K., Travers B. (1999). "Heinrich Hermann Robert Koch". *World of Scientific Discovery*. Gale, Detroit. s.623.
 17. N Howard-Jones. (1984). Robert Koch and the cholera vibrio: a centenary. *British Medical Journal (Clinical Research Ed.)*, 288: 379-381.
 18. Obenchain T. G. (2016). *Genius Belabored: Childbed Fever and the Tragic Life of Ignaz Semmelweis*. University of Alabama Press, Tuscaloosa. s. 111-118.
 19. Płytycz B. (1989). Spory o wirusa HIV. *Wszechświat*, 90: 77-80.
 20. Rappuoli R. (2014). Inner Workings: 1885, the first rabies vaccination in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111: 12273.
 21. Sadkowska-Todys M. (2006). Wścieklizna - aktualne problemy epidemiologiczne. *Polski Przegląd Neurologiczny*, 2: 37-42.
 22. Smith K. (2012). Louis Pasteur, the Father of Immunology? *Frontiers in Immunology*, 3: 68.
 23. Thorwald J. (2008). *Stulecie chirurgów*. ZNAK, Kraków. s. 303-328.
 24. Ullmann A. (2007). Pasteur-Koch: Distinctive Ways of Thinking about Infectious Diseases. *Microbe*, 2: 383-387.
-

Bibliografia ze źródeł internetowych:

25. Centers for Disease Control and Prevention. (2019). <<https://www.cdc.gov/features/tbsymptoms/index.html>> [dostęp 10.02.2020]
26. Ullmann A. (2009). Louis Pasteur. French chemist and microbiologist. Encyclopedia Britannica <<https://www.britannica.com/biography/Louis-Pasteur>> [dostęp czerwiec 2018]
27. VBI Vaccines Louis Pasteur and the Development of the Attenuated Vaccine. (2016). <<https://www.vbi-vaccines.com/wire/louis-pasteur-attenuated-vaccine/>> [dostęp 08.06.2018]
28. World Health Organization. (2017). <http://www.who.int/rabies/home_symptoms/en/> [dostęp 04.12.2019].

Dr hab. Elżbieta Kołaczowska, prof. nadzwyczajny UJ, Zakład Hematologii Eksperymentalnej, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Uniwersytet Jagielloński. E-mail: ela.kolaczowska@uj.edu.pl

Lic. Anna Biała otrzymała licencjat na podstawie pracy dotyczącej historii szczepień. Praca została przygotowana pod opieką dr hab. Elżbiety Kołaczowskiej, prof. Uniwersytetu Jagiellońskiego z Zakładu Hematologii Eksperymentalnej, Instytutu Zoologii i Badań Biomedycznych Uniwersytetu Jagiellońskiego.