

Aluminium et vaccins

Collection
Avis et Rapports

Aluminium et vaccins

Depuis plus de dix ans, la France fait l'objet de débats relatifs à la sécurité de l'aluminium utilisé comme adjuvant dans la plupart des vaccins dans tous les pays du monde et ce depuis plus de soixante ans.

Le Haut Conseil de la santé publique, à la demande de la Direction générale de la santé, a réalisé une revue critique de la littérature sur l'aluminium dans les vaccins et une analyse bénéfices/risques de l'aluminium comme adjuvant dans les vaccins.

De plus, dans ce rapport, figurent également des données actualisées de pharmacovigilance, les mécanismes d'action des adjuvants, les alternatives aux adjuvants à base de sels d'aluminium, ainsi que des données toxicologiques sur l'aluminium.

Le HCSP estime que les données scientifiques disponibles à ce jour ne permettent pas de remettre en cause la sécurité des vaccins contenant de l'aluminium, au regard de leur balance bénéfices/risques. Il recommande la poursuite des vaccinations conformément au calendrier vaccinal en vigueur et met en garde contre les conséquences, en matière de réapparition de maladies infectieuses, que pourrait avoir une baisse de la couverture vaccinale résultant d'une remise en cause des vaccins contenant de l'aluminium en l'absence de justification scientifique.

Par ailleurs, le HCSP encourage la poursuite des recherches visant à évaluer la sécurité des adjuvants disponibles et en développement.

Aluminium et vaccins

Rapport

11 juillet 2013

Ce rapport a été adopté par la Commission spécialisée Maladies transmissibles le 11 juillet 2013, après consultation du Comité technique des vaccinations.

SOMMAIRE

GROUPE DE TRAVAIL	4
1 - Genèse et chronologie d'une controverse	5
2 - La myofasciite à macrophages (MFM). Revue de la littérature	8
2.1 - La MFM : une affection essentiellement française	8
2.2 - Analyse des publications de l'équipe de Gherardi et Authier	8
2.3 - La myofasciite à macrophages et les enfants	16
2.4 - La myofasciite à macrophages de l'adulte hors de France	18
2.5 – Synthèse et discussion	19
3 - Bilan actualisé des notifications spontanées de myofasciites à macrophages rapportées au système national de pharmacovigilance (au 17/06/2013)	26
4 - Adjuvants - Aspects Immunologiques	31
4.1 -Objectifs et mécanismes d'action des adjuvants	31
4.2 - Adjuvants à base de sels d'aluminium	32
4.3 - Alternatives aux adjuvants à base de sels d'aluminium	33
4.3.1 - <i>Adjuvants phospholipidiques</i>	33
4.3.2 - <i>Adjuvants phosphate de calcium</i>	33
4.3.3 – <i>Virosomes</i>	34
5. -Toxicité de l'aluminium	38
5.1 - Composition, structure et physico-chimie des adjuvants aluminiques	38
5.1.1 - <i>Propriétés physico-chimique des adjuvants</i>	38
5.1.2 - <i>Exemples d'adjuvants utilisés en France</i>	38
5.1.3 - <i>Adsorption sur les adjuvants aluminiques</i>	39
5.2 – Pharmacocinétique	39
5.2.1 - <i>Aluminium non vaccinal</i>	39
5.2.2 - <i>Adjuvants aluminiques</i>	41
5.3 – Toxicodynamie	44
5.3.1 - <i>Résumé des effets toxiques de l'aluminium</i>	44
5.3.2 - <i>Valeurs toxicologique de référence</i>	47
5.4 - Résumé des travaux expérimentaux conduits par l'équipe de R. Gherardi, et position de l'ANSM	48
6 - Liste des vaccins du calendrier vaccinal	52
7 - Recommandations	53
GLOSSAIRE	55
ANNEXE	57
TABLE DES MATIERES	60

GROUPE DE TRAVAIL

Composition

Brigitte AUTRAN, HCSP-CTV

Jean BEYTOUT, HCSP-CTV

Daniel FLORET, HCSP-CTV

Alexis JACQUET, ANSM

Jean-Louis KOECK, Service de santé des Armées

Daniel LEVY-BRUHL, InVS

Dominique MASSET, ANSM

Isabelle MORER, ANSM

Henri PARTOUCHE, HCSP-CTV

Corinne LE GOASTER, SG-HCSP

Odile LAUNAY, HCSP-CTV

Didier TORNAY, HCSP-CTV

Personne auditionnée

Pr Romain GHERARDI, Hôpital Universitaire Henri Mondor, Créteil

Déclarations publiques d'intérêt

Les membres du groupe de travail ont remis une déclaration publique d'intérêt.

Le Haut Conseil de la santé publique a reçu de la Direction générale de la santé le 12 juillet 2012, une saisine relative à la présence d'aluminium dans certains vaccins.

Il est demandé au Haut Conseil de la santé publique (HCSP) de donner des éléments sur :

- une revue critique de la littérature sur l'aluminium dans les vaccins et les myofasciites à macrophages (MFM) et notamment les études menées par l'équipe du Professeur Gherardi ;
- l'analyse bénéfice/risque de l'aluminium comme adjuvant dans les vaccins en lien avec l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) et si possible en comparaison avec d'autres adjuvants.

1 - Genèse et chronologie d'une controverse

Depuis plusieurs années, la France fait l'objet de controverses relatives à la sécurité de l'aluminium utilisé comme adjuvant dans la plupart des vaccins dans tous les pays du monde et ce depuis plus de soixante ans. Cette polémique a pour origine les travaux d'une seule équipe dans le monde, française, qui publie sur ce sujet depuis 1998.

Alors que la présence de granulomes à aluminium dans les muscles où sont injectés les vaccins était connue depuis 1982 [1], l'Institut de veille sanitaire (InVS) a été alerté en 1997 par le Germmad (Groupe de recherche sur les maladies musculaires acquises et dysimmunitaires) suite à l'identification dans des biopsies musculaires d'une nouvelle entité histologique dénommée "myofasciite à macrophages". Il était rapporté que la présence de cette lésion semblait souvent associée à des douleurs musculaires diffuses et à une fatigue.

Gherardi et coll. rapportent en 1998 dans le Lancet [2] une série de 18 patients adultes présentant une association de symptômes musculo-squelettiques mal définis (myalgies, arthralgies, faiblesse musculaire, élévation des CPK, modifications de l'EMG), et de signes généraux (asthénie, fièvre). La biopsie musculaire pratiquée dans le deltoïde du bras non dominant de ces patients révèle la présence de lésions anatomiques inhabituelles que les auteurs dénomment « myofasciite à macrophages » (MFM). Cette « entité nouvelle » n'a pas d'étiologie connue. Dans l'hypothèse d'une maladie de Whipple, 10 de ces patients ont reçu un traitement associant antibiotiques et corticoïdes et 8 ont été améliorés.

L'origine de ces travaux remonte, selon les auteurs [3] à 1996, où, dans la cadre de la création d'un nouveau groupe de recherche, le Germmad, branche de l'Association française contre les myopathies (AFM), deux patients présentant une myopathie dont l'aspect histologique n'avait jamais été observé auparavant ont été étudiés. Il a, de ce fait, été demandé aux principaux centres de myologie français de revoir leurs lames de biopsie musculaire atypiques des 30 dernières années. Ainsi, en décembre 1998, 35 observations ont été colligées, la première observée à Bordeaux en 1993.

L'hypothèse rapidement avancée par le Germmad est que les granulomes observés dans les muscles sont liés à la présence d'aluminium et le lien est fait avec la persistance anormale dans le muscle de l'aluminium des vaccins [4]. Les vaccins incriminés sont essentiellement ceux de l'hépatite B qui ont été largement utilisés en France au milieu des années 1990.

L'investigation exploratoire des 53 premiers cas par l'InVS confirmait l'hypothèse du Germmad selon laquelle la lésion histologique observée était liée à l'injection de vaccins contenant de l'hydroxyde d'aluminium, mais en l'absence de groupe témoin, il n'était pas possible de conclure quant à l'association entre la présence de cette lésion histologique et une symptomatologie particulière [5].

En septembre 1999 puis en juin 2000, les données recueillies par le Germmad et l'InVS ont été présentées au Comité consultatif pour la sécurité des vaccins (CCSV) de l'Organisation

mondiale de la santé (OMS). Des experts internationaux dans les domaines de la myologie, de la vaccinologie, de l'immunologie et de la pharmacovigilance ont été associés aux travaux de ce comité. Le CCSV concluait de même à un lien de causalité très probable entre l'administration d'un vaccin contenant de l'hydroxyde d'aluminium et la présence de la lésion histologique caractérisant la MFM [6] mais considérait que les données disponibles ne permettaient pas de conclure à l'existence d'une association entre la lésion histologique et une pathologie spécifique. Il émettait des recommandations concernant la nécessité de poursuivre les études visant à caractériser la MFM et à rechercher une association statistique entre la présence d'une MFM en tant qu'entité histologique et la survenue de MFM en tant qu'entité clinique spécifique.

Une étude cas-témoins a donc été menée par l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps), à laquelle l'InVS a contribué en apportant son expertise épidémiologique. La principale conclusion de l'étude était que « elle ne permet en aucun cas de conclure à l'association entre la présence de l'aluminium au niveau des macrophages et la survenue d'une maladie », ce qui amenait le comité scientifique de l'Afssaps à conclure en mai 2004 qu'« aucun syndrome clinique spécifique n'est retrouvé associé à la vaccination avec des vaccins contenant un adjuvant aluminique ».

Après examen de l'ensemble des nouvelles données disponibles concernant la MFM, et tout particulièrement des données françaises, le CCSV concluait également, en décembre 2003, que « la persistance de macrophages contenant de l'aluminium au point de vaccination n'est pas associée à une maladie ou à des symptômes cliniques particuliers » [7].

En 2001, les mêmes auteurs suggèrent que la MFM est également associée à une atteinte du système nerveux central [8] présente chez 14 patients parmi 92 de leur cohorte. Cette atteinte centrale est dans les 7 cas décrits une sclérose en plaques certaine ou probable. La MFM est ensuite rapprochée du syndrome de fatigue chronique [9].

L'étape suivante est la mise en évidence de troubles cognitifs chez les patients atteints de MFM à travers deux études [10,11] réalisées chez des patients de la cohorte suivie par cette équipe (sans critères de sélection décrits) à travers des tests neuropsychologiques d'interprétation difficile. Les troubles neurologiques sont interprétés comme la conséquence de la migration de nanoparticules d'aluminium à travers la barrière hémato-encéphalique et leur dépôt dans le cerveau.

En 2011, la MFM est intégrée à un syndrome plus vaste, le syndrome ASIA d'auto immunité induite par les adjuvants, rassemblant la MFM, le syndrome de la guerre du Golfe, les troubles induits par les implants de silicone, décrit par Shoenfeld *et al.* [12].

L'étape la plus récente vise à démontrer le mode de migration et de pénétration de l'aluminium dans le cerveau par le mécanisme du « cheval de Troie » faisant intervenir les monocytes qui phagocyteraient les nanoparticules d'aluminium et les transporteraient dans divers organes dont le cerveau en leur faisant franchir la barrière hémato-méningée. Ces hypothèses s'appuient sur une étude expérimentale chez la souris [13] qui nécessite confirmation.

Références

- [1] Mrak RE. Muscle granulomas following intramuscular injection. *Muscle Nerve* 1982; 5: 637-39.
- [2] Gherardi RK, Coquet M, Cherin P, *et al.* Macrophagic myofasciitis: an emerging entity. *Lancet* 1998; 352: 347-52.
- [3] Chérin P, Laforet P, Gherardi RK, *et al.* La myofasciite à macrophages : description, hypothèses étiopathogéniques. *Rev Med Interne* 1999 ; 20 : 483-89.

- [4] Gherardi RK, Coquet M, Chérin P, *et al.* Macrophagic myofasciitis lesions assess long-term persistence of vaccine-derived aluminium hydroxide in muscle. *Brain* 2001 ; 124: 1821-31.
- [5] Authier FJ, Chérin P, Creange A, *et al.* Central nervous system disease in patients with macrophagic myofasciitis. *Brain* 2001; 124: 974-83.
- [6] Myofasciite à macrophages. Rapport d'investigation exploratoire. InVS / GERMMAD. Octobre 2011. Disponible à <http://www.invs.sante.fr/publications/myofasciite/index.htm>
- [7] Organisation Mondiale de la Santé. Sécurité des vaccins. Comité consultatif pour la sécurité des vaccins. Relevé Epidémiologique Hebdomadaire 1999 ; 41:337-40.
- [8] Organisation Mondiale de la Santé. Sécurité des vaccins. Comité consultatif pour la sécurité des vaccins. Relevé Epidémiologique Hebdomadaire 2004 ; 3 :20
- [9] Authier FJ, Sauvat S, Champey J, *et al.* Chronic fatigue syndrome in patients with macrophagic myofasciitis. *Arthritis & Rheumatism* 2003; 48: 569-72.
- [10] Couette M, Boisse MF, Maison P, *et al.* Long-term persistence of vaccine-derived aluminium hydroxide is associated with chronic cognitive dysfunction. *Journal of Inorganic Biochemistry* 2009; 103: 1571-78.
- [11] Passeri E, Villa C, Couette M, *et al.* Long-term follow up of cognitive dysfunction in patients with aluminium hydroxide-induced macrophagic myofasciitis. *Journal of Inorganic Biochemistry* 2011; 105: 1457- 63.
- [12] Shoenfeld Y, Agmon-Levin N. ASIA- Autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants. *J Autoimmunity* 2011; 36: 4-8.
- [13] Khan Z, Combadière C, Authier FJ, *et al.* Slow CCL2-dependent translocation of biopersistent particles from muscle to brain. *BMC Medicine* 2013, 11: 99.

2 - La myofasciite à macrophages (MFM). Revue de la littérature

Depuis quinze ans, s'est développée principalement en France une controverse relative à la sécurité de l'aluminium utilisé comme adjuvant. Cette polémique a pour origine les travaux d'une seule équipe française qui publie sur ce sujet depuis 1998, alors que cet adjuvant est utilisé dans la plupart des vaccins inactivés ou sous unitaires au niveau mondial depuis plus de quatre-vingt ans.

2.1 - La myofasciite à macrophages : une affection essentiellement française

La revue de la littérature disponible au 23 avril 2013 a été effectuée à partir d'une recherche bibliographique PubMed avec le mot clef « macrophagic myofasciitis » soient 72 références dont 22 issues de la même équipe (ayant pour auteur ou co-auteur Gherardi R et/ou Authier F et/ ou Cherin P).

La revue de Gherardi et Authier la plus récemment publiée dans *Lupus* 2012 [1] fait état de **1000 cas** de MFM répertoriés en France par l'association E3M (Association d'entraide aux malades de myofasciite à macrophages (victimes de l'aluminium vaccinal)) dont **457 sont suivis par le Centre de référence des maladies neuromusculaires de Créteil**.

En contraste et comme le soulignent les auteurs, 14 ans après la publication princeps de Gherardi *et al.* [2], les autres pays (Etats-Unis, Allemagne, Portugal, Espagne, Royaume-Uni, Irlande, Corée, Australie) n'ont rapporté que des cas occasionnels.

2.2 - Analyse des publications de l'équipe de Gherardi et Authier

Comme indiqué plus haut, cette équipe est la seule à avoir publié sur des « séries » de patients atteints de MFM. D'une manière globale, les publications successives de cette équipe font référence, au fil des années, à un nombre croissant de cas répertoriés par leur centre et présentent dans chaque publication des données issues d'un nombre limité de patients de leur cohorte. Il n'est pas précisé sur quels critères ces patients ont été choisis (bien que l'on dise habituellement qu'il s'agit de « patients successifs ») ni si les patients inclus dans différentes publications se recouvrent ou non.

- La MFM a été décrite en 1998 comme une maladie émergente dans une publication de Gherardi *et al.* parue dans le *Lancet* [2]. En fait, en 1982, Mrak RE [3] avait rapporté la présence, sur la biopsie musculaire du quadriceps d'un nourrisson âgé de 8 mois porteur d'une myopathie congénitale, de lésions granulomateuses inhabituelles. Cet enfant était rapidement décédé de complications respiratoires de sa maladie et l'autopsie n'avait pas retrouvé de lésions semblables dans les autres muscles. Les auteurs avaient pu reproduire expérimentalement ce type de lésions chez l'animal par injection IM de vaccin diphtérie-tétanos et coqueluche et avaient montré que les granules présentes dans les histiocytes étaient constituées par un sel d'aluminium.

La publication du *Lancet* de 1998 fait référence aux observations de 18 patients adultes colligées entre mai 1993 et décembre 1997 dont 14 sont exploitables. Ces patients ont été adressés pour polymyosite (10), douleurs rhumatismales (4), dystrophie musculaire (1) ou suspicion de maladie mitochondriale (3). Quatre étaient des personnels hospitaliers et 3 avaient des antécédents de connectivite (lupus érythémateux disséminé – LED -, polyarthrite rhumatoïde, thyroïdite d'Hashimoto). Le tableau clinique de ces patients comportait :

- des myalgies dans 12 cas sur 14 ;
- des arthralgies 9/14 ;
- une faiblesse musculaire 6/14 ;
- des signes généraux 6/14 : asthénie, fièvre ;
- des modifications de l'électromyogramme : 4/12 ;

- une élévation des CPK (créatine phosphokinase) 6/14.

Tous ces patients ont eu une biopsie du muscle deltoïde dans un délai allant de 3 à 48 mois après le début des signes cliniques. Cette biopsie a révélé des lésions inhabituelles décrites sous le terme de MFM. La lésion comporte une infiltration centripète, à partir des fascias vers le muscle sous-jacent, par des macrophages cohésifs, non épithélioïdes, à large cytoplasme finement granuleux, PAS+, associée à la présence de quelques lymphocytes T CD8+ et à une souffrance myocytaire minime.

Dix de ces patients ont été traités par une association d'antibiotiques (dans l'hypothèse d'une maladie de Whipple) et de corticoïdes : 8 ont été améliorés et les 2 autres stabilisés.

- Une seconde publication de cette équipe est faite dans la Revue de médecine interne en 1999 [4]. Dans ce papier, les auteurs rapportent qu'en 1996, dans la cadre de la création d'un nouveau groupe de recherche, branche de l'AFM, le Germmad ont été observés deux patients présentant une myopathie dont l'aspect histologique n'avait jamais été observé auparavant. Il a été demandé aux principaux centres de myologie français de revoir leurs lames de biopsie musculaire atypiques des 30 dernières années. Ainsi en décembre 1998, 35 observations ont été colligées, la première observée à Bordeaux en 1993.

L'analyse porte sur 22 cas ayant bénéficié d'une biopsie musculaire du deltoïde avec présence des lésions de MFM décrites plus haut. Ces patients sont des adultes (âgés de 43 ans en moyenne) avec un *sex ratio* H/F de 1,3, dont 5 personnels hospitaliers. Ils avaient été adressés pour polymyosite (11), pseudopolyarthrite rhizomélisque (PPR) (5), cytopathie mitochondriale (4), dystrophie musculaire ou myopathie (2). Cinq présentaient une pathologie dysimmunitaire (sarcoïdose, LED, PR, thyroïdite, syndrome de Gougerot-Sjogren). Par ailleurs, un de ces patients présentait un cancer, un autre une myélodysplasie et un cancer du rein sera découvert lors des investigations pour un patient.

Les symptômes présentés par ces malades sont :

- myalgies : 91 % touchant essentiellement les membres inférieurs ;
- arthralgies : 68 % ;
- asthénie : 55 % ;
- fièvre : 32 % ;
- toux ou dyspnée inexpliquée : 14 % ;
- pour les examens complémentaires : 6/17 ont un électromyogramme (EMG) myopathique, 50 % ont une élévation des CPK, 37 % une accélération de la vitesse de sédimentation (VS) et 30 % une augmentation de la C réactive protéine (CRP).

L'évolution de ces 22 malades a été la suivante :

- 4 non pas été traités : 3 se sont aggravés, 1 est resté stable ;
 - 8 ont reçu des corticoïdes avec dans 4 cas une réponse complète et dans 4 cas une réponse partielle ;
 - 7 ont reçu antibiotiques et corticoïdes avec une amélioration nette ;
 - 3 ont reçu des antibiotiques seuls dont 2 ont été améliorés.
- La même équipe a publié en 2000 deux autres articles [5-6] : le premier fait référence à 65 cas répertoriés, le second à 70 cas mais ces deux publications dont l'analyse porte sur 22 cas qui semblent les mêmes que ceux rapportés dans la publication de 1999 [4].
 - A partir de 2001, apparaissent dans les publications de cette équipe, d'une part les liens de la MFM avec la vaccination et la notion de manifestations relevant d'une atteinte du système nerveux central :

- L'article de Chérin *et al.* [7] publié en 2001 rapporte 3 cas d'adultes présentant une faiblesse musculaire liée à une myosite inflammatoire à inclusions prouvée par biopsie. Une nouvelle biopsie motivée par une aggravation confirme le diagnostic initial mais révèle des signes associés de MFM. Dans un cas, la biopsie initiale avait été faite dans le quadriceps, alors que la biopsie montrant des lésions de MFM a été faite dans le deltoïde, avec des vaccinations (contre le virus de l'hépatite B (VHB), et contre le virus de l'hépatite (VHA)) réalisées entre les deux biopsies. Dans un cas, les deux biopsies ont été réalisées dans le deltoïde et il n'y a pas eu de vaccination (entre les 2 ?) et dans le troisième cas la vaccination (VHB) avait été réalisée avant le début de la maladie, la première biopsie réalisée dans le quadriceps, la seconde dans le deltoïde.
- L'article de Authier *et al.* [8] publié en 2001 signale que parmi les 92 cas de MFM diagnostiqués, 14 présentent des signes d'atteinte du système nerveux central. Seulement 7 de ces cas sont présentés dans l'article : 5 présentent une sclérose en plaques (SEP) certaine et 2 une SEP probable. Ces patients ont tous reçu 3 à 78 mois avant la biopsie (en moyenne 33 mois) un vaccin contenant de l'aluminium (4 VHB, 1 Tétanos+VHB, 2 Tétanos). Les biopsies ont été pratiquées en raison des douleurs qui ne sont pas inhabituelles chez les patients atteints de SEP (douleurs du dos, douleurs musculaires ou articulaires) [9] et en pleine période de polémique concernant les relations vaccin hépatite B/SEP.
- L'article de Gherardi *et al.* [10] publié en 2001 fait état de plus de 130 cas de MFM répertoriés en France (38 cas supplémentaires par rapport à la publication précédente quelques mois plus tôt !). L'étude présentée comporte une étude ultra structurale et chimique musculaire pratiquée sur 40 patients atteints de MFM comparés à 40 patients atteints de dermatomyosite et 40 atteints d'une dystrophie musculaire congénitale. Cette étude montre que les inclusions détectées dans les muscles des patients atteints de MFM correspondent à de l'aluminium. Dans cette même étude, l'incidence des myalgies chez 46 patients atteints de MFM est comparée à celle de 1252 patients biopsiés sans diagnostic de MFM : l'incidence est de 85 % chez les MFM contre 45 % pour les témoins. Ce résultat peut s'expliquer facilement puisque les myalgies représentaient l'indication essentielle de pratique de la biopsie pour les patients avec le diagnostic de MFM.
- Le statut vaccinal est étudié chez 50 patients MMF : tous ont reçu des vaccins contenant de l'aluminium dans les 8 ans : 84 % ont reçu la vaccination VHB, 19 % VHA et 58 % la vaccination contre le tétanos (ce qui n'est pas surprenant pour un vaccin recommandé tous les 10 ans). Il n'y a pas de groupe contrôle. La proportion de personnes vaccinées contre l'hépatite B peut paraître élevée. Certaines séries de MFM ont montré un pourcentage élevé des personnes travaillant à l'hôpital : ces personnes ont plus facilement accès à des structures spécialisées où les biopsies musculaires sont pratiquées. En outre, la période de recrutement de ces patients est celle où les polémiques sur les effets secondaires de la vaccination contre l'hépatite B étaient à leur maximum. Il est possible de supposer que les personnes vaccinées ont davantage consulté pour des pathologies non spécifiques qu'elles pensaient liées au vaccin et que la notion de vaccination a pu influencer la décision de biopsier un muscle dans lequel la probabilité de trouver de l'aluminium était élevée. Enfin, cet article rapporte la reproduction expérimentale de lésions de MFM par l'injection intramusculaire (IM) de vaccin GenHevac B® chez le rat.

- Dans une communication brève, Authier *et al.* en 2003 [11] sur une série de 30 patients avec MFM (« non sélectionnés ») compare leur symptomatologie aux critères des *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) et aux critères d'Oxford de définition du syndrome de fatigue chronique. La fatigue est présente chez 93 % des patients, invalidante chez 87 %. Les auteurs estiment que 53 % des malades remplissent les critères de définition du syndrome de fatigue chronique (47 % du CDC, 40 % d'Oxford et 37 % des deux) ; 19/20 avaient reçu un vaccin contenant de l'aluminium avant le début des symptômes.
- Enfin en 2012, une revue générale sur la MFM est publiée par Gherardi et Authier dans la revue *Lupus* [1]. Les auteurs estiment que plus de 1 000 cas de FMF ont été documentés en France. Ils estiment que la fréquence de cette maladie en France est liée à trois raisons :
 - le passage dans les années 90 de la voie sous-cutanée (SC) à la voie intramusculaire (IM) pour l'administration des vaccins (sans se demander si les autres pays ont des pratiques différentes, ce qui n'est pas le cas) ;
 - l'ampleur de la campagne de vaccination contre l'hépatite B chez les adultes à cette époque (réelle) ;
 - le choix par leur équipe de réaliser les biopsies musculaires au niveau du deltoïde (alors que la plupart des autres pays recommandent d'éviter de biopsier les muscles dans lesquels sont injectés les vaccins...).

Dans cet article, les auteurs affirment, avec leurs propres publications en référence, que la lésion de MFM est universellement reconnue. Ils considèrent par ailleurs, sans argumentation scientifique, que la persistance de cette lésion au-delà de 18 mois est pathologique (Authier indique deux ans dans un rapport d'expertise pour la Cour administrative d'Appel). Ils estiment que ce délai expose les enfants à un risque de coïncidence (alors que cette lésion a été rarement décrite chez eux, cf. *infra*) mais que chez l'adulte, le pourcentage de faux positif ne représente que 5 à 10 % des biopsies de patients totalement asymptomatiques (dont on se demande pourquoi ils ont été biopsiés) ou explorés pour une pathologie génétique. Là encore, cette estimation ne s'appuie sur aucune référence.

Les auteurs rapportent la revue de 457 dossiers d'adultes suivis dans leur centre entre 1994 et 2011 (270 investigués et biopsiés dans leur centre, 187 référés d'un autre centre après diagnostic). A noter que 70 % sont des femmes alors que le sex *ratio* H/F était de 1,3 dans les précédentes publications. L'âge médian est de 45 ans. Ces patients ont reçu entre 1 et 17 injections de vaccins contenant de l'aluminium (vaccin hépatite B dans 85 %) dans les 10 ans précédant le diagnostic. Le délai moyen séparant la vaccination et le premier symptôme de la maladie est de sept mois et le délai séparant la vaccination et l'apparition des myalgies est de 11 mois (alors que les auteurs ne considèrent comme pathologique la persistance d'aluminium dans le muscle qu'au-delà de 18 mois....). Le délai moyen séparant la vaccination de la biopsie est de 65 mois.

Les manifestations cliniques présentées par ces malades sont les suivantes : des myalgies diffuses depuis plus de 6 mois dans 89 % des cas. Ces myalgies débutent à la partie inférieure du corps, puis présentent un caractère ascendant affectant les muscles paravertébraux puis se généralisent. Les arthralgies ne sont plus mentionnées. Le second symptôme majeur est la fatigue, évoluant depuis au moins 6 mois dans 77 % des cas. Sont par ailleurs rapportés des troubles de l'attention et de la mémoire dans 51 % des cas. Ce point fera l'objet d'un développement particulier tout en notant que les manifestations neurologiques rapportées chez ces malades sont très polymorphes (cf. *supra*) et que la comparaison avec les lésions provoquées par une intoxication aiguë ou chronique à l'aluminium sont très discutables. Une dyspnée est notée dans 50 % des cas. Sont par ailleurs cités les troubles du sommeil et les céphalées. La baisse de la force musculaire est rare. Environ 50 % des

malades ont une réaction myopathique à l'EMG ou une élévation des CPK. Les auteurs mentionnent que 15 à 20 % des malades ont développé une maladie auto-immune alors qu'il serait plus exact de dire que ces malades présentant une maladie auto-immune avérée (cf. *supra*) ont eu une biopsie musculaire parce qu'ils se plaignaient de douleurs musculaires. Il n'est pas exclu que les antécédents de vaccination soient intervenus dans la décision de pratiquer une biopsie du deltoïde. A noter que la fièvre ou l'existence d'un syndrome biologique inflammatoire ne sont plus mentionnés dans cette revue. De même, il n'est plus fait état de l'effet bénéfique de la corticothérapie ± antibiothérapie. Il est possible de comparer les manifestations cliniques rapportées dans cette revue à la synthèse faite par Israeli *et al.* [12] à partir des publications antérieures des mêmes auteurs (Tableau 1).

Tableau 1 – Synthèse des manifestations cliniques rapportées [12]

Symptoms	Percentage of patients
Myalgias	88–91
Arthralgias	57–68
Marked asthenia	55
Muscle weakness	45
Fever	20–32
Elevated CK levels	29–50
Increased ESR	37
Myopathic EMG	35
Demyelinating CNS disorder	9
Multiple sclerosis diagnosis	33
Chronic fatigue	50–93
Hashimoto's thyroiditis	2.7
Other autoimmune-related diseases (RA, Sjogren)	6.7

Par ailleurs, l'article publié dans la revue *Lupus* [1] intègre la MFM au syndrome de fatigue chronique et dans un cadre plus vaste incluant le syndrome de la guerre du Golfe attribué à l'aluminium des vaccins contre l'anthrax (ce qui n'est pas démontré) et à un syndrome plus vaste « la maladie des adjuvants » (ASIA) décrit plus récemment par Shoenfeld *et al.* [13].

Enfin, cette revue aborde les aspects physiopathologiques de la MFM sur des arguments qui peuvent amener certaines remarques :

- Les facteurs génétiques prédisposants s'appuyant sur :
 - 1 cas familial mère-fils [14] d'interprétation discutable étant donné la pathologie présentée par la mère avec des diagnostics successifs de myosite inflammatoire (biopsie), d'algodystrophie puis de MFM et celle de l'enfant de 11 ans se plaignant de fatigue et de myalgies ;
 - l'observation de cas chez deux vraies jumelles avec des signes apparus quelques mois après une vaccination contre l'hépatite B réalisée à l'âge de 64 ans et qui présentent un HLA (*Human Leucocyte Antigen*) identique (ce qui n'est pas très surprenant) notamment DRB1*01 [15] ;
 - le groupe HLA-DRB1*01 est un facteur favorisant régulièrement cité dans les articles. Outre l'observation précédente, ceci repose sur une étude de 10 patients [16] de la région marseillaise dont au moins 6 présentent une symptomatologie très différente des cas rapportés de MFM : ce groupage

HLA est porté par 66 % des patients MFM contre 17 % des contrôles. Il faut souligner qu'aucune étude confirmative n'a été publiée ;

- des études expérimentales chez le rat [17] : les auteurs provoquent des lésions de MMF par l'injection de vaccin hépatite B chez des rats Sprague-Dawley (qui ont une immunité Th1/Th2 équilibrée) et des rats Lewis (qui ont une immunité orientée Th1). Ils pensent montrer en comparant la surface des lésions de MFM et son évolution dans le temps que la clearance de l'aluminium du muscle est différente dans les deux groupes : en réalité, l'examen des courbes montre que les rats SD ont des lésions d'emblée de surface beaucoup plus importante et que la réduction de la surface de ces lésions (on peut s'interroger sur la fiabilité de cette détermination) semble se faire avec le temps sans différence évidente de vitesse dans les deux groupes.
- Une surcharge en aluminium : ceci s'appuie sur le cas [18] d'un patient diagnostiqué MFM trois ans après le début d'une symptomatologie étiquetée syndrome de fatigue chronique. Les troubles ont débuté quelques mois après avoir reçu cinq injections de vaccin contenant de l'aluminium. Une surcharge en aluminium est montrée à partir de l'excrétion urinaire « significativement plus élevée que la normale pour l'âge » dont les valeurs ne sont pas fournies.
- L'adjonction de silicone à l'eau de boisson augmente l'excrétion d'aluminium pendant quelques mois avant de revenir à des valeurs basses. Il n'y a aucune amélioration clinique. Ce cas unique va à l'encontre des données antérieures montrant que les patients atteints de MFM n'ont pas de surcharge en aluminium.
- La migration de l'aluminium dans le cerveau. Il est fait référence à des nano matériaux, ce qui apparaît erroné : les agrégats d'hydroxyde d'alumine qui se déposent dans les muscles sont des cristaux dont la dissociation n'est possible qu'à pH 2, qui n'est pas un pH physiologique. Il n'est donc pas possible qu'à l'état physiologique les adjuvants aluminiques libèrent des nanoparticules d'aluminium [19]. Par ailleurs, après injection d'aluminium, le dépôt viscéral est faible, se fait essentiellement dans les os et le cerveau est l'organe qui en fixe le moins [20]. Enfin le mécanisme du « cheval de Troie » (migration dans le cerveau par franchissement de la barrière hémato-encéphalique de monocytes chargés de nanoparticules d'aluminium) est proposé à partir de travaux récents. Les références citées [21-22] sont des présentations dans des congrès en 2010 et 2011. Une étude expérimentale chez la souris vient d'être publiée par cette même équipe en appui de cette théorie [23].

L'article « Slow CCL2-dependent translocation of biopersistent particles from muscle to brain » récemment publié par Z Khan *et al.* [23], a évalué le rôle de la chimiokine CCL2 et des macrophages dans la biodistribution de nanoparticules après IIM, en se focalisant sur la question des sels d'aluminium sous forme particulaire présents notamment dans les vaccins et du mécanisme de leur biodistribution cérébrale. Selon les auteurs les manifestations cliniques associées aux sels d'aluminium sont typiques de l'ASIA « syndrome auto-immun/inflammatoire », également observé chez les patients exposés au gel de silicone (7). Toujours selon les auteurs la persistance de macrophages chargés d'alum plus de 12 ans après injection serait associée à la MMF.

Une étude préliminaire rapportée uniquement en données supplémentaires, avait montré chez 44 patients atteints de MFM, d'âge moyen 44 ans et composés de 2/3 de femmes, une augmentation élective et significative des taux sériques de la chimiokine pro-inflammatoire CCL2 ou MCP-1 par rapport à 10 sujets sains sans manifestation inflammatoire. Cette augmentation, très

fréquemment retrouvée dans les maladies infectieuses et inflammatoires et l'athérosclérose, a conduit les auteurs à tester l'hypothèse d'un facteur génétique de prédisposition lié au polymorphisme du gène de CCL2 dans la physiopathologie de la MMF. Pour cela ils ont conduit une étude comparant à 516 contrôles 252 patients atteints d'un « syndrome MMF » défini par : 1) un début des signes cliniques postérieurs à une vaccination contenant de l'alum, 2) des arthro-myalgies diffuses et/ou des troubles cognitifs ou du sommeil de plus de 6 mois, 3) des lésions histologiques du deltoïde typiques de MMF sur une biopsie réalisée plus de 18 mois après vaccination, 4) sans autre facteur étiopathogénique. Le groupe MMF âgé en moyenne de 45 ans, et composé aux 2/3 de femmes, avait reçu en moyenne 5,2 (1-17) vaccinations dans les 10 années précédentes, le délai moyen depuis la dernière vaccination étant de 5,5 ans. L'analyse de deux polymorphismes de CCL2 ne montra aucune différence significative entre le groupe MMF et les contrôles. L'un des allèles (---927G) était observé chez 20 % des patients contre 16 % des contrôles (différence non significative) et l'haplotype porteur de cet allèle était 1,28 plus fréquent dans le groupe MMF que chez les contrôles ($p=0,088$). L'analyse de ces polymorphismes génétiques dans le groupe initial de 44 patients atteints de MFM (dont il n'est pas précisé s'ils sont inclus ou non dans les 252) ne retrouve pas d'associations entre ces allèles de CCL2 et les taux sériques de CCL2. Ces résultats non significatifs amènent les auteurs à tester chez la souris le rôle de CCL2 dans la bio-distribution cérébrale des sels d'aluminium après injection IM.

Pour tester cette hypothèse chez la souris, ils évaluent si diverses préparations contenant divers sels d'aluminium injectés dans le muscle sont absorbées par des cellules dendritiques migrant ensuite dans des organes distants selon un mécanisme lié à la phagocytose et à l'action de la chimiokine CCL2 ou MCP 1. Les auteurs utilisent pour cela un modèle de souris adultes C57Bl/6, de souris mdx ayant une anomalie de perméabilité de la barrière hémato-encéphalique, des souris déficientes en CCL2CX3, ou des souris CR1-GFP+. Dans une 1^{ère} série d'expériences, l'injection IM d'une quantité de vaccin anti-HBV (d'origine non communiquée) contenant 0,5mg d'Alu censée reproduire 5 doses vaccinales humaines induit une réaction inflammatoire avec infiltrat de macrophages chargés d'alu à J4 suivie d'une décroissance locale de 50 % du taux d'Alu de J4 à J21 et de l'accumulation d'Alu dans le muscle, la rate et le cerveau jusqu'à 6 et 12 mois. Une 2^{ème} série d'expériences utilise des IIM de billes de latex fluorescentes de 500nm qui migrent en 1H vers le ganglion de drainage, sont capturées et concentrées par des macrophages inflammatoires à J4 puis leur taux décroît localement, suivi d'un passage sanguin et d'une accumulation dans la rate et le cerveau de J21 à J90-180. Ces macrophages chargés de billes sont détectés majoritairement dans la substance grise de façon diffuse de M3 à M12. Cette accumulation est abrogée par l'exérèse des ganglions de drainage ou l'injection IV alors que l'injection IM de ces particules dans des souris mdx augmente l'accumulation cérébrale, démontrant que le passage intra-cérébral nécessite une injection IM et un passage dans le ganglion de drainage et est facilitée par la porosité de la barrière hémato-encéphalique (BHE). Une 3^{ème} série d'expériences utilise des particules fluorescentes recouvertes d'Alu censées « mimer » les adjuvants à base de sels d'Alu. Les mêmes IIM induisent les mêmes effets que précédemment, amplifiés après injections SC, alors que l'IIM à des souris déficientes en CCL2 diminue de 80 % la distribution tissulaire, que l'injection IM de CCL2 recombinante à des souris normales accroît la distribution tissulaire et que l'injection intra-cérébrale de CCL2 accroît l'accumulation cérébrale, suggérant un mécanisme de pénétration cérébrale dépendant de CCL2. Les auteurs concluent de cette étude murine

portant sur de très petits effectifs (généralement 3 à 6 souris par points) : 1) au rôle transporteur des macrophages, en fait largement déjà démontré et à la base même du principe de l'induction de toute réponse immunitaire, vaccinale ou non, et 2) à l'effet chimiotactique de CCL2 dans la biodistribution cérébrale de ces macrophages, également connu.

Les auteurs reconnaissent que cette redistribution cérébrale est néanmoins faible, de l'ordre de 1 cellule sur 107, ceci étant compatible avec la tolérance généralement bonne de l'alum, mais suggèrent que l'immaturité de la barrière hémato-encéphalique, une « sur-immunisation », des facteurs génétiques ou l'âge, la facilitent. Ils proposent aux autorités réglementaires de ré-explore l'effet de doses croissantes des adjuvants à base de sels d'alum. Il faut cependant souligner le fait qu'en aucun cas ces études obtenues avec des microparticules sans aucune relation avec les réels adjuvants à base de sels d'aluminium n'ont réellement démontré ces suppositions.

- Les troubles cognitifs associés à la MFM méritent une attention particulière. Dès les premières publications, l'équipe qui a individualisé la MFM s'est efforcée de démontrer que cette maladie musculaire était associée à des troubles neurologiques liés à une atteinte centrale (cf. *supra*). Ceci a amené à inclure et mettre en exergue des patients présentant des maladies neurologiques étiquetables, dont la sclérose en plaque. Les données sur lesquelles s'appuient les auteurs pour décrire cette atteinte neurologique centrale s'appuient sur deux études [24-25] financées (ainsi que la dernière étude) par l'Association française de lutte contre les myopathies (AFM) mais surtout par Entraide aux malades de la myofasciite à macrophages (E3M), association de patients dont le but est clairement de faire reconnaître la MFM comme la conséquence d'un effet adverse de la vaccination et d'obtenir de l'Etat une indemnisation des « victimes » :

- La première étude démontre [24], à l'aide d'une batterie de tests neuropsychologiques pratiqués sur une cohorte de 25 patients atteints de MFM, que cette maladie est associée à des troubles cognitifs. Ceux-ci comportent une altération de la mémoire visuelle et verbale, des troubles des fonctions exécutives : attention, mémoire, planification et une altération de l'audition de l'oreille gauche (?). Cette étude s'appuie sur le concept d'une migration de nanoparticules et de leur franchissement de la barrière hémato-encéphalique (alors que l'aluminium vaccinal déposé dans le muscle ne semble pas capable de former de nanoparticules : cf. *supra*). La batterie de tests appliqués à ces malades (sur lesquels on ne peut se prononcer) a été choisie a posteriori, à partir d'une série rétrospective de 22 malades MFM. Puis 11 patients MFM dits non sélectionnés ont été comparés à 11 patients présentant une maladie inflammatoire génératrice de douleurs chroniques. Aux 11 patients MFM initiaux ont été secondairement ajoutés 14 patients, dits non sélectionnés, l'ensemble formant la cohorte « prospective » de 25 patients. La reproductibilité des tests n'est pas connue et il n'est pas précisé s'ils ont été pratiqués par la même personne. Il n'est pas indiqué sur quelles bases ont été établis les seuils de normalité. Par ailleurs, on peut regretter que le groupe témoin se limite à des patients atteints de maladies inflammatoires. Si ce design est censé répondre à la question de savoir si les troubles cognitifs observés sont ou non la conséquence des douleurs chroniques et de la dépression, il ne répond pas à la question de la spécificité des troubles cognitifs. Ces patients étaient indemnes de troubles neurologiques centraux au moment de la biopsie. L'IRM de ces patients était normale pour 16 d'entre eux (60 %), montrait des anomalies non spécifiques sous forme d'hyperdensités en T2 de la substance blanche chez 7 d'entre eux, des séquelles d'un AVC ischémique cérébelleux chez 1, un anévrysme carotidien chez 1. Un des patients est décédé de façon inattendue durant le sommeil sans autopsie réalisée. Les auteurs estiment qu'il n'existe

pas de corrélation entre l'IRM et les anomalies observées. A noter enfin que dans la discussion, les auteurs signalent que 60 à 80 % des patients atteints de syndrome de fatigue chronique présentent des troubles cognitifs.

- La seconde étude [25] concerne le suivi de 30 patients MFM qui ont, sur une période non précisée, bénéficié de plusieurs évaluations neuropsychologiques. Il s'agit d'une étude rétrospective incluant des patients « suivis dans le centre de Créteil » sans que l'on sache les critères d'inclusion dans cette étude. Il n'y a pas de groupe contrôle. Les remarques faites pour l'article précédent concernant la reproductibilité des tests, les personnes qui les ont pratiqués, valent également pour cet article. Les auteurs signalent que, lors d'une première évaluation, 60 % des patients apparaissent déprimés alors qu'après un nouveau test ils ne sont plus que 37 %, ce qui interroge sur la reproductibilité. Les patients inclus semblent très différents de la cohorte initiale puisque les IRM ne sont normales que dans 48 % des cas, une atrophie corticale est observée chez 5/25 patients, une atrophie callosale est notée chez trois patients. Le SPECT scan est anormal chez 89 % des malades inclus. Il n'y a pas, selon les auteurs, de corrélation entre les anomalies IRM et les performances cognitives qui sont altérées chez tous les patients pour au moins un test. Au fil des tests successifs, les fonctions cognitives s'améliorent chez 20 % et restent stables ou s'aggravent légèrement chez les autres.

2.3 - La myofasciite à macrophages et les enfants

Les nourrissons reçoivent de nombreux vaccins notamment durant la première année de la vie. Les vaccins contre diphtérie, tétanos, poliomyélite, coqueluche, *Haemophilus*, hépatite B requièrent selon les pays trois ou quatre doses de vaccin en primo vaccination. Le vaccin contre les infections invasives à pneumocoque nécessite trois ou quatre doses. En Europe, la plupart des pays vaccinent contre le méningocoque C, avec un schéma vaccinal comportant, selon l'âge auquel la vaccination est pratiquée soit trois injections (si vaccination avant l'âge de 1 an) soit une seule dose (vaccination à partir de l'âge de 1 an). Tous ces vaccins comportent un adjuvant aluminique. Les nourrissons sont donc massivement exposés aux adjuvants aluminiques, surtout si les doses reçues sont rapportées à la masse corporelle. Dans l'hypothèse d'une responsabilité de l'aluminium vaccinal dans la genèse de la MFM telle que décrite par Gherardi et Authier, l'examen des cas de MFM rapportés chez l'enfant revêt une importance capitale. Les publications de l'équipe de Créteil ne mentionnent pas de cas pédiatriques, ce qui peut se concevoir dans la mesure où les enfants ne sont pas pris en charge dans ce type de structure. L'enquête effectuée par l'InVS en 2001 [26] fait état de deux cas chez l'enfant sans apporter de détail. Par ailleurs, un cas familial impliquant une mère et son enfant âgé de 11 ans a été publié en France [14].

En dehors de France, 33 cas ont été retrouvés dans la littérature publiés sous forme de *case reports* ou de courtes séries. Ils viennent d'Arabie saoudite (8 cas), du Brésil (3 cas), des Etats-Unis (6 cas), d'Espagne (7 cas), d'Italie (1 cas), d'Israël (6 cas) et d'Allemagne (2 cas).

- Müller HD *et al.* [27] rapportent 2 cas d'enfants présentant une dystrophie musculaire congénitale (merosinopathie et dystrophinopathie) chez qui la biopsie musculaire a mis en évidence des lésions de MFM. Les auteurs estiment que, comme dans les autres cas pédiatriques rapportés dans la littérature, la MFM est une coïncidence et que ce type de pathologie disparaîtra lorsque des techniques génétiques non invasives auront remplacé la biopsie musculaire.
- Lach B *et al.* [28] rapportent 8 cas d'enfants âgés de 7 mois à 6 ans et chez qui une lésion typique de MFM a été observée sur une biopsie du quadriceps réalisée dans un délai de 2 mois à 1 an suivant la dernière administration d'un vaccin contenant de l'aluminium. Dans 5 cas, la biopsie musculaire a permis de faire un diagnostic autre que la MFM (amyotrophie spinale infantile : 2 cas ; maladie de Duchenne : 1 cas ;

déficit en phosphoglycerate kinase : 1 cas ; déficit en cytochrome C oxydase : 1 cas). Les auteurs estiment qu'il n'y a pas de corrélation entre la lésion histologique et les signes cliniques et que la MFM est une empreinte localisée d'une vaccination comportant un adjuvant aluminique plutôt qu'une maladie musculaire inflammatoire.

- Kalil RK *et al.* [29] rapportent 3 cas d'enfants âgés de 13 mois à 3 ans½, normalement vaccinés et chez qui la biopsie musculaire a révélé des lésions de MFM. Ces enfants présentaient une hypotonie musculaire dans 2 cas et une myotonie dans 1 cas. Les auteurs estiment que l'histoire clinique n'est pas en faveur d'une relation entre les lésions histologiques et les symptômes systémiques et qu'il y a probablement une coïncidence de deux phénomènes.
- Gruis KL *et al.* [30] rapportent 4 cas d'enfants investigués pour retard moteur, hypotonie et retard de croissance sans diagnostic établi et chez qui la biopsie musculaire du quadriceps a révélé des lésions de MFM. Aucune atteinte centrale n'est démontrée. Ces enfants ont évolué favorablement.
- Rivas E *et al.* [31] rapportent 7 cas d'enfants âgés de 5 à 33 mois (m= 17,3 mois), vaccinés contre l'hépatite B aux âges habituels (0-2-6 mois) ainsi que contre le tétanos (2-4-6-18 mois) et chez qui des lésions de MFM ont été mises en évidence sur une biopsie du quadriceps réalisée entre moins de 2 mois après la dernière vaccination (6 fois) et 15 mois après (1 fois). Six des 7 enfants présentaient des anomalies cérébrales à l'IRM, 1 avait un EMG anormal et 2 une élévation des CPK. Le diagnostic final a été : syndrome de West (2 cas), maladie de Leigh (1 cas) et myopathie mitochondriale (2 cas). Deux cas sont restés sans diagnostic (hypotonie, retard moteur pour l'un, hypotonie et ptosis bilatéral pour l'autre). Les auteurs estiment que dans la majorité des cas, la MFM représente une réaction transitoire à l'administration d'un vaccin contenant de l'aluminium et que les lésions histologiques constatées chez leurs patients ne sont pas clairement corrélées aux troubles cliniques.
- Di Muzio A *et al.* [32] rapportent le premier (et seul semble-t-il) cas italien. Il s'agit d'un nourrisson exploré à l'âge de 7 mois pour irritabilité, hypotonie et retard moteur. Il présentait une forte élévation des CPK. Il a reçu à 3, 4 et 10 mois les vaccins DTCaHib et Engerix B® dans le quadriceps et la biopsie a été faite à 12 mois. L'enfant a par la suite reçu un traitement corticoïde dégressif sur une année et s'est progressivement amélioré. A 29 mois, l'examen de l'enfant était entièrement normal et ses CPK se sont normalisées.
- Nevo *et al.* [33] rapportent en Israël 6 observations d'enfants investigués pour des troubles du développement psychomoteur associés à une hypotonie. Ces enfants sont d'origine arabe et 5/6 issus de mariages consanguins avec des antécédents d'enfants décédés en bas âge dans la famille. Les troubles décrits s'associent à une microcéphalie (3 cas), une épilepsie (2 cas dont une épilepsie myoclonique). Dans 1 cas (né à 1 200 g), la mère avait noté un arrêt des mouvements fœtaux quelques semaines avant la naissance. Dans un cas, la biopsie a montré une anomalie des enzymes de la chaîne respiratoire. Un cas décédé avait à l'autopsie des graves malformations encéphaliques. Les biopsies ont été réalisées dans le quadriceps dans des délais allant de 2 à 21 mois par rapport à la dernière injection de vaccin. Les auteurs concluent que des facteurs génétiques sont probablement responsables des différences d'expressivité de la maladie mais qu'au moins trois de leurs patients présentent des manifestations qui n'ont rien à voir avec la MFM.
- Lacson AG *et al.* [34] rapportent 2 cas de MFM. Le premier cas concerne un enfant présentant depuis la naissance des troubles digestifs en relation avec un syndrome de pseudo obstruction intestinale chronique. Cette maladie (par ailleurs bien connue et liée à un trouble de la motricité des muscles lisses) s'associe à des signes de dysautonomie (mydriase, réflexes pupillaires anormaux) qui ont conduit à l'âge de

5 ans à pratiquer une biopsie du muscle quadriceps, dans lequel il avait reçu des vaccins à l'âge de 2-4 et 6 mois. Cet enfant s'est amélioré avec un traitement antibiotique, anti reflux et une alimentation parentérale. Le second patient présentait un retard du développement associé à une hypotonie (il était né par césarienne pour souffrance fœtale). La biopsie a été faite à l'âge de 1 an dans les quadriceps. Il avait été vacciné de la même manière. Cet enfant s'est progressivement amélioré. Les auteurs encouragent les études épidémiologiques sur cette entité aux Etats-Unis tout en estimant qu'il ne semble pas que la lésion constatée chez leurs patients ait contribué aux manifestations cliniques de leurs patients.

2.4 - La myofasciite à macrophages de l'adulte hors de France

En dehors des articles de l'équipe française, aucune série de MFM de l'adulte n'est retrouvée dans la littérature internationale. Quelques articles de synthèse issus d'un nombre limité d'auteurs accréditent les thèses de Gherardi et Authier [12,35-39] ou élargissent le cadre définissant une maladie des adjuvants ASIA [13,37-39]. D'autres, tout en reconnaissant l'entité MFM, ne se prononcent pas formellement sur sa signification [40].

Au total, 10 observations de MFM de l'adulte sont publiées provenant des Etats-Unis (2 cas), de Corée (1 cas), d'Allemagne (2 cas), d'Australie (1 cas), d'Irlande (1 cas), du Portugal (1 cas) et du Royaume-Uni (2 cas).

- Les observations américaines concernent : un patient qui présentait en fait une histiocytose et chez qui la biopsie musculaire a révélé des lésions de MFM [41] ; un patient présentant une pathologie auto-immune multiple (anémie hémolytique, diabète, maladie cœliaque, vitiligo) ayant débuté à l'âge de 33 ans, dans un contexte familial [42]. Investigué à 35 ans pour fatigue, myalgies, arthralgies et diminution de la force musculaire, des lésions de MFM sont découvertes par une biopsie de deltoïde dans lequel le patient avait reçu, 5 ans auparavant, un vaccin contre l'anthrax. Le traitement par corticoïdes et perfusion d'immunoglobulines a été inefficace. Les auteurs pensent que l'existence de multiples maladies auto-immunes a pu contribuer à la genèse de cette fatigue extrême et à l'échec du traitement. □
- L'observation coréenne [43] concerne un homme de 59 ans investigué pour une induration musculaire localisée avec des lésions unilatérales de myofasciite. La biopsie musculaire a révélé des lésions de MFM. Aucun lien avec une vaccination n'a été mis en évidence et les auteurs estiment que d'autres explications que la vaccination devraient être recherchées.
- Les observations allemandes concernent :
 - un homme de 67 ans présentant depuis six semaines des douleurs musculaires progressives et une faiblesse musculaire généralisée [44]. La biopsie musculaire a révélé des lésions de MFM mais l'étude ultra structurale n'a pas mis en évidence la présence d'aluminium. Les antécédents de vaccination ne sont pas mentionnés mais le dosage d'anticorps est compatible avec une vaccination antitétanique. Le malade a complètement guéri avec un traitement comportant des corticoïdes et de l'azathioprine pendant deux ans (*Nota bene* : article en allemand. Seul le résumé a été consulté).
 - une femme âgée de 62 ans [45] présentant une faiblesse musculaire progressive depuis 10 ans [44]. La biopsie musculaire a révélé des lésions de MFM que les auteurs estiment sans relation avec la symptomatologie.
- L'observation australienne [46] concerne un homme de 32 ans chez qui a été découvert fortuitement lors des investigations pour un reflux gastro-œsophagien (RGO) une élévation des CPK. A noter que son père était décédé de maladie neuromusculaire et qu'un frère présentait des fasciculations musculaires. La biopsie musculaire a été pratiquée alors que le patient ne présentait aucun signe de

pathologie musculaire. Le patient avait été vacciné contre l'hépatite A trois ans auparavant, contre la polio et avait reçu un rappel hépatite A deux ans avant la biopsie qui a révélé des signes de MFM. Les auteurs estiment que cette constatation est une coïncidence chez un patient présentant une élévation des CPK de cause inconnue.

- L'observation irlandaise [47] concerne un patient de 50 ans présentant des douleurs thoraciques gauches et de la part supérieure du corps avec une élévation des CPK et chez qui la biopsie du deltoïde gauche a révélé des lésions de MFM. Ses antécédents de vaccination remontaient à plus de 10 ans avant les premiers signes cliniques. La corticothérapie a amélioré les signes cliniques et fait baisser les CPK. Cependant, les signes sont réapparus à l'arrêt du traitement.
- L'observation portugaise [48] concerne une femme de 47 ans investiguée pour des arthralgies diffuses de nature mécanique, des douleurs du bas du dos, une asthénie et une fatigue depuis quatre ans. Une biopsie musculaire a révélé des lésions de MFM. Les auteurs disent qu'aucun lien n'a pu être établi avec une vaccination, bien que cette patiente ait été vaccinée contre le tétanos et la coqueluche trois ans auparavant. Un traitement par corticoïde a permis une légère amélioration.
- Les observations du Royaume-Uni concernent :
 - une femme âgée de 54 ans présentant un tableau comportant une fatigue généralisée avec faiblesse musculaire [49] depuis six mois, précédé de tuméfactions ganglionnaires et d'arthralgies. Une biopsie musculaire a révélé des lésions de MFM avec des inclusions correspondant à des particules d'aluminium. Cette patiente avait été vaccinée 11 ans auparavant contre l'hépatite B.
 - les auteurs de l'article précédent font référence à un cas présenté en poster au *Centenary Meeting of the British Neuropathological Society* (Londres, janvier 2001) [50]. Il s'agit d'un homme âgé de 32 ans investigué pour des douleurs progressives avec raideur musculaire au niveau des cuisses et des épaules déclenchées par l'activité musculaire. La biopsie du deltoïde a révélé des lésions de MFM. Aucune référence n'est faite à une vaccination antécédente.

2. 5 - Synthèse et discussion

La myofasciite à macrophages est une entité histologique non discutable pour laquelle l'association avec l'aluminium utilisé comme adjuvant dans les vaccins est reconnue. Ce fait était d'ailleurs connu depuis 1982 [3].

La question est celle de l'interprétation de cette lésion.

- Il est actuellement le plus souvent admis que cette lésion ne représente qu'un « tatouage vaccinal » [51] lié à la persistance de l'aluminium dans le muscle où a été injecté le vaccin [52]. Ceci a amené les spécialistes de neuropathologie à déconseiller l'utilisation du deltoïde pour les biopsies musculaires, dans la mesure où, ce muscle étant utilisé pour l'injection des vaccins chez l'adulte, la probabilité est forte de rencontrer des stigmates des injections antérieures.

Il faut souligner que des inconnues persistent à ce sujet :

- quelle est la durée normale de persistance de ces lésions et après quel délai l'aluminium du muscle se résorbe-t-il ?
- la persistance de ces lésions au-delà d'un certain délai présente-t-elle un caractère pathologique ? Une étude expérimentale chez 24 singes a permis de reproduire les lésions histologiques de MFM [52] (sans manifestations cliniques), encore présentes 12 mois après l'injection ;

- existe-t-il, comme cela avait été suggéré par l'OMS [53], des facteurs notamment génétiques faisant que certaines personnes puissent éliminer l'aluminium de leurs muscles plus lentement que d'autres ?

Toutes ces questions restent pour l'instant sans réponses.

- La thèse d'un lien de cause à effet entre la lésion histologique de MFM et la survenue d'une pathologie systémique est soutenue par l'équipe française sur la foi d'études à la fois cliniques et expérimentales menées sur une quinzaine d'années. Deux types d'explications ont été avancés pour attribuer à l'aluminium des vaccins la responsabilité de manifestations systémiques :
 - dans un premier temps, il a été proposé par ce groupe que la persistance de l'adjuvant aluminique était responsable d'une stimulation immunitaire qui dépasse son but et déclenche un processus d'auto-immunité. Le nombre de patients atteints de pathologie auto-immune notamment de SEP, dans les publications initiales, suggère un biais de recrutement de ce type de patients dès lors qu'ils se plaignaient de douleurs musculaires, ce qui est relativement banal. Les défenseurs du concept de l'ASIA défendent toujours cette théorie [12, 13, 36, 37].
 - dans un second temps, le groupe a fait évoluer le concept et s'est axé sur la migration de l'aluminium dans le cerveau avec accumulation et toxicité neurologique centrale.
- Comme cela a été souligné dans l'analyse de la production scientifique de l'équipe de Créteil, de nombreuses remarques peuvent être formulées sur ces travaux :
 - la cohorte de patients s'est progressivement étoffée mais les critères d'inclusion des patients extraits de la cohorte dans les études successives ne sont pas précisés ;
 - la symptomatologie clinique des manifestations systémiques de la MFM a varié avec le temps (cf. supra). Les myalgies représentent le signe essentiel de la maladie (le contraire étonnerait dans la mesure où ce symptôme a, à l'évidence, représenté le critère le plus fréquent d'indication de la biopsie musculaire). Le second symptôme est la fatigue, ce qui permet de rapprocher la MFM du syndrome de fatigue chronique, syndrome de définition imprécise et sur lequel nombre de spécialistes s'interrogent. Les arthralgies initialement dominantes disparaissent quasiment des dernières publications. A l'inverse, la dyspnée prend une grande importance. On s'étonne de voir que le sex-ratio H/F était de 1,3 dans les premières publications alors que les femmes représentent 70 % des cas dans la publication faite dans la revue *Lupus* [1]. Les patients de la cohorte de Créteil ont été recrutés pour la plupart en pleine période de polémique sur l'association sclérose en plaque-vaccination contre l'hépatite B. On peut se demander dans quelle mesure les antécédents vaccinaux n'ont pas influencé la décision de biopsier le deltoïde. Ceci expliquerait notamment le fait que 85 % des patients aient des antécédents de vaccination contre l'hépatite B alors que la population exposée aux vaccins contre le tétanos est plus importante que celle exposée à la vaccination contre l'hépatite B. Il est également à noter que les premières publications (à la période auto-immunité) faisaient état de succès intéressants des traitements par corticoïdes (associés ou non à des antibiotiques). Cette notion n'apparaît plus dans les dernières publications ;
 - la description des troubles cognitifs associés à la MFM est certainement entachée de biais importants déjà soulignés.

- les malades présentés dans les publications de l'équipe de Créteil sont en fait très disparates ce qui entraîne un important biais de confusion et un biais de recrutement : comme indiqué plus haut certains ont d'autres maladies étiquetées, notamment auto-immunes. Beaucoup présentent des troubles difficiles à caractériser rapprochés du syndrome de fatigue chronique, syndrome d'appartenance imprécise. La mise en évidence d'une fixation musculaire anormale au niveau des fascias chez des patients atteints de MFM [55] confère à cette affection une note d'organicité. Il convient toutefois de noter que cette étude porte sur 12 patients, qu'elle a été publiée en 2000 et que depuis, la pratique de cet examen n'est plus jamais mentionnée.

Au total, cette cohorte de patients interrogée. Un accès aux dossiers source est-il envisageable ?

- Le point fort et très médiatisé de la physiopathologie concerne la migration de l'aluminium à partir du point d'injection. Il a été clairement démontré que l'aluminium injecté par voie IM était pour l'essentiel éliminé rapidement et qu'une faible partie se fixait dans les organes [20], essentiellement l'os, alors que le cerveau était l'organe le moins concerné. La toxicité de l'aluminium pour le cerveau n'est pas contestable mais survient dans le cadre d'intoxications aiguës ou d'expositions importantes et prolongées [19]. A noter que des chercheurs proches de l'équipe de Créteil ont également développé un argumentaire pour incriminer l'aluminium dans la responsabilité de la maladie d'Alzheimer, ce qui n'est en rien démontré actuellement [19]. L'équipe de Créteil avance l'hypothèse du « cheval de Troie » par la pénétration à travers la barrière hémato-encéphalique de monocytes/macrophages chargés d'aluminium en s'appuyant sur des études expérimentales récemment publiées, menées chez la souris avec des particules recouvertes d'aluminium différentes des préparations d'aluminium présentes dans les adjuvants [23]. Cette étude réalisée dans un contexte expérimental non transposable à l'homme et à la situation vaccinale permet d'éclairer un mécanisme (déjà connu) de transport de particules internalisées dans les macrophages vers le cerveau. Elle ne prouve pas que ceci s'applique à l'aluminium des vaccins ni que ce transport puisse avoir de conséquence en matière de pathologie induite.
- Finalement, l'équipe de Créteil a décrit d'abord une lésion histologique puis des manifestations cliniques observées chez les personnes qui présentaient cette lésion histologique à la biopsie du deltoïde et, remontant aux antécédents vaccinaux, attribuent à la vaccination la présence d'aluminium dans le muscle et la lésion de MFM (ce qui n'est pas contesté). Mais ils attribuent aussi à cette même vaccination et à l'aluminium la responsabilité des manifestations cliniques présentées par ces malades. Ce fait n'est en rien démontré. Etant donné, ce que personne ne conteste, que la lésion de MFM est localisée autour du point d'injection, la biopsie peut parfaitement passer à côté de la lésion.
- On ne connaît donc pas, dans la population de personnes vaccinées avec des vaccins contenant de l'aluminium (c'est-à-dire à peu près tout le monde), la proportion de personnes qui ont gardé effectivement de l'aluminium dans leur muscle, ni la proportion de sujets développant des lésions de MFM parmi celles-ci. En outre, étant donné que la création d'un « granulome à aluminium » représente un fait quasiment physiologique après l'administration d'un vaccin en contenant, pour démontrer le lien entre MFM et une symptomatologie clinique, il conviendrait de prouver que les personnes présentant des signes cliniques ont significativement plus de chances de présenter des lésions de MFM que ceux qui n'en ont pas. Ce type de démonstration se heurte à l'impossibilité éthique à pratiquer des biopsies musculaires chez des personnes asymptomatiques (encore que des biopsies pourraient être pratiquées lors d'interventions orthopédiques) et à l'absence de moyens non invasifs de diagnostic de la lésion de MFM. Les recherches en la matière ont d'ailleurs été très limitées [54].

De nouvelles études épidémiologiques, de type cas-témoins, ne sont désormais plus possibles sur ce sujet du fait de la très probable existence de biais liés à la communication autour de la MFM. Il s'agit en particulier d'un possible biais de diagnostic, les sujets vaccinés et présentant une symptomatologie potentiellement rattachable à une entité clinique MFM ayant plus tendance à consulter et à se voir proposer une biopsie musculaire. Un autre possible biais d'information est à craindre, les sujets vaccinés ayant désormais tendance à rapporter dans les études des symptômes décrits comme rentrant dans le tableau supposé de MFM. De tels biais pourraient dans de nouvelles études cas-témoins conduire à conclure à tort à l'existence d'une association entre lésion histologique MFM et existence d'une entité clinique MFM spécifique.

- Enfin, deux faits d'importance capitale ne reçoivent à ce jour aucune explication :
 - Les enfants et surtout les nourrissons représentent de très loin la catégorie de population la plus exposée à l'aluminium des vaccins. Or, il ressort de l'analyse de la littérature et de l'aveu même des auteurs des cas rapportés, que la constatation de lésions de MFM sur la biopsie musculaire constitue un épiphénomène dans un contexte de maladies neurologiques et génétiques souvent parfaitement authentifiées.
 - Pourquoi une maladie pour laquelle plus de 1 000 patients identifiés en quelques années en France est-elle si rare dans les autres pays? L'analyse des quelques cas publiés laisse en effet à penser que la lésion histologique de MFM n'est là encore qu'une coïncidence. Il est exact que dans les autres pays, on évite de biopsier le deltoïde pour les raisons invoquées plus haut. Les publications de l'équipe de Créteil ont été largement diffusées et on peut supposer que des biopsies du deltoïde seraient pratiquées dans les autres pays si la MFM était considérée comme une entité reconnue. Enfin, s'il est vrai qu'un plus grand nombre d'adultes a été vacciné contre l'hépatite B en France que dans les autres pays, admettre ce fait comme explication suppose qu'il y ait une explication à l'atteinte exclusive de l'adulte. D'autre part, d'autres vaccins contenant des adjuvants aluminiques (tétanos par exemple) sont largement utilisés dans les pays étrangers, certains beaucoup plus qu'en France et depuis plus longtemps (vaccin contre le méningocoque C).
- En définitive, il n'existe pas actuellement de publication convaincante concernant la MFM dans la littérature internationale. Seule l'équipe israélienne de Shoenfeld, qui essaie en fait d'en élargir le cadre, consacre des revues à cette affection [12,13,36,37]. Certains auteurs citent la MFM comme un possible effet secondaire des vaccins [39]. De rares revues considèrent ce fait comme établi en se contentant de reproduire les écrits de l'équipe française [35,38,39].

En conclusion

La revue de la littérature ne permet pas de conclure que la myofasciite à macrophages (lésions histologiques liées au dépôt dans le muscle de l'aluminium des vaccins) est associée à une ou plusieurs manifestations systémiques.

Références

- [1] Gherardi RK, Authier FJ. Macrophagic myofasciitis: characterisation and pathophysiology. *Lupus* 2012; 21: 184-89.
- [2] Gherardi RK, Coquet M, Cherin P, *et al.* Macrophagic myofasciitis: an emerging entity. *Lancet* 1998; 352: 347-52.
- [3] Mrak RE. Muscle granulomas following intramuscular injection. *Muscle Nerve* 1982; 5: 637-39.
- [4] Chérin P, Laforet P, Gherardi RK, *et al.* La myofasciite à macrophages: description, hypothèses étiopathogéniques. *Rev Med Interne* 1999; 20: 483-89.
- [5] Chérin P, Gherardi RK. Macrophagic myofasciitis. *Curr Rheumatol Rep* 2000; 2: 196-200.
- [6] Chérin P, Laforet P, Gherardi RK, *et al.* Myofasciite à macrophages. Groupe d'Etude de Recherche sur les Maladies Musculaires Acquises et Dysimmunitaires (GERMMAD). *Presse Med* 2000; 29: 203-8.
- [7] Chérin P, Menard D, Mouton P, *et al.* Macrophagic myofasciitis associated with inclusion myositis : a report of three cases. *Neuromuscular Disorders* 2001; 11: 452-57.
- [8] Authier FJ, Chérin P, Creange A, *et al.* Central nervous system disease in patients with macrophagic myofasciitis. *Brain* 2001; 124: 974-83.
- [9] Pöhlmann W, Feinberg W. Current management of pain associated with multiple sclerosis. *CNS Drugs* 2008; 22: 291-324.
- [10] Gherardi RK, Coquet M, Chérin P, *et al.* Macrophagic myofasciitis lesions assess long-term persistence of vaccine-derived aluminium hydroxide in muscle. *Brain* 2001; 124: 1821-31.
- [11] Authier FJ, Sauvat S, Champey J, *et al.* Chronic fatigue syndrome in patients with macrophagic myofasciitis. *Arthritis & Rheumatism* 2003; 48: 569-72.
- [12] Israeli E, Levin A, Blank M, *et al.* Macrophagic myofasciitis a vaccine (alun) autoimmune-related disease. *Clin Rev Allerg Immunol* 2011; 41: 163-68.
- [13] Shoenfeld Y, Agmon-Levin N. ASIA- Autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants. *J Autoimmunity* 2011; 36: 4-8.
- [14] Amoura Z, Costedoat N, Maisonnobe T, *et al.* Familial macrophagic myofasciitis. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 927-28.
- [15] Guis S, Mattei JP, Nicoli F, *et al.* Identical twins with macrophagic myofasciitis: genetic susceptibility and triggering by aluminic vaccine adjuvants? *Arthritis Rheum* 2002; 47: 543-45.
- [16] Guis S, Pellissier JF, Nicoli F, *et al.* HLA-DRB1*01 and macrophagic myofasciitis. *Arthritis and Rheumatism* 2002; 46: 2535-37.
- [17] Authier FJ, Sauvat S, Christov C, *et al.* Al(OH)₃- adjuvanted vaccine –induced macrophagic myofasciitis in rats is influenced by genetic background. *Neuromuscular Disorders* 2006; 16: 347-52.
- [18] Exley C, Swarbrick L, Gherardi RK, *et al.* A role of body burden of aluminium in vaccine-associated myofasciitis and chronic fatigue syndrome. *Medical Hypotheses* 2009; 72: 135-39.
- [19] Bégué P, Girard M, Bazin H, Bach JF. Les adjuvants vaccinaux: quelle actualité en 2012. *Académie Nationale de Médecine* 2012.
- [20] Flarend RE, Hem SL, White JL, *et al.* In vivo absorption of aluminium-containing vaccine adjuvants using ²⁶Al. *Vaccine* 1997; 15: 1314-18.
- [21] Khan Z, Christov C, Lux F, *et al.* Bio-distribution of nanosized aluminic particules after im injection in the mouse. *Communication to the Nanotoxicologie Meeting*. Edinburgh UK, 2010.

- [22] Khan Z, Tillement O, Cadusseau J, *et al.* Nanoparticule neurodelivery depends on MCP-1 driven Trojan horse mechanism. Communication to the American Academy of Neurology. Hawaii, april 2011.
- [23] Khan Z, *et al.* Slow CCL2-dependent translocation of biopersistent particles from muscle to brain. BMC Med. 2013 Apr 4;11:99. doi: 10.1186/1741-7015-11-99.
- [24] Couette M, Boisse MF, Maison P, *et al.* Long-term persistence of vaccine-derived aluminium hydroxide is associated with chronic cognitive dysfunction. Journal of Inorganic Biochemistry 2009; 103: 1571- 78.
- [25] Passeri E, Villa C, Couette M, *et al.* Long-term follow up of cognitive dysfunction in patients with aluminium hydroxide-induced macrophagic myofasciitis. Journal of Inorganic Biochemistry 2011; 105: 1457- 63.
- [26] Institut de veille sanitaire. Myofasciite à macrophages. Mars 2001. www.invs.sant.fr
- [27] Müller HD, Landeghem FK, Schmidt PF, *et al.* Macrophagic myofasciitis plus (distinct types of muscular dystrophy). Neuropediatrics 2009; 40: 174-78.
- [28] Lach B, Cupler EJ. Macrophagic myofasciitis in children is a localized reaction to vaccination. J Child Neurol 2008; 23: 614-19.
- [29] Kalil RK, Monteiro A Jr, Lima MI, *et al.* Macrophagic myofasciitis in childhood : the role of scanning electron microscopy/energy-dispersive spectroscopy for diagnosis ; Ultrastruct Pathol 2007; 31: 45-50.
- [30] Gruis KL, Teener JW, Blaivas M. pediatric macrophagic myofasciitis associated with motor delay. Clin Neuropathol 2006; 25: 172-79.
- [31] Rivas E, Gomez-Arnaiz M, Ricoy JR, *et al.* Macrophagic myofasciitis in childhood: a controversial entity. Pediatr Neurol 2005; 33: 350-56.
- [32] Di Muzio A, Capasso M, Verrotti A, *et al.* Macrophagic myofasciitis: an infantile italian case. Neuromuscular Disorders 2004; 14: 175-77.
- [33] Nevo Y, Kutai M, Jossiphov J, *et al.* Childhood macrophagic myofasciitis- consanguinity and clinicopathological features. Neuromuscular Disorders 2004; 14: 246-52.
- [34] Lacson AG, D'Cruz CA, Gilbert-Barnes E, *et al.* Aluminium phagocytosis in quadriceps muscle following vaccination in children: relationship to macrophagic myofasciitis. Pediatr Develop Pathol 200 ; 5: 151-58.
- [35] Piyasirisilp S, Hemmachudha T. Neurological adverse events associated with vaccination. Curr Opin Neurol 2002; 15: 333-38.
- [36] Appel S, Chapman J, Shoenfeld Y. Infection and vaccination in chronic fatigue syndrome: myth or reality. Autoimmunity 2007; 40: 48-53.
- [37] Agmon-Levin N, Shoenfeld Y. Chronic fatigue syndrome with autoantibodies- The result of an augmented adjuvant effect of hepatitis-B vaccine and silicone implants. Autoimmunity Rev 2008; 8: 52-5.
- [38] Stübgen JP. Neuromuscular complications of hepatitis A virus infection and vaccine. J Neurol Sci 2011; 300: 2-8.
- [39] Orbach H, Agmon-Levin N, Zandman-Goddard G. Vaccines and autoimmune diseases of the adult. Discov Med 2010; 9: 90-7.
- [40] Schneeweiss B, Pfeleiderer M, Keller- Stanislawski B. Vaccination safety update. Dtsch Arztebl Int 2009; 106: 248-49.
- [41] Simpson DA. Systemic histiocytosis presenting as macrophagic myofasciitis. J Clin Neuromuscul Dis 2002; 4: 19-22.
- [42] Theeler BJ, Simper NB, Ney JP. Polyglandular autoimmunity with macrophagic myofasciitis. Clin Rheumatol 2008; 27: 667-69.
- [43] Park JH, Park YW, Paik SS, *et al.* Macrophagic myofasciitis unrelated to vaccination. Scand J Rheumatol 2005; 34: 65-7.

- [44] Fischer D, Reimann J, Schröder R. Macrophagic myofasciitis: inflammatory, vaccination-associated muscular disease. *Dtsch Med Wochenschr* 2003; 128: 2305-8.
- [45] Bornemann A, Bohl J, Goebel HH, *et al.* July 2003: 62-year-old female with progressive muscular weakness. *Brain Pathol* 2004; 109-10: 115.
- [46] Shingde M, Hugues J, Boadle R, *et al.* Macrophagic myofasciitis associated with accine-derived aluminium MJA 2005; 183: 145-46.
- [47] Ryan AM, Bermingham N, Harrington HJ, *et al.* Atypical presentation of macrophagic myofasciitis 10 years post vaccination. *Neuromuscular Disorders* 2006; 16: 867-9.
- [48] Polido Pereira J, Barroso, C, Evangelista T, *et al.* Macrophagic myofasciitis: a case report of autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA). *Acta Rheumatol Port* 2011; 36: 75-6.
- [49] Shivane A, Hilton DA; Moate RM, *et al.* Macrophagic myofasciitis: a report of a second case from UK. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2012 DOI: 10.1111/j.1365-2990.2012.01293.x.
- [50] Crooks D, Bajalan AAA. Macrophagic myofasciitis in Britain. *Neuropathol App Neurobiol* 2001; 27: 158.
- [51] Siegrist CA. Les adjuvants vaccinaux et le myofasciite à macrophages. *Arch Pediatr* 2005; 12: 96-100.
- [52] Papo T. Macrophagic myofasciitis: local or systemic ? *Joint Bone Spine* 2003; 70: 242-45.
- [53] Verdier F, Burnett R, Michelet-Habchi C, *et al.* Aluminium assay and evaluation of the local reaction at several time points after intramuscular administration of aluminium containing vaccines in the Cynomolgus monkey. *Vaccine* 2005; 23: 1359-56.
- [54] OMS. Sécurité des vaccins. Comité consultatif pour la sécurité des vaccins. 15 octobre 1999. <http://www.who.int/wer>
- [55] Guis S, Mattei JP, Pélissier F, *et al.* Magnetic resonance imaging and ³¹P magnetic resonance spectroscopy investigations of muscle function disclose no abnormality in macrophagic myofasciitis. *J Rheumatol* 2004; 31: 2313-15.

3 - Bilan actualisé des notifications spontanées de myofasciites à macrophages rapportées au système national de pharmacovigilance

Afin de rechercher une éventuelle relation entre la lésion histologique de MFM et des symptômes cliniques spécifiques, une étude cas-témoins a été souhaitée dès 1999 par le Comité consultatif mondial pour la sécurité vaccinale de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et décidée en février 2002 par l'Afssaps. L'étude cas-témoins, finalisée en octobre 2003, n'a pas permis de conclure à une association entre la présence de l'aluminium au niveau des macrophages et la survenue des symptômes cliniques.

En mai 2004, sur l'état des connaissances disponibles sur la MFM le Conseil scientifique de l'Afssaps avait notamment conclu aux recommandations suivantes :

- l'association entre l'entité histologique MFM sur le site musculaire classiquement choisi pour la vaccination et l'administration de vaccins contenant un adjuvant aluminique est hautement probable ;
- il n'est pas possible de considérer qu'il existe une association entre l'entité histologique MFM et un syndrome clinique spécifique ;
- aucun syndrome clinique spécifique n'est retrouvé associé à la vaccination avec des vaccins contenant un adjuvant aluminique ;
- il n'y a pas à remettre en cause la balance bénéfice-risque des vaccins contenant un adjuvant aluminique.

En février 2002, une enquête de pharmacovigilance, mise en place par l'Afssaps, a été placée sous la responsabilité du Centre régional de pharmacovigilance (CRPV) de Lorraine (CHU Nancy). Dans le cadre de ce suivi national des cas de MFM, le bilan actualisé des données de pharmacovigilance colligées et analysées jusqu'à ce jour tient compte de l'ensemble des notifications spontanées de MFM au réseau national de pharmacovigilance, aux laboratoires, aux associations de malades (E3M ou « Entraide aux malades atteints de myofasciite à macrophages » et REVAHB « Réseau vaccin Hépatite B »), et aux services référents d'anatomo-pathologie des CHU de Henri Mondor (Créteil), de la Pitié-Salpêtrière (Paris), de Bordeaux et de Marseille.

Au 30 avril 2013, à partir des 379 compte-rendus anatomo-pathologiques disponibles sur les 496 observations colligées par le CRPV de Lorraine, le diagnostic histopathologique de MFM a été confirmé pour 267 patients, considéré comme « douteux » pour 81 patients et éliminé pour 31 patients. Parmi les 117 dossiers sans compte-rendu anatomo-pathologique, 69 observations ont été incluses dans l'étude du fait d'une confirmation par la notion d'une « biopsie positive ».

Sur le total des 496 observations colligées, 311 patients sont inscrits à une association de malades. Au final, 417 dossiers avec diagnostic de MMF ont été inclus dans l'analyse statistique descriptive.

Les caractéristiques qui ressortent de l'examen global des 417 dossiers concernés en termes d'antécédents vaccinaux, de symptomatologie, d'éléments paracliniques et de pathologies intercurrentes sont similaires à celles des bilans antérieurs : il s'agit majoritairement de femmes (2/3 des cas) (Fig.1).

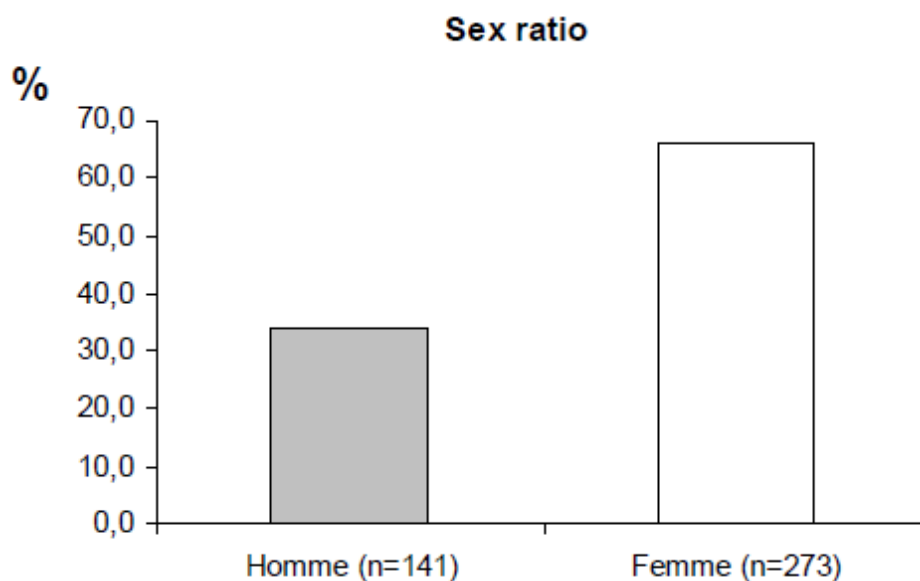


Fig. 1 – Répartition des patients en fonction du sexe (n=414)

Avant la survenue des premiers signes cliniques, plus de 69 % des patients ont été vaccinés lors de la campagne contre le virus de l'hépatite B menée durant les années 90 (69,3 %) (Tableau 1, Fig. 2).

Tableau 2 – Dernière(s) spécialité(s) vaccinale(s) contenant de l'aluminium administrée(s) avant l'apparition des premiers signes cliniques

Vaccin	N	%
Vaccin contre l'hépatite B	289	69,3
Vaccin contre le tétanos	21	5,0
Revaxis®	11	2,6
Vaccin contre l'hépatite A	11	2,6
Vaccin contre l'hépatite B + Vaccin contre l'hépatite A	8	1,9
Vaccin contre l'hépatite B + Vaccin contre le tétanos	2	0,5
Vaccin contre l'hépatite B + Tetravac®	1	0,2
Vaccin contre l'hépatite A + Revaxis®	1	0,2
Infanrix®	1	0,2
Gardasil®	1	0,2
Tetravac®	1	0,2
HPV Vac	1	0,2
Non Renseignés	69	16,5
Total	417	100,0

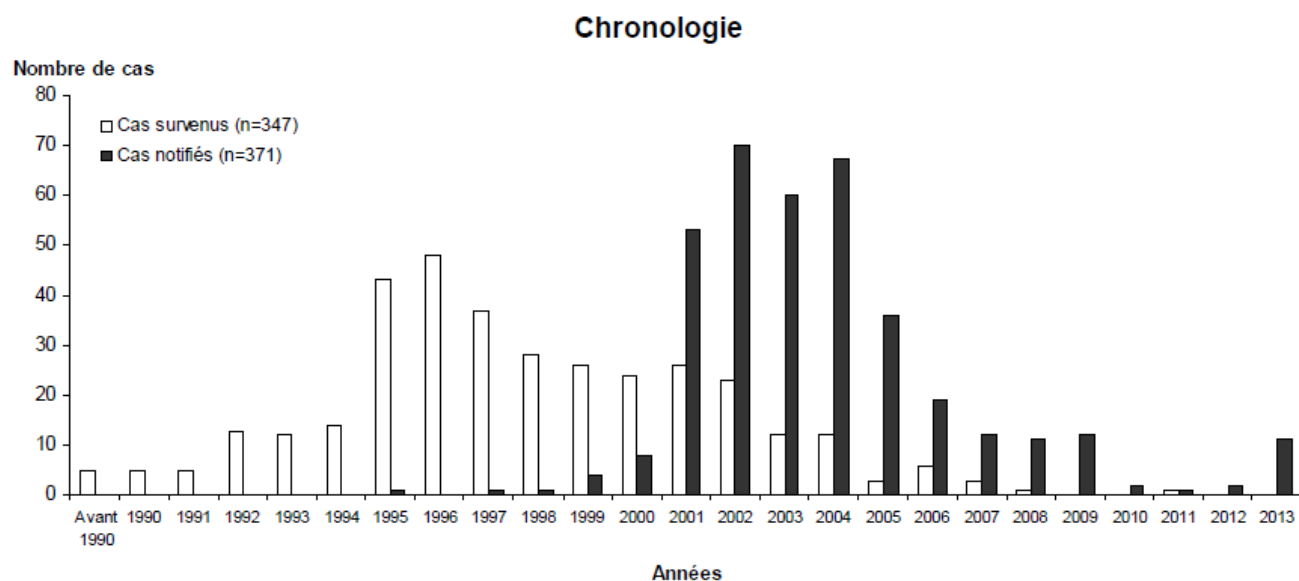


Fig. 2 – Chronologie du début des signes cliniques et de la date des cas notifiés au réseau des CRPV et aux laboratoires

La moyenne d'âge des patients à la dernière vaccination (contenant de l'aluminium) est de 40 ans (Fig.3).

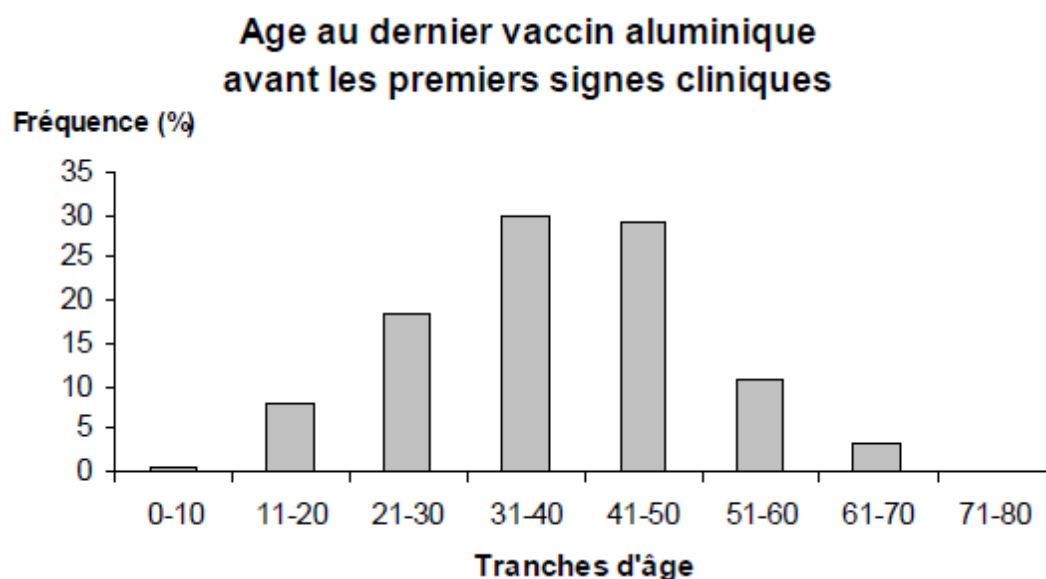


Fig. 3 – Distribution des patients en fonction de l'âge lors de la dernière vaccination aluminique précédant les premiers signes cliniques (n=310)

Les patients décrivent la survenue, en moyenne un an et demi après la dernière vaccination, d'un tableau clinique fonctionnel associant principalement un syndrome arthromyalgique, asthénie marquée, troubles du sommeil et symptomatologie fonctionnelle variée sans signe objectif ou examen complémentaire spécifique en dehors de la biopsie, qui, elle, est caractéristique [cf. Annexe, p. 30]. Une pathologie intercurrente identifiée dans plus de la moitié des cas est susceptible de participer activement à la symptomatologie observée, le tableau clinique motivant le plus souvent une biopsie musculaire.

En conclusion, l'analyse de l'ensemble des données de pharmacovigilance disponibles issues de la notification spontanée n'apporte pas d'élément nouveau susceptible de modifier les conclusions émises à l'issue des bilans antérieurs (<http://ansm.sante.fr>). En effet, l'ensemble des éléments colligés et analysés jusqu'à ce jour permet de conclure que l'aluminium contenu dans les vaccins peut persister pendant des années sous la forme d'une lésion musculaire histologique focalisée.

Les biopsies de MFM sont essentiellement (mais non exclusivement) rapportées en France. Cette spécificité française peut s'expliquer à partir des arguments suivants [1,2] :

- en France, les biopsies musculaires à visée diagnostique sont pratiquées au niveau du deltoïde alors que les autres pays privilégient un autre muscle ;
- durant les années 90, des millions d'adultes ont été vaccinés dans le cadre de la campagne nationale de vaccination contre le virus de l'hépatite B. Cependant, ce même vaccin a été administré à des adultes dans d'autres pays sans mise en évidence de cas de MFM. Par ailleurs, la forte augmentation du taux de notifications depuis 1998 pourrait être liée à une augmentation du taux de dépistage. (Fig.2) ;
- lors de cette campagne de vaccination contre l'hépatite B, la voie d'administration du vaccin a été modifiée en substituant la voie sous-cutanée par la voie intramusculaire.

Il n'existe, à ce jour, pas d'arguments épidémiologiques probants pour étayer la relation entre la vaccination et l'existence d'une maladie en relation avec la lésion.

Références

- [1] Vaccine Safety Advisory Committee WHO. Macrophagic myofasciitis and aluminium-containing vaccines. Wkly Epidemiol Rec. 1999; 74: 337-40.
- [2] Siegrist CA. Vaccine adjuvants and macrophagic myofasciitis. Arch Ped 2005; 12: 96-101.

Remerciements au CRPV du CHU de Lorraine.

Annexe – Symptômes cliniques décrits au moins une fois durant la maladie par le clinicien ou le patient (n=417)

Signes cliniques	Événement médical décrit au moins une fois par le Clinicien ou le Patient (n=417)	
	n	%
Myalgies	324	77,7
Asthénie	294	70,5
Arthralgies	212	50,8
Douleurs diffuses	180	43,2
Troubles de la mémoire	155	37,2
Faiblesse musculaire	142	34,1
Troubles du sommeil	131	31,4
Troubles de l'humeur, Anxiété	99	23,7
Troubles sensitifs	89	21,3
Troubles ophtalmologiques	87	20,9
Céphalées	76	18,2
Troubles de l'équilibre	74	17,7
Crampes	70	16,8
Troubles digestifs	55	13,2
Troubles respiratoires	38	9,1
Sensation de brûlure	38	9,1
Fièvre	33	7,9
Troubles urinaires	30	7,2
Troubles de l'élocution	28	6,7
Tremblements	27	6,5
Signes cardio-vasculaires	26	6,2
Signes dermatologiques	24	5,8
Perte de poids	22	5,3
Amyotrophie	17	4,1
Dysphagie	17	4,1
Douleurs abdominales	15	3,6
Prise de poids	14	3,4
Perte de cheveux	6	1,4
Sécheresse buccale	5	1,2

4 - Adjuvants - Aspects immunologiques

Le développement des adjuvants de l'immunité associés aux vaccins a été justifié par la nécessité d'amplifier la réponse immunitaire spécifique à des vaccins sous-unitaires ou inactivés incapables d'induire seuls une immunité protectrice efficace et de longue durée, médiée par les anticorps et les lymphocytes T et B mémoires. En effet, une des raisons de l'efficacité majeure des vaccins vivants atténués provient de leur capacité à activer simultanément plusieurs récepteurs de l'immunité innée nécessaires à l'induction de ces réponses immunes spécifiques [1,2]. A la différence de ces vaccins vivants qui gardent l'essentiel des capacités des pathogènes à activer l'immunité innée, les vaccins sous-unitaires composés de protéines seules et, à un moindre degré, les vaccins inactivés, n'ont pas ces propriétés. Afin de pallier à ces limitations les adjuvants ont été utilisés traditionnellement pour augmenter l'amplitude et la durabilité de la réponse vaccinale classiquement mesurée sur les titres d'anticorps, ou l'efficacité protectrice [3].

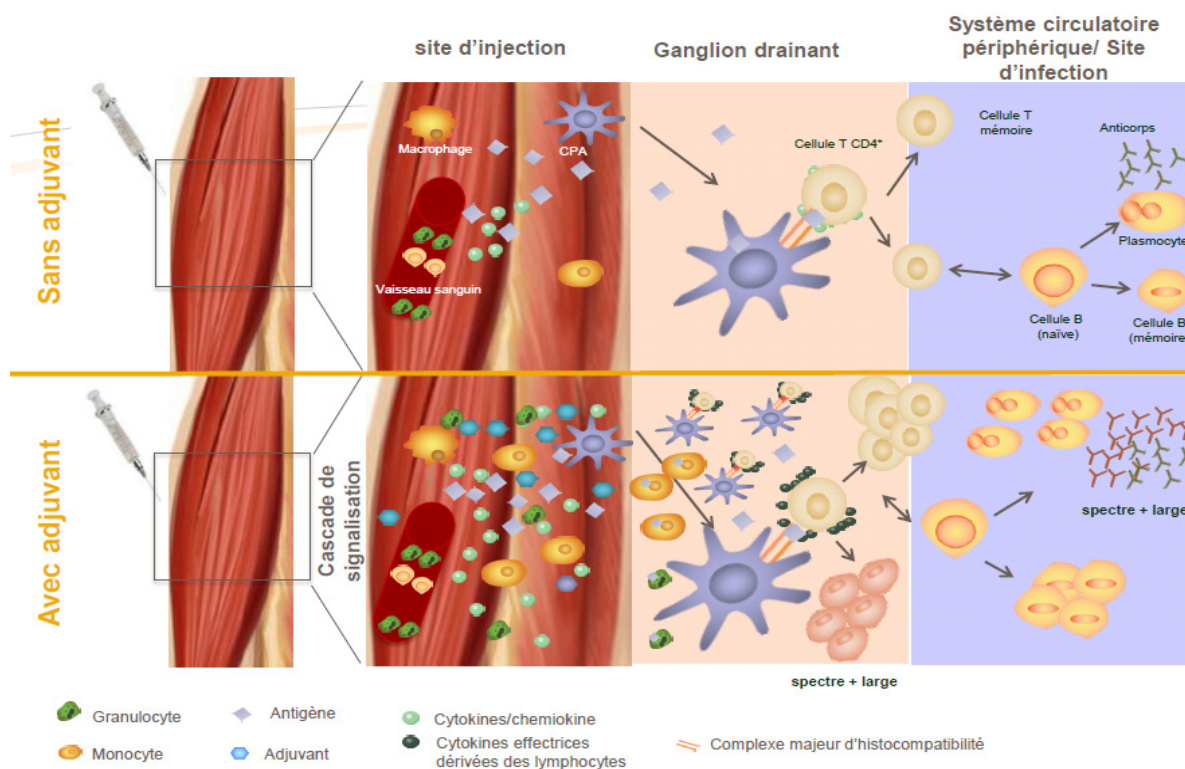
4.1 - Objectifs et mécanismes d'action des adjuvants

La plupart de ces adjuvants ont été élaborés selon des méthodes empiriques depuis les années 1920 avec les sels d'aluminium, mais ce n'est que récemment que l'élucidation des mécanismes d'induction de l'immunité innée, illustrée par les prix Nobel de Médecine 2011, notamment J Hoffmann et B Beutler [4,5], ont permis de comprendre les mécanismes d'action de ces adjuvants. Ainsi ont été mis en évidence sur les macrophages et autres cellules présentatrices d'antigènes, des récepteurs dénommés PRR (*Pattern Recognition Receptors*), capables de détecter certaines molécules propres aux agents infectieux, les PAMP (*Pathogen-Associated Molecular Pattern*). Ainsi les TLRs (*Toll-Like-Receptors*) reconnaissent des lipides, lipoprotéines, acides nucléiques ou protéines. Les vaccins sous-unitaires de type anatoxine diphtérique ou tétanique, ou antigène HbS sont dépourvus de ces PAMPs qui sont en partie dénaturés au cours des processus d'inactivation des vaccins inactivés, à la différence des vaccins vivants qui gardent la majorité des PAMPs de leurs pathogènes d'origine. L'ensemble de ces molécules et voies d'activation constitue dans les macrophages et cellules présentatrices d'antigène un complexe intracellulaire, l'inflammasome, permettant d'activer la production de certaines cytokines clés de l'initiation des réponses immunes spécifiques telles que l'interleukine-1.

Les adjuvants en activant ces PRR permettent de compenser l'absence de ces PAMP dans les vaccins sous-unitaires ou inactivés [3,6-9] en déclenchant cette première vague d'immunité innée nécessaire à l'élaboration d'une réponse immunitaire efficace et de longue durée. Les adjuvants sont également capables de guider la nature de la réponse immune à mettre en place contre tel ou tel pathogène : par exemple la réponse CD4 auxiliaire Th2 inductrice de réponse anticorps contre les pathogènes extracellulaires ou la réponse CD4 auxiliaire Th1 et la réponse CD8 contre les pathogènes intracellulaires.

Il y a ainsi plusieurs raisons immunologiques à associer un adjuvant aux vaccins :

- 1) accroître l'amplitude de la réponse immune, d'une part dans la population générale afin d'augmenter la proportion de sujets protégés, et d'autre part dans des populations au système immunitaire fragile (notamment les sujets âgés) ou déprimé par les maladies ou les traitements [1,6-12] ;
- 2) réduire la quantité d'antigènes vaccinaux et le nombre d'injections nécessaires [1,6-9,13] afin de pouvoir immuniser rapidement de très larges populations, comme en situation de pandémie grippale.



Garçon N, et al., Perspectives in vaccinology; 2011; Didierlaurent et al. JI, 2009; Morel et al., Vaccine, 2011

Fig. 4 – Adjuvants : general mode of action based on current evidence¹

4.2 - Adjuvants à base de sels d'aluminium

Les adjuvants à base de sels d'aluminium utilisés depuis les années 1920 sont des précipités d'hydroxyde ou phosphate d'aluminium sur lesquels sont adsorbés des antigènes vaccinaux [14-17]. La composition particulière de ces composés favorise le dépôt prolongé des antigènes vaccinaux dans les tissus lymphoïdes et leur internalisation par les cellules présentatrices d'antigènes. De ce fait ils permettent de prolonger la persistance de l'antigène au site d'injection et les tissus lymphoïdes de drainage. Cette persistance accrue de l'antigène étant un élément essentiel à l'induction de la voie Th2, il s'agit certainement d'un mécanisme clé de l'accroissement de l'immunogénicité vaccinale par les sels d'aluminium. Ceux-ci pourraient également stimuler la voie Nalp3 [15] inductrice de la production des cytokines IL-1 et IL-18. Ainsi les sels d'aluminium ont une forte capacité à induire des taux élevés et durables d'anticorps spécifiques par leur propriété de stimulation des lymphocytes T CD4 auxiliaires de type Th2 activateurs de lymphocytes B mémoires et de plasmocytes. Ce type de réponse immune est particulièrement efficace contre les pathogènes extracellulaires et les toxines, mais moins contre les pathogènes intracellulaires.

L'ensemble des experts reconnaît que l'utilisation très large et longue de quatre-vingt ans et les très nombreuses données concernant les sels d'aluminium montrent l'excellente tolérance des sels d'aluminium qui les font considérer comme l'adjuvant de choix pour augmenter l'efficacité des vaccins dirigés contre des pathogènes requérant des taux importants d'anticorps pour leur prévention [1,3,6-9,18]. Cependant, les adjuvants à base d'aluminium présentent certaines limitations. Ils n'entraînent pas une augmentation suffisante de production d'anticorps dirigés contre de petits peptides ou certains vaccins comme la

¹ Garçon N, et al. Vaccine adjuvants. Perspectives in Vaccinology, 2011; (1): 89-113. Disponible sur <http://www.sciencedirect.com/science/journal/22107622> (consulté le 08/07/2013).

typhoïde et le virus influenza et n'induisent pas d'immunité cellulaire requise contre d'autres pathogènes comme les mycobactéries. Il y a donc un besoin de développer de nouveaux adjuvants.

4.3 - Alternatives aux adjuvants à base de sels d'aluminium

4.3.1 - Adjuvants phospholipidiques

Des émulsions de type phospholipidique cherchent à activer de façon plus complète les lymphocytes T. La synergie entre MPL (monophosphoryl lipid A [MPL]), dérivé détoxifié du LPS des bactéries Gram-négatives *Salmonella minnesota* [19] adsorbé sur de l'hydroxide d'aluminium a été à l'origine du développement de l'*Adjuvant System 04* (ASO4) [20]. En effet le MPL active les Toll-R de type TLR4 principalement [21,22], et la production de cytokines pro-inflammatoires, telles que le TNF- α et l'IL-6 qui à leur tour stimulent la maturation des CPA tout en réprimant l'induction de tolérance. Le MPL induit principalement une réponse CD4 auxiliaire de type Th1 requise contre les pathogènes intracellulaires, propriété que n'ont pas les sels d'aluminium. L'ASO4 est associé à deux vaccins dotés d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) contre des virus oncogènes HPV-16 et -18, où il est associé aux pseudoparticules virales composés de la protéine L1 de ces HPV [23], et le virus HBV où il est associé à l'antigène HBs pour augmenter l'immunogénicité de ce vaccin chez les insuffisants rénaux dialysés [10,11].

L'ASO3 a démontré sa capacité à augmenter la production d'anticorps protecteurs contre la grippe aviaire, ou contre la grippe saisonnière chez les personnes âgées, suggérant leur utilité pour la prévention d'autres infections nécessitant l'induction d'anticorps [24]. Leur utilisation très large au cours de la pandémie A(H1N1)v de 2009 a démontré également leur innocuité [18,25]. Toutefois, dans quelques pays (Finlande, Suisse, France, Royaume-Uni) une augmentation significative des cas de narcolepsie a été observée chez les personnes ayant reçu ce vaccin sans que la relation de cause à effet ne soit clairement établie, et notamment la responsabilité de l'adjuvant.

L'ASO1, de la même famille, est l'adjuvant d'un vaccin contre le paludisme en cours de développement.

4.3.2 - Adjuvants phosphate de calcium

Une alternative aux adjuvants à base d'aluminium a été proposée sous forme de phosphate de calcium, au cours des années 70, à la recherche de solutions alternatives aux allergies éventuelles à l'aluminium. La firme Pasteur-Production a développé les adjuvants à base de phosphate de calcium pour la gamme DTP-Polio-Coq. La figure a montré qu'en présence de l'Ag ils n'induisaient pas d'augmentation des IgE spécifiques et induisent moins de réactions allergiques que l'aluminium [26]. Ces adjuvants $\text{Ca}^{3}\text{Po}^{4}$ ont de plus une grande rapidité de préparation avec une haute capacité d'absorption permettant un relargage lent et une stimulation immunologique plus longue et ainsi des taux d'anticorps augmentés. De plus, l'expérience française aurait montré des taux d'anticorps plus élevés post-vaccination et une tolérance locale et systémique meilleure qu'après IIM avec l'aluminium (sauf pour Pertussis). Cette expérience de l'Institut Pasteur semblait particulièrement intéressante chez les sujets allergiques [27]. Néanmoins cette stratégie des vaccins de l'Institut Pasteur n'a pas été reprise par les autres firmes et dans les années 1995 des articles ont rapporté des données contradictoires montrant que ces adjuvants induiraient des taux d'anticorps égaux ou plus faibles, exceptés en rappel que les adjuvants à base de sels d'aluminium [28-30]. De plus, leur capacité d'absorption serait 50 % inférieure à celle de l'aluminium. Leur adjuvantité chez la souris dépendrait de l'antigène : pour le tétanos elle serait supérieure ou égale à celle de l'aluminium en primo vaccination. Pour la diphtérie, elle serait inférieure à celle de l'aluminium. Leur adjuvantité chez le cobaye serait supérieure à celle de l'aluminium.

La tolérance locale de ces diverses classes d'adjuvant a été comparée chez les cobayes. Ces travaux ont montré que Ca et aluminium induisaient un infiltrat de PN inflammatoires plus important si ces adjuvants sont sous forme de suspension que sous forme de gel, aussi bien pour le calcium que pour l'aluminium. Cette inflammation dure environ huit semaines pour le gel d'alum et 4 semaines pour le Ca gel. Par ailleurs, une réaction granulomateuse inflammatoire du conjonctif local a été mise en évidence après injection de gel de phosphate de calcium durant environ huit semaines. L'immunogénicité obtenue anti-tétanos était supérieure après aluminium qu'après Ca [31]. Cependant, il faut souligner le problème du modèle animal qui pourrait ne pas refléter les effets chez l'homme [32].

Au total, ces données anciennes et contradictoires ne permettent pas de conclure ni sur une meilleure tolérance ni sur une bonne adjuvantité des adjuvants à base de phosphate de calcium. Ceux-ci ont été définitivement abandonnés lors de la fusion de la firme Pasteur-Production avec l'Institut Mérieux.

4.3.3 - Virosomes

L'adjuvant aluminique ne permet pas l'induction d'une réponse immunitaire de type Th1 et il peut persister sur le lieu de l'injection. Le virosome est une construction ressemblant au virus naturel, capable de présenter l'antigène dans le contexte des complexes majeurs d'histocompatibilité de classe I ou II et *in fine* de favoriser le développement d'une réponse immunitaire complète, humorale et cellulaire.

Le virosome est à la fois un adjuvant et un système de transport de l'antigène vaccinal. Il se présente sous la forme d'une pseudo-particule virale provenant d'un virus enveloppé. Dépourvu de capside et de génome viral, il est dénué de pouvoir répliquatif ou infectieux. Le virosome est obtenu à partir d'un liposome, vésicule artificielle formée par des bicouches lipidiques. Le virosome est constitué d'une membrane virale qui contient des lipides de la cellule hôte dont elle est dérivée et, contrairement au liposome, des protéines virales. Celles-ci permettent la fusion avec les cellules cibles. La présentation de l'antigène au système immunitaire et la stimulation de celui-ci sont très proches des mécanismes immunitaires naturels.

Actuellement, le système virosomal est utilisé comme adjuvant dans deux vaccins possédant une AMM européenne et commercialisés en dehors de la France par le laboratoire Crucell : le vaccin contre la grippe saisonnière Inflexal® V et le vaccin contre l'hépatite A Epaxal® [33,34]. Pour ces deux vaccins, le virosome utilisé est dérivé d'un virus influenza. Il est composé de l'enveloppe et des glycoprotéines du virus. Les molécules d'hémagglutinine du virus influenza sont incorporées dans la double membrane des liposomes phospholipidiques à base de lécithine et de céphaline, formant ainsi des virosomes. Dans l'organisme, ces virosomes se lient activement à des récepteurs correspondants situés, d'une part, sur des macrophages qui les phagocytent et, d'autre part, sur des lymphocytes B, dont la prolifération est ainsi activée. Dans les endosomes des macrophages, le peptide de fusion de l'hémagglutinine du virus influenza est activé, de sorte que le liposome phagocyté peut fusionner immédiatement avec la membrane de l'endosome.

Le fabricant met l'accent sur le caractère entièrement biodégradable et non toxique du virosome, ainsi que sur l'absence de réponse immunologique dirigée contre le virosome lui-même.

➤ Vaccin Epaxal®

Les virus de l'hépatite A, obtenus à partir de cultures de cellules diploïdes humaines puis inactivés, sont liés aux virosomes par un procédé spécifique [35]. Le vaccin Epaxal® est efficace et bien toléré [36]. Dans une étude réalisée chez des enfants âgés de 1 à 16 ans, une dose de 0,25 mL du vaccin Epaxal® entraîne une réponse humorale aussi efficace qu'une dose de 0,5 mL d'un vaccin contenant un adjuvant aluminique (Havrix®

720 UI) [37]. Une autre étude réalisée chez plus de 500 voyageurs adultes montre que les effets indésirables locaux sont deux fois moins fréquents après vaccination par le vaccin Epaxal®, qu'après vaccination par un vaccin contenant de l'hydroxyde d'aluminium comme adjuvant [38].

➤ **Vaccin Inflexal® V**

Ce vaccin contre la grippe saisonnière est le seul produit commercialisé qui possède un adjuvant (le virosome) et utilisable dès l'âge de 6 mois. Utilisé depuis une quinzaine d'années, le vaccin Inflexal® V est efficace et bien toléré [39].

Références

- [1] Plotkin, SA. Correlates of protection induced by vaccination. Clin. Vaccine Immunol. 2010; 17: 1055-65.
- [2] Querec TD, Pulendran B. Understanding the role of innate immunity in the mechanism of action of the live attenuated Yellow Fever Vaccine 17D. Adv Exp Med Biol. 2007; 590: 43-53.
- [3] Guy, B. The perfect mix: recent progress in adjuvant research. Nat. Rev. Microbiol. 2007; 5: 505-17.
- [4] Ferrandon D, Imler JL, Hetru C, Hoffmann JA. The Drosophila systemic immune response: sensing and signalling during bacterial and fungal infections. Nat Rev Immunol. 2007 ; 7(11):862-74.
- [5] Beutler B, Eidenschenk C, Crozat K, Imler JL, Takeuchi O, Hoffmann JA, Akira S. Genetic analysis of resistance to viral infection. Nat Rev Immunol. 2007; 7(10): 753-66.
- [6] Lambrecht BN, Kool MA, Willart, Hammad H. Mechanism of action of clinically approved adjuvants. Curr. Opin. Immunol. 2009; 21: 23-29.
- [7] McKee AS, Munks MW, Marrack P. How do adjuvants work? Important considerations for new generation adjuvants. Immunity 2007; 27,687-90.
- [8] Mbow ML, De Gregorio E, Valiante NM, Rappuoli R. New adjuvants for human vaccines. Curr. Opin. Immunol. 2010; 22: 411-16.
- [9] Coffman RL, Sher A, Seder RA. Vaccine Adjuvants: Putting Innate Immunity to Work Immunity 2010; 33(4): 492-503.
- [10] Beran J. Safety and immunogenicity of a new hepatitis B vaccine for the protection of patients with renal insufficiency including pre-haemodialysis and haemodialysis patients. Expert Opin. Biol. Ther. 2008; 8: 235-47.
- [11] Kundi M. New hepatitis B vaccine formulated with an improved adjuvant system. Expert. Rev. Vaccines 2007 ; 6: 133-40.
- [12] Banzhoff A, Gasparini R, Laghi-Pasini F, Staniscia T, Durando P, Montomoli E, et al. MF59-adjuvanted H5N1 vaccine induces immunologic memory and heterotypic antibody responses in non-elderly and elderly adults. PLoS ONE 2009; 4, e4384.
- [13] Khurana S, Chearwae W, Castellino F, Manischewitz J, King LR, Honorkiewicz A, et al. Vaccines with MF59 adjuvant expand the antibody repertoire to target protective sites of pandemic avian H5N1 influenza virus. Sci. Transl. Med. 2010; 2: 15ra15.
- [14] Brewer JM. (How) do aluminum adjuvants work? Immunol. Lett. 2006; 102: 10-15.

- [15] Eisenbarth SC, Colegio OR, O'Connor W, Sutterwala FS, Flavell RA. Crucial role for the Nalp3 inflammasome in the immunostimulatory properties of aluminum adjuvants. *Nature* 2008; 453: 1122-26.
- [16] Li H, Nookala S, Re F. Aluminum hydroxide adjuvants activate caspase-1 and induce IL-1_α and IL-18 release. *J. Immunol.* 2007; 178: 5271-76.
- [17] Marrack P, McKee AS, Munks MW. Towards an understanding of the adjuvant action of aluminum. *Nat. Rev. Immunol.* 2009; 9: 287-93.
- [18] Global Advisory Committee on Vaccine Safety, report of meeting held 6-7 June 2012 WHO Weekly Epidemiological Record 2012, 30, 87, 277-88
- [19] Qureshi N, Takayama K, Ribi E. Purification and structural determination of nontoxic lipid A obtained from the lipopolysaccharide of *Salmonella typhimurium*. *J. Biol. Chem.* 1982; 257: 11808-815.
- [20] Didierlaurent AM, Morel S, Lockman L, Giannini SL, Bisteau M, Carlsen H, et al. AS04, an aluminum salt- and TLR4 agonist-based adjuvant system, induces a transient localized innate immune response leading to enhanced adaptive immunity. *J Immunol.* 2009;183(10): 6186-97.
- [21] Baldrige JR, McGowan P, Evans JT, Cluff C, Mossman S, Johnson D, Persing D. Taking a Toll on human disease: Toll-like receptor 4 agonists as vaccine adjuvants and monotherapeutic agents. *Expert Opin. Biol.Ther.* 2004; 4: 1129-38.
- [22] Casella CR, Mitchell TC. Putting endotoxin to work for us: monophosphoryl lipid A as a safe and effective vaccine adjuvant. *Cell Mol. Life Sci.* 2008; 65: 3231-40.
- [23] Giannini SL, Hanon E, Moris P, Van Mechelen M, Morel S, Dessy F, et al. Enhanced humoral and memory B cellular immunity using HPV16/18 L1 VLP vaccine formulated with the MPL/aluminum salt combination (AS04) compared to aluminum salt only. *Vaccine* 2006; 24: 5937-49.
- [24] Montomoli E, Piccirella S, Khadang B, Mennitto E, Camerini R, De Rosa A. Current adjuvants and new perspectives in vaccine formulation. *Expert Rev Vaccines.* 2011; 10(7):1053-61.
- [25] Global Advisory Committee on Vaccine Safety, report of meeting held December 2010. *Weekly Epidemiological Record* 2011; 5, 86, 37-44.
- [26] Relyveld EH, Ickovic MR, Hénocq E, Garcelon M. calcium phosphate adjuvanted allergens. *Ann. Allergy* 1985; 54(6): 521-29.
- [27] Gupta RK, Relyveld EH, Lindblad EB, Bizzini B, Ben-Efraim S, Gupta CK. Adjuvants--a balance between toxicity and adjuvanticity. *Vaccine.* 1993;11(3):293-306.
- [28] Gupta RK, Siber GR. Adjuvants for human vaccines--current status, problems and future prospects. *Vaccine.* 1995 Oct;13(14):1263-76. Review.
- [29] Khan Z, Combadière C, Authier FJ, Itier V, Lux F, Exley C, Mahrouf-Yorgov M, Decrouy X, Moretto P, Tillement O, Gherardi RK, Cadusseau J. Slow CCL2-dependent translocation of biopersistent particles from muscle to brain. *BMC Med.* 2013 Apr 4;11:99. doi: 10.1186/1741-7015-11-99.
- [30] Cox JC, Coulter AR. Adjuvants--a classification and review of their modes of action. *Vaccine.* 1997 Feb;15(3):248-56. Review.
- [31] Goto N, Kato H, Maeyama J, Shibano M, Saito T, Yamaguchi J, Yoshihara S. Local tissue irritating effects and adjuvant activities of calcium phosphate and aluminium hydroxide with different physical properties. *Vaccine.* 1997 Aug-Sep;15(12-13):1364-71.

- [32] Aggerbeck H, Heron I. Adjuvanticity of aluminium hydroxide and calcium phosphate in diphtheria-tetanus vaccines--I. *Vaccine*. 1995 Oct;13(14):1360-5.
- [33] Moser C, Metcalfe IC, Viret JF. Virosomal adjuvanted antigen delivery systems. *Expert Rev Vaccines* 2003; 2:189-96.
- [34] Moser C, Amacker M, Kammer AR, Rasi S, Westerfeld N, Zurbriggen R. Influenza virosomes as a combined vaccine carrier and adjuvant system for prophylactic and therapeutic immunizations. *Expert Rev Vaccines* 2007; 6:711-21.
- [35] RCP Epaxal (repertoire des médicaments, Ansm).
- [36] Bovier PA. Epaxal: a virosomal vaccine to prevent hepatitis A infection. *Expert Review Vaccines* 2008; 7:1141-50.
- [37] Van Der Wielen M, Vertruyen A, Froesner G, Ibáñez R, Hunt M, Herzog C, Van Damme P. Immunogenicity and safety of a pediatric dose of a virosome-adjuvanted hepatitis A vaccine: a controlled trial in children aged 1-16 years. *Pediatr Infect Dis J*. 2007 Aug; 26(8): 705-1.
- [38] Clarke PD, Adams P, Ibáñez R, Herzog C. Rate, intensity, and duration of local reactions to a virosome-adjuvanted vs. an aluminium-adsorbed hepatitis A vaccine in UK travellers. *Travel Med Infect Dis*. 2006 Dec;4(6):313-8. Epub 2006 Apr 18.
- [39] Herzog C, Hartmann K, Künzi V, Kürsteiner O, Mischler R, Lazar H, Glück R. Eleven years of Inflexal V - a virosomal adjuvanted influenza vaccine. *Vaccine*. 2009 Jul 16;27(33):4381-7. doi: 10.1016/j.vaccine.2009.05.029. Epub 2009 May 29.

5 - Toxicité de l'aluminium

5.1 - Composition, structure et physico-chimie des adjuvants aluminiques

Les deux principaux adjuvants utilisés de nos jours dans les vaccins sont l'hydroxyde d'aluminium et l'hydroxyphosphate d'aluminium. Le recours à l'hydroxyde d'aluminium est beaucoup plus important si l'on se réfère aux vaccins administrés dans le calendrier vaccinal français.

5.1.1 - Propriétés physico-chimique des adjuvants

Les méthodes physico-chimiques permettent de déterminer la structure des adjuvants ainsi que leur comportement en relation avec le pH de l'environnement. Comme énoncé précédemment, les adjuvants aluminiques utilisés sont l'hydroxyde d'aluminium : $\text{Al}(\text{OH})_3$, AlOOH et l'hydroxyphosphate d'aluminium : $\text{Al}(\text{OH})_x(\text{PO}_4)_y$.

La caractérisation physico-chimique de AlOOH repose sur :

- Mesure de la volumétrie d'absorption de gaz BET ;
- Détermination du point isoélectrique (potentiel zeta) ;
- Détermination de la taille des agrégats formés (Laser diffraction) ;
- Cristallinité structurale (Diffraction RX).

Il existe différents adjuvants d' AlOOH commercialisés comme : Alhydrogel , Rehydrogel HPA , Rehydrogel LV ... AlOOH utilisé est de type Boehmite, présentant une structure cristalline. La surface est composée de groupements hydroxyles et la charge globale surfacique à $\text{pH} = 7,4$ est positive. Le point de charge zéro est de 11,4. La capacité de liaison à des protéines est supérieure à 0,5 mg BSA/ mg d' AlOOH . La structure cristalline d' AlOOH se présente sous la forme de feuillets d'aluminium octaédriques qui s'organisent sous forme de plaquettes qui forment au final des agrégats de l'ordre du μm . La taille des particules élémentaires est de $4,5 \times 2,2 \times 10 \text{ nm}$ et les agrégats formés ont un diamètre moyen de 17 μm . La cohésion des agrégats se fait par le biais de liaisons hydrogène qui sont plus fortes que les interactions de type électrostatiques. La dissolution des agrégats ne peut s'effectuer qu'à une valeur de pH égale à 2, cela signifie que dans les conditions physiologiques cette dissolution ne peut intervenir.

$\text{Al}(\text{OH})_x(\text{PO}_4)_y$ utilisé comme adjuvant, a une structure amorphe. La surface est composée à la fois de groupes hydroxyles et de groupes phosphates. La charge globale surfacique à $\text{pH} = 7,4$ est négative. Le point de charge zéro de l'adjuvant dépend du rapport Al/P mais s'établit généralement sur une plage de pH comprise entre 4,6-5,6. La capacité de liaison à des protéines est supérieure à 0,6 mg BSA/ mg d' $\text{Al}(\text{OH})_x(\text{PO}_4)_y$. Les particules primaires ont un diamètre de 50 nm et les agrégats formés par ces particules ont un diamètre pouvant aller de 1-10 μm . Le diamètre des agrégats dépend de la composition élémentaire.

5.1.2 - Exemples d'adjuvants utilisés en France

➤ **Adjuvants utilisés par Sanofi Pasteur MSD**

Il s'agit de sulfate d'hydroxyphosphate d'aluminium amorphe qui est utilisé comme adjuvant rentrant dans la composition des vaccins HBVAXDNA® et Gardasil®. Sans adsorption d'antigène à leur surface, les particules d'aluminium sont sous forme d'agglomérats d'une taille 4-13 μm et sont composées de particules primaires d'un diamètre de 20-30 nm. Il faut noter que la taille des particules après injection et leur évolution au cours du temps est inconnue.

➤ **Adjuvants utilisés par Sanofi Pasteur**

Il s'agit de gels d'hydroxyde d'aluminium : gel Superfos et gel Reheis. La distribution de la taille des particules est $> 100 \text{ nm}$ et les particules « unitaires » forment des agrégats de 500 nm à 100 μm .

5.1.3 - Adsorption sur les adjuvants aluminiques

L'adsorption d'antigène sur les adjuvants se mesure par exemple par spectrophotométrie en utilisant la méthode BCA ou par des techniques d'immunoprécipitation. L'adsorption d'antigène sur un adjuvant est dépendante de différents paramètres tels que : la nature de l'adjuvant, la nature des interactions (hydrogènes, électrostatiques, van der Waals) adjuvant-antigène, la force ionique du milieu, le pH, le point isoélectrique, la charge de surface, le poids moléculaire de l'antigène... Comme indiqué dans le rapport de l'Académie nationale de médecine de 2012 : « C'est ainsi qu'un antigène vaccinal de poids moléculaire élevé et chargé négativement à pH 7 est capable de s'adsorber à la surface des agrégats du gel aluminique, mais sans pénétrer à l'intérieur de la structure. Ce phénomène d'adsorption a des impacts directs sur l'activité du vaccin. La compréhension de la composition et de la structure de l'adjuvant permet de prévoir si l'interaction antigènes-adjuvant se fera surtout en surface ou à l'intérieur des agrégats ou à l'inverse s'il l'on n'observera pas d'adsorption. »

De façon générale, il est considéré que l'adsorption est optimale dans une zone pH comprise entre le point isoélectrique de l'antigène et le point de charge zéro de l'adjuvant aluminique. Dans cet intervalle, l'adjuvant et l'antigène auront des charges électriques opposées permettant une meilleure attraction électrostatique et donc favorisant l'adsorption.

5.2 - Pharmacocinétique

5.2.1 - Aluminium non vaccinal

➤ Absorption

Les pourcentages d'absorption sont similaires par les voies respiratoire et digestive, de l'ordre de 0,1 à 1%. Cette absorption est conditionnée par la valeur du pH, par l'identité du sel d'aluminium en cause et par la spéciation, notamment les citrates et les silicates influencent l'absorption de manière contraire [1].

L'absorption cutanée de l'aluminium est généralement considérée comme faible. Une étude récente a été réalisée à la demande de l'Afssaps sur peau humaine *in vitro* avec plusieurs formulations de cosmétiques à base d'aluminium et selon les recommandations OCDE 428 et celles du SCCP. Il était conclu notamment que les quantités absorbées à l'issue des 24 h correspondant à l'absorption systémique de l'aluminium étaient négligeables (<0,03 % de la dose appliquée) quelle que soit la formulation ou l'état de la peau (normale ou strippée). Les quantités présentes dans les compartiments cutanés correspondant à l'aluminium absorbable susceptible de se retrouver dans la circulation systémique à partir du réservoir que constitue la peau étaient de 0,5 % (peau normale) et 18 % (peau strippée) de la dose appliquée. Le dernier cas correspond à un scénario maximalisant [2].

➤ Distribution

La charge en aluminium du corps humain, provenant de l'absorption quotidienne par voies digestive, pulmonaire, et cutanée, se répartit essentiellement dans le système osseux, les poumons et le foie. On retrouve également, mais en faible quantité, de l'aluminium dans le système nerveux central (SNC), et les systèmes hématopoïétique et immunitaire. La protéine de transport de l'aluminium est la transferrine [1].

Chez l'Homme, l'expérience des patients dialysés a montré que l'aluminium peut s'accumuler dans le squelette et dans le cerveau. Dans ce dernier organe, les concentrations en aluminium augmentent avec l'âge, et sont plus élevées dans la matière grise [1].

▪ Mécanismes impliqués dans le passage cérébral de l'aluminium

Dans le plasma, environ 91 % de l'aluminium (Al^{3+}) est lié à la transferrine, et 7-8 % se trouve sous la forme d'un complexe de citrate d'aluminium [3-4]. Deux mécanismes, au

moins, sont impliqués dans le passage de la barrière hémato-encéphalique (BHE) par l'aluminium :

- endocytose médiée par la récepteur de la transferrine (*Transferrin receptor-mediated endocytosis*, TfR-ME) : ce processus a été démontré *in vitro* sur cultures primaires de cellules de rat, et *in vivo* chez des rats en utilisant de l'aluminium marqué (^{26}Al) [5-6] ;
- transport actif (ATP-dépendant et sodium-indépendant) du citrate d'aluminium *via* un transporteur non identifié précisément à ce jour, mais qui serait l'un des transporteurs des monocarboxylates (MCT) ou l'un des transporteurs d'anion organique exprimés sur la BHE [4, 6-7].

Tandis que le TfR-ME est le mécanisme majoritairement impliqué dans le transport cérébral du fer, nécessaire au bon fonctionnement du cerveau, il n'en serait pas de même pour l'aluminium, en raison notamment de :

- une différence de liaison à la transferrine : les ions Fe^{3+} et Al^{3+} sont structurellement similaires et se lient à la transferrine. Cependant, la transferrine saturée par des ions Al^{3+} ou en présence d'une charge équimolaire d'ions Fe^{3+} et Al^{3+} n'interagit pas de façon optimale avec son récepteur TfR [4] ;
- l'entrée rapide d'aluminium dans le cerveau suite à l'injection IV de citrate d'aluminium, ce qui ne peut s'expliquer par le TfR-ME en supposant i) la saturation de la transferrine par l'aluminium ii) des valeurs de constantes d'influx (K_{in}) comparables pour le fer et l'aluminium par TfR-ME et iii) le confinement initial de l'aluminium dans le liquide extracellulaire cérébral [8] ;
- la capacité de l'aluminium non lié à la transferrine de pénétrer dans le cerveau par un mécanisme plus rapide que le TfR-ME. L'existence d'un transport autre que le TfR-ME est supportée par l'absence de différence significative de passage cérébral de l'aluminium chez des souris hypotransferrinémiques et témoins, et après pré-traitement par anticorps dirigé contre le récepteur de la transferrine (RI7 208) chez des souris traitées par du citrate d'aluminium [9].

Au final, il a été suggéré que le transporteur des monocarboxylates (MCT) sous-tend le passage de l'aluminium au travers de la BHE. L'aluminium peut former des liaisons de coordination avec les groupements carboxylates et le groupe hydroxyle du citrate, laissant un groupement hydroxylate terminal libre à pH physiologique. De plus, la vitesse de transport d'un substrat à travers la BHE par le biais du MCT est plus que suffisante pour expliquer la vitesse d'apparition de l'aluminium dans le cerveau (dialysat) après injection i.v. de citrate d'aluminium [8].

▪ **Perméabilité inter-espèces de la BHE**

Les mécanismes de transport détaillés ci-avant ont été décrits chez le rongeur. Des données indiquent qu'ils seraient pertinents chez l'Homme, au moins d'un point de vue qualitatif :

- TfR-ME : la transferrine est la seule protéine de liaison de l'aluminium dans le plasma humain ; approximativement 90% de l'aluminium (Al^{3+}) est lié à la transferrine [10]. De plus, le récepteur de la transferrine a été mis en évidence au niveau de la BHE humaine [4].
- Transport actif du citrate d'aluminium : dans le sérum humain, les principales espèces de bas poids moléculaire d'aluminium étaient le citrate, le phosphate, et des complexes tertiaires de citrate et de phosphate d'aluminium.

▪ **Passage cérébral de l'aluminium : aspects quantitatifs**

Une étude a été menée chez le rat pour quantifier le passage cérébral de l'aluminium depuis la circulation, pour estimer le temps de résidence de l'aluminium dans le cerveau, et pour évaluer si un traitement répété avec un chélateur de l'aluminium (desferrioxamine, DFO) peut en moduler la demi-vie cérébrale [3].

A cet effet, des rats mâles ont reçu par voie IV (perfusion de 1 heure) de l'²⁶Al-transferrine et ont été sacrifiés de 4 heures à 256 jours après administration (5-12/ temps de prélèvement). A partir du 3^{ème} jour après administration, la moitié des rats ont reçu de la DFO (0,15 mmol/kg, voie IP, 3 fois par semaine). Pour vérifier l'influence éventuelle de l'espèce chimique de l'²⁶Al sur les paramètres étudiés, 14 rats ont été traités de façon similaire avec du citrate d'²⁶Al et ont été sacrifiés de 4 heures à 4 jours après administration (4-5/temps de prélèvement). Le dosage de la concentration en ²⁶Al dans les échantillons de sérum et de tissu cérébral a été réalisé par spectrométrie de masse avec accélérateur de particules (*Accelerator Mass Spectrometry*, AMS).

Les principaux résultats sont les suivants :

- la concentration cérébrale maximale d'²⁶Al (C_{max} cérébrale) était de 0,005 % de la dose/g de tissu après administration d'²⁶Al-transferrine ou de citrate d'²⁶Al ;
- au 256^{ème} jour post-administration, les concentrations en ²⁶Al étaient de 30 % et 10 % cette C_{max} cérébrale chez des rats traités respectivement sans et avec DFO ;
- une diminution significative des concentrations cérébrales en ²⁶Al était associée à la DFO aux 64^{ème} et 128^{ème} jours post-administration ;
- la demi-vie cérébrale de l'²⁶Al était de 150 jours et de 50 jours chez des rats traités respectivement sans et avec DFO.

Les auteurs de l'étude ont revu les publications antérieures afin de quantifier le passage cérébral de l'aluminium depuis la circulation sanguine. Ils concluent qu'en conditions physiologiques chez le rat, ce passage est de 0,001-0,005 % par gramme de tissu cérébral. Cette valeur n'était pas influencée par la voie d'administration ou la forme chimique quand l'aluminium était administré sous forme soluble. Ils concluent également de leurs propres travaux que la clairance de l'aluminium cérébral est faible en l'absence de traitement chélateur.

➤ **Elimination**

La fraction d'aluminium effectivement absorbée est éliminée par voie rénale ; à l'arrêt de l'exposition, la cinétique de décroissance de la concentration urinaire est triphasique. Les faibles concentrations d'aluminium retrouvées dans les fèces après administration IV d'aluminium radioactif témoignent de l'existence d'un cycle entéro-hépatique [1].

5.2.2 - Adjuvants aluminiques

Une équipe de l'université de Purdue (Indiana, Etats-Unis) a conduit des études *in vitro* et *in vivo* pour mieux caractériser la cinétique des adjuvants aluminiques.

In vitro, des études de dissolution ont été effectuées avec le phosphate (AP) et l'hydroxyde (AH) d'aluminium. [11-12]. L'acide citrique a été utilisé comme représentant des acides α -hydroxy-carboxyliques à la concentration de 2,7 meq/L. Ce choix s'appuie sur le rationnel décrit ci-après. Les fluides interstitiels contiennent 7 acides organiques : 3 acides α -hydroxy-carboxyliques (citrique, lactique, malique), et les acides acétoacétique, α -cétoglutarique, pyruvique, et succinique. La concentration chaque acide n'est pas connue, mais la concentration totale en anions organiques varie de 3,4 à 7,0 meq/L, pour une concentration moyenne de 6,3 meq/L. Seuls les trois acides α -hydroxy-carboxyliques sont capables de chélater l'aluminium et donc de solubiliser des composés contenant de l'aluminium, et faisant l'hypothèse que chaque acide organique est présent à des concentrations identiques au niveau interstitiel, la concentration requise était de 2,7 meq/L ($6,3 \times 3/7$). L'acide citrique a été choisi comme modèle des acides α -hydroxy-carboxyliques.

Dans les conditions expérimentales utilisées, les résultats ont montré, que les deux adjuvants sont solubilisés par le citrate. Néanmoins, la cinétique de solubilisation est plus rapide pour le phosphate d'aluminium que pour l'hydroxyde d'aluminium.

In vivo, une étude a ensuite été conduite chez le lapin avec ces deux adjuvants marqués à l' ^{26}Al au cours de leur production par substitution du chlorure d' ^{27}Al par du chlorure d' ^{26}Al pendant lors de la phase de précipitation [12-13].

Une injection intramusculaire unique de 0,2 mL d'adjuvants AP et AH marqués à l' ^{26}Al (soit 4,5 ng ^{26}Al /0,85 mg Al) a été effectuée chez des lapins (2 femelles/adjuvant). Des échantillons sanguins et urinaires ont été recueillis pendant 28 jours, puis les animaux ont été sacrifiés. A la nécropsie, les tissus suivants ont été prélevés : cerveau, cœur, rein gauche, foie, ganglion lymphatique mésentérique, rate, os (fémur). Cependant, les échantillons d'os ont été dégradés au cours de leur préparation, ainsi que l'échantillon de tissu cérébral d'un des animaux du groupe AP. Les concentrations en ^{26}Al dans les échantillons urinaires, sanguins, et tissulaires ont ensuite été déterminées par spectrométrie de masse avec accélérateur de particules (*Accelerator Mass Spectrometry*, AMS).

Les principaux résultats sont les suivants :

- L'initiation de la solubilisation de l'aluminium à partir de l'adjuvant est rapide, comme cela a été mis en évidence par la détection d' ^{26}Al dans le sang dès le premier temps de prélèvement (1h post-injection). La vitesse d'absorption systémique était plus élevée pour AH que pour AP au cours des 24 premières heures suivant l'administration. A partir du second jour, la vitesse d'absorption systémique de l'aluminium était plus élevée chez les animaux ayant reçu AP que chez ceux ayant reçu AH, et les concentrations sanguines d'aluminium étaient relativement stables, indiquant une vitesse d'absorption relativement constante pour les deux adjuvants jusqu'à la fin de l'étude. Sur l'ensemble de l'étude (28 jours), 17 % (13-22) et 51 % (47-55) de l'aluminium injecté était absorbé à partir respectivement des adjuvants AH et AP.
- Le profil de distribution tissulaire de l' ^{26}Al était similaire indépendamment du type d'adjuvant injecté, et typique de ce qui était rapporté après administration d' ^{26}Al par d'autres voies : rein > rate > foie > cœur > ganglion lymphatique > cerveau. Sur un plan quantitatif, les concentrations d' ^{26}Al étaient en moyenne 2,9 fois supérieures dans chaque tissu chez les lapins traités avec l'adjuvant AP – cohérent avec les données d'exposition systémique.
- L'augmentation maximale de la concentration plasmatique en aluminium (0,85 mg) était de 2 ng/mL, soit environ 7 % de la concentration normale en aluminium chez le lapin (30 ng/mL).
- Par extrapolation, il est attendu que l'administration intramusculaire de la même dose d'adjuvants chez l'Homme induit une augmentation de la concentration plasmatique en aluminium d'environ 0,04 ng/mL, soit 0,8 % en considérant une valeur normale de 5 ng/mL.

Tableau 3 - Pharmacokinetic parameters after i.m. injection of ^{26}Al -containing aluminium hydroxide and aluminium phosphate adjuvants

Table 1 Pharmacokinetic parameters after i.m. injection of ^{26}Al -containing aluminium hydroxide and aluminium phosphate adjuvants

Adjuvant	AUC for 0–28 days (mg h g^{-1})	% Absorbed in 28 days	Cumulative aluminium in urine after 28 days (%)
<i>Aluminium hydroxide</i>			
Rabbit 1	2.0×10^{-4}	13	5.0
Rabbit 2	3.5×10^{-4}	22	6.2
Average	2.7×10^{-4}	17	5.6
<i>Aluminium phosphate</i>			
Rabbit 3	2.7×10^{-4}	47	10
Rabbit 4	8.7×10^{-4}	55	33
Average	8.1×10^{-4}	51	22

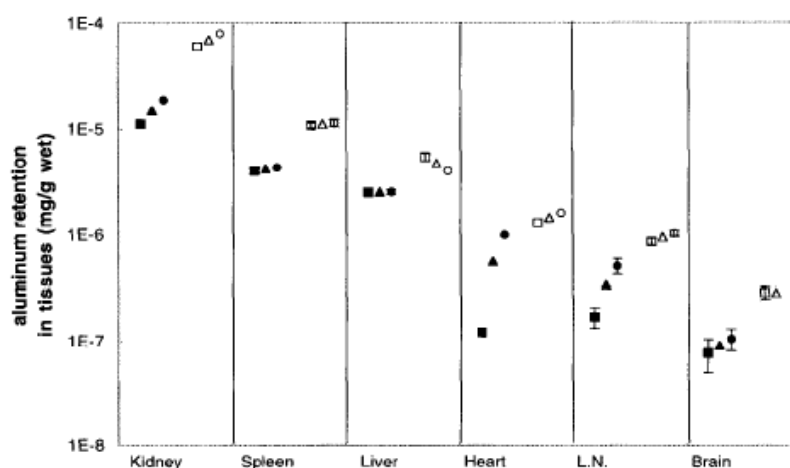


Figure 3 Aluminium tissue concentration 28 days after administration of ^{26}Al -labelled aluminium hydroxide adjuvant: ■, rabbit 1; ●, rabbit 2; ▲, mean; or aluminium phosphate adjuvant: □, rabbit 3; ○, rabbit 4; △, mean. L.N., lymph node. Error bars of <5% are not shown

Fig. 5 - Aluminium tissues concentration 28 days after administration of ^{26}Al -labelled aluminium hydroxide adjuvant

Conclusions et remarques : *in vitro*, il a été démontré que l'aluminium peut être solubilisé à partir d'un adjuvant aluminique (AH ou AP) par un acide organique à concentration physiologique. La vitesse de solubilisation dépend de la composition chimique, celle-ci s'est révélée plus élevée pour la forme AP que AH. Ceci a été confirmé *in vivo* chez le lapin après injection intramusculaire des deux adjuvants où l'évolution des concentrations sanguines d'aluminium marqué fut suivie sur une période de 28 jours. L'aluminium ainsi solubilisé est alors absorbé au niveau systémique et se distribue dans tous les organes étudiés, dont le cerveau qui présentait néanmoins les concentrations tissulaires les plus faibles (10^{-8} - 10^{-7} mg/g). La biodisponibilité de la forme AP était par ailleurs plus élevée que celle de la forme AH, ce qui est cohérent avec les études de dissolution *in vitro*.

Parmi les faiblesses de cette étude, il faut noter :

- le faible nombre d'animaux (2 femelles/adjuvant) ;
- la dégradation des échantillons osseux durant leur préparation, alors qu'il est connu que le squelette concentre des quantités significatives d'aluminium distribué au plan systémique [3,6] ;
- la dégradation d'un échantillon de tissu cérébral dans le groupe traité par AP. Au regard de la question de la distribution de l'aluminium vaccinal à ce niveau, il s'agit d'un aspect à souligner d'autant plus qu'il s'agit de l'adjuvant pour lequel les concentrations tissulaires en aluminium étaient les plus élevées après 28 jours ;
- l'absence de détermination de la concentration en aluminium dans le muscle injecté ; sur la base des données de cinétique obtenues (tableau 1), on peut estimer qu'il demeure au site d'injection, et au maximum, 83 % et 49 % de la dose d'aluminium administrée 28 jours après l'injection d'AH et d'AP, respectivement ;
- l'utilisation de l'adjuvant seul, alors que les patients sont exposés à un couple antigène-adjuvant.

Parmi les forces de cette étude, il faut noter :

- l'injection d'adjuvants vaccinaux marqués à l'²⁶Al et son dosage par AMS. Cette méthode permet de doser spécifiquement l'aluminium injecté, et donc de s'affranchir :
 - des problèmes de contamination des échantillons par de l'aluminium exogène ;
 - **de la question du mécanisme sous-tendant la pénétration de l'aluminium dans le cerveau, après passage systémique ou *via* les macrophages tissulaires.** Il est en effet établi que l'aluminium systémique peut pénétrer dans le cerveau par au moins deux mécanismes, comme décrit au paragraphe « Distribution ». Par ailleurs, il est également avancé que l'aluminium phagocyté au site d'injection peut pénétrer dans le cerveau via les macrophages – hypothèse du « cheval de Troie » [14].
- La cohérence des résultats obtenus, le profil de distribution de l'²⁶Al étant similaire à celui obtenu par exposition via d'autres voies d'administration.

5.3 - Toxicodynamie

5.3.1 - Résumé des effets toxiques de l'aluminium

➤ **Chez l'animal**

▪ **Système nerveux central**

Le système nerveux central est l'un des organes le plus sensible à la toxicité de l'aluminium.

La neurotoxicité de l'aluminium après administration orale se manifeste essentiellement par des modifications neurocomportementales, ainsi que des changements histopathologiques et biochimiques, en l'absence d'encéphalopathie ou de lésion du tissu cérébral. La modification de la performance des animaux traités réside principalement en une diminution de l'activité et de la coordination motrices, une altération des sensibilités et un défaut d'apprentissage. Les changements histopathologiques se manifestent par des phénomènes de vacuolisation cytoplasmique et/ou nucléaire, de dégénérescence neuronale, dans certaines régions du cerveau telles que le cortex cérébral, l'hippocampe ou la base du cerveau. Les modifications biochimiques, suite à l'administration orale d'aluminium, concernent entre autres la cascade des seconds messagers, la peroxydation des lipides ou les activités enzymatiques cholinergiques [1].

Seules les voies d'exposition inhabituelle (intrarachidienne, intracérébrale), ou bien l'administration parentérale, conduisent chez l'animal, à une encéphalopathie progressive, associée, au niveau de la moelle épinière, du tronc cérébral et de

certaines parties de l'hippocampe, à la présence de dégénérescences neurofibrillaires. Ces lésions de dégénérescence neurofibrillaires, sont toutefois morphologiquement et biochimiquement distinctes de celles que l'on observe dans la maladie d'Alzheimer [1].

▪ **Effets osseux**

La toxicité osseuse de l'aluminium est reconnue chez l'animal. Les effets observés consistent au niveau histopathologique en des lésions caractérisant une ostéomalacie (rat, chien, porc) ou une *Adynamic bone disease* (ABD) (rat). La plupart des études étaient conduites par voie parentérale (IV ou IP). Les données montrent que l'insuffisance rénale semble être un facteur déterminant mais inconstant de l'impact de l'aluminium sur le tissu osseux. Le mécanisme sous-tendant ces effets n'est pas connu mais il apparaît que la toxicité osseuse de l'aluminium est en partie liée à la difficulté d'incorporation du calcium dans l'hydroxyapatite en raison de la présence d'un dépôt d'aluminium [1].

▪ **Effets respiratoires**

Par inhalation, des effets respiratoires (lésions granulomateuses) ont été observés chez le rat, le hamster, et le cobaye. Cependant, il n'a pu être clairement établi si ces effets sont liés à un effet direct de l'aluminium sur le tissu pulmonaire ou à un effet indirect en lien avec une surcharge en poussières [15].

▪ **Effets hématopoïétiques**

Selon l'InVS, Les études animales ont pu mettre en évidence lors d'expositions à long terme par voie orale, l'existence d'une altération de l'érythropoïèse ; elle relève à la fois d'une action directe sur les érythrocytes circulants et d'une interférence avec le métabolisme cellulaire ferrique dans les progéniteurs érythroïdes. Ainsi, chez le rat exposé à ≥ 230 mg Al/kg/jour pendant 8 mois, une altération de l'érythropoïèse et des dommages érythrocytaires (diminutions de l'hémoglobine et de l'hématocrite, fragilité osmotique et altérations morphologiques des érythrocytes) étaient rapportés [15].

▪ **Effets locaux après injection intra-musculaire (IM) – aluminium vaccinal**

Une injection de GenHevac® (250 µL), un vaccin contre l'hépatite B adjuvanté avec de l'hydroxyde d'aluminium, a été pratiquée dans le muscle tibial antérieur de quatre rats Sprague-Dawley adultes [16]. Les animaux ont été sacrifiés 7, 14, 21, et 28 jours après injection. Des coupes histologiques de tissu musculaire prélevé à proximité et à distance du site d'injection ont été préparées et examinées par microscopie optique et électronique. Les résultats indiquent, à J7 et J15 au point d'injection la présence d'une zone nécrotique contenant des fibres musculaires endommagées et des neutrophiles, entourée d'un nombre abondant de macrophages et lymphocytes. A J21 et J28, la lésion progressait vers une lésion mature consistant dans l'endomysium en une infiltration focale de macrophages à large cytoplasme finement granuleux et PAS+, en l'absence de dommage des fibres musculaires ou de cellules géantes. L'image est rapportée comme étant très similaire à l'infiltrat macrophagique de la MFM. Dans ces macrophages, l'examen par microscopie électronique a montré la présence d'inclusions cristallines osmiophiles similaires à celles de la MFM. En revanche, l'examen histologique des tissus musculaires à distance du site d'injection n'a pas montré d'anomalies [16].

Deux groupes de 12 singes recevant un vaccin diphtérie-tétanos adjuvanté avec de l'hydroxyde d'aluminium ou du phosphate d'aluminium. Après 3, 6 ou 12 mois, quatre singes de chaque groupe ont été sacrifiés. La lésion, focalisée et identique à celle observée chez l'homme a été observée jusqu'à trois mois avec le phosphate d'aluminium et 12 mois avec l'hydroxyde d'aluminium [17].

Ces deux études ont appuyé la reconnaissance de l'induction d'une lésion histologique dénommée myofasciite à macrophages suite à l'injection d'un vaccin contenant un

adjuvant aluminique chez l'Homme. On note également que la persistance démontrée chez le singe de la lésion jusqu'à trois mois avec le phosphate d'aluminium, et 12 mois avec l'hydroxyde d'aluminium, est cohérent avec les données de cinétique obtenues *in vitro* et *in vivo* avec des adjuvants aluminiques.

➤ **Chez l'Homme**

▪ **Système nerveux central**

Il a été démontré que l'accumulation d'aluminium dans l'organisme humain et notamment dans la substance grise cérébrale, peut générer des effets neurologiques de type encéphalopathie dans des circonstances d'exposition particulières qui permettaient l'accumulation de fortes quantités d'aluminium ou le contact direct avec le liquide céphalo-rachidien. C'est le cas notamment des patients insuffisants rénaux dialysés. En population générale, aucune publication n'a signalé de cas d'encéphalopathie liés à l'ingestion d'aluminium, y compris lors de traitements oraux par anti-acides contenant de l'aluminium ou lors de circonstances accidentelles [1].

Si l'imputabilité de l'aluminium vis à vis de perturbations des fonctions neurologiques à type de troubles psychomoteurs reste difficile à mettre en évidence en population générale et chez les sujets dialysés, le niveau de preuve retrouvé dans les professions exposées semble en revanche plus important [1]. Une association était suggérée entre l'exposition professionnelle à l'aluminium (poussières, fumées, poudre McIntyre, etc.) et des effets neurologiques à type d'altération des performances psychomotrices et cognitives lors de tests de neurocomportementaux. A l'exception de quelques cas isolés, l'exposition par inhalation n'a pas été associée à des symptômes manifestes de neurotoxicité [15].

Une baisse de score du développement mental (index de Bayley) a été mise en évidence à l'âge de 18 mois chez des enfants nés prématurément et ayant reçu à la naissance une nutrition parentérale prolongée (supérieure à 10 jours), avec des solutions standard exposant à 45 µg/kg/jour d'aluminium. Il était rapporté une diminution de 1 point de score par jour de nutrition parentérale. Le score de Bayley était significativement plus élevé chez des enfants recevant une nutrition parentérale avec des solutions déplétées en aluminium exposant à 4-5 µg/kg/jour [18].

▪ **Effets osseux**

Un dépôt excessif d'aluminium au sein du squelette peut conduire à l'instauration d'un syndrome, communément appelé *Aluminum-Induced Bone Disease* ou AIBD, qui présente chez l'homme deux types d'expressions histologiques :

- l'ostéomalacie, caractérisée par des lésions présentant de larges cicatrices du tissu osseux, peu d'ostéoblastes et ostéoclastes, suggérant un défaut primaire de minéralisation ;
- l'*Adynamic Bone Disease* ou ABD, dont la largeur des cicatrices du tissu osseux est normale ou diminuée, et le nombre d'ostéoclastes et ostéoblastes considérablement réduit. Cette diminution est caractérisée par un défaut primaire de formation osseuse, accompagnée secondairement par une réduction de la minéralisation [1].

Les nouveau-nés prématurés exposés à de l'aluminium par le biais de leur nutrition parentérale auraient une diminution de la masse osseuse au niveau des lombaires et de la hanche à l'adolescence [19]. Il s'agissait d'un suivi à 15 ans des enfants inclus dans l'étude visant à évaluer l'impact à 18 mois d'une exposition parentérale à l'aluminium sur le développement mental [18]. Il s'agit, selon les auteurs, de facteurs de risque potentiels de survenue d'ostéoporose et de fracture de hanche à un âge plus avancé. Il est néanmoins précisé que ces résultats mériteraient d'être confirmés dans de plus larges études.

▪ **Effets respiratoires**

Chez les travailleurs exposés à des poussières ou des fumées d'aluminium, des effets à type d'atteinte de la fonction et fibrose pulmonaires étaient observés ; cependant, ils n'étaient pas rapportés de façon cohérente entre études, et il était possible qu'une co-exposition à d'autres composés ait pu contribuer aux effets rapportés [15].

▪ **Effets hématopoïétiques**

Les études cliniques soulignent la prévalence d'une anémie microcytaire hypochrome chez les insuffisants rénaux chroniques présentant une charge importante en aluminium alors que les patients insuffisants rénaux dialysés présentent habituellement une anémie normochrome normocytaire. La sévérité de l'anémie est corrélée aux niveaux plasmatiques et érythrocytaires en aluminium ; cette anémie est réversible à l'arrêt de l'exposition en aluminium et lors de traitements chélateurs de l'aluminium. Ce type d'effet n'a pas été observé chez l'homme ou l'animal présentant une fonction rénale normale [1].

▪ **Effets locaux après injection IM – aluminium vaccinal**

La MFM est une entité histologique décrite initialement en 1998 à l'examen de biopsies du muscle deltoïde réalisées chez 14 patients. Au plan histologique, la lésion MFM est caractérisée spécifiquement par une infiltration centripète de l'épimysium, du perimysium, et de l'endomysium périfasciculaire par des macrophages non épithélioïdes à large cytoplasme basophile contenant des granulations positives à l'acide périodique-réactif de Schiff (PAS), et porteurs en microscopie électronique d'inclusions cristallines spiculées osmiophiles. Il n'était pas noté de lésion myocytaire notable, ni de lésion de type nécrotique [20-22]. L'étude de la nature chimique des inclusions cristallines présentes dans les macrophages a montré qu'elles sont constituées de sels d'aluminium [16, 23].

Les sels d'aluminium sont utilisés comme adjuvants dans un certain nombre de vaccins. Le siège des lésions correspondant à l'endroit où sont habituellement injectés les vaccins, l'hypothèse a été faite que la MFM serait une réaction habituelle à l'injection intramusculaire de vaccins contenant de l'aluminium [23-24].

Comme rapporté ci-avant, des études conduites chez le rat et le singe ont appuyé la reconnaissance chez l'Homme de l'association entre l'injection de vaccins aluminiques et la survenue d'une lésion histologique MFM. Cependant, une association entre la vaccination et un « syndrome clinique MFM » qui inclurait des myalgies, arthralgies, une faiblesse musculaire, asthénie ou fièvre, et des manifestations relevant d'une atteinte du système nerveux central, principalement des troubles des fonctions cognitives n'est pas établie. Notons que la notion d'atteintes du SNC apparaît à partir de 2001 dans les publications de l'équipe de R. Gherardi [20,25], et n'a été évoquée qu'à partir de 2008 au cours du suivi des travaux de R. Gherardi par l'Afssaps [26].

5.3.2 - Valeurs toxicologiques de référence

Les doses seuils suivantes relatives aux effets systémiques ont été déterminées pour une administration chronique parentérale [27] :

- dose non toxique et n'induisant pas d'accumulation tissulaire d'aluminium : 1 à 2 µg/kg/jour ;
- dose sans toxicité documentée et induisant une accumulation tissulaire d'aluminium : 15 à 30 µg/kg/jour ;
- dose toxique (ostéomalacie) et induisant une accumulation tissulaire d'aluminium : 60 µg/kg/jour.

Notons que les niveaux considérés comme sans risque (1-2 µg/kg/jour) et toxique (60 µg/kg/jour) sont cohérents avec les résultats issus de l'étude montrant une baisse de score du développement mental (index de Bailey) chez des enfants âgés de 18 mois exposés au cours de leur prématurité à l'aluminium par le biais de la nutrition parentérale à hauteur de 45 µg/kg/jour. L'effet était significatif par rapport aux enfants recevant des solutions déplétées en aluminium, pour un apport induit de 4-5 µg/kg/jour [18].

5.4 - Résumé des travaux expérimentaux conduits par l'équipe de R. Gherardi, et position de l'ANSM

Comme rappelé ci-avant, la MFM est une entité histologique décrite initialement en 1998 chez des patients présentant des myalgies, arthralgies, une faiblesse musculaire, asthénie ou fièvre [20-21,28]. S'il est reconnu un lien entre l'injection d'un vaccin aluminique et la présence au site d'injection de cette lésion histologique, l'équipe à l'origine de la découverte de cette lésion MFM établit également un lien, non reconnu, entre cette entité histologique MFM et un syndrome clinique systémique comportant fatigue chronique, myalgies et arthralgies [25]. Depuis la publication initiale de l'équipe de R. Gherardi, une attention particulière a été portée par l'agence à cette problématique et aux conséquences sanitaires potentielles comme en témoignent la réalisation d'une étude épidémiologique, comme rapporté par le conseil scientifique de l'Afssaps et le Comité consultatif mondial sur la sécurité des vaccins [22,24,29], ou la tenue de diverses réunions au sein de l'Afssaps auxquelles R. Gherardi a participé pour partie. Les travaux ont évolué à partir de 2008, lorsque pour la première fois R. Gherardi fait état de l'inclusion de troubles cognitifs dans le syndrome clinique MFM [26]. C'est sur cette problématique que s'est ensuite focalisé le suivi par l'agence des travaux de R. Gherardi jusqu'au dépôt en 2012 puis en 2013 de deux demandes de financement d'appel à projets de recherche auprès de l'ANSM sur la thématique « Transport particulaire systémique par le phagocyte : sécurité des adjuvants vaccinaux ».

En janvier 2008, R. Gherardi a présenté à l'agence des résultats expérimentaux et un projet d'études non-cliniques visant à appréhender le potentiel toxique de l'aluminium vaccinal, notamment par le biais d'investigations pharmacocinétiques ayant pour but de mieux caractériser la distribution tissulaire de l'aluminium particulaire [26]. Les principaux résultats présentés par R. Gherardi suivi des remarques du groupe de travail préclinique de la commission d'AMM de l'Afssaps sont résumés ci-après.

- L'injection intramusculaire de vaccin (0, 10 ou 36 µL) chez la souris entraîne la présence d'aluminium en quantité significativement supérieure au contrôle dans le cerveau des animaux. La concentration moyenne d'aluminium allait jusqu'à 8 µg/mg de tissu cérébral (aluminium sous forme physico-chimique indéterminée).
Il fut noté par le groupe de travail préclinique que la teneur cérébrale en aluminium rapportée chez les souris traitées (8 µg/mg) correspond, sur la base d'un poids de cerveau murin de 400 mg, à une dose d'aluminium de 3,2 mg, ce qui est supérieur à la quantité maximale administrable. A titre de comparaison, d'après une revue publiée en 2007, la concentration courante en aluminium dans le cerveau humain serait de 2 µg/g de tissu, contre 23 µg/g chez les personnes ayant présenté une encéphalopathie liée à la dialyse [30]. Pour information, cela correspondrait à des quantités de 2,6 et 30 mg d'aluminium, respectivement, pour un poids moyen de cerveau de 1,3 kg. Au-delà de ces chiffres se pose la question de l'homogénéité de distribution de l'aluminium dans le cerveau et de la forme, soluble ou particulaire.
- Afin d'étudier la distribution de l'aluminium vaccinal, des billes de latex fluorescentes de 500 nm de diamètre ont été utilisées comme traceur. Ces billes ont été mélangées au préalable au vaccin, puis l'ensemble a été injecté par voie intramusculaire chez le rongeur. Le choix de billes comme traceur est justifié par R. Gherardi par le fait que l'aluminium à tracer se présente sous forme particulaire, qu'il suit donc *a priori* un

cheminement identique aux billes, et par le fait qu'il n'existe pas d'isotope radioactif de l'aluminium d'activité suffisante pour permettre d'étudier aisément sa distribution de manière plus « classique ». L'analyse de la fluorescence à partir de coupes histologiques réalisées 4 et 21 jours après l'injection indique la présence des billes dans les ganglions lymphatiques drainants dès le 4^{ème} jour, ainsi que dans la rate, le foie et le cerveau après 21 jours. L'analyse du microenvironnement proche des billes par une méthode de fluorescence X a montré la présence de particules d'aluminium.

Il fut indiqué par le groupe de travail préclinique que l'utilisation de billes de latex modifie très probablement les caractéristiques de distribution de l'aluminium, au travers notamment d'une adsorption possible de l'aluminium sur les billes de latex.

- Dans un modèle murin permettant de tracer les monocytes-macrophages provenant de la moelle osseuse², il a pu être visualisé d'une part la migration de monocytes-macrophages issus de la moelle osseuse vers le cerveau (après passage de la BHE), et d'autre part l'inclusion de billes de latex administrées par voie intramusculaire dans les macrophages issus de la moelle osseuse. Sur la base de ces résultats, le Pr Gherardi émet l'hypothèse du transfert de particules par les macrophages, depuis le point d'injection vers le cerveau.

Le groupe de travail préclinique a considéré que ces résultats ne permettaient pas de relier les deux constats montrant d'une part des macrophages qui phagocytent *in situ* des particules et d'autre part des monocytes migrant dans le cerveau. L'hypothèse d'une migration des macrophages locaux vers le cerveau n'était cependant pas exclue, et il avait été précisé qu'elle pourrait être approfondie à l'aide de ce modèle, ainsi que le proposait R. Gherardi.

En résumé, il a été considéré en janvier 2008, sur la base des résultats présentés, que la poursuite des études expérimentales mises en œuvre pourrait permettre de mieux caractériser la distribution de l'aluminium vaccinal administré par voie intramusculaire. Quelques réserves ont été émises quant à :

- l'absence de mise en perspective de la concentration cérébrale d'aluminium mesurée chez la souris par rapport aux quantités administrables et celles potentiellement présentes dans le cerveau humain chez des personnes présentant et ne présentant pas d'encéphalopathie ;
- la pertinence de l'utilisation de bille de latex comme traceur de l'aluminium ;
- la pertinence du modèle animal pour caractériser, au delà des paramètres pharmacocinétiques, des altérations neurologiques similaires à celles qui caractériseraient le syndrome MFM.

En octobre 2010, R. Gherardi a de nouveau été reçu à l'Afssaps pour présenter les résultats d'études expérimentales supplémentaires mises en œuvre depuis 2008 [14]. Il était rapporté que chez le rongeur, des particules d'aluminium-rhodamine (Al-Rho) injectées par voie IM pouvaient être transférées sous formes d'agrégats dans d'autres tissus de l'organisme, notamment le cerveau. Ce transport s'effectuerait par le biais des macrophages, ceux-ci migrant dans les tissus par chimiotactisme. Des investigations complémentaires ont montré que des différences phénotypiques induites expérimentalement au niveau du gène MCP1, dont le produit d'expression est impliqué dans le chimiotactisme, modifiaient ce transfert. Par ailleurs, il était rapporté que la distribution de particules Al-Rho était augmentée chez des souris présentant une BHE plus perméable (souris *mdx*). Au regard de ces résultats expérimentaux, R. Gherardi évoque un mécanisme de type « cheval de Troie » dépendant de MCP-1 sous-tendant la translocation cérébrale de particules injectées par voie IM via les macrophages. La question sous jacente est la possible implication, si elles s'accumulent, des

² Souris irradiées transplantées avec une moelle osseuse provenant d'une souris transgénique produisant de manière constitutive la protéine fluorescente GFP (green fluorescent protein) au sein notamment des cellules de la moelle osseuse.

particules transloquées au niveau cérébral dans la survenue d'une neurotoxicité due à l'aluminium.

L'Afssaps a identifié des biais concernant les données présentées, comme explicité ci-dessous [14] :

- le matériau utilisé (particules Al-Rho) comme modèle de particule d'aluminium n'est pas considéré comme représentatif de l'aluminium utilisé comme adjuvant vaccinal ;
- la démonstration d'un signal montrant la présence des particules d'aluminium administrées par voie IM n'est pas optimale. En effet, la détection repose sur un marquage par la rhodamine et on peut se demander si l'aluminium est toujours relié au noyau de rhodamine après biodistribution. Il n'y a par ailleurs pas de double marquage dans les études, mais une double révélation dont la spécificité et la qualité peuvent être mises en doute. La coloration de Morin ne possède pas la spécificité des techniques modernes actuellement accessibles pour ce type d'études ;
- l'établissement d'un lien de causalité entre un polymorphisme génétique sur MCP-1 en relation avec les troubles cognitifs reste périlleux de part la complexité de l'étude à mettre en place et le peu de connaissance qui existe encore sur ces polymorphismes. L'expérience de perte de fonction de MCP-1 ne permet pas de distinguer si la perte de fonction porte sur le recrutement primaire de monocytes-macrophages dans le muscle injecté et/ou sur la translocation secondaire vers le cerveau et les autres organes. Pour différencier les deux effets, il serait utile d'étudier le recrutement cérébral de macrophages chargés de particules chez la souris déficiente. Sur base des données disponibles, il n'est pas possible d'affirmer que le mécanisme de cheval de Troie qui gouverne la translocation cérébrale des particules est MCP-1 dépendant ;
- les expériences menées chez des animaux dont l'intégrité de la BHE est déficiente montre qu'une perméabilité accrue peut amplifier le phénomène mais pas que la BHE est impliquée dans la translocation ;
- il n'a pas été montré de spécificité chimique du phénomène de translocation. D'autres métaux ou particules, pourraient subir le même phénomène. Ceci est illustré par le fait que les particules de latex utilisées dans les expériences précédentes subissent également ce transfert ;
- la relation entre la présence, le cas échéant, d'inclusions d'aluminium dans le SNC ne signe pas l'existence automatique d'un risque: le lien avec une « neurotoxicité » reste actuellement du domaine de l'hypothèse. De plus, la recherche d'une relation dose-effet est indispensable pour permettre une évaluation du risque. En outre, R. Gherardi a indiqué que la concentration de particules qui s'accumule au niveau du cerveau est très faible, mais ne l'a pas quantifiée.

Aucune investigation concernant des effets toxiques éventuels consécutifs à la présence de particules dans le cerveau des animaux n'a été effectuée dans ce programme d'études. Elles visaient uniquement à étudier la biodistribution, en particulier cérébrale, des particules d'aluminium et les mécanismes impliqués.

De plus, la problématique concerne le cas particulier des adjuvants aluminiques des vaccins et non des particules aluminiques seules. En aucun cas, il n'a été considéré la relation particulière antigène-adjuvant dans les études visant à faire reconnaître un syndrome clinique MMF.

Suite à la création de l'ANSM, R. Gherardi a déposé deux demandes de financement d'appel à projets de recherche en 2012 et 2013 auprès de l'ANSM. Le détail relatif à la politique des appels à projets de recherche de l'ANSM est consultable à l'adresse suivante : <http://ansm.sante.fr/L-ANSM2/Appels-a-projets-de-recherche/Politique-des-appels-a-projets-de-recherche/%28offset%29/2>.

Références

- [1] InVS, Afssa, and Afssaps, Evaluation des risques sanitaires liés à l'exposition de la population française à l'aluminium. Eaux, aliments, produits de santé. 2003, Institut de veille sanitaire, Agence française de sécurité sanitaire des aliments, Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé : Saint-Maurice. p. 192.
- [2] Afssaps, Évaluation du risque lié à l'utilisation de l'aluminium dans les produits cosmétiques. 2011, Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé: Saint-Denis.
- [3] Yokel RA, *et al.*, Entry, Half-Life, and Desferrioxamine-Accelerated Clearance of Brain Aluminum after a Single ²⁶Al Exposure. *Toxicological Sciences*, 2001; 64(1): 77-82.
- [4] Kozowski H, *et al.* Blood-Brain Barrier and routes of entry of metal ions into the brain. Metal ion transporters and distribution in the brain. Iron and Aluminium, in *Metallochemistry of Neurodegeneration: Biological, Chemical and Genetic Aspects*. 2006; Royal Society of Chemistry. p. 14-16.
- [5] Yokel RA, *et al.* Brain aluminium clearance is slow. *The Toxicologist*, 2000; 54(1): 35.
- [6] Priest ND. The biological behaviour and bioavailability of aluminium in man, with special reference to studies employing aluminium-26 as a tracer: review and study update. *Journal of Environmental Monitoring*, 2004; 6(5): 375-403.
- [7] Allen DD, Orvig C, Yokel RA. Evidence for energy-dependent transport of aluminum out of brain extracellular fluid. *Toxicology* 1995; 98(1-3): 31-9.
- [8] Allen DD, Yokel RA. Dissimilar aluminum and gallium permeation of the blood-brain barrier demonstrated by in vivo microdialysis. *J Neurochem* 1992; 58(3): 903-8.
- [9] Radunovic A, *et al.* Uptake of ²⁶-Al and ⁶⁷-Ga into brain and other tissues of normal and hypotransferrinaemic mice. *Biometals* 1997; 10(3): 185-91.
- [10] Milačič R, Murko S, Ščančar J. Problems and progresses in speciation of Al in human serum: An overview. *Journal of Inorganic Biochemistry* 2009; 103(11): 1504-13.
- [11] Seeber SJ, White JL, Hem SL. Solubilization of aluminum-containing adjuvants by constituents of interstitial fluid. *J Parenter Sci Technol* 1991; 45(3): 156-59.
- [12] Hem SL. Elimination of aluminum adjuvants. *Vaccine* 2002; 20, Supplement 3(0): S40-S43.
- [13] Flarend RE, *et al.* In vivo absorption of aluminium-containing vaccine adjuvants using ²⁶Al. *Vaccine* 1997; 15(12-13): 1314-18.
- [14] Afssaps. Myofasciite à macrophages, vaccin, aluminium. in Groupe ad hoc du 13 octobre 2010. 2010. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, Saint-Denis.
- [15] ATSDR, Toxicological profile for aluminium. 2008, Agency for Toxic Substances and Disease Registry: Atlanta.
- [16] Gherardi RK, *et al.* Macrophagic myofasciitis lesions assess long-term persistence of vaccine-derived aluminium hydroxide in muscle. *Brain* 2001; 124(9): 1821-31.
- [17] Verdier F, *et al.* Aluminium assay and evaluation of the local reaction at several time points after intramuscular administration of aluminium containing vaccines in the Cynomolgus monkey. *Vaccine* 2005; 23(11): 1359-67.
- [18] Bishop NJ, *et al.* Aluminum neurotoxicity in preterm infants receiving intravenous-feeding solutions. *N Engl J Med* 1997; 336(22): 1557-61.
- [19] Fewtrell MS, *et al.* Aluminum Exposure From Parenteral Nutrition in Preterm Infants: Bone Health at 15-Year Follow-up. *Pediatrics* 2009; 124(5): 1372-79.

- [20] HCSP. La myofasciite à macrophages (MFM): revue de la littérature. 2012, Haut Conseil de la santé publique : Paris.
- [21] Gherardi RK, *et al.* Macrophagic myofasciitis: an emerging entity. Groupe d'études et recherche sur les maladies musculaires acquises et dysimmunitaires (Germmad) de l'Association française contre les myopathies (AFM). Lancet 1998; 352(9125): 347-52.
- [22] Afssaps. Myofasciite à macrophages. in Conseil Scientifique (2004-006), Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, 2004. Saint-Denis.
- [23] Vaccine Safety Advisory Committee, Macrophagic myofasciitis and aluminium-containing vaccines. WHO, Weekly Epidemiological Record 1999; 74: 337-48.
- [24] Global Advisory Committee on Vaccine Safety, Aluminium-containing vaccines and macrophagic myofasciitis. WHO, Weekly Epidemiological Record 2002; 77: 389-404.
- [25] Académie Nationale de Médecine, Les adjuvants vaccinaux : quelle actualité en 2012 ? 2012, Académie Nationale de Médecine : Paris.
- [26] Afssaps. Aluminium vaccinal et myofasciite à macrophages. in Groupe de travail préclinique no.151 du 30 janvier 2008 de la Commission d'autorisation de mise sur le marché. 2008. Saint-Denis: Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé.
- [27] Klein GL, *et al.* Parenteral drug products containing aluminum as an ingredient or a contaminant: response to FDA notice of intent. ASCN/ASPEN Working Group on Standards for Aluminum Content of Parenteral Nutrition Solutions. Am J Clin Nutr 1991; 53(2): 399-402.
- [28] Afssaps. Sécurité d'utilisation de l'aluminium vaccinal. in Groupe de travail préclinique no.113 de la Commission d'autorisation de mise sur le marché. 2005. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, Saint-Denis.
- [29] Global Advisory Committee on Vaccine Safety, Aluminium-containing vaccines and macrophagic myofasciitis. WHO, Weekly Epidemiological Record 2004; 79: 13-24.
- [30] Goncalves PP, Silva VS. Does neurotransmission impairment accompany aluminium neurotoxicity? J Inorg Biochem 2007; 101(9): 1291-338.
- [31] Chretien F, *et al.* In vivo fusion of circulating fluorescent cells with dystrophin-deficient myofibers results in extensive sarcoplasmic fluorescence expression but limited dystrophin sarcolemmal expression. Am J Pathol 2005; 166(6): 1741-48.

6 - Liste des vaccins du calendrier vaccinal

Cette liste figure en Annexe 1.

7 - Recommandations

Au total, le Haut Conseil de la santé publique constate que :

- **la plupart des vaccins inactivés et sous unitaires utilisés dans le monde contiennent des adjuvants qui conditionnent leur efficacité ;**
- **l'aluminium est l'adjuvant majoritairement utilisé ;**
- **les sels d'aluminium sont ajoutés aux antigènes vaccinaux depuis 1920 sans qu'aucun pays ou instance officielle n'ait jamais remis en cause le bien-fondé de cette adjonction ni la sécurité des vaccins contenant cet adjuvant ;**
- **les publications concernant des séries de cas de myofasciite à macrophages de l'adulte proviennent d'une seule équipe dans le monde ; le lien entre la vaccination et la présence dans les muscles de granulomes contenant de l'aluminium est reconnu mais aucune étude dans la littérature ne permet d'affirmer le lien de causalité entre les signes cliniques rapportés et la présence de granulomes contenant de l'aluminium ;**
- **la symptomatologie décrite par cette seule équipe concerne principalement des adultes exposés à un nombre élevé de vaccinations contenant de l'aluminium (5 en moyenne) dans les 10 années antérieures. Cette symptomatologie n'est pas rapportée chez les nourrissons qui pourtant reçoivent proportionnellement plus d'aluminium provenant des vaccins en particulier dans les pays (Etats-Unis par exemple) qui ont, ou ont eu des schémas vaccinaux comportant un plus grand nombre d'injections ;**
- **la toxicité cérébrale de l'aluminium à de fortes doses est un fait connu et est responsable de manifestations cliniques distinctes de celles décrites comme associées à la myofasciite à macrophages ;**
- **les récents travaux chez la souris, dans des conditions expérimentales non transposables à l'homme et à la vaccination, apportent des éléments éclairant le mode de transport de l'aluminium dans divers organes, dont le cerveau, sans apporter d'éléments démontrant sa nocivité ni de lien entre une éventuelle présence cérébrale et les manifestations cliniques de la myofasciite à macrophages ;**
- **la démonstration chez l'homme de facteurs génétiques pouvant favoriser le transport de l'aluminium dans le cerveau n'est pas apportée ;**
- **d'autres adjuvants que l'aluminium sont ou ont été utilisés par le passé. Rien ne montre à ce jour que leur efficacité et leur profil de tolérance leur confère une balance bénéfice/ risque plus favorable que celle de l'aluminium ;**
- **la mise au point et l'enregistrement de vaccins comportant de nouveaux adjuvants et qui remplaceraient les vaccins contenant de l'aluminium (y compris de vaccins anciennement utilisés) nécessiterait plusieurs années.**

Ainsi, le Haut Conseil de la santé publique

- **Estime que les données scientifiques disponibles à ce jour ne permettent pas de remettre en cause la sécurité des vaccins contenant de l'aluminium, au regard de leur balance bénéfices/risques.**
- **Recommande la poursuite des vaccinations conformément au calendrier vaccinal en vigueur.**

- **Met en garde contre les conséquences, en matière de réapparition de maladies infectieuses, que pourrait avoir une baisse de la couverture vaccinale résultant d'une remise en cause des vaccins contenant de l'aluminium en l'absence de justification scientifique.**
- **Encourage la poursuite des recherches visant à évaluer la sécurité des adjuvants disponibles et en développement.**

Le CTV a tenu séance le 4 juillet 2013 : 15 membres qualifiés sur 17 membres qualifiés votant étaient présents, 0 conflit d'intérêt, le texte a été approuvé par 15 votants, 0 abstention, 0 vote contre.

La CSMT a tenu séance le 11 juillet 2013 : 8 membres qualifiés sur 15 membres qualifiés votant étaient présents, 0 conflit d'intérêt, le texte a été approuvé par 8 votants, 0 abstention, 0 vote contre.

GLOSSAIRE

Ac	Anticorps
Ag	Antigène
Afssaps	Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (devenue ANSM)
AFM	Association française contre les myopathies
AMM	Autorisation de mise sur le marché
ANSM	Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
ARS	Agence régionale de santé
ASIA	<i>Autoimmune/Inflammatory Syndrome Induced by Adjuvants</i>
BHE	Barrière hémato-encéphalique
CCSV	Comité consultatif pour la sécurité des vaccins
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CepiDc	Centre épidémiologique des causes médicales de décès
CNR	Centre national de référence
CPK	Créatine phosphokinase
CRPV	Centre régional de pharmacovigilance
CTV	Comité technique des vaccinations
DGS	Direction générale de la santé
EMG	Electromyogramme
Germmad	Groupe de recherche sur les maladies musculaires acquises et dysimmunitaires
HCSP	Haut Conseil de la santé publique
HLA	<i>Human Leucocyte Antigen</i>
IM	Intramusculaire
INPES	Institut national de prévention et d'éducation pour la santé
Inserm	Institut national de la santé et de la recherche médicale
InVS	Institut de veille sanitaire
IP	Intraparentéral
IRM	Imagerie par résonance magnétique
IV	Intraveineux
LCR	Liquide céphalo-rachidien
LED	Lupus érythémateux disséminé
MFM	Myofasciite à macrophages
OMS	Organisation mondiale de la santé
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
PMI	Protection maternelle et infantile

PV	Primo-vaccination
ROR	Rougeole-oreillons-rubéole
SC	Sous-cutanée
SEP	Sclérose en plaques
SG-HCSP	Secrétariat général du Haut Conseil de la santé publique
SNC	Système nerveux central
SSA	Service de santé des Armées
VHA	Virus de l'hépatite A
VHB	Virus de l'hépatite B

Annexe – Liste des vaccins du calendrier vaccinal

Vaccins sans adjuvant commercialisés en France (juin 2013)	
Nom du vaccin	Laboratoire (titulaire AMM)
VACCINS BACTERIENS	
Vaccin <i>Haemophilus influenzae</i> type b conjugué	
Act-Hib	Sanofi Pasteur
Vaccin méningococcique	
Vaccin méningococcique A+C	Sanofi Pasteur
Vaccins méningococciques ACYW135 non conjugué : Mencevax	GSK
conjugué	
Menveo	Novartis Vaccines and diagnostics
Nimenrix	GSK
Vaccin pneumococcique	
non conjugué :Pneumo 23	Sanofi Pasteur
Vaccin typhoïdique	
Typhim V1	Sanofi Pasteur
Typherix	GSK
Vaccin bactérien vivant atténué	
Vaccin contre la tuberculose : BCG SSI	Statens Serum Institut
Vaccin du choléra (administration par voie orale): Dukoral	CRUCELL
VACCINS VIRAUX	
VACCINS A VIRUS TUES OU INACTIVES	
Vaccins grippaux	
Agrippal	Novartis Vaccines and diagnostics
Fluarix	GSK
Immugrip	Pierre Fabre Médicament
Influvac	Abbott
Vaxigrip	Sanofi Pasteur
Vaccin rabique	
Vaccin rabique Pasteur	
Rabipur	Novartis Vaccines and diagnostics
VACCINS A VIRUS VIVANTS ATTENUES	
Vaccin contre la fièvre jaune: Stamaril	Sanofi Pasteur
Vaccin rougeole : Rouvax	Sanofi Pasteur
Vaccin varicelle	
Varilrix	GSK
Varivax	Sanofi Pasteur MSD
Vaccin Zona : Zostavax	
Vaccins contre le rotavirus (administration par voie orale)	
Rotateq	Sanofi Pasteur MSD
Rotarix	GSK
VACCINS A VIRUS VIVANTS ATTENUES COMBINES	
Vaccin rougeole, oreillons, rubéole	
M-M-RVAXPRO	Sanofi Pasteur MSD
Prionx	GSK
Vaccin rougeole, oreillons, rubéole, varicelle	
Priorix tetra	GSK
Proquad	Sanofi Pasteur MSD

Vaccins et adjuvants_juin 2013 sans adjuvant

Teneur en adjuvants dans les vaccins commercialisés en France (juin 2013)

Nom du vaccin	Laboratoire (titulaire AMM)	Aluminium (valeur cible)	Autres adjuvants
VACCINS BACTERIENS ET VIRAUX ASSOCIES			
Vaccin diphtérie, tétanos, coqueluche acellulaire, poliomyélite, contre les infections à Haemophilus influenzae type b conjugué et hépatite B			
InfanrixHexa	GSK	Phosphate :0.3 mg/dose Hydroxyde :0.5 mg/dose (0,5 ml)	
Vaccin diphtérie, tétanos, coqueluche acellulaire, poliomyélite, contre les infections à Haemophilus influenzae type b conjugué			
InfanrixQuinta	GSK	Hydroxyde :0.5 mg/dose (0,5 ml)	
Pentavac	Sanofi Pasteur MSD	Hydroxyde : 0.3 mg/dose (0,5 ml)	
Vaccin diphtérie, tétanos, coqueluche acellulaire, poliomyélite			
DTCaPolio			
InfanrixTetra	GSK	Hydroxyde 0.5 mg/dose (0,5 ml)	
Tetravac acellulaire	Sanofi Pasteur MSD	Hydroxyde :0.3 mg/dose (0,5 ml)	
dTcaPolio			
BoostrixTetra	GSK	Hydroxyde 0.3mg/dose + phosphate 0.2 mg/dose (0,5 ml)	
Repevax	Sanofi Pasteur MSD	Phosphate : 0,33 mg /dose (0,5 ml)	
Vaccin diphtérie, tétanos, poliomyélite			
Revaxis	Sanofi Pasteur MSD	Hydroxyde :0.35 mg/dose (0,5 ml)	
VACCINS BACTERIENS			
Vaccin méningococcique			
Vaccins méningococciques C conjugués			
Meningitec	Pfizer Holding France	Phosphate : 0.125 mg/dose (0,5 ml)	
Menjugatekit	Novartis Vaccines and diagnostics	Hydroxyde : 0,3 à 0,4 mg/dose (0,5 ml)	
Neisvac	Baxter	Hydroxyde : 0.5 mg/dose (0,5 ml)	
Vaccin méningococcique B			
Bexsero	Novartis Vaccines and diagnostics	Hydroxyde : 0.5 mg/dose (0,5 ml)	
Vaccin pneumococcique conjugué			
Prevenar 13	Pfizer Holding France	Phosphate : 0.125 mg/dose (0,5 ml)	
vaccin tétanique Pasteur	Sanofi Pasteur MSD	Hydroxyde :0.6 mg/dose (0,5 ml)	

Vaccins et adjuvants_juin 2013 avec adjuvant

Nom du vaccin	Laboratoire (titulaire AMM)	Aluminium (valeur cible)	Autres adjuvants
VACCINS VIRAUX			
VACCINS A VIRUS TUES OU INACTIVES			
<i>Vaccin Hépatite B</i>			
Engerix 10 µg/0.5 ml	GSK	Hydroxyde:0.25 mg/dose (0,5 ml)	
Engerix 20 µg/1 ml	GSK	Hydroxyde :0.5 mg/dose (1 ml)	
HBVAXPRO 5µg/0.5 ml	Sanofi Pasteur MSD	Sulfate d'hydroxyphosphate:0.25 mg/dose (0,5 ml)	
HBVAXPRO 10µg/1 ml	Sanofi Pasteur MSD	Sulfate d'hydroxyphosphate:0.5 mg/dose (1 ml)	
HBVAXPRO 40µg/1 ml	Sanofi Pasteur MSD	Sulfate d'hydroxyphosphate:0.5 mg/dose (1 ml)	
GenHevac B Pasteur	Sanofi Pasteur	Hydroxyde : ≤1,25 mg/dose (1 ml)	
<i>Vaccins grippaux</i>			
Gripguard	Novartis Vaccines and diagnostics	0	MF59
<i>Vaccin hépatite A</i>			
Avaxim adultes	Sanofi Pasteur	Hydroxyde : 0.3 mg/dose (0,5 ml)	
Havrix 1440 U/1 ml Adultes	GSK	Hydroxyde : 0.5mg/dose (1 ml)	
Havrix 720 U/0,5 ml Nourrissons et	GSK	Hydroxyde :0.25mg/dose (0,5 ml)	
<i>Vaccin contre l'encéphalite à tiques</i>			
Ticovac 0.5 ml adultes	Baxter	Hydroxyde :0,35 mg/dose (0,5 ml)	
Ticovac 0.25 ml enfants	Baxter	Hydroxyde :0,17 mg/dose (0,25 ml)	
Encepur	Novartis Vaccines and diagnostics	0.3-0.4mg/dose (0,5 ml)	
<i>Vaccin contre l'encéphalique japonaise</i>			
Ixiaro		Hydroxyde :0,25 mg/dose (0,5 ml)	
<i>Vaccin contre les infections à papillomavirus humains</i>			
Cervarix	GSK	Hydroxyde : 0.5 mg/dose (0,5 ml)	3-O -desacyl-4'- monophosphoryl lipide A (50 µg)
Gardasil	Sanofi Pasteur MSD	Sulfate d'hydroxyphosphate: 225 µg/dose (0,5 ml)	
VACCINS A VIRUS TUES OU INACTIVES+ANATOXINES+VACCINS POLYOSIDIQUES			
<i>Vaccin combiné hépatite A et B</i>			
Twinrix adulte	GSK	Hydroxyde 0.05mg/dose + phosphate 0.4mg/dose (1 ml)	
Twinrix enfant	GSK	Hydroxyde 0.025 mg/dose + phosphate 0.2mg/dose (0,5 ml)	
<i>Vaccin combiné typhoïde / hépatite A</i>			

TABLE DES MATIERES

SOMMAIRE	3
GROUPE DE TRAVAIL	4
1 - Genèse et chronologie d'une controverse	5
2 - La myofasciite à macrophages (MFM). Revue de la littérature	8
2.1 - La MFM : une affection essentiellement française	8
2.2 - Analyse des publications de l'équipe de Gherardi et Authier	8
2.3 - La myofasciite à macrophages et les enfants	16
2.4 - La myofasciite à macrophages de l'adulte hors de France	18
2.5 – Synthèse et discussion	19
3 - Bilan actualisé des notifications spontanées de myofasciites à macrophages rapportées au système national de pharmacovigilance (au 17/06/2013)	26
4 - Adjuvants - Aspects Immunologiques	31
4.1 -Objectifs et mécanismes d'action des adjuvants	31
4.2 - Adjuvants à base de sels d'aluminium	32
4.3 - Alternatives aux adjuvants à base de sels d'aluminium	33
4.3.1 - <i>Adjuvants phospholipidiques</i>	33
4.3.2 - <i>Adjuvants phosphate de calcium</i>	33
4.3.3 – <i>Virosomes</i>	34
5. -Toxicité de l'aluminium	38
5.1 - Composition, structure et physico-chimie des adjuvants aluminiques	38
5.1.1 - <i>Propriétés physico-chimique des adjuvants</i>	38
5.1.2 - <i>Exemples d'adjuvants utilisés en France</i>	38
5.1.3 - <i>Adsorption sur les adjuvants aluminiques</i>	39
5.2 – Pharmacocinétique	39
5.2.1 - <i>Aluminium non vaccinal</i>	39
5.2.2 - <i>Adjuvants aluminiques</i>	41
5.3 – Toxicodynamie	44
5.3.1 - <i>Résumé des effets toxiques de l'aluminium</i>	44
5.3.2 - <i>Valeurs toxicologique de référence</i>	47
5.4 - Résumé des travaux expérimentaux conduits par l'équipe de R. Gherardi, et position de l'ANSM	48
6 - Liste des vaccins du calendrier vaccinal	52
7 - Recommandations	53
GLOSSAIRE	55
ANNEXE	57
TABLE DES MATIERES	60

TABLEAUX & FIGURES

Tableau 1 - Synthèse des manifestations cliniques rapportées	12
Tableau 2 - Dernière(s) spécialité(s) vaccinale(s) contenant de l'aluminium administrée(s) avant l'apparition des premiers signes cliniques	27
Tableau 3 - Pharmacokinetic parameters after i.m. injection of ²⁶ Al-containing aluminium hydroxide and aluminium phosphate adjuvants	43
Fig. 1 - Répartition des patients en fonction du sexe	27
Fig. 2 - Chronologie du début des signes cliniques et de la date des cas notifiés au réseau des CRPV et aux laboratoires	28
Fig. 3 - Distribution des patients en fonction de l'âge lors de la dernière vaccination aluminique précédant les premiers signes cliniques	28
Fig. 4 - Adjuvants: general mode of action based on current evidence	32
Fig. 5 - Aluminium tissues concentration 28 days after administration of ²⁶ Al-labelled aluminium hydroxide adjuvant	43