

Académie nationale de Pharmacie



RAPPORT

de l'Académie nationale de Pharmacie

« *Les adjuvants aluminiques :* *le point en 2016* »

Rapport adopté par le Conseil de l'Académie nationale de Pharmacie le 14 mars 2016

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec ce rapport

SOMMAIRE

<i>ABRÉVIATIONS</i>	4
<i>INTRODUCTION</i>	5
<i>1. APPROCHE MÉTHODOLOGIQUE</i>	5
<i>2. ANALYSE DES RAPPORTS ANTÉRIEURS</i>	7
<i>3. ALUMINIUM</i>	10
3.1. PHARMACOCINÉTIQUE	10
<i>3.1.1. Absorption</i>	10
<i>3.1.2. Distribution</i>	10
<i>3.1.3. Élimination</i>	11
3.2. TOXICOLOGIE	11
<i>3.2.1. Toxicité aiguë chez l'Homme</i>	11
<i>3.2.2. Toxicité chronique chez l'Homme</i>	12
<i>3.2.3. Valeurs toxicologiques de référence</i>	12
<i>4. ADJUVANTS ALUMINIQUES</i>	14
4.1. MÉCANISMES D'ACTION DES DÉRIVÉS DE L'ALUMINIUM	14
4.2. PHARMACOCINÉTIQUE	15
4.3. TOLÉRANCE	16
4.4. VOIES D'ADMINISTRATION DES VACCINS À ADJUVANTS	16
4.5. COMMENTAIRES	17
<i>5. MYOFASCIITE À MACROPHAGES : DE LA LÉSION HISTOLOGIQUE À LA SYMPTOMATOLOGIE CLINIQUE</i>	19
5.1. INTRODUCTION	19
5.2. DONNÉES CLINIQUES ET BIOLOGIQUES - ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE	19
<i>5.2.1. Lésion de myofasciite à macrophages</i>	19
<i>5.2.2. Caractéristiques cliniques des cas de MFM issus des séries</i>	20
<i>5.2.3. Caractéristiques biologiques des cas de MFM issus des séries</i>	22
<i>5.2.4. Regroupement nosologique</i>	23
<i>5.2.5. Association à d'autres maladies</i>	24
5.3. CAS DE MYOFASCIITE À MACROPHAGES CHEZ L'ADULTE AVEC OU SANS ANTÉCÉDENTS DE VACCINATION, PUBLIÉS HORS DE FRANCE	25
<i>5.3.1. Cas isolés</i>	25
<i>5.3.2. Séries de cas</i>	25

5.4. CAS DE MYOFASCIITE À MACROPHAGES CHEZ L'ENFANT	25
5.5. DONNÉES DE PHARMACOVIGILANCE ET DE PHARMACO-ÉPIDÉMIOLOGIE	26
<i>5.5.1. Données de pharmacovigilance</i>	26
<i>5.5.2. Données de pharmaco-épidémiologie</i>	28
5.6. COMMENTAIRES : LA MYOFASCIITE À MACROPHAGES EN 2016	29
<i>6. ÉTUDES EXPÉRIMENTALES</i>	32
6.1. INTRODUCTION	32
6.2. DONNÉES RÉCENTES	32
6.3. DISCUSSION	32
<i>CONCLUSION</i>	35
<i>COMPOSITION DU GROUPE DE TRAVAIL</i>	37
<i>BIBLIOGRAPHIE</i>	38
<i>ANNEXE - (BRÈVE) HISTOIRE DE L'ALUMINIUM, ADJUVANT VACCINAL</i>	43

ABRÉVIATIONS

Anm	: Académie nationale de médecine
Afssaps	: Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé
ANSM	: Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
ASIA	: auto-immune/inflammatory syndrome induced by adjuvants
BHE	: barrière hémato-encéphalique
CCL	: chemokine (C-C motif) ligand
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
Cmax	: concentration maximale
CRPV	: Centre régional de pharmacovigilance
CTV	: Comité technique des vaccinations
E3M	: Entraide aux Malades de Myofasciite à Macrophages
FDA	: Food and Drug Administration
GERMMAD	: Groupe d'Études et Recherche sur les Maladies Musculaires Acquises et Dysimmunitaires
HCSP	: Haut Conseil de la Santé Publique
i-reivac	: innovative clinical research network in vaccinology
ID	: intradermique
IM	: intramusculaire
InVS	: Institut de Veille Sanitaire
IRC	: insuffisance rénale chronique
IV	: intraveineux
MCP-1	: monocyte chemotactic protein-1
MFM	: myofasciite à macrophages
MIP-1 α	: macrophage inflammatory protein-1alpha
MRL	: minimal risk level
NK	: natural killer
OMS	: Organisation mondiale de la Santé
OPECST	: Office Parlementaire d'Évaluation des Choix Scientifiques et Technologiques
PV	: pharmacovigilance
REVAHB	: Réseau Vaccin Hépatite B
SC	: sous-cutané
SFC	: syndrome de fatigue chronique
SPECT	: single photon emission computed tomography
VIH	: virus de l'immunodéficience humaine
VTR	: valeur toxicologique de référence

INTRODUCTION

La vaccination, acte individuel de protection pour un bénéfice épidémiologique collectif, a permis le recul, voire la disparition de maladies infectieuses dont les conséquences sont dramatiques tout particulièrement dans les pays non industrialisés. Cependant, on assiste aujourd'hui en France à une baisse de confiance de la population, relayée par les médias, vis-à-vis de la politique vaccinale. Bien plus, l'utilité de certains vaccins et la sécurité des vaccins en général, mais plus particulièrement des vaccins à adjuvants aluminiques, sont remises en question par une partie de la population et du corps médical. Cette situation, à l'origine de débats, rapports et publications contradictoires, est liée à la description d'une lésion histologique post-vaccinale appelée myofasciite à macrophages (MFM), associée à des manifestations cliniques.

C'est pourquoi l'Académie nationale de Pharmacie a mis en place un groupe de travail pour ré-analyser, avec rigueur et objectivité, le rapport bénéfice/risque des vaccins contenant un adjuvant aluminique en se fondant sur des éléments scientifiques fournis par les études récentes.

Après un rappel des connaissances actuelles sur l'aluminium et les adjuvants aluminiques, seront présentées les données récentes obtenues par les études cliniques et les données actualisées de pharmacovigilance et de pharmaco-épidémiologie ainsi que par les études expérimentales.

I. APPROCHE MÉTHODOLOGIQUE

L'évaluation du rapport bénéfice/risque des adjuvants aluminiques présentée repose sur une analyse rigoureuse, aussi exhaustive que possible, des travaux publiés et des débats sur le sujet depuis 2000 ainsi que sur l'audition de personnalités ayant des compétences et une expérience susceptibles d'apporter un éclairage scientifique multidisciplinaire (physiologistes, pharmacologues, toxicologues, galénistes, pharmaco-épidémiologistes, immunologistes, cliniciens).

Les points essentiels seront présentés et commentés, ce qui nous conduira à soulever des interrogations et à émettre des propositions.

Les principaux rapports antérieurs ayant servi de base de travail, présentés par ordre chronologique, sont (*cf.* § 2):

- Workshop on Aluminum in vaccines. Porto Rico 11-12 May 2000
- « Les adjuvants vaccinaux : quelle actualité en 2012 ? ». Rapport de l'Académie nationale de médecine, 26 juin 2012
- « Aluminium et vaccins ». Rapport du Haut Conseil de la santé publique, 11 juillet 2013
- « Les adjuvants vaccinaux : une question controversée ». OPECST, 22 mai 2014

La participation à des débats et à des journées sur les vaccins ou sur la myofasciite à macrophages en 2015 a permis de compléter ces rapports :

- 27 mars 2015, 5ème Journée scientifique du Centre de référence des maladies neuromusculaires Garches-Necker-Mondor Hendaye : syndrome de fatigue chronique et myofasciite à macrophages (participation en tant qu'auditeur : Liliane Grangeot-Keros).
- 10 avril 2015, 9ème Journée du i-reivac (innovative clinical research network in vaccinology), Fédération hospitalière de France, Paris (participation en tant qu'auditeur : Véronique Lamarque-Garnier).
- 23 juin 2015, séminaire de Guillemette CRÉPEAUX (INSERM U955 E10, Université Paris Est) : « Approches expérimentales de l'étude du potentiel toxique des adjuvants aluminiques » invitée par Monique CAPRON, INSERM U995, Lille Inflammation Research International Center (LIRIC).

Des personnalités reconnues ont été invitées à présenter leurs travaux, leur expérience et leur opinion devant le groupe de travail. Ont été écoutées successivement aussi bien celles qui alertent depuis plus de 15 ans sur la toxicité de l'aluminium utilisé comme adjuvant des vaccins, que celles qui se posent des questions et celles qui concluent à l'absence de risque :

- Romain GHERARDI, Professeur de neurologie et pathologie, Praticien hospitalier, Centre Expert de Pathologie Neuromusculaire, Directeur de l'Unité INSERM U955 E10, Institut Mondor de recherche biomédicale, Université Paris-Est, Créteil
- Nicolas FERRY, Directeur des Produits de thérapies innovantes, produits issus du corps humain et vaccins, Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM)
- Nathalie GARÇON, ancien Vice-Président, Vice-Directeur du Global vaccine center for adjuvants and technology innovation de GSK Biologicals, Bruxelles ; Directeur exécutif et Directeur scientifique de BIOASTER, Lyon
- Patrick COUVREUR, Professeur à l'Institut Galien Paris-Sud, CNRS UMR 8612, chef de l'équipe « Nanomédicaments pour le traitement de maladies graves »
- Anne CASTOT, ancien Directeur de la gestion des risques et de l'information sur le médicament, Afssaps
- François-Jérôme AUTHIER, Professeur de neurologie, Praticien hospitalier, Centre de référence des maladies neuromusculaires, UFR de Médecine, CHU Henri Mondor, Créteil
- Didier LAMBERT, Président de l'association E3M - Entraide aux malades de MFM
- Antoine PARIENTE, Professeur de Pharmacologie médicale, Praticien hospitalier, Unité INSERM 1219 (ex 657) équipe « Pharmaco-épidémiologie », Université de Bordeaux
- Élisabeth SAUZEAT, Directeur adjoint Process Excellence, Sanofi-Pasteur

2. ANALYSE DES RAPPORTS ANTÉRIEURS

- L'atelier « Aluminium in vaccines », patronné par le National Vaccine Program Office, s'est tenu à San Juan de Porto Rico les 11 et 12 mai 2000. Il a réuni des experts en vaccinologie, pathologie, rhumatologie et autres domaines intéressés par l'aluminium des vaccins. Il s'est déroulé en trois sessions [1]. La première session a été consacrée aux aspects fondamentaux des adjuvants immunologiques, plus particulièrement des adjuvants aluminiques (Tableau 1).

Tableau 1. Dérivés de l'aluminium utilisés comme adjuvants dans les vaccins commercialisés en France

Dénomination	Formule chimique	Forme
oxyde d'aluminium, alumine	Al_2O_3	poudre cristalline
hydroxyde d'aluminium, oxyde d'aluminium hydraté, alumine hydratée	$Al(OH)_3$	solide cristallisé (forme tri-hydratée) ou poudre amorphe
oxyhydroxyde d'aluminium	$AlO(OH)$	solide cristallisé (forme mono-hydratée) ou poudre amorphe
phosphate d'aluminium	$AlPO_4$	poudre amorphe
sulfate d'hydroxyphosphate d'aluminium	AlH_2O_8PS	poudre amorphe

Il a été précisé que leur efficacité dépendait non seulement de leur point isoélectrique et de leurs propriétés physico-chimiques, mais également des caractéristiques des antigènes vaccinaux. Il a été mentionné que diverses réactions vaccinales « essentiellement mineures » ont été rapportées avec les vaccins contenant de l'aluminium. Il s'agissait en général de réactions locales telles qu'érythème, nodule sous-cutané, abcès stérile, granulome inflammatoire et hypersensibilité de contact, mais dont la fréquence était trop faible pour susciter alors un intérêt.

Au cours de la deuxième session, la pharmacologie des dérivés de l'aluminium a été détaillée. Il a été montré que la quantité d'aluminium délivrée par les vaccins est très faible par rapport à l'exposition journalière à l'aluminium par la nourriture et les médicaments (les « anti-acides » par exemple), qui est de l'ordre de 10 à 15 mg. À cette époque, la dose orale de risque minimal ou *minimal risk level* (MRL) calculée avait été estimée à environ **2 mg/kg d'aluminium par jour**, mais sans donnée comparée pour l'aluminium injecté.

Enfin, la troisième session a été une discussion sur la MFM, alors définie comme une entité histologique, et les associations cliniques possibles.

Il a été conclu qu'avec une expérience de plus de 70 ans, l'utilisation des dérivés de l'aluminium comme adjuvants des vaccins est sûre et efficace, mais qu'elle soulève quelques interrogations sur la pharmacologie et les effets indésirables.

- rapport du 26 juin 2012 « Les adjuvants vaccinaux : quelle actualité en 2012 ? » l'Académie nationale de médecine (Anm) a porté sa réflexion sur les adjuvants aluminiques [2]. Elle a rappelé que l'hydroxyde d'aluminium forme des agrégats dont la dissolution n'est possible qu'à pH 2, ce qui n'est pas un pH physiologique ; il est donc peu probable que cet adjuvant aluminique libère des nanoparticules d'aluminium. L'aluminium n'est pas un élément minéral de l'organisme humain ; il est d'origine exogène et provient principalement des aliments, de l'eau de

consommation, parfois d'une exposition accidentelle ou professionnelle, de médicaments, d'onguents et de vaccins contenant un adjuvant aluminique. Des valeurs toxicologiques de référence (VTR) ont été établies pour l'aluminium. Pour l'alimentation orale, l'Agence des substances toxiques du *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) d'Atlanta a établi un MRL pour l'aluminium, qui tient compte essentiellement du risque de neurotoxicité ; en 2010, il a été fixé à **1 mg/kg/jour**. Des travaux expérimentaux sur le devenir dans l'organisme de l'aluminium ingéré ou inoculé ont abouti à fixer la **limite d'aluminium métal par dose vaccinale à 0,85 mg**. La dose d'aluminium présente dans les vaccins du calendrier vaccinal en France est toujours inférieure à ce seuil.

L'Anm conclut que les études réalisées à ce jour ne fournissent aucune preuve de toxicité neurologique imputable à l'aluminium de l'alimentation ou des vaccins.

- **Dans son rapport « Aluminium et vaccins » du 11 juillet 2013, le Haut Conseil de la santé publique (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 rapport bénéfice/risque [3]. Il recommande la poursuite des vaccinations conformément au calendrier vaccinal en vigueur en France. Il 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. Le HCSP encourage la poursuite des recherches visant à évaluer la sécurité des adjuvants disponibles ou en développement. Par ailleurs, il insiste sur le fait que **la symptomatologie des manifestations systémiques de la MFM a varié au cours du temps**. Il précise que les patients de la cohorte française de MFM rapportée dans les publications sont très « disparates », ce qui risque d'introduire un biais important de confusion et un biais de recrutement des patients. Il précise également que la toxicité cérébrale de l'aluminium à fortes doses est un fait connu, mais qu'elle est responsable de manifestations cliniques qui sont distinctes de celles décrites comme associées à la MFM (cf. § 5.2.1). L'existence de facteurs génétiques pouvant favoriser l'élimination plus rapide de l'aluminium des muscles ou le transport de l'aluminium dans le cerveau, n'est pas démontrée. Enfin et surtout, la symptomatologie décrite chez les patients de la cohorte concerne essentiellement des adultes exposés, dans les dix années antérieures, à un nombre élevé de doses vaccinales contenant de l'aluminium. *Elle n'est qu'exceptionnellement rapportée chez les enfants et les nourrissons, populations les plus exposées à l'aluminium par la vaccination, en particulier dans les pays (États-Unis par exemple) qui ont, ou ont eu, des schémas vaccinaux comportant un plus grand nombre d'injections.***

Dans ce rapport, il est noté qu'il faudrait préciser les critères d'inclusion des patients dans les cohortes et que la description des troubles cognitifs associés à la MFM semble entachée de biais importants. L'argumentation dite du « cheval de Troie » construite autour de l'hypothèse de la pénétration de monocytes/macrophages chargés d'aluminium à travers la barrière hémato-encéphalique, soutenue encore récemment par GHERARDI, peut-elle s'appliquer à l'aluminium des vaccins ? [4]. De plus, rien n'est démontré en ce qui concerne le lien entre vaccination et manifestations cliniques.

Dans ce rapport, de nombreuses autres questions sont soulevées, notamment :

- *Quelle est la persistance des lésions et après quel délai l'aluminium est-il absorbé ? La persistance de ces lésions au-delà d'un certain délai présente-t-elle un caractère pathologique ?*
- *Existe-t-il des prédispositions génétiques pour développer une MFM ?*
- *Comment se fait-il que ce problème reste essentiellement français ? Seuls quelques cas disparates sont rapportés dans la littérature internationale.*

- L'Office Parlementaire d'Évaluation des Choix Scientifiques et Technologiques (OPECST) a organisé une journée consacrée aux adjuvants vaccinaux, **le 22 mai 2014**, sous la forme d'une audition publique [5]. L'évaluation du rapport bénéfice/risque répond à la nécessité de prouver un lien direct de causalité entre ces adjuvants et certaines pathologies telles que la MFM. Les principales recommandations émises à la fin de la journée ont été :

- *mieux définir les caractères cliniques de la MFM ;*
- *mener des études épidémiologiques pour pouvoir affirmer une causalité ou non, liée à l'administration de vaccins ;*
- *améliorer le diagnostic de la MFM et le système d'alerte pour cette pathologie ;*
- *demander une expertise indépendante ;*
- *intensifier la recherche sur les dérivés de l'aluminium ;*
- *éviter une remise en cause du bienfait évident des vaccinations en santé publique et individuelle.*

3. ALUMINIUM

Les principales sources quotidiennes d'aluminium sont l'air, les locaux professionnels, l'eau de boisson, les aliments, les colorants et les conservateurs, les anti-transpirants. L'apport alimentaire journalier chez l'adulte est estimé entre **2,5 et 13 mg** ; les apports totaux non professionnels sont évalués entre **3 et 15 mg**.

3.1. PHARMACOCINÉTIQUE

3.1.1. Absorption [6-9]

Par exposition externe, l'aluminium est absorbé par les voies pulmonaire (< 3 %), digestive (< 1 %) et cutanée (0,01 %). Si l'absorption par voie cutanée est négligeable chez l'adulte, elle peut être importante chez le nouveau-né. L'absorption par voie intramusculaire (IM) ou intrarachidienne (IR) est très importante. Pour prendre en compte les différentes voies d'absorption de l'aluminium :

- l'apport maximal alimentaire recommandé par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) en 2004 (Directives de qualité pour l'eau de boisson) et la *Food and Drug Administration* (FDA) aux États-Unis est de 1 mg/kg/jour. La France suit cette recommandation. Par ailleurs, **la teneur limite dans l'eau potable en France est de 200 µg/L** (Décret n° 2001-1220 du 20 décembre 2001 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine à l'exclusion des eaux minérales, à la suite de la Directive 98/83/CE du Conseil du 3 novembre 1998) ;
- la recommandation française est de ne pas dépasser **0,6 % dans les produits cosmétiques (anti-transpirants et déodorants) et les solutions à usage cutané** [8] ;
- **la concentration des solutés à usage parentéral doit être inférieure à 25 µg/L. La teneur maximale autorisée dans les eaux de dialyse en France est de 10 µg/L** [6].

3.1.2. Distribution

L'aluminium est distribué dans tous les tissus et stocké principalement au niveau des os (50 %), du foie (23 %) et des poumons (23 %) ; une faible quantité s'accumule dans le cerveau, au niveau du système immunitaire et du système hématopoïétique (4 %). Dans le plasma, l'aluminium est véhiculé à 90 % lié à une protéine de transport, la transferrine [3].

Chez l'insuffisant rénal chronique, l'aluminium s'accumule dans les os et le cerveau [3].

L'aluminium traverse la barrière hémato-encéphalique (BHE) par deux mécanismes qui sont identiques chez le rongeur et chez l'Homme : d'une part, endocytose grâce au récepteur de la transferrine qui est exprimé au niveau de la BHE et d'autre part, transport actif à partir du plasma. Dans le cerveau, l'aluminium se complexe alors aux ions citrate ou à l'acide L-glutamique. Dans les conditions physiologiques, le passage intracérébral d'aluminium est faible : chez le rat, il ne représente que 0,001 % à 0,005 % par gramme de tissu cérébral, quelle que soit la voie d'administration ou la forme chimique [10].

Les concentrations tissulaires médianes d'aluminium mesurées chez des sujets sains non exposés aux métaux et sans traitement médical à base de métal ou d'oligo-éléments, exprimées en poids frais, sont les suivantes [11] :

poumon	=	470 ng/g	(130-1570)
cerveau	=	190 ng/g	(20-400)
foie	=	150 ng/g	(50-280)
cœur	=	100 ng/g	(50-240)
muscle	=	80 ng/g	(40-250)
rein	=	60 ng/g	(20-130)

3.1.3. Élimination

En cas d'exposition modérée, l'aluminium absorbé est éliminé à **80 % par voie rénale** de façon lente, comme en attestent les cas humains d'intoxication. Il est, malgré tout, assez facilement mobilisé à partir des tissus [10].

Dans les expositions importantes, le métal s'accumule dans plusieurs compartiments osseux de stockage dont la cinétique d'élimination est lente ou très lente en fonction des secteurs osseux. À l'arrêt de l'exposition, l'élimination est particulièrement lente en cas de rétention osseuse. Selon l'exposition, elle s'effectue sur un mode pouvant être triphasique [7] :

- . première phase sanguine : demi-vie = 8 heures
- . deuxième phase tissulaire : demi-vie = plusieurs semaines
- . troisième phase osseuse : demi-vie supérieure à un an (élimination totale après plusieurs années) en raison de la séquestration osseuse.

3.2. TOXICOLOGIE

La **neurotoxicité** de l'aluminium est toujours corrélée à l'accumulation mesurable du métal dans le cerveau liée à des dépôts importants du métal [12, 13]. Les principaux effets neurotoxiques de l'aluminium sont une atteinte de la mémoire, de la cognition et du contrôle psychomoteur [14].

La neurotoxicité peut conduire au décès, comme cela a été montré dès 1976 chez des sujets insuffisants rénaux chroniques hémodialysés [13, 15]. À ce jour, aucun cas de neurotoxicité liée à l'ingestion d'aluminium au cours de traitements à base de dérivés de l'aluminium, ou lors d'une ingestion massive accidentelle, n'a été rapporté chez l'Homme en l'absence d'insuffisance rénale. En revanche, en cas d'atteinte rénale, une accumulation importante d'aluminium peut conduire à une encéphalopathie progressivement mortelle, accompagnée principalement de troubles du langage, de l'équilibre et de la coordination, de troubles cognitifs, de myoclonies et de convulsions.

En milieu industriel (notamment électrometallurgie de l'aluminium, soudage et oxycoupage de l'aluminium ou d'alliages à base d'aluminium), des intoxications isolées accompagnées de signes de neurotoxicité ont été rapportées après l'inhalation d'aluminium. Ainsi, de 1921 à 1999, 29 cas d'encéphalopathie observés chez des travailleurs exposés à l'aluminium ont été publiés [6].

Chez le prématuré sans troubles neuromoteurs, l'index de BAYLEY (score mesurant le développement mental) est diminué significativement en cas de nutrition parentérale prolongée avec une solution contenant de l'aluminium (45 µg/kg/jour) comparativement à une solution sans aluminium (4 à 5 µg/kg/jour), en raison d'une élimination rénale réduite (valeurs respectives de 92 ± 20 et 102 ± 17 , $p = 0,02$) [16].

L'aluminium peut être responsable d'**ostéomalacie** et d'*Adynamic Bone Disease* (ostéopathie adynamique). Des troubles osseux peuvent être observés à l'adolescence chez des prématurés exposés au métal par la nutrition parentérale [3].

À la suite d'une injection IM d'un vaccin adsorbé sur un dérivé de l'aluminium, la **biopsie du muscle deltoïde** au point d'injection montre la **présence d'inclusions de cristaux de dérivés de l'aluminium** dans les macrophages, sans lésion myocytaire notable ni lésion nécrotique [3]. **Toutefois, la quantité d'aluminium ainsi déposée est extrêmement faible puisque la teneur totale en aluminium dans une dose vaccinale est au maximum de 0,6 mg.**

3.2.1. Toxicité aiguë chez l'Homme

Elle est variable selon les dérivés de l'aluminium, très faible avec les dérivés inorganiques comme l'hydroxyde, l'hydroxyphosphate et le sulfate d'hydroxyphosphate.

Le phosphore d'aluminium utilisé comme pesticide présente une toxicité redoutable pouvant conduire au décès en cas d'exposition massive. Dans 68 % des cas, il s'agit d'une intoxication accidentelle, assez courante au Maghreb en raison d'un usage fréquent de pesticides [17].

Chez les insuffisants rénaux chroniques dialysés dont les apports d'aluminium par la dialyse et les gels anti-acides étaient très importants dans les années 1970, une encéphalopathie mortelle a été observée dans 30 à 50 % des cas ; dans cette population, la concentration d'aluminium dans le cerveau (25 µg/g) était multipliée par plus de dix par rapport aux témoins non dialysés et non insuffisants rénaux (2,2 µg/g). La symptomatologie clinique est corrélée à l'aluminémie [13]. Ces observations ont conduit à modifier les procédés de purification des eaux de consommation pour en diminuer la teneur en aluminium.

3.2.2. Toxicité chronique chez l'Homme

- **Anti-transpirants et désodorisants** : le chlorure d'aluminium (AlCl₃) est très utilisé. Malgré les recommandations de l'Afssaps de ne pas dépasser la teneur de 0,6 %, certains anti-transpirants en contiennent jusqu'à 2 % [8].

De larges applications sur une peau lésée ou rasée peuvent provoquer une intoxication avec augmentation de l'aluminémie et de l'aluminurie comme cela a été rapporté dans un cas à la suite de l'application de plus de 150 g d'aluminium. Quatre mois après l'arrêt de l'application du cosmétique, la symptomatologie clinique régresse ainsi que l'aluminémie [18].

- **Exposition professionnelle** : une méta-analyse regroupant 16 études épidémiologiques a montré une exposition professionnelle à l'aluminium. Des troubles cérébraux touchant la motricité, la mémoire ou l'organisation visuo-spatiale ont notamment été observés. L'aluminose développée par certains d'entre eux est une fibrose pulmonaire consécutive à l'exposition massive à des poussières ou fumées du métal [19].

3.2.3. Valeurs toxicologiques de référence

Des doses seuils relatives aux effets systémiques ont été déterminées pour une administration chronique d'aluminium par **voie parentérale** :

- dose non toxique et n'induisant pas d'accumulation tissulaire d'aluminium :
1 à 2 µg/kg/jour, soit 70 à 140 µg/jour pour un adulte pesant 70 kg ;
- dose sans toxicité documentée mais induisant une accumulation tissulaire d'aluminium :
15 à 30 µg/kg/jour, soit 1,05 à 2,10 mg/jour pour un adulte pesant 70 kg ;
- dose toxique induisant une accumulation tissulaire d'aluminium avec ostéomalacie :
60 µg/kg/jour, soit 4,2 mg/jour pour un adulte pesant 70 kg.

Ces valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour l'aluminium sont cohérentes avec les résultats des études portant sur l'alimentation parentérale des prématurés exposés à des solutés contenant 45 µg d'aluminium/kg/jour [20].

Acquis

- Seules des quantités très importantes d'aluminium dans l'organisme sont toxiques et responsables d'une symptomatologie clinique caractéristique qui régresse après l'élimination spontanée de l'aluminium.
- Cette toxicité est toujours corrélée à des apports supérieurs aux capacités d'élimination de l'organisme, quelle que soit la voie d'administration.
- La quantité d'aluminium contenue dans une dose de vaccin injecté par voie IM contient au maximum 0,6 mg de métal, alors que la dose quotidienne d'aluminium administrable par voie IV sans toxicité documentée est comprise entre 1 mg et 2 mg.

Propositions

- Doser l'aluminium dans le cerveau de sujets décédés présentant une symptomatologie clinique de MFM comparativement à des sujets indemnes de MFM.
- Mener des études de pharmacocinétique et de toxicologie sur l'animal avec des vaccins marqués à l'aluminium radioactif ^{26}Al .

4. ADJUVANTS ALUMINIQUES

L'aluminium sous forme d'hydroxyde ou de phosphate a été le premier adjuvant breveté dans les années 1920 (*cf.* Annexe : Brève histoire de l'aluminium vaccinal). Il est aujourd'hui le seul adjuvant autorisé aux États-Unis et le seul inscrit à la Pharmacopée européenne depuis la suppression du phosphate de calcium, historiquement utilisé en France jusque dans les années 1990.

L'utilisation des adjuvants dans les vaccins permet d'augmenter l'efficacité de la vaccination : augmentation de la réponse immunitaire évaluée par le titre sérique des anticorps produits, augmentation du taux de séroconversion dans des populations qui répondent mal en raison par exemple de l'âge, d'une maladie ou d'un traitement. Aussi sont-ils indispensables pour induire une réponse immunitaire efficace et prolongée aux antigènes purifiés, peu immunogènes. Ils permettent également de simplifier le protocole d'immunisation (diminution du nombre de doses nécessaires pour obtenir la protection) ainsi que de réduire la dose d'antigène utilisée, avec un bénéfice double : d'une part, minimiser les réactions locales ou systémiques et d'autre part, diminuer les coûts de production, potentiellement associés à l'antigène lui-même. Enfin, les adjuvants doivent permettre d'orienter la réponse immunitaire vers celle qui est la mieux adaptée au pathogène (réponse immunitaire innée ou adaptative, humorale ou cellulaire, de type Th1 ou Th2, à lymphocytes T CD8⁺ ou CD4⁺, production de cellules mémoire, augmentation de la vitesse de la réponse initiale en cas d'épidémie ou de pandémie). En effet, chaque type d'adjuvant, de véhicule et de système de délivrance de l'antigène vaccinal devrait être adapté à la réponse immunitaire recherchée. Ainsi, les adjuvants à base de dérivés de l'aluminium stimulent essentiellement la réponse immunitaire de type Th2, mais faiblement la réponse de type Th1 [21].

4.1. MÉCANISMES D'ACTION DES DÉRIVÉS DE L'ALUMINIUM

Jusqu'à la fin des années 1990, il était admis que les dérivés de l'aluminium permettaient d'induire une réponse immunitaire durable par la formation d'un dépôt du complexe formé avec l'antigène au point d'inoculation, à partir duquel l'antigène est lentement libéré sous l'influence du liquide interstitiel. Aujourd'hui, on sait de plus que les particules de dérivés de l'aluminium sont captées avec une grande avidité par les cellules phagocytaires [22].

Les dérivés de l'aluminium présentent plusieurs mécanismes d'action complémentaires communs [21-33] :

- recrutement des cellules immunitaires au site de l'injection [polynucléaires éosinophiles, polynucléaires neutrophiles, monocytes, cellules dendritiques, cellules NK (*natural killer*) et NKT] par un « effet dépôt » assurant la persistance locale de l'antigène ;
- facilitation de la capture de l'antigène par des cellules présentatrices d'antigènes, en particulier dendritiques. L'oxyhydroxyde d'aluminium particulaire, composé cristallin, est le dérivé aluminique le plus efficace à cet égard car il forme des particules comprenant des agrégats nanoparticulaires ;
- activation de l'inflammasome conduisant à la maturation de précurseurs de cytokines pro-inflammatoires. La capacité de l'oxyhydroxyde d'aluminium à former des particules semble faciliter l'activation de l'inflammasome, ce qui peut expliquer le choix préférentiel de ce dérivé de l'aluminium comme adjuvant dans les vaccins aluminiques ;
- activation de l'immunité innée avec production d'une dizaine de cytokines et de chimiokines ainsi que de prostaglandine E2 par les macrophages, et expression, par les cellules

présentatrices d'antigène, de molécules d'adhérence pour les lymphocytes T, ce qui induit une forte réponse adaptative ;

- induction de réponses Th2 (fortes réponses anticorps). Il en résulte l'activation des lymphocytes B et l'induction de la sécrétion d'IgM.

4.2. PHARMACOCINÉTIQUE

- Comme adjuvant des vaccins, l'aluminium est utilisé sous différentes formes inorganiques : hydroxyde, oxyhydroxyde, phosphate et sulfate d'hydroxyphosphate. La quantité d'aluminium par dose vaccinale est variable, mais toujours inférieure au seuil toléré réglementaire de 0,85 mg/dose (Tableau 2).

Tableau 2. Dérivés de l'aluminium présents dans les vaccins pour l'adulte commercialisés en France en 2015

Dérivé de l'aluminium	Équivalent aluminium/dose	Vaccin
oxyhydroxyde hydraté	0,50 mg	Cervarix [®] , Engérix B [®] suspension à 20 µg d'antigène, Havrix [®] , Infanrixtetra [®] , Infanrixquinta [®]
oxyhydroxyde hydraté	0,25 mg	Engérix B [®] suspension à 10 µg d'antigène
hydroxyde hydraté	0,60 mg	vaccin tétanique Pasteur [®]
hydroxyde hydraté+ phosphate	0,30 mg 0,20 mg	Boostrixtétra [®]
phosphate + hydroxyde hydraté	0,40 mg 0,05 mg	Twinrix [®]
phosphate + hydroxyde hydraté	0,32 mg 0,50 mg	Infanrixhexa [®]
sulfate d'hydroxyphosphate	0,225 mg	Gardasil [®]
sulfate d'hydroxyphosphate	0,25 mg	HBVAXPRO [®]

Les dérivés de l'aluminium sont sous la forme de nanoparticules fortement liées en agrégats par des liaisons hydrogène. Ces agrégats ne sont solubles qu'à pH 2. L'adsorption des antigènes sur les dérivés de l'aluminium dépend d'une part, de la charge de surface et de la taille moléculaire de l'antigène et d'autre part, de la texture de l'adjuvant.

Après injection vaccinale IM, l'hydroxyde d'aluminium se dissout très lentement dans le tissu interstitiel, tandis que le phosphate d'aluminium se dissout beaucoup plus rapidement, en raison d'une morphologie différente.

- L'extrapolation à l'Homme, des données obtenues chez le lapin à la suite d'injections IM d'adjuvant aluminique marqué par de l'aluminium 26 (²⁶Al), isotope radioactif, à la dose totale d'aluminium de 0,85 mg, a permis de calculer une augmentation prévisible de la concentration maximale (Cmax) plasmatique d'aluminium de 0,8 % consécutive à l'injection de l'adjuvant [34]. Les concentrations d'aluminium mesurées dans le cerveau des lapins ont été inférieures à 0,0001 µg/g, soit plus de 2000 fois inférieures à la concentration médiane de 0,187 µg/g mesurée dans des cerveaux humains de sujets âgés de 19 à 57 ans, non exposés professionnellement [11]. Deux points très importants concernent ce protocole : le marquage par ²⁶Al permet non seulement

de s'affranchir du mécanisme de pénétration dans le cerveau des lapins (passage systémique ou par les macrophages), mais également de toute source éventuelle de contamination et de voies d'apport d'aluminium autres que par l'adjuvant.

- Chez le singe *Cynomolgus* (*Macaca fasciculata*), après l'injection IM d'un vaccin combiné diphtérie-tétanos contenant de l'hydroxyde ou de l'oxyhydroxyde d'aluminium, une augmentation de la concentration en aluminium, limitée au niveau du site d'injection, a été constatée [35].
- Des particules d'oxyhydroxyde d'aluminium peuvent être retrouvées au niveau des granulomes pouvant persister au site d'inoculation. Cependant, la persistance de l'oxyhydroxyde d'aluminium dans l'organisme à long terme serait liée à la capacité de l'aluminium d'atteindre des organes éloignés du site d'immunisation, dont le cerveau, par un mécanisme de transport intracellulaire dans les macrophages.

4.3. TOLÉRANCE

La tolérance des adjuvants aluminiques est globalement bonne, même si des effets indésirables locaux ont été rapportés chez l'Homme, tels que des granulomes ou des « pseudo-abcès » au point de l'injection vaccinale, plus fréquemment avec les injections sous-cutanées (SC) qu'avec les injections IM. Il s'agit de nodules de taille variable qui peuvent persister jusqu'à plusieurs mois. Des réactions plus importantes, mais bénignes, peuvent survenir : tuméfactions étendues, pseudo-phlegmoneuses [36].

Cependant, à partir de 1998, la sécurité d'emploi des adjuvants aluminiques a été remise en question avec la description, par l'équipe de GHERARDI à Créteil, de la survenue d'une lésion inflammatoire exclusivement localisée au point d'injection, renfermant des cristaux d'aluminium au sein des macrophages [37]. En 2001, le lien avec l'aluminium était établi à la suite de la mise en évidence d'hydroxyde d'aluminium dans les inclusions intracytoplasmiques des macrophages par trois méthodes différentes [38]. Cependant, la relation entre cette lésion et la symptomatologie clinique associée à la MFM, associant myalgies, arthralgies et fatigue, est toujours fortement débattue (*cf.* § 5).

Des troubles fonctionnels cognitifs ont été décrits par la même équipe chez des malades présentant une MFM, par suite d'une atteinte neurologique modérée dont l'origine pourrait être inflammatoire ou toxique du fait de la persistance de l'aluminium dans le cerveau [39].

Des complications neurodégénératives à distance, telles que la maladie d'Alzheimer, ont également été évoquées. Même si la présence d'aluminium dans le cerveau pourrait jouer un rôle dans le changement de conformation de la protéine bêta-amyloïde impliquée dans la pathogénie de la maladie d'Alzheimer, tout comme d'autres métaux, à ce jour rien ne démontre le rôle éventuel de l'aluminium ; cette hypothèse est donc, elle aussi, fortement controversée [6].

4.4. VOIES D'ADMINISTRATION DES VACCINS À ADJUVANTS

Le Comité technique des vaccinations (CTV) a établi des recommandations sur la voie d'administration des vaccins [40]. Elles reposent sur de nombreuses études réalisées sur un grand nombre de patients et étayées par des arguments cliniques d'immunogénicité et de tolérance. Le choix de la voie d'administration dépend de nombreux facteurs : nature et composition des vaccins, âge, éventuelles pathologies associées, réponse immunitaire recherchée...

Sur des critères d'immunogénicité et de tolérance du vaccin, la voie d'administration recommandée en primovaccination, pour les anatoxines et les vaccins viraux (virus inactivés, protéine virale)

adsorbés sur des dérivés de l'aluminium, est la voie IM profonde dans la région deltoïdienne, à la pointe supéro-externe du bras, à la jonction du tiers supérieur et du tiers moyen du bras (gauche pour un droitier). Les injections dans la fosse sous- ou sus-épineuse sont actuellement abandonnées car moins immunogènes. Chez le nourrisson qui ne marche pas, la voie intra-fessière a été proposée, mais le risque de lésion du nerf sciatique entraînant une paralysie est trop important pour recommander ce site. La région antéro-externe de la cuisse lui est préférée, l'injection se faisant dans le quadriceps.

Le niveau de profondeur à atteindre est difficile à apprécier car il diffère selon l'épaisseur du pannicule adipeux, laquelle varie avec l'âge et l'état nutritionnel. Une injection dans le tissu adipeux diminuerait la réponse immunitaire.

La voie SC profonde n'est plus recommandée aujourd'hui en France que pour l'administration des vaccins viraux vivants atténués ou tués, non adsorbés, ainsi que chez les sujets thrombopéniques, hémophiles ou traités par des anticoagulants. Elle est optionnelle pour les vaccins polysaccharidiques conjugués et non conjugués non adsorbés.

Un vaccin ne doit pas être injecté par voie intravasculaire.

La fréquence et l'intensité des effets indésirables sont moindres avec la voie IM qu'avec la voie SC. Les réactions locales, plus fréquentes avec les vaccins adsorbés sur hydroxyde d'aluminium, sont en général peu graves et de type inflammatoire : rougeur, œdème, induration, surtout lorsque l'on utilise une aiguille courte (injection proche du derme), mais aussi irritation locale, formation de granulome ou de nodule inflammatoire pouvant conduire à la formation d'un abcès. Comme elles sont d'autant plus fréquentes et intenses que le vaccin est administré superficiellement, la voie IM profonde est recommandée. Les aiguilles longues (25 mm) ne présentent donc que des avantages pour la tolérance et l'immunogénicité des vaccins.

Pour conclure, les vaccins adsorbés sur adjuvants aluminiques sont plus immunogènes lorsqu'ils sont administrés par **voie IM profonde** que par voie SC et leur tolérance est meilleure. Cependant, la voie d'inoculation est sans influence sur le nombre de répondeurs dans les injections de rappel.

Quant à la voie intradermique actuellement réservée au vaccin BCG chez le nourrisson et à quelques vaccins viraux non adsorbés, elle pourrait être une voie d'avenir car le derme est riche en cellules immunitaires, notamment en cellules de Langerhans qui peuvent être activées en cellules présentatrices d'antigène.

4.5. COMMENTAIRES

- La composition variable des adjuvants aluminiques (dérivés de l'aluminium utilisés et doses équivalentes d'aluminium) selon les vaccins soulève la question du rationnel du choix.
- L'existence possible d'une toxicité différente selon le dérivé de l'aluminium utilisé comme adjuvant n'a guère fait l'objet d'études expérimentales ou cliniques.
- Les mécanismes de transport des particules d'oxyhydroxyde d'aluminium depuis le site de l'injection vaccinale n'ont toujours pas été formellement définis, pas plus que la forme sous laquelle l'aluminium est distribué dans l'organisme depuis le site de l'injection vaccinale et les voies empruntées.
- L'antigène vaccinal et son mode de liaison au dérivé de l'aluminium utilisé comme adjuvant influencent-ils la toxicité de l'adjuvant ?
- La BHE, incomplètement formée aux stades pré-natal et post-natal, est plus perméable aux toxiques. De plus, le cerveau est davantage perfusé entre 6 et 13 ans en raison de ses besoins

accrus pour réaliser sa maturation. Aussi, puisqu'ils reçoivent de nombreuses doses vaccinales à cette période de leur vie, les enfants ont-ils un risque plus important de développer des effets toxiques neurologiques, notamment des troubles fonctionnels cognitifs comme ceux qui sont décrits dans le syndrome associé à la MFM ? De même, la BHE perdant son étanchéité chez les personnes âgées, ces dernières sont-elles plus sensibles à la toxicité des adjuvants aluminiques ? La réponse à ces questions permettrait d'adapter les adjuvants vaccinaux aux différents âges.

Des études expérimentales de toxicologie chez l'animal juvénile et l'animal âgé sont d'autant plus indispensables que des études épidémiologiques chez l'enfant et le sujet âgé, qui pourraient aider à répondre à ces interrogations, sont difficilement réalisables.

Acquis

- L'utilisation d'adjuvants dans les vaccins inactivés et à sous-unités antigéniques est indispensable pour induire une réponse immunitaire efficace et prolongée.
- Les dérivés de l'aluminium sont les seuls adjuvants autorisés par la Pharmacopée européenne. Au-delà d'un « effet dépôt » assurant la persistance de l'antigène au site de l'inoculation, ils stimulent l'immunité innée par plusieurs mécanismes et induisent essentiellement une réponse de type Th2.
- Bien que la sécurité d'emploi des vaccins à adjuvant aluminique soit établie, elle reste un sujet permanent de discussions.
- L'administration IM assure la meilleure efficacité et la meilleure tolérance d'un vaccin à adjuvant aluminique.

Interrogations

- Par quels mécanismes l'aluminium de l'adjuvant est-il distribué dans l'organisme depuis le site de l'injection vaccinale ?
- L'antigène et son mode de liaison au dérivé de l'aluminium influencent-ils la toxicité de l'adjuvant ?
- Étant donné que la BHE est incomplètement formée aux stades pré-natal et post-natal et qu'elle perd son étanchéité chez les personnes âgées, les enfants et les personnes âgées ont-ils un risque plus important de développer des effets toxiques neurologiques ?

Propositions

- Poursuivre les études sur les mécanismes d'action des adjuvants aluminiques.
- Réaliser des études expérimentales de toxicologie chez l'animal juvénile et l'animal âgé.

5. MYOFASCIITE À MACROPHAGES : DE LA LÉSION HISTOLOGIQUE À LA SYMPTOMATOLOGIE CLINIQUE

5.1. INTRODUCTION

L'objectif est de présenter ici principalement les données récentes sur la clinique, la pharmacovigilance et la pharmaco-épidémiologie concernant la relation entre l'administration de vaccins contenant des adjuvants aluminiques, la lésion histologique locale persistante de MFM avec granulome, et les symptômes cliniques caractérisés le plus souvent par des douleurs musculaires et articulaires, de la fatigue et des troubles cognitifs.

L'analyse bibliographique a porté sur la période allant du 24 avril 2013, date du rapport du HCSP, au 30 septembre 2015, sur la base de données PubMed.

5.2. DONNÉES CLINIQUES ET BIOLOGIQUES - ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

5.2.1. Lésion de myofasciite à macrophages

- **La MFM est une entité histologique** découverte en mai 1993 à Bordeaux, dont la première description scientifique a été publiée en 1998 par le Groupe d'Études et Recherche sur les Maladies Musculaires Acquises et Dysimmunitaires (GERMMAD), branche de l'Association française contre les myopathies [37]. Depuis, les articles publiés sur le sujet proviennent majoritairement de l'équipe du centre de référence des maladies musculaires de Créteil, soit dans le cadre du GERMMAD associant d'autres centres soit individuellement. Beaucoup reprennent ou complètent les descriptions antérieures, mais le choix des critères de sélection des cas constituant la série analysée est rarement documenté, le nombre des objectifs de l'étude est souvent multiple avec des analyses de groupes différents selon l'objectif. De plus, la taille des effectifs soulève parfois le problème de l'interprétation des données. Très peu d'auteurs non français ont publié sur la MFM et il s'agit essentiellement de cas isolés ou en petit nombre. Ainsi, depuis le rapport du HCSP de juillet 2013, seule une série non française de seize patients a été publiée par des auteurs portugais [41].
- C'est en 2001 que **le lien entre MFM et aluminium a été établi** [38]. En premier lieu, de l'hydroxyde d'aluminium a été mis en évidence par trois méthodes différentes, dans les inclusions intracytoplasmiques des macrophages de patients qui avaient eu des biopsies musculaires dans les trois centres de myologie de Bordeaux, Créteil et Paris entre 1997 et 1999. En second lieu, la prévalence des myalgies a été comparée entre un groupe de 40 patients présentant une lésion de MFM et un groupe de 1 252 sujets sans lésion de MFM : 85 % des patients présentant une lésion de MFM souffraient de myalgies, mais seulement 45 % des personnes sans lésion de MFM. Les auteurs ont conclu que l'émergence de la MFM était probablement liée à l'utilisation de la voie IM pour une vaccination contre l'hépatite B par un vaccin contenant de l'hydroxyde d'aluminium, qui remontait au début des années 90. Ainsi était avancée l'hypothèse de la persistance de l'aluminium à long-terme et d'une réaction immunitaire locale entretenue. À l'époque, le nombre cumulé de patients présentant une lésion histologique de MFM en France était de plus de 130. Des cas isolés avaient été décrits en dehors de l'hexagone : États-Unis, Royaume-Uni, Allemagne, Portugal et Espagne. Dans ce même article de 2001, il était précisé que la lésion de MFM était mise en évidence chez l'adulte dans le muscle deltoïde siège de la vaccination. Des myalgies, symptôme prédominant de la MFM avec la fatigue chronique, apparaissent dans les parties distales des membres inférieurs et s'étendent progressivement aux quatre membres pour être le plus souvent diffuses au moment de la biopsie [42, 43].

5.2.2. *Caractéristiques cliniques des cas de MFM issus des séries*

- **Les premières descriptions de manifestations au niveau du système nerveux central** ont été succinctement rapportées en 1999 chez sept sur 38 patients présentant des lésions de MFM et dont il était précisé que seuls cinq d'entre eux avaient fait l'objet d'analyses cliniques et biologiques [44]. Il s'agissait de manifestations telles que déficit hémi-sensoriel ou sensitivomoteur, signes cérébelleux, atteinte oculomotrice et aphasie. La même année, une équipe marseillaise a publié l'observation de deux patients présentant une MFM avec atteintes neurologiques [45]. L'équipe de GHERARDI enrichissait sa première description de manifestations neurologiques avec huit adultes dont sept ont fait l'objet d'une description détaillée [46]. Ces manifestations incluaient des symptômes hémi-sensoriels ou sensitivomoteurs (quatre patients), des signes pyramidaux bilatéraux (six patients), des signes cérébelleux (quatre patients), des anomalies visuelles (deux patients), des troubles cognitifs et comportementaux (un patient) et une dysfonction vésicale (un patient), avec des potentiels évoqués anormaux chez quatre patients sur six. Le diagnostic de sclérose en plaques avait été évoqué chez les sept patients. Les hypothèses discutées renforçaient l'étiologie auto-immune avec, soit l'association due au hasard entre MFM et sclérose en plaques, soit un mécanisme physiopathologique commun touchant à la fois les muscles et le système nerveux central, soit l'un représentant un facteur de risque pour l'autre.
- En 2012, GHERARDI et AUTHIER ont publié **une nouvelle analyse de 457 patients adultes** explorés dans le centre de Créteil entre 1994 et 2011 [47]. Ils mentionnaient que l'association E3M (Entraide aux Malades de Myofasciite à Macrophages) avait recensé « environ 1 000 patients » ayant une MFM documentée. Les **caractéristiques cliniques** des manifestations musculaires et articulaires étaient globalement identiques aux données précédentes. Il s'agissait de myalgies pouvant survenir à l'occasion d'un effort inhabituel, localisées initialement au niveau de la partie distale des membres inférieurs puis diffusant aux quatre membres. Ces myalgies étaient associées ou non à des douleurs articulaires et à de la fatigue. Elles n'affectaient pas le site d'injection deltoïdien où la lésion histologique était identifiée. Seuls quelques patients présentaient des points douloureux de type fibromyalgique. Les patients se plaignaient de signes cognitifs tels que des troubles de la mémoire, des difficultés à maintenir leur attention et des troubles de l'humeur.

Parmi les éléments nouveaux, on voit apparaître la notion de délai minimum entre la vaccination et la biopsie pour définir un cas pathologique de MFM, ce délai devant être **supérieur à 18 mois** [4]. Il semble particulièrement important de prendre en considération ce délai chez les jeunes enfants qui reçoivent des doses multiples de vaccins à adjuvant aluminique dans la première année de leur vie, ce qui augmente le risque d'association fortuite entre une lésion de MFM décelée dans le quadriceps utilisé pour la vaccination des enfants, et des pathologies comme des myopathies congénitales, des dystrophies musculaires ou des maladies neurologiques. Le risque de telles associations fortuites existe aussi chez l'adulte, mais il est faible (5 à 10 % des cas de MFM).

- En 2013, **une nouvelle analyse rétrospective** a été réalisée par la même équipe chez 130 patients présentant des arthromyalgies, dans le but de rechercher des caractéristiques cliniques distinguant les patients présentant une MFM (lésion histologique) des patients sans MFM [48]. Tous avaient des antécédents de vaccination par des vaccins à adjuvant aluminique, essentiellement un vaccin contre l'hépatite B. Les principales conclusions ont été en premier lieu que, dans la cohorte considérée, les sujets vaccinés avec des vaccins à adjuvant aluminique ne développaient pas tous une lésion persistante de MFM, mais que la prévalence de MFM parmi les patients vaccinés

présentant des arthromyalgies était élevée (32,3 %). Les patients ayant une MFM présentaient moins fréquemment des fibromyalgies ($p < 0,04$) que les patients sans MFM, mais plus fréquemment des **troubles du système nerveux central suggérant une démyélinisation** ($p < 0,01$). La prévalence de la MFM était plus élevée que dans les études précédentes, ce qui peut s'expliquer par des biais méthodologiques, notamment des biais de sélection des patients [38]. Enfin sept critères prédictifs du risque de syndrome associé à la MFM ont été proposés : nombre de points fibromyalgiques, arthralgies, douleur rachidienne, douleur dorsale, déclaration de vaccination du patient, présentation du carnet de vaccination et présence d'anticorps circulants anti-HBs. La combinaison de ces critères, pondérés selon leur importance, a abouti à deux scores ayant des valeurs prédictives positive et négative acceptables.

- Les données les plus actualisées de la cohorte de Créteil ont été publiées en 2014 par RIGOLET, avec plus de 600 malades présentant une MFM, dont 293 étaient enregistrés dans la base de données de Créteil [49]. Dans le groupe des 293 patients, le délai médian entre l'apparition des symptômes et la biopsie était de 66,7 mois. La prévalence des signes cliniques a été comparée à celle de certaines séries publiées, dont le choix n'est pas clair. Au total, les arthromyalgies restent le symptôme le plus fréquent, suivi de la fatigue chronique (36 à 100 %). **Ces chiffres variables dépendent totalement de l'objectif de l'étude**, lequel conditionne à son tour le groupe de patients choisis.
- Une étude visant à rechercher **l'existence d'atteintes du cortex cérébral en relation avec la MFM**, publiée en 2015, a été réalisée chez 76 patients atteints de MFM associée à des troubles cognitifs [50]. Tous les patients avaient reçu entre trois et dix injections de vaccins contenant de l'hydroxyde d'aluminium dans les 10 dernières années. Le délai moyen entre la dernière dose de vaccin et la biopsie était de 6,4 ans (un à 14 ans) avec une limite basse de un an, ce qui n'est pas conforme à la définition récente dans laquelle un délai supérieur à 18 mois à deux ans est requis pour prendre en considération la lésion pathologique. Des myalgies chroniques ont été retrouvées chez 94 % des patients et de la fatigue chez 81,6 %. L'imagerie cérébrale par tomographie d'émission monophotonique ou *single photon emission computed tomography* (SPECT) après injection par voie IV d'un substrat marqué au ^{99m}Tc , utilisée en routine pour évaluer les troubles cognitifs, a montré que les patients ayant une MFM avec des troubles cognitifs présentaient bien des atteintes corticales et sous-corticales diffuses. Parmi les critiques majeures de cet article, il faut noter l'absence de sujets témoins sans MFM ; de plus, une partie des patients n'avait pas terminé la batterie de tests en raison d'une fatigabilité importante, sans que soient précisés le nombre de patients concernés et les tests en question.

Quelques commentaires s'imposent :

- Pour considérer comme pathologique la présence d'une lésion de MFM dans le muscle, il est désormais admis que sa **persistance doit être supérieure à deux ans** ; avant un an, le caractère pathologique n'est pas retenu ; entre un an et deux ans, le caractère pathologique ou non n'est pas précisé [49]. Depuis 2012, le seuil était fixé à 18 mois, y compris dans la publication de 2014 de la même équipe. Ces fluctuations illustrent la difficulté à définir un cas « pathologique » de MFM.
- Quant aux **dérivés de l'aluminium**, dont seul l'hydroxyde était suspecté jusqu'alors, il semblerait que le sulfate d'hydroxyphosphate soit également concerné, bien que ces deux dérivés de l'aluminium aient des propriétés physico-chimiques différentes [51]. Selon l'équipe de Créteil, la description de plusieurs observations de jeunes filles développant fatigue et myalgies après

l'administration d'un vaccin quadrivalent contre des papillomavirus, adsorbé sur du sulfate d'hydroxyphosphate d'aluminium, soulèverait la question de l'induction de MFM par ce vaccin.

- Depuis 2003, en dehors des témoignages de l'association de patients E3M, nous avons identifié une publication évaluant rétrospectivement **la progression des atteintes cognitives associées à la MFM** [52]. L'étude a inclus 30 patients de la cohorte de Créteil, âgés de 28 à 49 ans, suivis pendant 19 à 30 mois, mais sans groupe témoin. Trois évaluations ont été réalisées chez neuf d'entre eux et quatre chez trois autres. Le délai du suivi allait de 12 à 112 mois (médiane = 36). Entre la première et la deuxième évaluation, le nombre de patients présentant une dépression selon l'échelle MADRAS ou CES-D est passé de 18 (60 %) à 11 (36,7 %). Globalement, l'atteinte cognitive s'est stabilisée. L'aggravation observée chez quatre des 30 patients traduit l'existence de fluctuations importantes des signes cliniques. Le suivi à long terme de neuf patients a confirmé une lente amélioration de la fonction cognitive chez six d'entre eux. La prise concomitante de médicaments pouvant agir sur les fonctions cognitives (analgésiques, antidépresseurs...) n'a eu aucun effet sur la sévérité des troubles cognitifs. Cependant, seule la fonction cognitive a été prise en compte dans cette étude. Par ailleurs, l'effet de traitements intercurrents tels que les statines, n'a pas été analysé. Enfin, il n'est pas fait mention d'une prise en charge thérapeutique de la MFM pathologique. En 2003, GHERARDI avait mentionné que les symptômes des patients répondaient souvent favorablement aux traitements par des corticoïdes, mais qu'une cortico-dépendance apparaissait habituellement lors de la diminution des doses [53]. À l'heure actuelle, l'hydrocortisone est assez régulièrement utilisée à la dose de 10 à 30 mg/j (information communiquée par AUTHIER).

5.2.3. Caractéristiques biologiques des cas de MFM issus des séries

- Un autre travail de l'équipe de Créteil sur sa cohorte actualisée a eu pour but principal de rechercher si **la production de cytokines** était différente chez des patients atteints de MFM, chez des témoins sains et chez des patients souffrant de myopathies inflammatoires mais pas de MFM (témoins d'une inflammation) [54]. Le vaccin de l'hépatite B était encore majoritairement incriminé (89,7 % des cas), avec un intervalle médian de 5,5 ans entre la dernière vaccination et la biopsie. Sur les 30 cytokines dosées dans le sang, seules les concentrations sériques de *monocyte chemotactic protein-1/chemokine (C-C motif) ligand 2* (MCP-1/CCL2) étaient augmentées significativement chez les sujets atteints de MFM comparés aux sujets sains ($p < 0,0001$). En revanche, chez les témoins présentant des maladies inflammatoires, les concentrations sériques de MCP-1/CCL2 n'étaient pas différentes de celles des témoins, alors que les concentrations sériques d'autres cytokines inflammatoires étaient élevées, notamment l'IL-1 β , l'IL-5 et *chemokine (C-C motif) ligand 3/macrophage inflammatory protein-1 alpha* (CCL3/MIP-1 α). Les auteurs en concluent que MCP-1/CCL2 serait un marqueur biologique sérique de la physiopathologie de la MFM plutôt qu'un marqueur inflammatoire non spécifique. Rappelons que MCP-1/CCL2 est un médiateur puissant des réponses neuro-inflammatoires, à la fois chimiotactique et neuromodulateur. Il est surexprimé dans des maladies neurologiques comme la sclérose en plaques ou la maladie d'Alzheimer. Son augmentation est également fréquemment observée dans les douleurs chroniques, la polyarthrite rhumatoïde, l'activation de l'angiogenèse en cas d'ischémie myocardique ou l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) avec manifestations neurologiques [55, 56].
- **L'augmentation du taux de MCP-1/CCL2 dans la MFM** suggère l'existence d'un polymorphisme génétique [57]. Mais ce polymorphisme génétique n'a pas été confirmé [58]. Les résultats de cette étude ont été à l'origine des travaux chez la souris (*cf.* § 6.2) pour déterminer le

rôle de MCP-1/CCL2 dans la distribution cérébrale de nanoparticules à la suite d'injections IM de différentes particules d'aluminium [59]. Une association entre l'**haplotype rs1024611/rs3760396** du gène *ccl2* et la MFM a été évoquée (Odd ratio = 1,280, p = 0,088), mais le séquençage réalisé chez 94 patients présentant cet haplotype n'a pas révélé d'anomalies [49].

- En décembre 2013, l'ANSM a accordé un financement hors appel d'offre de 24 mois à l'équipe de GHERARDI pour un **projet** intitulé : « Biopersistance et neuromigration des adjuvants aluminiques : facteurs de risque génétiques et neurotoxicité expérimentale ». Le premier volet du programme consiste en une étude des facteurs génétiques humains influençant la distribution et la persistance de l'hydroxyde d'aluminium dans l'organisme. L'objectif était de rechercher le polymorphisme nucléotidique dans les gènes de la xéno/autophagie impliquée dans la solubilisation intracellulaire des particules minérales. L'ADN de 367 patients atteints de MFM et de 211 sujets sains est en cours d'analyse pour 104 SNP (*single-nucleotide polymorphism*) présents dans 34 gènes impliqués dans la régulation de l'autophagie. À ce jour, le génotypage suggèrerait fortement l'existence d'un déficit de la xéno/autophagie chez les patients (données non publiées communiquées par GHERARDI). Cette étude est menée en partenariat avec MOGRABI, spécialiste de l'autophagie à Nice.

5.2.4. Regroupement nosologique

- Le syndrome de fatigue chronique (SFC) a été relié à la MFM en 2003 [60]. La définition du SFC associe en effet une fatigue invalidante, des douleurs musculo-squelettiques, des anomalies du sommeil, des troubles de la concentration et des céphalées [61]. Sa prévalence dans la population générale serait de 0,2 à 6 %, avec une prédominance féminine identique à celle de la MFM.
- L'analyse rétrospective de 30 patients « non sélectionnés » présentant une MFM, provenant des centres de Créteil et de Bordeaux, a retrouvé la présence d'une fatigue chronique pendant plus de six mois chez 28 patients, d'une fatigue chronique invalidante chez 26 patients et d'un syndrome de fatigue chronique chez 16 patients si l'on cumule les critères des CDC et d'Oxford. Les antécédents d'immunisation, connus chez seulement 19 des 30 patients, ont confirmé l'administration antérieure de vaccins à adjuvant aluminique. Les auteurs ont conclu que la MFM pouvait être considérée soit comme une cause de SFC, soit comme un critère d'exclusion supplémentaire du diagnostic de SFC idiopathique. Un des mécanismes physiopathologiques évoqué était une stimulation chronique du système immunitaire en réponse à une infection ou à un agent toxique. Or cette symptomatologie complexe, acquise, est classée parmi les troubles neurologiques dans la classification OMS internationale des maladies (ICD10 G93.3). C'est pourquoi l'équipe de GHERARDI classe la MFM plutôt parmi les maladies neurologiques que parmi les maladies musculo-squelettiques comme la fibromyalgie [57]. Ce SFC, appelé aussi « encéphalomyélite myalgique », pourrait évoluer vers la notion de « *systemic exertion intolerance syndrome* » ou « syndrome de l'intolérance systémique à l'effort » selon les recommandations de l'Institut américain de Médecine (*Institute of Medicine* devenu *The Academies* le 1^{er} juillet 2015 par le regroupement de trois Académies, la *National Academy of Medicine*, la *National Academy of Sciences* et la *National Academy of Engineering*) [62].
- Par analogie avec les SFC post-viraux ou idiopathiques et avec le syndrome de la guerre du Golfe, en 2003 l'équipe de Créteil a suggéré de définir un « syndrome de l'adjuvant vaccinal » [53].
- Puis, en 2010, des chercheurs israéliens ont proposé la définition d'un nouveau syndrome auto-immun induit par les adjuvants, l'*autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants* (ASIA) ou « syndrome auto-immunitaire/inflammatoire induit par les adjuvants » [63]. Ce

syndrome comprend plusieurs symptomatologies : des maladies auto-immunes spécifiques identifiées par des critères bien établis ; des symptômes moins spécifiques tels que myalgies, arthralgies, fatigue chronique et troubles cognitifs, combinaison à l'origine du SFC ; et l'apparition d'auto-anticorps circulants (qui peuvent survenir après l'exposition à toute une variété de produits naturels ou chimiques immunogènes). Selon ces mêmes auteurs, les symptômes associés à la MFM et au syndrome de la guerre du Golfe sont comparables. Ils ajoutent à ces deux entités nosologiques la réaction induite par l'inflammation liée au gel de silicone des implants mammaires, attribuée au caractère adjuvant des particules de silicone. Les critères de définition, qui comprennent des items majeurs et mineurs, seraient en attente de validation.

L'hypothèse physiopathologique soutenue par SHOENFELD est que l'effet adjuvant favoriserait l'apparition de ces troubles de l'auto-immunité seulement chez des sujets génétiquement prédisposés [63]. Une autre explication serait une exposition à plusieurs éléments comme celle à un autre facteur environnemental ou la co-exposition à plusieurs adjuvants. Plus récemment, ALIJOTAS-REIG a proposé une nouvelle classification du syndrome ASIA en incluant de nouveaux critères diagnostiques [64]. ESPOSITO a tenté d'adapter ces critères à la population pédiatrique dans laquelle le syndrome ASIA est exclusivement limité aux troubles auto-immunitaires ou inflammatoires post-vaccinaux [65].

5.2.5. Association à d'autres maladies

- Une dysplasie fibro-musculaire avec localisation rénale a été associée à une MFM [66].
- Trois cas confirmés de MFM avec myalgies compliquant l'évolution d'une myosite inflammatoire à inclusions ont été décrits chez des adultes [67].
- L'association de la MFM à une maladie auto-immune a été décrite dès la publication des premières séries de patients ayant une MFM, entre 1998 et 2003 [37, 38, 42, 53].
- En France, la survenue d'une maladie auto-immune dans les suites de la vaccination a fait l'objet de nombreux débats depuis la campagne de vaccination contre l'hépatite B. Sur le plan théorique, l'injection d'un adjuvant pourrait induire une auto-immunité, mais la liaison entre survenue d'une maladie auto-immune et vaccination n'a jamais été formellement démontrée, comme l'a souligné l'Anm en 2012 [2]. Cependant, compte tenu de la fréquence élevée des affections auto-immunes dans la population générale (8 %), il n'est pas non plus étonnant qu'en vaccinant un très grand nombre d'individus, dont certains vont développer une lésion de MFM, on observe la présence préalable, concomitante ou postérieure d'une maladie auto-immune chez certains d'entre eux. Par ailleurs, l'existence de ces maladies est souvent associée à la présence de gènes de prédisposition. Ainsi, l'allèle HLA-DRB1*01 serait lié à un plus grand risque de développer certaines maladies auto-immunes comme la pseudopolyarthrite rhizomélique ou la polyarthrite rhumatoïde [68]. Les allèles HLA-DRB1*01 et HLA-DRB1*07 ont été retrouvés chez deux sœurs jumelles de 64 ans, dont le diagnostic de MFM avait été posé six à sept mois après une vaccination par le vaccin Engerix B® à adjuvant aluminique [69]. Il faut noter que ce délai ne correspond pas à la définition actuelle de MFM persistante. La même équipe a réalisé alors une étude cas-témoins (9 cas de MFM pour 230 témoins sans MFM ni maladie aiguë ou chronique) [70]. Les résultats ont montré une augmentation significative de la fréquence de l'allèle HLA-DRB1*01 ($p < 0,002$). Il s'agit là d'une étude avec un effectif faible de patients et qui mérite d'être confirmée.

5.3. CAS DE MYOFASCIITE À MACROPHAGES CHEZ L'ADULTE AVEC OU SANS ANTÉCÉDENTS DE VACCINATION, PUBLIÉS HORS DE FRANCE

5.3.1. Cas isolés

Un petit nombre de cas individuels de MFM ont été publiés dans le monde [3] : anglais (trois cas), irlandais (trois cas), allemands (deux cas), portugais (un cas), américains (deux cas), australiens (un cas), coréens (deux cas). Pour certains d'entre eux, la MFM était associée à une pathologie concomitante. Parfois, il n'y avait pas de notion d'exposition antérieure à un vaccin adsorbé sur adjuvant aluminique. De manière surprenante, dans un cas une lésion de MFM a été mise en évidence dans le muscle jambier antérieur.

5.3.2. Séries de cas

La seule série de cas ne provenant pas de France a été publiée en 2015 par une équipe portugaise sous la forme d'une analyse rétrospective de 16 patients présentant des lésions histologiques de MFM [71]. Dix d'entre eux présentaient des myalgies, une asthénie marquée et une faiblesse musculaire. Les antécédents de vaccination étaient connus chez 13 patients qui avaient tous reçu un vaccin à adjuvant aluminique par voie IM dans les trois mois à 16 ans précédents, avec une moyenne de 51 mois entre la dernière dose de vaccin et la survenue des premières manifestations cliniques, mais le délai entre la vaccination et la biopsie n'était pas indiqué.

5.4. CAS DE MYOFASCIITE À MACROPHAGES CHEZ L'ENFANT

- Les séries publiées par l'équipe de Créteil comportent peu ou pas d'enfants et aucune information spécifique les concernant n'est décrite.
- En dehors de l'équipe de Créteil, l'équipe de médecine interne et neuropathologie de la Pitié-Salpêtrière à Paris a rapporté le premier cas familial français [72]. Il s'agissait d'un garçon de 11 ans dont la biopsie du deltoïde avait été motivée par des myalgies d'intensité faible, associées à une fatigue depuis deux ans, sans autre anomalie clinique ou biologique, et qui, 18 mois auparavant, avait été vacciné contre l'hépatite B par un vaccin adsorbé sur adjuvant aluminique ; le diagnostic venait d'être posé chez sa mère. Les auteurs ont évoqué une prédisposition génétique ou la présence d'un agent causal dans l'environnement ou les deux.
- Depuis la publication du rapport du HCSP en juillet 2013, aucun nouveau cas pédiatrique n'a été publié [3]. Au total, 35 cas de MFM pédiatriques ont été publiés depuis 1999 : 12 en Europe, six aux États-Unis, trois au Brésil, six en Israël et huit en Arabie Saoudite.

Compte tenu de la prévalence de l'exposition aux vaccins aluminiques chez l'enfant (nombre élevé de doses, petit poids, éventail des antigènes sur un intervalle de temps rapproché), on pourrait s'attendre à un nombre élevé de cas de MFM dans cette population. Il n'en est rien, puisque **la littérature ne rapporte qu'un petit nombre de cas**. Si l'on retient la définition des cas MFM de 2012, à savoir **un délai de plus de 18 mois entre la dernière dose de vaccin et la biopsie**, ce nombre chute. Dans plusieurs cas pédiatriques, la présence de la lésion révélée très précocement après la vaccination (un mois au minimum) pourrait plaider en faveur d'une réaction inflammatoire locale immédiate, d'autant plus qu'une nouvelle biopsie réalisée chez un petit patient quatre ans plus tard, n'a pas permis de retrouver de lésion de MFM [73]. Dans d'autres cas, le délai est plus long mais toujours inférieur aux 18 mois, voire deux ans requis par la nouvelle définition de MFM pathologique [50].

La symptomatologie décrite chez les adultes exposés à des vaccins à adjuvant aluminique n'est qu'exceptionnellement rapportée chez les enfants qui ont pourtant reçu proportionnellement plus d'aluminium provenant des vaccins.

5.5. DONNÉES DE PHARMACOVIGILANCE ET DE PHARMACO-ÉPIDÉMIOLOGIE

5.5.1. Données de pharmacovigilance

- Les premiers cas proviennent de la base de données de l'étude exploratoire de 1998 réalisée chez 53 patients [74]. L'Agence française de sécurité sanitaire du médicament (Afssaps) avait été saisie du problème par l'Institut national de Veille Sanitaire (InVS) et le GERMMAD, et avait confié une enquête officielle de Pharmacovigilance (PV) au Centre Régional de Pharmacovigilance (CRPV) de Nancy le 18 février 2002. Le premier bilan a été communiqué à l'occasion de la réunion du conseil scientifique de l'Afssaps en avril 2004 [75].
- Dans son rapport de 2013, le HCSP a présenté le bilan actualisé des notifications spontanées de MFM rapportées au système national de PV, bilan qui comprend en théorie l'ensemble des observations provenant des professionnels de santé, des patients ou associations de patients et des laboratoires commercialisant des vaccins [3]. Dans le cadre de la MFM, il s'agit essentiellement de deux associations de patients, E3M et Réseau Vaccin Hépatite B (REVAHB), et des centres de référence des maladies neuromusculaires de Créteil, la Pitié Salpêtrière, Marseille et Bordeaux. La définition des cas retenus était la présence de la lésion de MFM à partir des résultats de la biopsie musculaire ou d'un compte rendu médical l'évoquant. Entre le 18 février 2002 et le 30 avril 2013, le nombre d'observations colligées par le système officiel de Pharmacovigilance s'élevait à 496, dont 267 avaient une preuve histologique confirmée de la MFM et 81 un diagnostic douteux. S'y ajoutaient 69 observations à partir des données déclaratives mentionnant la présence d'une biopsie positive, ce qui portait à **417** le nombre de cas retenus en incluant les cas de biopsie douteuse. Il s'agissait de femmes dans les deux tiers des cas, d'un âge moyen de 40 ans à la date de la dernière vaccination (contre l'hépatite B dans près de 70 % des cas). Les principaux symptômes cliniques rapportés étaient des myalgies, des arthralgies, une asthénie marquée et des troubles du sommeil. En outre il était mentionné qu'« une pathologie intercurrente identifiée dans plus de la moitié des cas était susceptible de participer activement à la symptomatologie observée, le tableau clinique motivant le plus souvent une biopsie musculaire ». De manière comparable au bilan de 2004, un pic du taux de survenue des cas a été observé entre 1995 et 1998, peu de temps après la campagne de vaccination contre l'hépatite B, alors que le pic des notifications s'est situé de manière décalée, entre 2001 et 2004 (figure 1). À partir de 2007, le nombre de cas notifiés par an se situait aux environs de dix, puis a encore diminué pour n'atteindre qu'un à deux cas en 2010 et 2011.
- Un nouveau bilan a été présenté en février 2014 à l'occasion d'un séminaire du conseil d'administration du CRPV de Nancy en présence des associations de patients. Au 31 décembre 2013, le CRPV avait colligé 538 observations dont 463 ont été analysées. Si l'on ne considère que les cas de MFM pathologique en ne gardant que les observations pour lesquelles le délai entre la vaccination et la biopsie est supérieur à 18 mois-2 ans, le nombre de cas devrait être revu à la baisse. Comme précédemment, ce bilan faisait état de 67 % de femmes et d'une vaccination contre l'hépatite B dans 70 % des cas. L'évolution chronologique du nombre de cas montrait toujours le même décalage entre le taux de notifications et le taux de survenue de MFM. En revanche, un nouveau pic de déclarations a été constaté en 2013, alors que la tendance à la baisse ne cessait de s'amplifier depuis 2007. Cette augmentation serait liée à la saisie rétrospective de

cas de la littérature et à l'arrivée de cas « anciens » provenant du centre de référence des maladies neuromusculaires de Créteil.

- Au 31 octobre 2015, l'ANSM a fait parvenir à l'Académie nationale de Pharmacie un bilan actualisé des observations de PV notifiées au CRPV de Nancy, portant à **445** le nombre total de cas notifiés en France (figure 1). Entre le 12 novembre 2014 et le 31 octobre 2015, seules six notifications ont été ajoutées aux données précédentes. Il ne s'agit que de cas anciens, un seul nouveau cas étant survenu en 2013, mais aucun en 2014 et 2015.

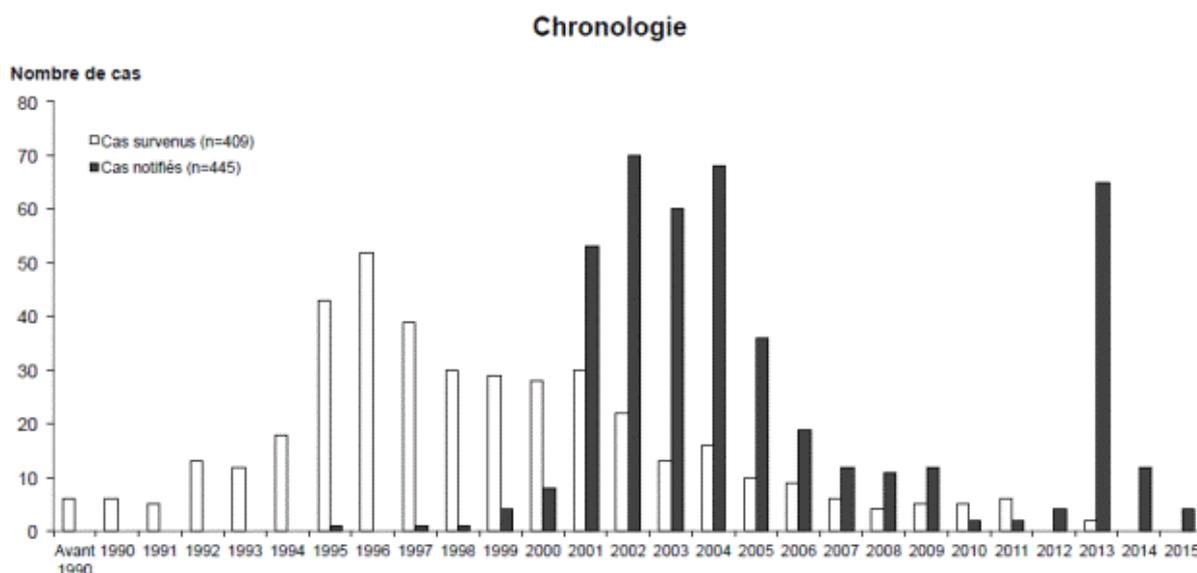


Figure 1. Évolution du nombre de cas notifiés de MF en France (données du CRPV de Nancy au 31 octobre 2015)

- **Cependant, les méthodes habituelles de reconnaissance d'un effet indésirable peuvent ne pas être contributives** puisque la seule existence de signes cliniques non spécifiques, habituellement rapportés chez les patients atteints de MF, ne permet pas de suspecter un cas de MF et que seul le résultat de la biopsie permet de confirmer le diagnostic de MF. De plus, les professionnels de santé ne peuvent pas penser initialement à un « effet indésirable » chaque fois qu'un patient présente une fatigue plus ou moins associée à des troubles musculo-squelettiques, ce qui représente une part significative de leur patientèle. Sur le plan sémiologique, aucun facteur favorisant n'a été identifié. Par ailleurs, la relation chronologique est compliquée à appréhender puisqu'il peut s'écouler plusieurs mois, voire des années avant que les premières manifestations cliniques n'apparaissent. Enfin, tous les médecins généralistes ne connaissent pas la MF et ne peuvent pas adresser leurs patients à un centre de référence des maladies neuromusculaires ou, s'ils la connaissent, ils peuvent hésiter à les envoyer pour subir un examen invasif tel qu'une biopsie musculaire pour explorer une myalgie chronique dont l'intensité n'est pas toujours importante. Pour toutes ces raisons, ce sont essentiellement les services hospitaliers spécialisés dans les pathologies neuromusculaires qui sont concernés par l'identification des cas.
- En 2014, l'ANSM a indiqué que parmi les 56 vaccins alors autorisés en France, 30 contenaient des adjuvants, dont 90 % sont des dérivés de l'aluminium, ce qui représente environ 10 millions de doses par an [76]. Si l'on tente d'estimer, ne serait-ce que le nombre de doses administrées en France depuis 1993 tout en sachant que le nombre était plus faible il y a 20 ans, la quantité totale

de doses de vaccins à adjuvant aluminique administrées serait approximativement de 160 millions.

5.5.2. Données de pharmaco-épidémiologie

- En mars 1998, l'InVS, alerté par le GERMMAD, a démarré une **enquête épidémiologique** ayant pour objectifs de décrire précisément les cas identifiés dans les centres de myopathologie, proposer une définition des « cas » et émettre des hypothèses sur d'éventuels facteurs de risque de survenue de MFM.

Un cas était défini comme « toute personne chez qui une lésion histologique de MFM était identifiée ». Cinq centres de myopathologie (Bordeaux, Créteil, Marseille, Nantes et Paris à la Pitié Salpêtrière) ont participé à l'étude. Dès qu'un nouveau cas était diagnostiqué, l'InVS était informé. Une fois les étapes réglementaires remplies, les patients répondaient à un questionnaire comprenant des informations démographiques, cliniques et biologiques, les antécédents médicaux personnels et familiaux, les traitements et les vaccinations reçus ainsi que des éléments liés à des expositions, notamment professionnelles et environnementales.

À la fin de l'étude, le 31 mai 2000, 93 cas avaient été identifiés, mais seuls 73 avaient été transmis à l'InVS, parmi lesquels 53 patients avaient répondu au questionnaire. Seul un patient était âgé de moins de 10 ans et quatre patients avaient entre 10 et 20 ans. Cette tranche d'âge ayant pourtant été la cible de la campagne de vaccination contre l'hépatite B, davantage de cas pédiatriques étaient attendus.

Sur le plan clinique, les résultats ont montré que 98 % des personnes avaient eu des myalgies associées à de la fatigue ; 15 % des patients se plaignaient d'une fatigue sans troubles musculaires et certains, d'arthralgies, de céphalées, de douleurs abdominales et de dyspnée. Le délai entre le début des symptômes et le diagnostic s'était significativement réduit après 1996-1997, date à laquelle l'entité MFM avait été portée à la connaissance de la communauté des spécialistes des troubles musculaires, ce délai passant de 56 mois à 14 mois. Une dose de vaccin adsorbé sur adjuvant aluminique avait été administrée chez 87 % des patients dans les 10 ans précédant le début théorique des symptômes. Ce chiffre ne peut pas être comparé à celui, non connu, de la population générale, comme le soulignent les auteurs. Parmi les vaccins à adjuvant aluminique, il s'agissait d'un vaccin de l'hépatite B dans 68 % des cas.

- **En raison de l'absence de comparaison à des sujets ne présentant pas de MFM lors de l'étude précédente, les autorités de santé ont décidé de réaliser une nouvelle étude pharmaco-épidémiologique.** Cette étude a été confiée au département de pharmacologie de Bordeaux. Son objectif était de rechercher l'existence d'une association entre la lésion histologique de MFM et la présence d'un syndrome clinique spécifique, ainsi qu'entre la lésion histologique et des antécédents de vaccination avec un ou des vaccins à adjuvant aluminique. Le protocole prévoyait le recrutement de cinq témoins pour un cas. L'étude a débuté en février 2002 et s'est terminée en octobre 2003. Les sujets retenus étaient des patients dont le diagnostic de MFM avait été posé à partir d'une biopsie réalisée avant février 1999 dans les centres de myologie de Bordeaux, Créteil et la Pitié-Salpêtrière : la définition des cas était la même que pour l'étude précédente, mais s'y ajoutait la date antérieure à février 1999. Les témoins étaient définis comme « tout sujet pour lequel une biopsie musculaire ne révélait pas la présence d'une MFM ». Une définition du syndrome clinique de MFM reposant sur les myalgies ou sur le syndrome de fatigue chronique avait été prévue dans le protocole, mais la difficulté à déterminer le début et la durée des symptômes n'a pas permis d'avoir une analyse fiable.

Les symptômes les plus fréquemment rapportés par les cas et les témoins étaient de la fatigue, des

myalgies et des arthralgies. Contrairement à ce qui était attendu, seule une asthénie a été retrouvée significativement plus fréquemment chez les patients (60 %) que chez les témoins (34,4 %, $p = 0,046$). Mais ce symptôme n'est pas spécifique de la MFM et peut être lié à d'autres facteurs qui n'ont pas été recherchés. De plus, le fait que la fatigue fasse partie des éléments de la définition du syndrome clinique de la MFM augmente les chances de trouver une association.

Les experts sollicités par le conseil scientifique de l'Afssaps ont souligné que la significativité statistique de cette différence pouvait résulter de l'augmentation du risque de première espèce, secondaire au nombre très élevé des comparaisons réalisées [75]. Cependant, le fait que tous les résultats aillent dans le même sens atténue cette critique méthodologique.

Parmi les antécédents vaccinaux, 90 % des patients avaient bénéficié d'une vaccination par un vaccin contenant un dérivé de l'aluminium, dans les dix années précédant le début des symptômes, mais seulement 42 % des témoins ($p = 0,0002$). Cependant, ce résultat est discutable car environ un tiers des témoins n'avait pas pu fournir de confirmation de leur vaccination, pour seulement moins de 4 % des patients présentant une MFM [75].

Enfin, cette étude n'a pas permis de conclure à une association entre la lésion de MFM et l'existence d'un syndrome clinique spécifique.

Le 13 février 2014, le conseil d'administration de l'ANSM a annoncé que « La MFM est aujourd'hui reconnue comme une cicatrice histologique ou comme une réaction histologique à l'aluminium contenu dans les vaccins » [76]. Les autorités sanitaires et scientifiques ne sont pas parvenues à établir formellement une relation éventuelle entre la MFM histologique et un syndrome plus général proche de la fibromyalgie qui pourrait être dû aux vaccins contenant de l'aluminium.

5.6. Commentaires : la myofasciite à macrophages en 2016

- Plusieurs chercheurs ainsi que le HCSP et l'ANSM considèrent la lésion de MFM comme un « **tatouage vaccinal** », **manifestation locale liée à la persistance de l'aluminium** dans le muscle où a été injecté le vaccin [3, 76, 77]. D'autres auteurs réfutent ce postulat sur les arguments suivants [50] :

- 1) La majorité des personnes vaccinées par des vaccins à adjuvant aluminique ne présente pas de MFM et encore moins de MFM persistante.
Cependant, il faut noter que la difficulté pour les patients de se rappeler le site de la vaccination et pour le médecin de pratiquer une biopsie au bon endroit, peut, au moins en partie, expliquer ce résultat. Selon les histologistes, les lésions dans le deltoïde étant peu volumineuses, la biopsie peut être négative alors que la lésion existe [74].
- 2) Les explorations histologiques sont en faveur d'une lésion immunologiquement active, ce qui est compatible avec les propriétés immunostimulantes de l'hydroxyde d'aluminium [38, 50].
- 3) Bien que la lésion de MFM n'ait pratiquement été décrite qu'au niveau du site de l'injection du vaccin chez l'Homme, des expériences réalisées chez des rongeurs montreraient que l'hydroxyde d'aluminium diffuse dans tout l'organisme à la suite d'une injection IM (cf. § 6.2).
- 4) Des cas sporadiques de MFM ont été décrits avec des vaccins contenant des dérivés de l'aluminium autres que l'hydroxyde (sulfate et hydroxyphosphate), mais aussi des adjuvants à base de squalène, donc avec toute substance ayant des propriétés adjuvantes [63].
- 5) Des cas isolés de MFM unilatérale, dont l'une était caractérisée par une lésion au niveau du

muscle tibial antérieur, ont été décrits chez des personnes de plus de 50 ans, sans relation avec une vaccination par un vaccin à adjuvant aluminique, voire sans relation avec une vaccination, mais les données de l'anamnèse sont toujours fragiles [78, 79].

- **La définition des cas de MFM a également évolué depuis les premières descriptions**, mais aucune analyse n'a réévalué l'ensemble des patients des études pour ne retenir que les observations dont le délai entre la dernière dose vaccinale administrée et la biopsie est supérieur à 18 mois, voire deux ans. Cela éliminerait déjà la majorité des cas pédiatriques.
- **Sur le plan quantitatif, les cas sont toujours très majoritairement retrouvés en France, essentiellement chez des adultes**, soit près de 500 cas colligés par le système officiel de PV avec un diagnostic de MFM persistante ou non, ou 1 000 si l'on garde l'ensemble des cas recensés par E3M, alors qu'approximativement 160 millions de doses de vaccins à adjuvant aluminique ont été administrées par voie IM en France. Le vaccin de l'hépatite B est prépondérant (70 %) dans les cas MFM. Pour expliquer cette situation, l'équipe de GHERARDI apporte les éléments suivants : le nombre élevé de cas de MFM rapporté en France par rapport aux autres pays ne peut pas être expliqué par des différences dans le procédé de fabrication de l'hydroxyde d'aluminium, puisque cet adjuvant est inscrit à la Pharmacopée européenne ; le remplacement de la voie SC par la voie IM pour les vaccinations, bien qu'en réalité ce changement remonterait au début des années 80 [75] ; la campagne de primo-vaccination des adultes français contre l'hépatite B à large échelle dans le milieu des années 1990 ; le choix préférentiel du muscle deltoïde pour la réalisation des biopsies musculaires en routine contrairement aux biceps brachial et quadriceps préférentiellement utilisés dans les autres pays.
- **Si l'agent causal de la MFM était l'hydroxyde d'aluminium, pourquoi le principal vaccin mis en cause est-il le vaccin de l'hépatite B**, alors que le vaccin à adjuvant aluminique le plus utilisé dans la population générale est le vaccin tétanique ? Il est vrai que notre pays est le seul pays au monde à avoir connu une campagne massive de vaccination des adolescents entre 1994 et 1998 sur une période courte, ce qui représente une situation favorisant la survenue d'un signal de pharmacovigilance. D'ailleurs, le nombre de nouveaux cas identifiés aujourd'hui est très faible. Mais peut-être faudrait-il incriminer davantage le complexe antigène vaccinal-adjuvant que l'adjuvant aluminique lui-même dans la relation entre la vaccination contre l'hépatite B et la MFM.
- S'il n'y a pas lieu de remettre en cause la pertinence des observations de GHERARDI sur la présence persistante de l'aluminium au niveau du site d'injection du vaccin et sur l'incorporation du métal dans les macrophages, **il reste à démontrer la relation de cause à effet entre ces observations et les manifestations cliniques**. Or ces dernières sont peu spécifiques et variables d'un malade à un autre et dans le temps pour un même malade, qu'il s'agisse de myalgies, de fatigue chronique ou de certaines manifestations neurologiques. C'est naturellement vers l'épidémiologie que l'on chercherait la réponse. Les études précédentes n'ont pas permis de retrouver d'association entre la lésion de MFM et la présence d'un tableau clinique particulier. En 2014, le conseil scientifique de l'ANSM avait conclu qu'il ne paraissait pas possible de réaliser en France une nouvelle étude épidémiologique s'appuyant sur l'identification de la MFM, en raison des biais multiples, notamment de sélection, qui ne permettent pas une interprétation fiable des résultats d'une telle étude [75].

- **Les hypothèses étiopathogéniques ont évolué au cours du temps, mais aucune à ce jour, n'est confirmée :**

- 1) *L'origine infectieuse* : la maladie de Whipple a été initialement suspectée, ce qui explique pourquoi les premiers patients ont été traités par des antibiotiques avec, pour certains, des résultats positifs [80]. Cependant, cette maladie a été assez rapidement écartée en l'absence de signes spécifiques, notamment de signes digestifs, et d'une bactérie (*Tropheryma whipplei*) sur la biopsie duodénale de patients présentant une MFM.
- 2) *L'origine auto-immune* : un type unique de maladie auto-immune n'est pas retrouvé chez les patients présentant une MFM. En raison de la prévalence élevée de ces maladies dans la population générale, il n'est pas anormal de retrouver un nombre important d'affections auto-immunes (notamment sclérose en plaques) chez les patients atteints de MFM. Tout le débat sur l'existence d'un lien possible entre vaccination contre l'hépatite B et affections démyélinisantes a aussi alimenté cette hypothèse. L'équipe de Créteil avait avancé que la persistance de l'adjuvant aluminique pourrait être responsable d'une stimulation immunitaire qui dépasse son but et déclenche un processus d'auto-immunité. Cette allégation pourrait être envisageable chez un petit groupe de patients, qui reste à déterminer.
- 3) *L'origine toxique* : un seul cas de MFM associé à un SFC a été décrit chez un adulte en présence d'une surcharge en aluminium qui, selon les auteurs, expliquerait pour une large part la sévérité du tableau clinique [81].
- 4) *L'origine génétique* : une prédisposition génétique a été longtemps suspectée chez des patients, essentiellement sur la base d'observations familiales [69, 72, 82]. Au-delà de ces quelques cas, notamment familiaux, on ne peut retenir formellement l'association à l'allèle HLA-DBR1*01 comme marqueur d'une susceptibilité génétique chez les patients atteints de MFM, génotype également fréquemment associé à certaines maladies auto-immunes. Plus récemment s'est posée la question d'un génotype particulier pour le gène MCP-1/CCL2, tel que l'haplotype rs1024611/rs3760396. Des études sur le polymorphisme nucléotidique des gènes contrôlant l'autophagie sont en cours.

Acquis

- Vu l'hétérogénéité et la non-spécificité des manifestations cliniques associées à la lésion histologique, il n'est pas possible de définir un syndrome de MFM.
- La lésion de MFM ne semble pas pathognomonique de l'administration d'un vaccin adsorbé sur de l'hydroxyde d'aluminium, puisqu'il est possible de la retrouver dans d'autres circonstances.
- La majorité des cas de MFM est apparue dans les années qui ont suivi la campagne de vaccination contre l'hépatite B et, aujourd'hui, les cas notifiés au système de Pharmacovigilance sont essentiellement des cas anciens.

Interrogations

- Pourrait-on définir des facteurs de prédisposition pour une MFM persistante et des facteurs de susceptibilité pour une évolution vers une MFM associée à des manifestations cliniques ?
- Est-ce que le délai minimal de 18 mois entre la vaccination et la biopsie est suffisamment étayé pour être retenu dans le diagnostic de MFM pathologique ?

Propositions

- Ré-analyser la cohorte de patients français pour tenter d'établir notamment une nouvelle définition d'un cas de MFM persistante, préciser la prise en charge et l'évolution clinique des patients.
- Explorer en clinique divers facteurs de susceptibilité individuelle tels que l'environnement, l'âge des sujets, les étapes du développement cérébral ainsi que les facteurs génétiques pouvant influencer les réponses immunitaires.

6. ÉTUDES EXPÉRIMENTALES

6.1. INTRODUCTION

Diverses approches expérimentales ont été mises en place visant essentiellement à étudier la bio-persistance de l'adjuvant aluminique dans différents modèles animaux. Une des hypothèses proposées est que la bio-persistance à long terme serait liée à la capacité, *via* un mécanisme de transport intracellulaire, d'atteindre des organes éloignés du site d'immunisation et d'y exercer des effets potentiellement toxiques, plusieurs années après immunisation. C'est dans ce contexte que plusieurs facteurs impliqués dans la migration cellulaire, notamment de cellules macrophagiques, ont été analysés chez des patients atteints de MFM par comparaison avec des sujets normaux et des témoins présentant une inflammation. Seuls les taux sériques de la chimiokine MCP-1/CCL2 apparaissent significativement augmentés chez les patients atteints de MFM [54]. Sur la base de travaux préliminaires suggérant un polymorphisme génétique du gène *ccl2*, compatible avec la rareté des cas de MFM rapportés pour des milliards de doses de vaccins à adjuvants aluminiques administrés dans le monde, des travaux expérimentaux visant à étudier la translocation cérébrale de l'aluminium et à déterminer le rôle du fond génétique ont été initiés.

6.2. DONNÉES RÉCENTES

Très peu d'études expérimentales ont été publiées et leurs principales limites concernent la rigueur des protocoles expérimentaux ainsi que l'hétérogénéité des modèles utilisés, des paramètres choisis et de la cinétique des déterminations effectuées.

On citera notamment :

- les travaux réalisés chez le singe *Cynomolgus (Macaca fasciculata)* chez qui un vaccin diphtérique-tétanique adsorbé sur hydroxyde ou phosphate d'aluminium a été injecté par voie IM [35] ; cette étude conclut que de l'aluminium a été retrouvé au troisième et au sixième mois, mais de manière très localisée au point d'injection ;
- les travaux rapportés par AUTHIER, qui comparent, chez les rats Lewis et les rats Sprague Dawley, la persistance de lésions après injection du vaccin de l'hépatite B contenant de l'oxyhydroxyde d'aluminium [83]. Ils montrent que ces lésions localisées au point d'injection IM sont plus importantes chez les rats Sprague Dawley que chez les rats Lewis et diminuent de manière notable six mois et un an après l'injection ;
- d'autres travaux concernent différents modèles de souris : souris C57/BL6, lignée consanguine stable produisant plus de MCP-1/CCL2 [59, 84] ; souris CD1, lignée non consanguine à variabilité génétique, auxquelles il a été injecté soit de l'oxyhydroxyde d'aluminium seul, soit le vaccin Engerix B® [85-87], soit encore de l'oxyhydroxyde d'aluminium fixé sur des nano-diamants fluorescents permettant sa localisation tissulaire et subcellulaire [88]. Les résultats obtenus apportent quelques éléments intéressants quant à la migration retardée de l'aluminium, mais soulèvent de nombreuses questions quant à la pertinence de leur transposition à l'Homme.

6.3 DISCUSSION

- Si l'adjuvant aluminique est le plus souvent ciblé dans les études cliniques comme dans les études expérimentales, très peu de travaux ont concerné le **complexe antigène vaccinal-adjuvant aluminique** et donc l'influence de la nature de l'antigène dans ce complexe. Il est pourtant admis que la nature biochimique de chaque antigène peut influencer la force de la liaison entre l'antigène vaccinal et le dérivé aluminique, et être responsable d'une spécificité potentielle de chaque complexe antigène vaccinal-adjuvant. Malheureusement, la plupart des travaux

expérimentaux ont été réalisés avec de l'hydroxyde d'aluminium seul, sans antigène, ce qui ne correspond pas à la situation de l'aluminium utilisé comme adjuvant vaccinal. Pour les études publiées concernant un complexe antigène vaccinal-adjuvant, la majorité concerne le vaccin Engerix B[®], vaccin de l'hépatite B commercial, sans témoin antigène vaccinal seul. Il n'est fait état que dans une seule étude de l'utilisation de l'aluminium complexé à un antigène bactérien, le vaccin diphtérique-tétanos, pourtant le plus fréquemment administré chez l'Homme. Dans le cas des nano-diamants fluorescents, même si les particules sont de taille et de charge identiques à celles du vaccin Engerix B[®] [87], il faut souligner que l'adjuvant aluminique seul est couplé, sans antigène vaccinal, ce qui ne permet donc pas, à ce stade, de conclure définitivement à la biodistribution du complexe adjuvant-antigène vaccinal.

- Deux autres facteurs importants à prendre en considération pour la translocation cérébrale de l'aluminium sont la **voie d'introduction** ainsi que la **BHE**. À la suite de l'injection de vaccin de l'hépatite B à des souris C57/BL6 par voie IM ou SC, des dépôts de « nanoparticules » d'aluminium peuvent être détectés dans des sites distants du site d'injection comme la rate et le cerveau, pendant six mois à un an après l'injection [59]. La translocation cérébrale n'est pas observée après une injection IV, mais elle augmente significativement chez des souris dont la BHE est modifiée de façon chronique. En effet des « nanoparticules » d'aluminium transportées par des monocytes/macrophages inflammatoires pourraient traverser la BHE sous l'influence de la chimiokine MCP-1/CCL2 ; mais ce phénomène ne se produit qu'à une fréquence extrêmement faible chez les souris normales ($1/10^7$), ce qui explique la très bonne tolérance habituelle de doses limitées d'oxyhydroxyde d'aluminium. En revanche, cette translocation augmente chez des souris présentant des altérations de la BHE ou des concentrations tissulaires élevées de MCP-1/CCL2 [56].

Ces résultats pourraient suggérer que l'administration répétée d'oxyhydroxyde d'aluminium pourrait être insidieusement neurotoxique en cas de BHE immature ou altérée (vieillesse) ou de forte production de MCP-1/CCL2 (vieillesse ou fonds génétique).

Mais ces résultats soulèvent de nombreuses questions :

- Les dépôts d'aluminium détectés dans la rate et dans le cerveau proviennent-ils de la translocation physique des agrégats d'oxyhydroxyde d'aluminium ou sont-ils dus à l'agrégation *in situ* d'aluminium soluble, ou encore à ces deux mécanismes ?
- Quels sont les principaux facteurs de translocation de l'aluminium vers le cerveau : les récepteurs de la transferrine pour l'ion aluminium Al^{3+} , dont l'expression est augmentée en cas de déficit en fer ? Une BHE endommagée par des particules libres d'hydroxyde d'aluminium ? Une neuro-inflammation favorisant le transport des particules par les macrophages ?
- L'hypothèse d'une **prédisposition génétique** ou plutôt de facteurs favorisants est intéressante car serait compatible avec la très faible incidence des cas de MFM observés chez l'Homme ainsi qu'avec l'augmentation sérique de MCP-1/CCL2 chez les patients atteints de MFM [49, 54]. Cependant, elle n'a été que récemment abordée dans les modèles expérimentaux. Les travaux initiaux chez le rat suggéraient une différence significative dans la taille des lésions induites par le vaccin de l'hépatite B à oxyhydroxyde d'aluminium : moins étendues chez les rats Lewis (rats consanguins et enclins à produire plutôt des réponses de type Th1) par rapport aux rats Sprague Dawley (rats non consanguins produisant plutôt des réponses mixtes Th1/Th2) [83]. Les auteurs concluaient à l'influence d'une réponse cellulaire protectrice de type Th1. Des résultats sensiblement différents ont été obtenus chez les souris puisque la translocation de l'aluminium

dans la rate, quelques jours après l'injection, puis dans le cerveau à partir de trois semaines [59], est observée préférentiellement chez les souris C57/BL6 (lignée consanguine stable prédisposée à produire des réponses de type Th1) [89], à la différence des souris CD1 non consanguines dont le fond génétique est différent [87]. Parmi les nombreuses différences connues entre les lignées de souris, les souris C57/BL6 produisent effectivement plus de MCP-1/CCL2 que les souris BALB/c par exemple [84], mais malheureusement, on ne connaît pas la production de MCP-1/CCL2 chez les souris CD1 utilisées dans plusieurs études.

Afin de pouvoir conclure quant à une prédisposition génétique éventuelle, il est indispensable que les expériences soient pratiquées de manière comparative et dans les mêmes conditions (formulations injectées, doses et voie d'introduction) sur des groupes plus importants d'animaux bien caractérisés sur le plan génétique.

Une des limites des résultats expérimentaux concerne également la méthode de **calcul des doses** d'aluminium injectées. Ces dernières ont été calculées par rapport aux doses administrées chez l'Homme en fonction du poids des animaux. Par exemple, dans une étude effectuée avec le vaccin de la maladie du charbon [AVA (*Anthrax Vaccine Adsorbed*)], 100 à 300 µg d'oxyhydroxyde d'aluminium/kg ont été administrés chez la souris, ce qui est supérieur à la quantité administrée chez l'Homme (environ 68 µg/kg) [85]. Plus problématique est la **multiplication par un facteur de 12,3** (selon les abaques de la FDA), **de la dose humaine injectée à la souris** pour tenir compte des différences inter-espèces [87].

En ce qui concerne **les doses administrées**, certaines études très préliminaires (nombre de souris très faible) laissent à penser qu'en fonction de la voie d'administration des vaccins, ce ne serait pas toujours les doses les plus élevées d'adjuvant aluminique qui induiraient une translocation de l'aluminium dans le cerveau [87].

Acquis

- Des dépôts de particules d'aluminium peuvent être détectés dans des sites distants du site d'injection de l'adjuvant, comme la rate et le cerveau selon la lignée, pendant plus de six mois.
- Le passage de la BHE par l'aluminium intra-macrophagique est très faible chez les souris normales, mais augmente en cas d'altération de la BHE ou de taux anormalement élevés de MCP-1/CCL2.
- La voie d'introduction, la dose d'adjuvant administrée et le fonds génétique sont des facteurs très importants.

Interrogations

- La nature de l'antigène vaccinal pourrait-elle influencer la capture et le transport de l'aluminium ?
- Quels sont les principaux facteurs de persistance de l'aluminium dans l'organisme : la quantité d'aluminium injectée, la phagocytose ou la structure cristalline provoquant des altérations des bicouches lipidiques de l'autophagosome et du lysosome ?
- Quels sont les mécanismes impliqués dans la toxicité des adjuvants aluminiques : toxicité du métal, toxicité de micro-agglomérats ou de complexes formés avec l'antigène vaccinal ?

Proposition

- Mettre en place des études expérimentales comparatives contrôlées rigoureusement pour définir l'influence du fonds génétique, de la nature de l'antigène et du dérivé de l'aluminium, de la dose administrée, de la voie d'administration, de la répétition des injections, de l'âge...

CONCLUSION

La vaccination a permis d'éradiquer la variole, d'envisager l'élimination prochaine de la poliomyélite et de contenir un grand nombre d'infections parmi lesquelles la diphtérie, le tétanos, la tuberculose et la rougeole.

Pourtant, depuis une quinzaine d'années, la vaccination est remise en cause par certains groupes de pression très actifs, alors que, paradoxalement, nos autorités de santé sont fortement sollicitées par les citoyens pour que des vaccins soient développés contre l'infection à VIH, l'hépatite C, la fièvre hémorragique Ebola ou l'infection à virus Zika.

Par ailleurs, si certains ne remettent pas en cause la vaccination en elle-même, ils remettent en question la sécurité des vaccins contenant des adjuvants, plus particulièrement des dérivés de l'aluminium qu'ils rendent responsables d'une symptomatologie complexe regroupée sous le nom de myofasciite à macrophages. Il s'agit d'une entité histologique caractérisée par des dépôts d'aluminium dans le tissu musculaire accompagnée de myalgies, d'arthralgies, de fatigue et de troubles cognitifs.

Depuis vingt ans, 445 cas de myofasciite à macrophages ont été notifiés aux centres de pharmacovigilance en France, alors que, pour la même période, environ 160 millions de doses de vaccins contenant un adjuvant aluminique ont été administrées, soit de l'ordre de un cas pour 360 000 vaccinations.

Face aux doutes exprimés sur la sécurité des vaccins à adjuvant aluminique, l'Académie nationale de Pharmacie a entrepris une étude des données cliniques et expérimentales les plus récentes publiées sur ce sujet ainsi que des données de pharmacovigilance et de pharmaco-épidémiologie obtenues en France depuis la notification des premiers cas de myofasciite à macrophages.

Il en ressort les éléments suivants :

- l'aluminium sous la forme d'hydroxyde ou de phosphate est utilisé dans les vaccins depuis plus de 80 ans ;
- cette utilisation est motivée par les propriétés stimulantes de l'immunité du complexe formé entre l'antigène vaccinal et la particule aluminique ainsi que la persistance de ce complexe ;
- la quantité d'aluminium apportée par une dose de vaccin est négligeable au regard des apports alimentaires, cosmétiques, professionnels ;
- d'une manière inexplicée, les cas de myofasciite à macrophages n'ont été décrits qu'une soixantaine d'années après les débuts de l'utilisation de l'aluminium comme adjuvant ;
- tout aussi inexplicée est la restriction géographique relative de la description de ces phénomènes : une équipe française a, à elle seule, regroupé plus de 95 % des observations mondiales ;
- les cas de myofasciite à macrophages ont formé un « pic épidémique » entre les années 1994 et 2002 (avec un maximum annuel d'une cinquantaine de cas en 1996), contemporain de la campagne nationale de vaccination contre l'hépatite B (1994 - 1998) ;
- d'après les données de pharmacovigilance, un seul nouveau cas de myofasciite à macrophages serait survenu depuis 2012, alors qu'actuellement, environ 12 millions de doses de vaccins contenant un adjuvant aluminique sont administrées chaque année en France.

L'Académie nationale de Pharmacie :

- reconnaît la souffrance endurée par les patients présentant une myofasciite à macrophages ;
- a analysé de façon exhaustive l'ensemble des données disponibles dans le domaine de la toxicologie de l'aluminium et de ses dérivés minéraux, chez l'Homme ;
- a pris en compte l'ensemble des données concernant la lésion histologique de myofasciite à macrophages et les symptômes cliniques associés ;
- souligne que l'utilisation d'un adjuvant est indispensable à l'efficacité d'un grand nombre de vaccins en renforçant l'immunité protectrice à l'égard de l'infection ciblée par la vaccination, tout en permettant de limiter la quantité d'antigène administrée ;
- constate que les adjuvants aluminiques sont utilisés dans une majorité de vaccins commercialisés dans le monde et retenus par les Pharmacopées européenne et américaine ;
- rappelle qu'il n'existe pas d'alternative à court terme aux adjuvants aluminiques du fait que la sécurité d'autres adjuvants actuellement en développement n'est, aujourd'hui, pas démontrée ;
- soutient la recherche concernant de nouveaux adjuvants ;
- constate que, même si certaines manifestations cliniques sévères ont pu être associées à des injections vaccinales, aucun lien de causalité n'a pu être établi, à ce jour, avec les adjuvants aluminiques, d'autant que ces manifestations paraissent limitées dans le temps (non identifiées avant 1990 et semblant en extinction depuis 2012) et dans l'espace (la France a cumulé la quasi-totalité des cas décrits dans le monde) ;
- est favorable à ce que des travaux expérimentaux rigoureux soient réalisés pour tenter d'évaluer la réalité de la responsabilité des adjuvants aluminiques dans les manifestations cliniques observées chez certains patients puisque, à ce jour, aucune étude épidémiologique n'a pu être conduite sans biais ;
- souligne l'importance de prendre en compte le complexe antigène-adjuvant dans ces travaux expérimentaux ;

Mobilisée depuis toujours sur la prévention des maladies infectieuses et sur la sécurité des patients, l'Académie nationale de Pharmacie réaffirme avec force que le rapport bénéfice/risque est très en faveur de l'utilisation des adjuvants aluminiques et insiste sur l'apport majeur de la vaccination dans le domaine de la santé publique.

COMPOSITION DU GROUPE DE TRAVAIL

Le groupe de travail, animé par Liliane GRANGEOT-KEROS, Secrétaire général adjoint de l'Académie nationale de Pharmacie, était constitué de :

- Alain ASTIER
- Monique CAPRON
- François CHAST
- Jean-Paul CHIRON
- Claude CHOISY
- Michèle GERMAN
- Jean-Pierre GOULLÉ
- Philippe GUILLOT-CHÊNE
- Véronique LAMARQUE-GARNIER
- Philippe MOINGEON
- Claude MONNERET

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Eickhoff TE. Workshop summary Aluminium in vaccines. *Vaccine* 2002; 20 suppl 3: S1-S4.
- [2] Académie nationale de médecine. Les adjuvants vaccinaux : quelle actualité en 2012 ? *Bull Acad Natle Méd* 2012; 196 n° 6: 1177-81.
<http://www.academie-medecine.fr/wp-content/uploads/2013/10/adjuvants-vaccinaux-rapport-ANM1.pdf>
- [3] Haut Conseil de la santé publique. Aluminium et vaccins. Rapport. 11 juillet 2013
http://www.hcsp.fr/Explore.cgi/hcsp20130711_aluminiumetvaccins.pdf
- [4] Gherardi RK, Eidi H, Crépeaux G, Authier FJ, Cadusseau J. Biopersistence and brain translocation of aluminium adjuvants of vaccines. *Front Neurol* 2015; 6: 4. Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. Les adjuvants vaccinaux : une question controversée. 22 mai 2004.
http://videos.assemblee-nationale.fr/video.2349500_5559968dd8b53
- [6] InVS, Afssa, Afssaps. Évaluation des risques sanitaires liés à l'exposition de la population française à l'aluminium. Eaux, aliments, produits de santé. Institut de veille sanitaire, Agence française de sécurité sanitaire des aliments, Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé : Saint-Maurice. 2003: 192 p.
http://opac.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=5228
- [7] Gourier-Fréry C, Fréry N. Aluminium. *Encyclopédie médico-chirurgicale, Toxicologie Pathologie* 2004; 1: 79-95.
- [8] Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Évaluation du risque lié à l'utilisation de l'aluminium dans les produits cosmétiques. 2011: 44 p.
http://www.ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/ad548a50ee74cc320c788ce8d11ba373.pdf
- [9] FDA. Aluminium in large and small volume parenterals used in total parenteral nutrition. *Code of Federal Regulations* 2012; 21, Vol. 4, Sec. 201.323.
- [10] Yokel RA, Rhineheimer SS, Sharma P, Elmore D, McNamara PJ. Entry, Half-Life, and Desferrioxamine-Accelerated Clearance of Brain Aluminium after a Single ²⁶Al Exposure. *Toxicol Sci* 2001; 64: 77-82.
- [11] Goullé JP, Mahieu L, Anagnostides JG, Bouige D, Saussereau E, Guerbet M, *et al.* Profil métallique tissulaire par ICP-MS chez des sujets décédés. *Annal Toxicol Anal* 2010; 22: 1-9.
- [12] Goullé JP, Saussereau E, Mahieu L, Guerbet M. Current role of ICP-MS in clinical toxicology and forensic toxicology: a metallic profile. *Bioanalysis* 2014; 6: 2245-59.
- [13] Alfrey AC, LeGendre GR, Kaehny WD. The dialysis encephalopathy syndrome. Possible aluminium intoxication. *N Engl J Med* 1976; 294: 184-8.
- [14] Tomljenovic L. Aluminium and Alzheimer's disease: after a century of controversy, is there a plausible link? *J Alzheimers Dis* 2011; 23: 567-98.
- [15] Candy JM, Oakley AE, Mountfort SA, Taylor GA, Morris CM, Bishop HE, *et al.* The imaging and quantification of aluminium in the human brain using dynamic secondary ion mass spectrometry (SIMS). *Biol Cell* 1992; 74: 109-18.
- [16] Bishop NJ, Morley R, Day JP, Lucas A. Aluminium neurotoxicity in preterm infants receiving intravenous-feeding solutions. *N Engl J Med* 1997; 336: 1557-61.
- [17] Ait Daoud N. Congrès joint de la Société marocaine de toxicologie clinique et analytique et de la Société française de toxicologie analytique, Fès, 11-13 novembre 2010. *Infotox* 2011; 37: 9.
- [18] Guillard O. Journées internationales de toxicologie hospitalière, Liège, 17-18 octobre 2013. *Infotox* 2013; 43: 6.
- [19] Bensefa-Colas L. DIU Toxicologie Médicale. Paris Est, Paris Descartes, Paris Diderot. 2016.

- [20] Klein GL, Alfrey AC, Shike M, Sherrard DJ. Parenteral drug products containing aluminium as an ingredient or a contaminant: response to FDA notice of intent. ASCN/ASPEN Working Group on Standards for Aluminium Content of Parenteral Nutrition Solutions. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 399-402.
- [21] Dowling DJ, Levy O. Pediatric vaccine adjuvants. Components of the modern vaccinologist's toolbox. *Ped Infect Dis J* 2015; 34: 1395-8.
- [22] McKee AS, Munks MW, Marrack P. How do adjuvants work? Important considerations for new generation adjuvants. *Immunity* 2007; 27: 687-90.
- [23] Reed SG, Orr MT, Fox CB. Key roles of adjuvants in modern vaccines. *Nat Med* 2013; 19: 1597-608.
- [24] De Gregorio E, Tritto E, Rappuoli R. Alum adjuvanticity: unraveling a century old mystery. *Eur J Immunol* 2008; 38: 2068-71.
- [25] Kool M, Soullié T, van Nimwegen M, Willart MA, Muskens F, Jung S, *et al.* Alum adjuvant boosts adaptive immunity by inducing uric acid and activating inflammatory dendritic cells. *J Exp Med* 2008; 205: 869-82.
- [26] Eisenbarth SC, Colegio OR, O'Connor W, Sutterwala FS, Flavell RA. Crucial role for the Nalp3 inflammasome in the immunostimulatory properties of aluminium adjuvants. *Nature* 2008; 453: 1122-6.
- [27] Calabro S, Tortoli M, Baudner BC, Pacitto A, Cortese M, O'Hagan DT, *et al.* Vaccine adjuvants alum and MF59 induce rapid recruitment of neutrophils and monocytes that participate in antigen transport to draining lymph nodes. *Vaccine* 2011; 29: 1812-23.
- [28] Ghimirea TR, Bensonb RA, Garsideb P, Brewer JM. Alum increases antigen uptake, reduces antigen degradation and sustains antigen presentation by DCs *in vitro*. *Immunol Lett* 2012; 147: 55-62.
- [29] McKee AS, Munks MW, MacLeod MKL, Fleenor CJ, Van Rooijen N, Kappler JW, *et al.* Alum induces innate immune responses through macrophage and mast cell sensors, but these sensors are not required for alum to act as an adjuvant for specific immunity. *J Immunol* 2009; 183: 4403-14.
- [30] Shah HB, Devera TS, Rampuria P, Lang GA, Lang ML. Type II NKT cells facilitate alum-sensing and humoral immunity. *J Leukoc Biol* 2012; 92: 883-93.
- [31] Wang HB, Weller PF. Pivotal advance: eosinophils mediate early alum adjuvant-elicited B cell priming and IgM production. *J Leukoc Biol* 2008; 83: 817-21.
- [32] Marrack P, McKee AS, Munks MW. Towards an understanding of the adjuvant action of aluminium. *Nature Rev Immunol* 2009; 9: 287-93.
- [33] Kuroda E, Ishii K, Uematsu S, Ohata K, Coban C, Akira S, *et al.* Silica crystals and aluminium salts regulate the production of prostaglandin in macrophages via NALP3 inflammasome-independent mechanisms. *Immunity* 2011; 34: 514-26.
- [34] Hem SL. Elimination of aluminium adjuvants. *Vaccine* 2002; 20 Suppl: 40-3.
- [35] Verdier F, Burnett R, Michelet-Habchi C, Moretto P, Fievet-Groyne F, Sauzeat E. 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: 1359-67.
- [36] Rennels MB, Deloria MA, Michael E, Englund JA, Anderson EL, Steinhoff MC, *et al.* Lack of consistent relationship between quantity of aluminium in diphtheria-tetanus-acellular pertussis vaccines and rates of extensive swelling reactions. *Vaccine* 2002; 2: S44-S47.
- [37] Gherardi RK, Coquet M, Chérin P, Authier FJ, Laforêt P, Bélec L, *et al.* Macrophagic myofasciitis : an emerging entity. *Lancet* 1998; 352: 347-52.
- [38] Gherardi RK, Coquet M, Cherin P, Belec L, Moretto P, Dreyfus PA, *et al.* Macrophagic myofasciitis lesions assess long-term persistence of vaccine-derived aluminium hydroxide in muscle. *Brain* 2001; 124: 1821-31.
- [39] Couette M, Boisse MF, Maison P, Brugieres P, Cesaro P, Chevalier X, *et al.* Long-term persistence of vaccine-derived aluminium hydroxide is associated with chronic cognitive dysfunction. *J Inorg Biochem* 2009; 103: 1571-8.

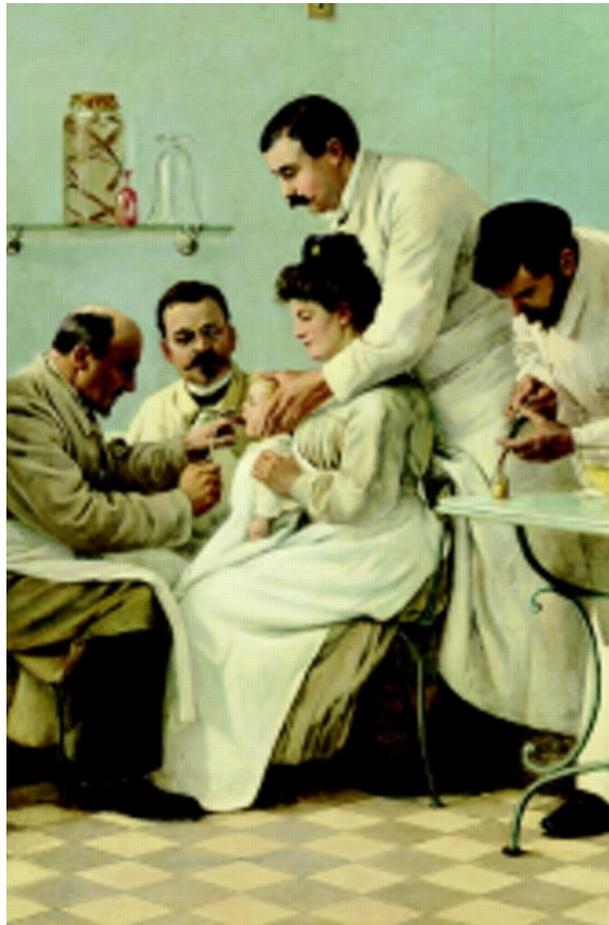
- [40] Direction générale de la santé - Comité technique des vaccinations. Guide des vaccinations Edition 2012. Inpes éditions.
<http://www.inpes.sante.fr>.
- [41] Santiago T, Rebelo O, Negrão L, Matos A. Macrophagic myofasciitis and vaccination: consequence or coincidence? *Rheumatol Int* 2015; 35: 189-92.
- [42] Chérin P, Laforet P, Gherardi RK, Authier FJ, Coquet M, Maisonobe T, *et al.* La myofasciite à macrophages : description, hypothèses étiopathogéniques. *Rev Med Interne* 1999; 20: 483-9.
- [43] Gherardi RK, Authier FJ. Myofasciite à Macrophages. Caractérisation et nouvelles pistes physiopathologiques. *Kinesither Rev* 2008; 79: 22-30.
- [44] Chérin P, Authier FJ, Généreau T, Abdelmoumni A, Ranoux D, Lorcerie B, *et al.* Atteinte du système nerveux central au cours de la myofasciite à macrophages. *Rev Med Interne* 1999; 20 Suppl 1: s41.
- [45] Granel B, Pelletier J, Serratrice J, Swiader L, Pache X, Pellissier JF, *et al.* Manifestations neurologiques de la myofasciite à macrophages. *Rev Med Interne* 1999; 20 Suppl 1: s41.
- [46] Authier FJ, Chérin P, Creange A, Bonnotte B, Ferrer X, Abdelmoumni A, *et al.* Central nervous system disease in patients with macrophagic myofasciitis. *Brain* 2001; 124: 974-83.
- [47] Gherardi RK, Authier FJ. Macrophagic myofasciitis: characterisation and pathophysiology. *Lupus* 2012; 21: 184-9.
- [48] Rangunathan-Thangarajah N, Le Beller C, Boutouyrie P, Bassez G, Gherardi RK, Laurent S, *et al.* Distinctive clinical features in arthro-myalgic patients with and without aluminium hydroxyde-induced macrophagic myofasciitis: an exploratory study. *J Inorg Biochem* 2013; 128: 262-6.
- [49] Rigolet M, Aouizerate J, Couette M, Rangunathan-Thangarajah N, Aoun-Sebaiti M, Gherardi RK. Clinical features in patients with long-lasting macrophagic myofasciitis. *Front Neurol* 2014; 5 : article 230.
- [50] Van Der Gucht A, Aoun Sebaiti M, Itti E, Aouizerate J, Evangelista E, Chalaye J, *et al.* Neuropsychological Correlates of Brain Perfusion SPECT in Patients with Macrophagic Myofasciitis. *PLoS One* 2015; 10: e0128353.
- [51] Caulfield MJ, Shi L, Wang S, Wang B, Tobery TW, Mach H, *et al.* Effect of alternative aluminium adjuvants on the absorption and immunogenicity of HPV16 L1 VLPs in mice. *Hum Vaccin* 2007; 3: 139-45.
- [52] Passeri E, Villa C, Couette M, Itti E, Brugieres P, Cesaro P, *et al.* Long-term follow-up of cognitive dysfunction in patients with aluminium hydroxide-induced macrophagic myofasciitis (MMF). *J Inorg Biochem* 2011; 105: 1457-63.
- [53] Gherardi RK. Lessons from macrophagic myofasciitis: towards definition of a vaccine adjuvant-related syndrome. *Rev Neurol* 2003; 159: 162-4.
- [54] Cadusseau J, Rangunathan-Thangarajah N, Surenaud M, Hue S, Authier FJ, Gherardi RK. Selective elevation of circulating CCL2/MCP1 levels in patients with long standing post-vaccinal macrophagic myofasciitis and ASIA. *Curr Med Chem* 2014; 21: 511-7.
- [55] White FA, Bhangoo SK, Miller RJ. Chemokines: integrators of pain and inflammation. *Nat Rev Drug Discov* 2005; 4: 834-44.
- [56] Jung H, Toth PT, White FA, Miller RJ. Monocyte chemoattractant protein-1 functions as a neuromodulator in dorsal root ganglia neurons. *J Neurochem* 2008; 104: 254-63.
- [57] Gherardi RK, Cadusseau J, Authier FJ. Bio-persistence et distribution systémique des particules injectées par voie intramusculaire : quelle incidence sur la tolérance à long terme des adjuvants aluminiques? *Bull Acad Natle Méd* 2014; 198: 37-48, discussion 49-53.
- [58] Khan Z, Combadière C, Authier FJ, *et al.* Additional file 1. Appendix, supplementary material. *BMC Med* 2013; 11: 99.
- [59] Khan Z, Combadière C, Authier FJ, Itier V, Lux F, Exley C, *et al.* Slow CCL2-dependent translocation of biopersistent particles from muscle to brain. *BMC Med* 2013; 11: 99.

- [60] Authier FJ, Sauvat S, Champey J, Drogou I, Coquet M, Gherardi RK. Chronic fatigue syndrome in patients with macrophagic myofasciitis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 569-70.
- [61] Reid S, Chalder T, Cleare A, Hotopf M, Wessely S. Chronic fatigue syndrome. *BMJ* 2000; 320: 292-6.
- [62] Institute of medicine. *iom.nationalacademies.org*. February 2015.
<http://iom.nationalacademies.org/Reports/2015/ME-CFS.aspx>.
- [63] Shoenfeld Y, Agmon-Levin N. 'ASIA'-autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants. *J Autoimmun* 2011; 36: 4-8.
- [64] Alijotas-Reig J. Human adjuvant-related syndrome or autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants. Where have we come from? Where are we going? A proposal for new diagnostic criteria. *Lupus* 2015; 24: 1012-8.
- [65] Esposito S, Prada E, Mastrolia MV, Tarantino G, Codecà C, Rigante D. Autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA): clues and pitfalls in the pediatric background. *Immunol Res* 2014; 60: 366-75.
- [66] Vincent D, Guillevin L, Levesque M, Authier F, Vadrot D, Pradalier A, *et al.* Association of macrophagic myofasciitis and fibromuscular dysplasia with renal fibromuscular dysplasia: first case report. *Clin Exp Rheumatol* 2000; 18: 753-4.
- [67] Chérin P, Menard D, Mouton P, Viillard JF, Le Hello C, Authier FJ, *et al.* Macrophagic myofasciitis associated with inclusion myositis: a report of three cases. *Neuromuscul Disord* 2001; 11: 452-7.
- [68] Reviron D, Foutrier C, Guis S, Mercier P, Roudier J. DRB1 alleles in polymyalgia rheumatica and rheumatoid arthritis in southern France. *Eur J Immunogenet* 2001; 28: 83-7.
- [69] Guis S, Mattei JP, Nicoli F, Pellissier JF, Kaplanski G, Figarella-Branger D, *et al.* Identical twins with macrophagic myofasciitis: genetic susceptibility and triggering by alumini vaccine adjuvants? *Arthritis Rheum* 2002; 47: 543-5.
- [70] Guis S, Pellissier JF, Nicoli F, Reviron D, Mattei JP, Gherardi RK, *et al.* HLA-DRB1*01 and macrophagic myofasciitis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2535-7.
- [71] Santiago T, Rebelo O, Negrão L, Matos A. Macrophagic myofasciitis and vaccination: Consequence or coincidence? *Rheumatol Int* 2015; 35: 189-92.
- [72] Amoura Z, Costedoat N, Maisonobe T, Godeau P, Piette JC. Familial macrophagic myofasciitis. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 927-8 .
- [73] Rivas E, Gómez-Arnáiz M, Ricoy JR, Mateos F, Simón R, García-Peñas JJ, *et al.* Macrophagic myofasciitis in childhood: a controversial entity. *Pediatr Neurol* 2005; 33: 350-6.
- [74] Institut de veille sanitaire en collaboration avec le GERMMAD. Myofasciite à macrophages. Rapport d'investigation exploratoire. Mars 2001.
http://www.invs.sante.fr/publications/myofasciite/rapport_myofasciite.pdf
- [75] Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Synthèse des débats de la séance extraordinaire du Conseil scientifique de l'Afssaps du 5 mai 2004 adopté au cours de la séance du 2 juin 2004. Synthèse de débats.
http://www.invs.sante.fr/publications/myofasciite/rapport_myofasciite.pdf
- [76] ANSM. Procès-verbal du séminaire du Conseil d'administration du 13 février 2014. *Enregistrement et surveillances des vaccins à l'ANSM*. ANSM 2014: 5-10.
- [77] Papo T. Macrophagic myofasciitis: local or systemic? *Joint Bone Spine* 2003; 70: 242-5.
[https://www.doi:10.1016/S1297-319X\(03\)00093-9](https://www.doi:10.1016/S1297-319X(03)00093-9)
- [78] Park JH, Na KS, Park YW, Paik SS, Yoo DH. Macrophagic myofasciitis unrelated to vaccination. *Scand J Rheumatol* 2005; 34: 65-7.
- [79] Migita K, Ueda-Nakata R, Masuda T, Miyashita T, Koga T, Izumi Y, *et al.* Macrophagic myofasciitis associated with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2010; 30: 987-9.

- [80] Misbash SA, Ozols B, Franks A, Mapstone N. Whipple's disease without malabsorption: new atypical features. *Q J Med* 1997; 90: 765-72.
- [81] Exley C, Swarbrick L, Gherardi RK, Authier FJ. A role of body burden of aluminium in vaccine-associated myositis and chronic fatigue syndrome. *Med Hypotheses* 2009; 72: 135-9.
- [82] Nevo Y, Kutai M, Jossiphov J, Livne A, Neeman Z, Arad T, *et al.* Childhood macrophagic myofasciitis-consanguinity and clinicopathological features. *Neuromuscul Disord* 2004; 14: 246-52.
- [83] Authier FJ, Sauvat S, Christov C, Chariot P, Raisbeck G, Poron MF, *et al.* AlOH₃-adjuvanted vaccine-induced macrophagic myofasciitis in rats is influenced by the genetic background. *Neuromuscul Disord* 2006; 16: 347-52.
- [84] Mills CD, Ley K. M1 and M2 Macrophages: The Chicken and the Egg of Immunity. *J Innate Immun* 2014; 6: 716-26.
- [85] Shaw CA, Petrik MS. Aluminium hydroxide injections lead to motor deficits and motor neuron degeneration. *J Inorg Biochem* 2009; 103: 1555-62.
- [86] Agmon-Levin N, Arango MT, Kivity S, Katzav A, Gilburd B, Blank M, *et al.* Immunization with hepatitis B vaccine accelerates SLE-like disease in a murine model. *J Autoimmun* 2014; 54: 21-32.
- [87] Crépeaux G, Eidi H, David MO, Tzavara E, Giros B, Exley C, *et al.* Highly delayed systemic translocation of aluminium-based adjuvant in CD1 mice following intramuscular injections. *J Inorg Biochem* 2015; 152: 199-205.
- [88] Eidi H, David MO, Crépeaux G, Henry L, Joshi V, Berger MH, *et al.* Fluorescent nanodiamonds as a relevant tag for the assessment of alum adjuvant particle biodisposition. *BMC Med* 2015; 13: 144.
- [89] Mills CD, Kincaid K, Alt JM, Heilman MJ, Hill AM. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *J Immunol* 2000; 164: 6166-73.

ANNEXE

(Brève) histoire de l'aluminium, adjuvant vaccinal



François CHAST

Avant-propos

Certains vaccins comme le vaccin polio atténué « type Sabin », dit « vivant », ou le vaccin polio « type Salk » inactivé, contiennent des adjuvants endogènes « naturels ». C'est également le cas du vaccin antigrippal qui, comme les vaccins antipoliomyélitiques, ne contient pas d'aluminium. En revanche, d'autres vaccins constitués d'antigènes comme les vaccins contre la diphtérie, le tétanos, la coqueluche, l'hépatite B, les pneumocoques, les papillomavirus, requièrent l'addition d'un adjuvant permettant une réponse immunitaire post-vaccinale adéquate. Nous décrivons la naissance du concept d'adjuvant vaccinal et son utilisation depuis environ 80 ans par l'ensemble des producteurs de vaccins et sa régulation par la totalité des administrations et agences sanitaires nationales ou internationales.

La vaccination avant l'utilisation des « sels d'aluminium »

- Au début du XXe siècle, la diphtérie et le tétanos représentent deux véritables fléaux. Dans les années 1910, on comptait, à New York, environ 1 300 décès annuels par diphtérie, soit une létalité d'environ 10 %¹. En 1924, en France, plus de 3 000 morts de diphtérie ont été dénombrés. Pourtant, les connaissances sur l'infection et son traitement avaient progressé depuis une quarantaine d'années grâce à la découverte du bacille diphtérique *Corynebacterium diphtheriae*, par Edwin KLEBS en 1883 et son isolement par Friedrich LÖFFLER en 1884 (bacille de Klebs-Löffler).
- Grâce aux travaux d'Emil Von BEHRING et Shibasaburo KITASATO, en 1890, il était connu que les patients atteints de diphtérie produisaient des antitoxines circulant dans le sang, ce qui permit à Émile ROUX de mettre au point, en 1894, une méthode de traitement curatif de la maladie : le « sérum antidiphtérique », qui abaissa la mortalité de 40 % à 2 %².
- La vaccination, difficile à mettre en œuvre, fut proposée par Emil Von BEHRING en 1913 avec un vaccin « conjugué » mélangeant toxine et antitoxine, malheureusement peu efficace³. Les travaux menés par Gaston RAMON de 1911 à 1920 lui avaient permis d'observer que l'immunisation des chevaux et la qualité des sérums collectés chez ces animaux, étaient éminemment variables et qu'il existait une corrélation entre la production d'une réaction inflammatoire au point d'injection de la toxine et l'augmentation de la production de l'antitoxine dans le sérum⁴. Dès qu'il disposa, avec la réaction de floculation, d'un procédé pratique et rapide de dosage *in vitro* de l'antitoxine, il fut à même de quantifier cette augmentation et d'évaluer avec précision les conditions optimales de la production d'anticorps.
- C'est en recherchant les moyens de renforcer la qualité de la protection obtenue au moyen d'une toxine diphtérique modifiée, que l'inactivation au moyen de formaldéhyde (« toxoid ») fut mise au point par Alexander GLENNY et Barbara HOPKINS en 1921⁴. Plusieurs modes d'inactivation furent explorés : chimique avec le formaldéhyde, physique avec la chaleur, et

¹ Panisset M. Gaston Ramon découvrait les anatoxines. *Can J Comp Med Vet Sci* 1949; 13: 60-3.

² Gachelin G. The designing of anti-diphtheria serotherapy at the Institut Pasteur (1888-1900): the role of a supranational network of microbiologists. *Dynamis* 22 janvier 2007.

³ Von Behring E. Über ein neues diphtherieschutz-mittel. *Dtsch Med Wochenschr* 1913; 39: 873-6.

⁴ Monod T. Notice sur la vie et l'œuvre de Gaston Ramon (1886-1963), Membre libre de l'Académie des sciences. Séance Académie des sciences du 9 novembre 1964.

⁵ Glenny AT, Sudmersen HJ. Notes on the production of immunity to diphtheria toxin. *J Hyg* 1921; 20: 176.

combinée, associant les deux. Ces procédés permettaient de préserver l'immunogénicité de « substance » vaccinale, tout en réduisant sa pathogénicité.

- L'inactivation combinée permit à Gaston RAMON de démontrer en 1923 qu'une toxine diphtérique ayant subi l'action du formol et de la chaleur (55 °C), se transformait en un produit inoffensif, mais qui conservait une partie (limitée) de son pouvoir vaccinal⁵. Il donna le nom d'« anatoxine diphtérique » à cette toxine inactivée.
- En 1924, il conceptualisa la notion d'adjuvant⁶ en proposant, comme premier adjuvant, le pus, après avoir constaté une augmentation d'anticorps chez les chevaux par adjonction de pus à l'anatoxine diphtérique. Il instaurait ainsi le principe des substances adjuvantes et stimulantes de l'immunité, qui permettaient d'obtenir des sérums plus riches en antitoxines en joignant au vaccin une substance « irritante » pour les tissus⁷. Parmi celles-ci, figuraient : l'agar-agar, le tapioca, l'huile de maïs, la lécithine d'œuf et la saponine.

L'utilisation des « sels d'aluminium » comme adjuvants vaccinaux

- L'idée de l'aluminium et de ses particules insolubles revient à une équipe britannique. En 1926, Alexander GLENNY et son équipe, au sein du Wellcome Physiological Research Center (Londres), rapportaient que la précipitation de l'antigène diphtérique sur des particules insolubles d'alun de potassium (sulfate double d'aluminium et de potassium) permettait d'obtenir une meilleure réponse immunitaire⁸. C'était là la première démonstration de l'intérêt d'utiliser un sel d'aluminium comme adjuvant. À la suite de cette découverte, la technique fut également utilisée pour la formulation d'un vaccin à base d'anatoxine tétanique⁹.
- L'utilisation de l'aluminium sous forme d'hydroxyde ou de phosphate pour la préparation de vaccins diphtériques, apparut en 1931¹⁰ puis a été confirmée en 1932¹¹. La technique fut améliorée peu après avec la démonstration de l'intérêt de l'association d'extraits de pollens et d'aluminium pour améliorer la qualité de la réaction allergique¹².
- La question : « *quel sel d'aluminium* » ? a été posée d'emblée par les concepteurs du principe. L'alun originel posait, comme tout sel double, un problème de reproductibilité lors de sa fabrication, et il fut rapidement remplacé par l'hydroxyde et le phosphate d'aluminium. Ces derniers permettaient une meilleure reproductibilité et offraient une « capture » directe de l'antigène, par adsorption. Le lien entre l'antigène et la particule adsorbante était la résultante de plusieurs phénomènes parmi lesquels, d'une part une interaction électrostatique (les protéines chargées négativement avec l'hydroxyde d'aluminium et les protéines chargées

⁶ Ramon G. Sur le pouvoir flocculant et sur les propriétés immunisantes d'une toxine diphtérique rendue anatoxique (anatoxine). *CR Acad Sci, Paris* 1923; 177: 1338-40.

⁷ Ramon G. Sur la toxine et sur l'anatoxine diphtériques. Pouvoir flocculant et propriétés immunisantes. *Ann Inst Pasteur* 1924a; 38: 1-10.

⁸ Ramon G. Procédé pour accroître la production des antitoxines. *Ann Inst Pasteur* 1926; 40: 1-10.

⁹ Glenny AT, Pope CG, Waddington H, Wallace U. Immunological notes XVII-XXIV. *J Path Bacteriol* 1926; 29: 31-40.

¹⁰ Glenny AT, Barr M. Immunological notes XVII-XXIV. *J Path Bacteriol* 1931; 34: 118.

¹¹ Park WH, Schroder MC. Diphtheria Toxin-Antitoxin and Toxoid: A Comparison. *Am J Public Health* 1932; 22: 7-16.

¹² Harrison WT, Effect of alum-precipitated ragweed pollen extract on guinea pigs. *Public Health Reports* 1934; 49: 462-4.

positivement avec le phosphate d'aluminium), d'autre part une interaction covalente entre le phosphate et l'hydroxyle, respectivement de l'antigène et de l'adjuvant¹³.

- Avant la deuxième Guerre mondiale, une préparation industrielle d'hydroxyde d'aluminium était disponible sous le nom d'Alhydrogel¹⁴ et fut largement mise à contribution dans la production des vaccins. En une génération, la diphtérie fut jugulée puisque dans les années 1942-1944, on ne comptait plus, à New York, qu'une dizaine de morts par an de diphtérie soit une diminution de l'ordre de 99 % par rapport à ce qui pouvait être observé 20 ans plus tôt.

L'utilisation des adjuvants vaccinaux a reposé, pendant 80 ans, sur un concept empirique

- Les premiers effets indésirables liés à l'aluminium ont été évoqués lors de l'observation, dans les années 1950, des premiers granulomes aluminiques^{15, 16}. Il s'agissait de « pseudo-abcès » au point d'injection, plus fréquemment observés lors des injections sous-cutanées que lors des injections intramusculaires. Ces granulomes étaient constitués de nodules de taille variable pouvant persister plusieurs semaines ou plusieurs mois, interprétés comme une réaction vis-à-vis d'un corps étranger persistant au point d'injection, plutôt que comme une véritable « allergie » à l'aluminium¹⁷.
- Dans le même temps, plusieurs autres adjuvants faisaient l'objet de nombreux essais parfois catastrophiques en termes de sécurité : mie de pain, tapioca, adjuvant de FREUND. Jules FREUND avait observé que des animaux infectés par le bacille tuberculeux avaient des réactions marquées à la suite d'une vaccination. Il en déduisit que le bacille tuberculeux émulsionné par un solvant adéquat, pouvait avoir un intérêt particulier dans le rôle d'adjuvant vaccinal. Entre 1937 et 1960, des effets parfois catastrophiques ont pu être mis en évidence avec la formation de granulomes et un risque de développement tumoral qui conduisit à l'abandon de cet adjuvant.
- Pour GLENNY, les sels d'aluminium étaient d'autant plus efficaces qu'ils permettaient l'allonger la durée de présence de l'antigène dans l'organisme, servant ainsi de matrice à effet retard. Ce délai dans l'élimination des particules d'aluminium permettait de prolonger d'autant la réaction immunitaire. Cette explication tint pendant une soixantaine d'années.
- Ce n'est qu'en 1985 qu'a été découvert le mécanisme d'action des « sels d'aluminium » : ils renforcent la présentation de l'antigène au lymphocyte T par des cellules spécialisées¹⁸.
 - Il a été ainsi démontré, en 1989, que les adjuvants à base d'aluminium stimulaient préférentiellement les lymphocytes CD4⁺ de type Th2 ;

¹³ Marrack P, Mc Kee AS, Munks MW. Towards an understanding of the adjuvant action of aluminium. *Nat Rev Immunol* 2009; 4: 287-93

¹⁴ Alhydrogel est une suspension aqueuse d'hydroxyde d'aluminium, largement utilisée comme adjuvant vaccinal. On ne connaît que depuis peu la nature microcristalline de cette substance, ses propriétés d'agrégation spontanée, sa stabilité et son potentiel d'immunostimulation.

¹⁵ Beck W. Aluminium hydroxide granuloma after vaccination against tetanus. *Medizinische* 1954; 11: 363-5.

¹⁶ White RG, Coons AH, Connolly JM, Studies on antibody production. The alum granuloma, *J Exp Med* 1955; 102: 73-82.

¹⁷ Bégué P, Girard M, Bazin H, Bach JF. Les adjuvants vaccinaux: quelle actualité en 2012 ? *Bull Acad Natle Méd* 2012; 196: 1177-81.

¹⁸ Mannhalter JW, Neychev HO, Zlabinger GJ, Ahmad R, Eibl MM. Modulation of the human immune response by the non-toxic and non-pyrogenic adjuvant aluminium hydroxide: effect on antigen uptake and antigen presentation. *Clin Exp Immunol* 1985; 61: 143-51.

- En 1996, il a été montré qu'ils induisaient la production d'IgE par la sécrétion d'interleukine-4 ;
- En 2003, fut mise en évidence leur capacité à stimuler l'activité des lymphocytes B en modifiant le système d'efflux calcique de ces cellules lorsqu'elles sont activées par l'intermédiaire du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II ;
- On sait aujourd'hui que l'aluminium requiert la présence d'IL-4, mais pas celle d'IL-1, d'IL-18, de MyD88 ou de TRIF, protéines par ailleurs impliquées dans la constitution de la réponse immunitaire.
- C'est en 1998 que fut décrite, par l'équipe de GHERARDI à Créteil, une entité clinique dénommée myofasciite à macrophages¹⁹ : les cas rapportés étaient essentiellement décrits en France avec un pic de prévalence rétrospectivement identifié au milieu des années 90 ; ils semblent, en voie d'extinction, une dizaine d'années plus tard. La présence d'aluminium dans des lésions musculaires associées à une symptomatologie complexe associant des troubles neurologiques, de la fatigue et des altérations cognitives, a conduit à la mise en accusation des adjuvants aluminiques. Toutefois, de manière extrêmement majoritaire, la communauté scientifique internationale a réfuté cette hypothèse.

L'aluminium a été le premier adjuvant breveté dans les années 1920 et il reste le seul adjuvant autorisé aux États-Unis. Il est très largement utilisé dans le reste du monde, notamment en Europe. Le phosphate de calcium a également été utilisé entre 1974 et 1986, par exemple par la société Pasteur Vaccins, mais cette dernière l'a abandonné dans les années 1990 après sa fusion avec le groupe Mérieux.

¹⁹ Gherardi RK, Coquet M, Chérin P *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: 347-52.