



HAL
open science

La myofasciite à macrophages et le rôle de l'aluminium d'origine vaccinal

Clémentine Malé

► **To cite this version:**

Clémentine Malé. La myofasciite à macrophages et le rôle de l'aluminium d'origine vaccinal. Sciences pharmaceutiques. 2016. dumas-01396425

HAL Id: dumas-01396425

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01396425>

Submitted on 14 Nov 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Soutenue publiquement le 20 avril 2016

Par Mademoiselle **Clémentine MALÉ**

LA MYOFASCIITE A MACROPHAGES ET LE ROLE DE
L'ALUMINIUM D'ORIGINE VACCINAL

Jury :

Président : Madame le Professeur Théodora POPOVICI

Membre : Madame Pascale LEFEVRE

Membre : Monsieur Emmanuel BULLOT

REMERCIEMENTS

A ma directrice et présidente de thèse, madame Théodora POPOVICI,

Pour m'avoir fait l'honneur de diriger et présider le jury de cette thèse. Je vous remercie pour l'intérêt que vous avez porté à mon travail, pour votre disponibilité, vos conseils et votre esprit critique.

Aux membres du jury,

A Madame Pascale LEFEVRE,

Merci d'avoir accepté de juger mon travail. Tu m'as transmis cette passion du métier et formée à la pratique officinale. Je n'oublierai jamais ces belles années étudiantes où j'ai tout appris à tes côtés.

A Monsieur Emmanuel BULLOT,

Vous avez accepté avec beaucoup de gentillesse de participer à ce jury, je vous en suis sincèrement reconnaissante. Vous m'avez fait découvrir la pharmacie d'officine et donné envie de poursuivre dans cette voie.

A toute l'équipe de la pharmacie Trigoulet,

Vous qui m'avez tous fait grandir par chacune de vos petites attentions durant mes stages et mon travail d'étudiante. Merci à chacun d'entre vous.

A toute l'équipe de la pharmacie Gauthier,

Pour m'avoir accueilli si chaleureusement au sein de votre équipe et pour n'avoir cessé de m'encourager dans l'accomplissement de ce travail. Merci à tous.

A mes parents,

Merci pour votre soutien et vos encouragements pendant toutes ces années d'études et ces longues périodes de révisions. Pour avoir toujours cru en moi et pour m'avoir encouragée sans cesse sur cette voie qui aboutit ce jour. Ma réussite, je vous la dois. Merci pour tout.

A mon frère, Benjamin,

Pour avoir bien voulu combler mes lacunes dans la langue de Shakespeare.

Pour tous les bons moments passés avec toi et ceux à venir.

A mes grands-parents,

Qui avez suivi avec intérêt toutes mes années d'études.

Merci pour tous vos encouragements.

A mes amis,

Ceux avec qui j'ai partagé les bancs de la fac, en particulier mon binôme Pauline, Clément et Stéphanie, pour tous les moments de rire et d'inquiétude passés ensemble.

Celle avec qui ce parcours a commencé, Solène, merci pour cette belle amitié qui a débuté lors de cette difficile première année.

Et tous ceux qui par leurs petites attentions m'ont encouragée dans cette voie et dans ce travail.

TABLE DES MATIERES

1.	Bases et principes de la vaccination	11
1.1	Rappels immunologiques : la réponse immunitaire.....	11
1.1.1	Immunité innée	11
1.1.2	Immunité adaptative ou acquise : la réponse immunitaire vaccinale.....	13
1.2	Réponses primaire et secondaire, la mémoire immunologique	15
1.3	Paramètres influençant la réponse immunitaire	16
1.4	Les différents types de vaccins	16
1.4.1	Les vaccins vivants atténués	16
1.4.2	Les vaccins inactivés	17
1.4.3	Les vaccins sous-unitaires ou purifiés	17
1.5	Nécessité des adjuvants vaccinaux.....	18
1.5.1	Historique	18
1.5.2	Objectifs de l'utilisation des adjuvants	18
1.5.3	Mode d'action général des adjuvants.....	19
2.	Les adjuvants aluminiques.....	21
2.1	Caractéristiques de l'aluminium vaccinal	21
2.1.1	Nature de l'aluminium des adjuvants	21
2.1.2	Propriétés physico-chimiques des adjuvants aluminiques	22
2.1.3	Adsorption de l'antigène à l'adjuvant aluminique.....	23
2.2	Cinétique de l'aluminium et ses dérivés.....	25
2.2.1	Aluminium injecté versus autres voies d'administrations : quelles différences dans la cinétique ?	26
2.2.2	Cinétiques comparées de l'hydroxyde d'aluminium et du phosphate d'aluminium	27

2.3	Caractéristiques de la réponse immunitaire induite par les adjuvants aluminiques	28
2.4	Mécanismes d'actions avancés pour expliquer l'activité adjuvante des sels d'aluminium.....	31
2.4.1	Relargage retardé des antigènes ou « effet dépôt »	31
2.4.2	Induction d'une réaction inflammatoire.....	34
2.4.3	Effets des adjuvants aluminiques sur les cellules dendritiques et la présentation des antigènes	35
2.4.4	Activation de l'inflammasome NLRP3	36
2.4.5	Contribution des cristaux d'acide urique	37
2.5	Toxicité de l'aluminium et tolérance des adjuvants aluminiques.....	39
2.5.1	Principaux effets toxiques de l'aluminium.....	40
2.5.2	Tolérance des adjuvants aluminiques.....	41
3.	La myofasciite à macrophages (MFM).....	45
3.1	Historique	45
3.2	Une lésion caractéristique en lien avec l'injection de vaccins contenant des adjuvants aluminiques.....	49
3.2.1	Description histologique de la lésion et critère de diagnostic positif.....	50
3.2.2	Diagnostic différentiel	54
3.2.3	Les preuves de l'origine de l'aluminium des macrophages apportées par les expériences animales.....	55
3.3	Les examens complémentaires	57
3.4	Une symptomatologie rappelant le syndrome de fatigue chronique.....	59
3.4.1	Symptomatologie présentée par les porteurs de lésions de MFM.....	59
3.4.2	Lien avec le syndrome de fatigue chronique (SFC)	61
3.5	Hypothèses pathogéniques	62
3.5.1	Persistance prolongée d'une stimulation immunitaire de faible intensité	63
3.5.2	L'existence de facteurs de prédisposition individuels	63

3.5.3	Migration de l'aluminium dans le cerveau : rôle de la chimiokine CCL2	65
3.6	Traitements envisagés	68
3.7	Données de pharmacovigilance	69
3.7.1	Données générales françaises	69
3.7.2	La myofasciite à macrophages à l'étranger	71
3.7.3	Peu d'enfants touchés	73
4.	Discussion : inquiétudes sur la vaccination et l'innocuité des adjuvants aluminiques	75
4.1	La vaccination, un enjeu majeur de santé publique malmené par plusieurs controverses	75
4.1.1	Importance de la vaccination	75
4.1.2	Controverses et inquiétudes autour de la vaccination	76
4.2	Points de vue des différents acteurs du débat « MFM et aluminium vaccinal »	79
4.2.1	Les associations de patients	79
4.2.2	L'industrie pharmaceutique	82
4.2.3	La communauté scientifique	84
4.2.4	Les autorités de santé	86
4.3	Une alternative aux adjuvants aluminiques est-elle envisageable ?	88

TABLE DES ABREVIATIONS

AFM	Association Française contre les Myopathies
AFSSAPS	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
AIBD	Aluminum Induced Bone Disease
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
ASC	Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD domain
ASIA	Autoimmune/Autoinflammatory Syndrome Induced by Adjuvant
ATP	Adenosine TriPhosphate
CARD	Caspase Recrutement Domain
CCSV	Comité Consultatif pour la Sécurité des Vaccins
CDC	Center for Disease Control and Prevention
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CMH	Complexe Majeur d’Histocompatibilité
CPK	Créatine phosphokinase
CRPV	Centre Régional de Pharmacovigilance
DAMP	Damage Associated Molecular Pattern
E3M	Entraide aux Malades de la Myofasciite à Macrophages
EBV	Virus d’Epstein-Barr
EMG	Electromyogramme
GERMMAD	Groupe de Recherche sur les Maladies Musculaires Acquisées et Dysimmunitaires
HCSP	Haut Conseil de la Santé Publique
HES	Hématéine Eosine Safran
HHV-6	Virus Herpès Humain de type 6
HLA	Human Leucocyte Antigen
HPV	Human Papillomavirus
IFN	Interféron
Ig	Immunoglobuline
IL	Interleukine

InVS	Institut de Veille Sanitaire
IPAD	Institut Pasteur ADSorbés sur phosphate de calcium
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
LB	Lymphocyte B
LT	Lymphocyte T
LT _{FH}	Lymphocyte T auxiliaire folliculaire
MCP-1	Monocyte chemoattractant protein-1
MFM	Myofasciite à Macrophages
NK	Natural Killer
NLR	NOD Like Receptor
NLRP3	NOD-Like Receptor family Pyrin domain containing 3
NOD	Nucleotide-binding Oligomerization Domain protein
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
ONIAM	Office National d'Indemnisation des Accidents Médicaux
OPECST	Office Parlementaire d'Evaluation des Choix Scientifiques et Technologiques
PAMP	Pathogen-Associated Molecular Pattern
PAS	Acide Périodique de Schiff
PCR	Polymerase Chain Reaction
PRR	Pattern Recognition Receptor
PYD	Pyrin Domain
REVAHB	Réseau Vaccin Hépatite B
ROR	Rougeole Oreillons Rubéole
SFC	Syndrome de Fatigue Chronique
SGG	Syndrome de la Guerre du Golfe
Th	T Helper
TLR	Toll-Like Receptor
VS	Vitesse de sédimentation

INTRODUCTION

La vaccination est l'une des plus grandes découvertes de ces derniers siècles. Elle sauve chaque année des millions de personnes. Dans ce domaine, les connaissances n'ont cessé de s'affiner dans l'objectif d'améliorer et d'augmenter la réponse immunitaire des sujets vaccinés. Aujourd'hui, les préparations antigéniques sont de plus en plus spécifiques et cela implique que l'efficacité de nombreux vaccins dépend de l'ajout d'adjuvants d'immunisation.

Parmi eux, les plus utilisés sont les sels d'aluminium. Découvert empiriquement par Gaston Ramon en 1925, ils ont depuis montré leur efficacité et leur bonne tolérance, au regard des nombreuses populations vaccinées. Pourtant, malgré leur long passé d'utilisation, le mécanisme d'action des adjuvants aluminiques n'est toujours pas connu précisément bien que certaines hypothèses semblent se préciser aujourd'hui. Leur devenir après l'injection vaccinal et leur toxicité à long terme sont également remis en question. Ils sont notamment mis en cause dans l'apparition d'une nouvelle myopathie inflammatoire, la myofasciite à macrophages. Décrite initialement comme une lésion musculaire histologique focalisée et particulière, la recherche tente aujourd'hui de relier cette lésion à un syndrome clinique spécifique.

Au-delà de leur possible implication dans cette nouvelle myopathie, les adjuvants aluminiques sont véritablement au cœur d'une polémique sur leur sécurité et leur dangerosité sur la santé. La question de la toxicité de l'aluminium vaccinal fait l'objet aujourd'hui de nombreuses publications scientifiques internationales. Largement relayées par les médias, ces préoccupations ne sont plus aujourd'hui cantonnées à la sphère scientifique, elles suscitent des interrogations et inquiétudes chez de nombreux citoyens, qui, en outre, sont de plus en plus connectés à l'information grâce aux nouvelles technologies du numérique. C'est ainsi que, quoique vivant au sein d'une famille où la vaccination n'a jamais fait débat, l'actualité médiatique, les différents reportages et articles de presse ont fini par provoquer le questionnement de mes proches et amis. C'est dans ce contexte d'interrogation et de doute que j'ai souhaité étudier et développer ce sujet.

Nous aborderons ce travail tout d'abord par quelques rappels immunologiques sur les principes de la vaccination et la place des adjuvants vaccinaux, rappels qui permettront de mieux appréhender dans une seconde partie les caractéristiques, le rôle et la place des adjuvants dérivés des sels d'aluminium dans les vaccins. Nous nous attarderons ensuite sur la description de la myofasciite à macrophage et sur les hypothèses pathogéniques avancées. Enfin nous replacerons le problème de la myofasciite à macrophage dans la controverse actuelle sur l'utilisation des adjuvants aluminiques et sur leur innocuité.

1. Bases et principes de la vaccination

La vaccination est une thérapeutique prophylactique qui permet d'immuniser des individus contre un micro-organisme donné sans qu'ils développent la maladie. Elle permet de réduire le portage d'un pathogène et les risques d'épidémies. Elle utilise la capacité du système immunitaire à reconnaître un élément étranger à l'organisme et à le mémoriser. Cette mémoire immunitaire permet en cas d'exposition ultérieure à l'agent pathogène de produire plus rapidement les défenses spécifiques. Pour ce faire, les vaccins contiennent le signalement du pathogène qui permet de reproduire, en toute innocuité, les réponses immunitaires qui se produisent naturellement lors d'une infection dont la création d'une mémoire spécifique de l'agent pathogène. Ils génèrent chez le receveur une immunité active, protectrice et durable.

1.1 Rappels immunologiques : la réponse immunitaire

L'introduction d'un antigène dans l'organisme déclenche deux types de réponse immunitaire : une réponse immunitaire non spécifique ou innée (immédiate) et une réponse immunitaire spécifique ou adaptative (retardée de trois à cinq jours).

1.1.1 Immunité innée [1]

Non spécifique de l'agent pathogène, la réponse immunitaire innée est une réponse rapide face à un signal émis lors d'une interaction spécifique entre des récepteurs du soi, les récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires PRR (*Pattern Recognition Receptors*), qui sont capables de détecter des molécules du non soi, et les PAMP (*Pathogen-Associated Molecular Pattern*) situés au niveau des agents pathogènes [1].

Les PAMP sont des motifs moléculaires, absents des cellules de l'hôte et communs à de nombreuses espèces de pathogènes car jouant un rôle essentiel dans leur physiologie et leur survie.

Les PRR peuvent être solubles, membranaires ou cytoplasmiques. Leur structure moléculaire est longtemps restée mystérieuse et ce sont notamment les travaux de J. Hoffmann et B. Beutler [2, 3] sur la mouche drosophile qui ont permis de mettre en évidence

une sous population importante au sein des PRR membranaires : la famille des récepteurs TLR (*Toll-Like-Receptors*). Ces TLR sont capables de reconnaître des lipides, lipoprotéines, acides nucléiques ou protéines appartenant au non soi. Ils interviennent dans le processus d'immunité innée en contrôlant directement l'expression de molécules qui vont s'opposer aux agents infectieux. Ils interviennent également dans l'activation du système immunitaire adaptatif en permettant le recrutement et l'activation de cellules effectrices. Ainsi, le système immunitaire inné déclenche et oriente la réponse immunitaire adaptative [1].

Au sein des PRR cytosoliques, on trouve les récepteurs de type NOD (*Nucleotide-binding Oligomerization Domain protein*, protéine à domaine d'oligomérisation liant les nucléotides) appelés NLR (*NOD Like Receptors*). Il s'agit d'une famille de récepteurs contribuant à la détection des bactéries intracellulaires et comprenant de nombreux membres, parmi lesquels NLRP3 (*NOD-like receptor family pyrin domain containing 3*, encore appelée cryopyrine) qui a la capacité de détecter un signal de danger qui peut être une invasion de la cellule par des bactéries ou des virus ou bien la présence de molécules de l'hôte attestant de dégâts tissulaires (nécrose cellulaire). NLRP3 s'exprime dans de nombreuses cellules immunitaires mais on le retrouve plus particulièrement dans les cellules myéloïdes comme les monocytes et les macrophages. NLRP3 s'active en présence de signaux de danger comme l'ATP ou les cristaux d'acide urique. L'ATP extracellulaire libéré en grande quantité lors de la nécrose cellulaire est capable de déclencher l'ouverture d'un récepteur canal transmembranaire qui permet l'efflux rapide de potassium. Cette fuite de potassium hors de la cellule est un signal d'activation de NLRP3. Les cristaux d'acide urique phagocytés nuiraient au processus phagocytaire et conduiraient à la synthèse de radicaux libres ou à la rupture des endosomes conduisant à l'activation de NLRP3 [4].

Les NLR activés s'associent avec d'autres protéines qui sont la pro-caspase 1 (précurseur de la caspase 1) et un adaptateur ASC (*Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD domain*). L'adaptateur ASC est une protéine adaptatrice qui joue le rôle d'intermédiaire de signalisation. Elle comporte des domaines structuraux particuliers qui lui permettent d'interagir à la fois avec les NLR (via son domaine PYD (*Pyrin Domain*)) et la procaspase 1 (via son domaine CARD (*Caspase Recruitment Domain*)). L'association des NLR activés avec la procaspase 1 et l'adaptateur ASC forme un complexe protéique oligomérique appelé inflammasome. Cet inflammasome induit un clivage automatique des pro-caspases 1

en caspase 1 qui elle-même déclenche la maturation des pro-cytokines de la famille de l'IL-1 en cytokines actives qui sont alors sécrétées [1].

A la suite de la reconnaissance d'un pathogène, des processus cellulaires et moléculaires de défense sont mis en route afin d'éliminer le danger [1].

Les processus cellulaires font notamment intervenir :

- la phagocytose qui permet la capture et la dégradation d'éléments figurés (microorganismes, débris divers)
- les cellules NK (*Natural Killers*) qui ont pour principale fonction de tuer des cellules indésirables de l'organisme, infectées ou cancéreuses.

Les systèmes de défense moléculaires mobilisent un ensemble de protéines [1] :

- des PRR solubles (collectines, pentraxines) capables de se fixer sur des composants microbiens
- des inhibiteurs de protéases contrant l'activité protéasique microbienne
- le système du complément, ensemble de protéines participant à l'opsonisation, à la réponse inflammatoire, à l'élimination des complexes antigènes-anticorps et à la destruction des pathogènes par activation en cascade de ses composants
- des peptides antimicrobiens, véritables antibiotiques
- des interférons de type I sécrétés par les cellules en réponse à une infection virale pour limiter la multiplication du virus au niveau des tissus infectés.

1.1.2 Immunité adaptative ou acquise : la réponse immunitaire vaccinale [5]

L'immunité adaptative est une réponse spécifique à la reconnaissance de l'antigène, elle apparaît plus tardivement.

Elle implique la sélection de cellules immunologiquement compétentes capables d'organiser cette réponse.

1.1.2.1 Immunité humorale

Elle passe par l'activation et la différenciation d'une partie des lymphocytes B (LB), ayant reconnu spécifiquement un antigène, en plasmocytes producteurs d'anticorps spécifiques de l'agent infectieux reconnu.

La différenciation des lymphocytes B en plasmocytes nécessite tout de même la participation des lymphocytes CD4+ Th2 reconnaissant le même antigène.

D'autres lymphocytes B deviennent quant à eux des lymphocytes B « mémoires » spécifiques d'un antigène et à durée de vie longue.

1.1.2.2 Immunité cellulaire

Elle fait intervenir les lymphocytes T, et d'une part les lymphocytes T CD8+ qui une fois activés par des fragments antigéniques deviennent cytotoxiques c'est-à-dire capables de provoquer la mort de la cellule cible.

D'autre part, les lymphocytes T CD4+ qui eux sont activés par des fragments antigéniques présentés par des cellules présentatrices d'antigènes.

En fonction des cytokines produites par la cellule présentatrice d'antigène qui l'active, le lymphocyte devient soit :

- un lymphocyte auxiliaire CD4+ Th1 (T *Helper* de type I) : il sécrète majoritairement de l'interféron-gamma (IFN- γ), du *Tumour Necrosis Factor – alpha* (TNF- α) et de l'interleukine 2 (IL-2) et est impliqué dans l'activation des macrophages et l'élimination des pathogènes intracellulaires.
- un lymphocyte auxiliaire CD4+ Th2 (T *Helper* de type II) : il joue un rôle dans l'activation des LB en plasmocytes par la sécrétion majoritairement d'IL-4, IL-5 et IL-13.

Au cours de la réaction immunitaire, des lymphocytes T « mémoires » à longue durée de vie sont également constitués.

1.2 Réponses primaire et secondaire, la mémoire immunologique [5]

La réponse vaccinale se déroule en deux étapes (figure 1).

- La réponse primaire : il s'agit de celle observée après la première injection vaccinale, c'est-à-dire après la première introduction d'un antigène dans l'organisme. Elle est marquée par une élévation lente et retardée du taux d'anticorps. On observe ainsi une faible production d'immunoglobuline M (IgM). Le système immunitaire génère dans le même temps des cellules mémoire à longue durée de vie qui seront à l'origine de la réponse secondaire.
- La réponse secondaire : un contact ultérieur avec le même antigène (comme lors des rappels vaccinaux), induit une réponse secondaire (mémoire ou anamnestique) rapide (en quelques jours), intense et persistant durablement. Elle est marquée par la production d'une quantité importante d'anticorps protecteurs qui sont d'emblée des immunoglobulines de type G (IgG) de haute affinité. Cette production est rendue possible par la présence de lymphocytes mémoires, qui, stimulés par la molécule immunogène, se différencient en cellules sécrétrices d'anticorps [5].

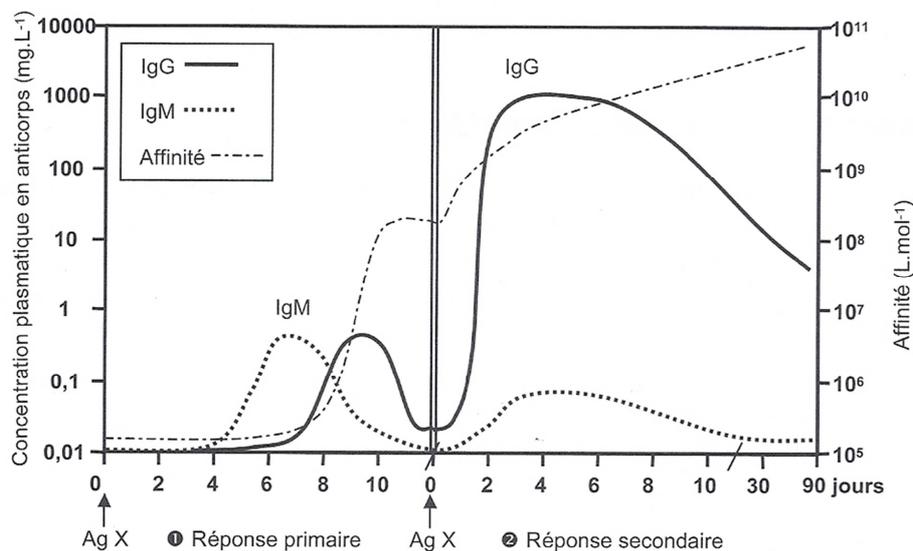


Figure 1 : Cinétique de la réponse immunitaire humorale. Quantité et qualité des anticorps sécrétés et affinité au cours du temps chez un individu soumis deux fois au même antigène [1].

Ainsi, le principe de la vaccination consiste à générer une mémoire immunitaire qui fournisse, lors du contact avec le pathogène, une immunité protectrice basée sur la réponse secondaire.

1.3 Paramètres influençant la réponse immunitaire

De nombreux facteurs peuvent influencer la différenciation des lymphocytes vers les voies Th1 ou Th2 : le type de vaccin, la nature de l'antigène, sa dose, la voie d'administration, les adjuvants éventuels, les facteurs génétiques et environnementaux.

L'âge du sujet vacciné est également un facteur pouvant influencer la réponse immunitaire. Ainsi, si on compare les réponses immunitaires induites par l'administration d'un vaccin contre l'hépatite B chez des nouveau-nés et chez des adultes naïfs de toute vaccination contre l'hépatite B on note certaines différences [6]. Les nouveau-nés produisent des titres en anticorps anti HBs beaucoup plus élevés que les adultes. Pendant la réponse primaire, ils génèrent moins d'IFN γ que les adultes mais leur réponse mémoire Th2 est supérieure à celle des adultes.

1.4 Les différents types de vaccins

L'ingrédient principal d'un vaccin est le microorganisme ou la partie du microorganisme tué ou atténué, qui va éduquer le système immunitaire à la reconnaissance du pathogène afin de prévenir la maladie. On distingue plusieurs types de vaccins en fonction des traitements appliqués aux microorganismes utilisés.

1.4.1 Les vaccins vivants atténués [1]

Ils sont fabriqués à partir du microorganisme vivant qui est rendu non pathogène (atténué) par différents procédés (passages successifs par des milieux de multiplication non appropriés). Une fois injecté, il mime parfaitement une infection naturelle et produit une très forte immunisation mettant en jeu la réponse innée et une réponse adaptative

humorale et cellulaire. En général, une seule injection de ces vaccins est suffisante pour générer une très longue immunité protectrice.

On trouve dans cette catégorie des vaccins combattants la fièvre jaune, la rougeole, les oreillons, la rubéole, la varicelle, la tuberculose et la poliomyélite (vaccin administré par voie orale) notamment.

Les vaccins vivants atténués activent le système immunitaire inné comme lors d'une infection naturelle.

1.4.2 Les vaccins inactivés [1]

Ils font appel à des microorganismes tués par une étape d'inactivation faite au formaldéhyde généralement ou par des méthodes physiques comme la chaleur. L'immunité induite est souvent de type humoral. Cependant, la mémoire immunitaire produite par ces vaccins est moins persistante ce qui impose parfois plusieurs injections et des rappels réguliers pour maintenir une concentration suffisante d'anticorps protecteurs.

Ces vaccins sont dirigés contre des maladies telles que la coqueluche, la grippe, la poliomyélite (vaccin injectable), l'hépatite A, le choléra et la rage.

1.4.3 Les vaccins sous-unitaires ou purifiés [1]

1.4.3.1 Les anatoxines

Certaines bactéries comme *Clostridium tetani* responsable du tétanos et *Clostridium diphtheriae* responsable de la diphtérie doivent leur pouvoir pathogène à la libération de toxines. Les vaccins dirigés contre ces maladies sont constitués des toxines, purifiées et inactivées au formaldéhyde (devenant ainsi des anatoxines immunogènes mais non pathogènes) dans le but d'induire une production d'anticorps antitoxines neutralisant les toxines.

1.4.3.2 Macromolécules purifiées

Ce type de vaccin est fabriqué à partir de certains antigènes clés du pathogène que l'on purifie. Ce sont par exemple des polysides de surface de bactéries (vaccins anti-pneumocoque) ou des mélanges d'antigènes protéiques et osidiques (vaccins anti-

méningocoque). Certains antigènes nécessitent d'être couplés à une protéine porteuse afin de produire une réponse plus intense et plus durable.

1.4.3.3 Antigènes recombinants

Ici, l'antigène immunodominant du pathogène est reproduit par génie génétique. C'est de cette façon qu'est produit le vaccin dirigé contre le virus de l'hépatite B : l'antigène majeur de ce virus étant la protéine de surface HBs, le gène codant cette protéine a été cloné et exprimé dans une levure qui produit ainsi en grande quantité l'antigène souhaité et qu'il ne reste plus qu'à purifier. Le vaccin contre le cancer du col de l'utérus est produit de la même manière.

1.5 Nécessité des adjuvants vaccinaux

1.5.1 Historique [7]

La notion d'adjuvant émergea lors des travaux sur la production des sérums antitétaniques et antidiphtériques chez le cheval. La constatation fut faite qu'avec l'utilisation d'anatoxines très purifiées la réponse immunitaire était insuffisante. En 1925, Gaston Ramon, vétérinaire et biologiste français, travaillant sur la production du sérum antidiphtérique chez le cheval observe que la production d'antitoxines par les chevaux en cours d'immunisation est meilleure lorsque l'injection provoque un abcès et une réaction inflammatoire. Il émet alors l'hypothèse qu'au sein de ces abcès, la résorption des toxines est entravée de telle façon qu'elle se fait plus lentement. Il en résulterait une meilleure transformation et utilisation de l'antigène aboutissant à une augmentation de la quantité d'antitoxines [7]. Par la suite, il se tourne alors vers l'utilisation de substances adjuvantes et stimulantes de l'immunité, technique permettant d'obtenir des sérums plus riches en antitoxines en joignant au vaccin une substance irritante pour les tissus.

1.5.2 Objectifs de l'utilisation des adjuvants [8]

Le terme d'adjuvant dérive du mot latin « *adjuvare* » qui signifie aider. Les adjuvants peuvent être définis comme des agents qui agissent de manière non spécifique pour

augmenter la réponse immunitaire spécifique à un ou des antigènes. Ils améliorent et modulent l'immunogénicité de l'antigène vaccinal de manière à amplifier la réponse immunitaire.

Le premier rôle des adjuvants est donc d'augmenter l'amplitude de la réponse adaptative à un vaccin. Ils sont donc employés pour :

- accroître dans la population générale l'amplitude de la réponse immunitaire à un vaccin afin d'augmenter le nombre de sujets protégés,
- augmenter le taux de séroconversion des populations ayant un système immunitaire moins réactif en raison de l'âge (nourrissons et personnes âgées), des maladies ou des traitements,
- faciliter l'utilisation de faibles doses d'antigènes permettant en situation de pandémie de pouvoir immuniser rapidement de très larges populations,
- permettre une immunisation avec un nombre minimale d'injection afin de favoriser le bon suivi des protocoles de vaccinations par la population.

Le second rôle des adjuvants est de guider le type de réponse adaptative (humorale et/ou cellulaire) afin de produire les réponses immunitaires les plus efficaces pour chaque agent pathogène spécifique. Ils permettent par exemple [8] :

- d'orienter le type de réponse immunitaire : Th1/Th2, CD4+/CD8+, isotypes d'anticorps,
- d'augmenter la génération de cellules T mémoires,
- d'augmenter la vitesse de la réponse initiale (élément critique en cas de pandémie).

1.5.3 Mode d'action général des adjuvants [9]

A côté des nombreux efforts qui ont été consacrés à la conception des antigènes vaccinaux, l'étude des adjuvants, elle, a largement été empirique et leurs mécanismes d'actions sont beaucoup moins étudiés et compris. Ce n'est que récemment, grâce aux travaux notamment de J. Hoffmann et B. Beutler sur la mouche *Drosophile* [3] qui ont permis la compréhension des mécanismes d'induction de l'immunité innée, que les mécanismes d'action des adjuvants ont été mieux compris.

Après administration d'un vaccin vivant atténué les particules antigéniques se disséminent rapidement dans l'organisme, se multiplient, activent le système immunitaire inné puis les réponses spécifiques comme cela se produirait lors d'une infection naturelle. Ils sont intrinsèquement immunogènes car ils contiennent les éléments nécessaires à l'activation des récepteurs TLR. Il n'en n'est pas de même avec l'utilisation des vaccins inactivés (entiers ou sous-unitaires). En effet, ceux-ci subissent lors de leur développement des procédés d'inactivation et des étapes de purification diminuant fortement la quantité de PAMP (motifs moléculaires déclencheurs des défenses immunitaires, cf 1.1.1), ce qui les rend incapables d'activer directement les cellules de l'immunité innée. Or, la rencontre initiale avec le système immunitaire inné constitue le procédé clé du développement de l'immunité puisqu'elle guide la réponse adaptative. En effet, les signaux reçus par les cellules présentatrices d'antigènes influencent les réponses lymphocytaires T et B et l'induction des cellules mémoires.

Il existe aujourd'hui différents adjuvants qui exercent leurs effets par différents mécanismes. D'une manière générale, dans les vaccins inactivés ou sous-unitaires, les adjuvants jouent le rôle de ligand des PRR afin de compenser l'absence des PAMP. Ils activent donc les cellules présentatrices d'antigènes et déclenchent l'immunité innée nécessaire à l'élaboration de l'immunité adaptative. Ainsi les cellules dendritiques pourront prendre en charge les antigènes vaccinaux et migrer vers les ganglions lymphatiques pour activer les lymphocytes naïfs et initier les réponses immunitaires spécifiques [9], [10].

Les adjuvants peuvent également guider le type de réponse immunitaire à mettre en place en orientant la production de lymphocytes auxiliaires vers une production CD4+Th1 ou CD4+Th2.

2. Les adjuvants aluminiques

L'efficacité d'un grand nombre de vaccins dépend donc de la présence conjointe d'un adjuvant avec l'antigène. Parmi les adjuvants disponibles, ceux contenant de l'aluminium sont les plus largement utilisés. Découverts empiriquement dans les années 1926, ils ont aujourd'hui un long passé d'utilisation et pourtant la compréhension détaillée de leur mécanisme d'action commence tout juste à être révélée. Au regard des nombreuses populations vaccinées, ils présentent un très bon profil de tolérance mais pourraient être impliqués dans le développement de certaines pathologies.

2.1 Caractéristiques de l'aluminium vaccinal

2.1.1 Nature de l'aluminium des adjuvants [11]

Plusieurs sels d'aluminium insolubles sont utilisés comme adjuvants dans les vaccins humains et animaux. Utilisé à l'origine par Alexander Glenny, l'alun de potassium ou sulfate double d'aluminium et de potassium ($KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$), capture l'antigène par précipitation lorsque la solution est neutralisée [11]. En raison de problèmes de reproductibilité lors de sa fabrication, l'alun a été abandonné et remplacé dans les vaccins commerciaux par de l'hydroxyde d'aluminium et de l'hydroxyphosphate d'aluminium, qui permettent une meilleure standardisation des processus de fabrication par adsorption directe de l'antigène [11]. Grâce à leur très bonne tolérance et un long passé d'utilisation, ils sont aujourd'hui les plus employés. Au regard du calendrier vaccinal français, on s'aperçoit que l'hydroxyde d'aluminium est le plus utilisé dans les vaccins.

La préparation de ces adjuvants met en présence des solutions aqueuses d'ions aluminium (sulfates ou chlorides) dans des conditions d'alcalinité définies.

A noter qu'un autre sel d'aluminium est utilisé par les laboratoires Sanofi-Pasteur-MSD dans le vaccin Gardasil® (vaccin contre les génotypes 6, 11, 16 et 18 du papillomavirus humain HPV) et le vaccin HBVAX Pro® (vaccin dirigé contre le virus de l'hépatite B), le sulfate d'hydroxyphosphate d'aluminium amorphe ($Al_2(PO_4)(OH)(SO_4)$) [12].

Il existe également un autre adjuvant dérivé d'aluminium : commercialisé sous le nom d'Imject® Alum, il est obtenu en mélangeant de l'hydroxyde d'aluminium et de l'hydroxyde de magnésium ($\text{Al(OH)}_3 + \text{Mg(OH)}_2$). Il est utilisé uniquement à des fins expérimentales lors d'études immunologiques mais n'est pas utilisé dans les vaccins humains et n'est pas destiné à un usage clinique en raison de la présence d'hydroxyde de magnésium qui ne fait pas partie des adjuvants aluminiques autorisés cliniquement. Le fait qu'il soit chimiquement très différent de l'hydroxyde et de l'hydroxyphosphate d'aluminium implique qu'il ne devrait pas être utilisé dans les expériences qui ont pour objets l'étude des adjuvants aluminiques utilisés et autorisés dans les vaccins humains [13].

2.1.2 Propriétés physico-chimiques des adjuvants aluminiques [14]

L'hydroxyde d'aluminium et l'hydroxyphosphate d'aluminium se présentent tous les deux sous forme de poudres non organiques blanchâtres, mais ils ont des propriétés physico-chimiques et structurelles très différentes.

L'hydroxyde d'aluminium : Al(O)OH

Plusieurs adjuvants composés d'hydroxyde d'aluminium sont commercialisés, ils sont connus sous les noms de Alhydrogel®, Rehydragel® HPA, Rehydragel® LV...

L'hydroxyde d'aluminium (AlOH_3) existe sous de nombreuses formes plus ou moins hydratées dont l'oxyhydroxyde d'aluminium (Al(O)OH) utilisé dans les adjuvants vaccinaux sous forme d'hydrogel. Il présente une structure primaire cristalline dont la surface comporte des groupements hydroxyles. Sa charge globale surfacique à pH 7,4 est positive, son point de charge nulle* étant de 11,4.

Il se présente sous la forme de feuillets d'aluminium octaédriques qui s'organisent en plaquettes pour finalement former des agrégats liés entre eux par des liaisons hydrogènes plus fortes que les interactions de type électrostatiques. La dissolution des agrégats n'est possible qu'à pH 2 ce qui signifie que leur dissolution est impossible dans des conditions physiologiques [14, pp. 34–35].

* Le point de charge nulle correspond au pH de la solution aqueuse pour lequel la charge moyenne de surface du solide est nulle.

L'hydroxyphosphate d'aluminium : $\text{Al}(\text{OH})_x(\text{PO}_4)_y$

On le nomme également phosphate d'aluminium. Il est commercialisé sous les noms de Rehydraphos[®], Adju-Phos[®].

Les adjuvants au phosphate d'aluminium se présentent sous la forme de précipités d'hydroxyde d'aluminium amorphe dans lesquels certains groupements hydroxyles ont été remplacés par des groupements phosphates.

Sa structure primaire amorphe est bien différente de celle de l'hydroxyde d'aluminium. Le point de charge zéro dépend de la proportion Al/P mais est généralement compris entre 4,6-5,6. Sa charge globale surfacique est donc négative à pH 7,4. La surface est composée de groupements hydroxyles et phosphates [14, pp. 38–39].

2.1.3 Adsorption de l'antigène à l'adjuvant aluminique

2.1.3.1 Nature des interactions mises en jeux [11]

L'adsorption est un phénomène de surface qui permet à l'antigène vaccinal de se fixer à la surface des agrégats aluminiques sans pénétrer à l'intérieur de ceux-ci.

Ce phénomène est dépendant de nombreux facteurs tels que la nature de l'adjuvant, le poids moléculaire de l'antigène, la force ionique du milieu, le pH, le point isoélectrique, la charge de surface, et la nature des interactions adjuvant-antigène.

Concernant ces interactions adjuvant-antigène, il semble que deux forces d'adsorption prédominent.

Il se produit, d'une part, des interactions électrostatiques qui sont favorisées lorsque le pH est compris entre le point isoélectrique de l'antigène et le point de charge zéro de l'adjuvant aluminique, l'adjuvant et l'antigène ayant des charges électriques opposées dans cet intervalle [15]. Ainsi, à pH physiologique, des interactions électrostatiques se produiront entre les protéines chargées négativement et l'hydroxyde d'aluminium, et entre les protéines chargées positivement et l'hydroxyphosphate d'aluminium. L'exposition à un liquide interstitiel libère rapidement les antigènes adsorbés par ces interactions électrostatiques.

D'autre part, il se produit un échange de ligand anionique, lorsque des groupements phosphates provenant d'un antigène se substituent aux groupements hydroxyles de l'adjuvant ou lorsque les groupements hydroxyles d'un antigène se substituent aux groupements phosphate de l'adjuvant [11, 16]. Ces interactions sont plus fortes que les interactions électrostatiques, il en résulte que les antigènes adsorbés par de telles interactions seront libérés plus lentement au contact du liquide interstitiel.

2.1.3.2 Intérêt d'une telle adsorption [17, 18]

Les antigènes ainsi adsorbés aux dérivés aluminiques sont libérés lentement au contact des fluides interstitiels depuis le site d'injection. Leur vitesse de libération est dépendante du type de force qui entre en jeu dans le phénomène d'adsorption. Ainsi, les antigènes adsorbés principalement par des interactions électrostatiques sont libérés et se diffusent plus rapidement du site d'injection que ceux adsorbés par échange de ligands [17].

Une étude a montré que l'élution de l'antigène d'un adjuvant aluminique par exposition à un fluide interstitiel est inversement proportionnelle au coefficient d'adsorption c'est-à-dire à l'intensité des forces d'adsorption qui existent entre l'adjuvant et l'antigène [18]. Le titre en anticorps chez des souris est également inversement proportionnel au coefficient d'adsorption. Donc, plus les interactions qui se produisent entre l'antigène et l'adjuvant sont fortes, moins la quantité d'antigènes remis en solution est importante et plus l'immunisation semble faible. En effet, une trop forte attraction antigène-adjuvant diminue la quantité d'antigènes qui atteint les ganglions lymphatiques pour la reconnaissance par les LB, ce qui réduit l'activation des cellules B. Il semble même que la présentation de l'antigène aux lymphocytes T soit altérée lorsque l'antigène est adsorbé trop fortement à l'adjuvant, entraînant une diminution de l'activation des LT.

L'étude soulève ainsi l'importance de déterminer le coefficient d'adsorption lors de la formulation d'un vaccin pour optimiser la réponse immunitaire.

L'adsorption des antigènes à la surface des dérivés d'aluminium favorise également la capture de l'ensemble par les cellules présentatrices d'antigènes par le mécanisme de phagocytose plutôt que par macropinocytose [19]. Il semble en effet que le mode de capture de l'antigène soit un élément important qui affecte l'aptitude des cellules présentatrices d'antigènes à présenter l'antigène et qui affecte, *in fine*, le niveau de la réponse immunitaire induite.

Enfin, la formation du complexe antigène-adjuvant participe à l'afflux de cellules inflammatoires au niveau du site d'injection ce qui facilite les interactions entre les antigènes et les récepteurs cellulaires.

Cependant, le point de vue selon lequel un antigène doit être adsorbé sur un adjuvant afin de potentialiser la réponse immunitaire peut être élargi. La preuve a été apportée que les dérivés d'aluminium peuvent améliorer l'immunogénicité d'antigènes non adsorbés [17, 20, 21]. En effet, les titres en anticorps peuvent être identiques entre un vaccin où l'antigène est adsorbé sur du phosphate d'aluminium et un vaccin dont l'antigène n'est pas adsorbé mais qui contient tout de même de l'aluminium, à condition que les dérivés d'aluminium et l'antigène soient injectés au même endroit. En réalité, l'adsorption de l'antigène à l'adjuvant n'est plus nécessaire pour des doses importantes d'antigènes (la présence de l'adjuvant reste toutefois nécessaire) [21]. Lorsqu'ils sont présents en grande quantité, les antigènes, une fois injectés, interagissent avec leur environnement et persistent localement. Les antigènes non adsorbés pourraient en fait être piégés dans des espaces vides à l'intérieur des agrégats aluminiques ce qui leurs permettrait de rester sur le site d'injection. Ainsi, même s'ils ne sont pas adsorbés aux adjuvants, ils pourront être pris en charge par les cellules inflammatoires qui elles auront été recrutées grâce à la co-injection simultanée des dérivés aluminiques. Il reste encore à déterminer si la taille de l'antigène limite la capacité des adjuvants à piéger l'antigène [20].

2.2 Cinétique de l'aluminium et ses dérivés

Quel que soit son mode d'introduction chez l'homme, l'aluminium y est toujours d'origine exogène. Les sources d'expositions sont variées et en dehors d'une exposition professionnelle, on retrouve l'aluminium dans les aliments (additifs alimentaires et matériaux au contact des denrées alimentaires), l'eau de consommation (présence naturelle dans les eaux de sources, dans le traitement des eaux où il est un réactif permettant l'étape de coagulation), les produits cosmétiques (déodorants/antiperspirants notamment) et les produits de santé (antiacides et pansements gastro-intestinaux, vaccins).

2.2.1 Aluminium injecté versus autres voies d'administrations : quelles différences dans la cinétique ? [22, 23]

Absorption :

95% des apports quotidiens en aluminium se font par la voie orale (ingestion d'aliments). L'absorption de l'aluminium est conditionnée par de nombreux facteurs : valeur du pH du milieu, structure chimique du sel d'aluminium, spéciation (la présence de citrates augmente l'absorption de l'aluminium [24] alors que celle de silice ou de phosphate rend l'aluminium moins disponible grâce à la formation de complexe). La voie orale présente une fraction d'absorption variant de 0,1 à 1% [15, 22, 23].

Sans exposition professionnelle, la voie respiratoire est considérée comme une voie mineure d'exposition à l'aluminium. Les pourcentages d'absorption à partir du poumon serait de l'ordre de 1 à 3% [22, 23].

L'absorption cutanée de l'aluminium est avérée mais considérée comme faible. Afin de mieux évaluer le risque lié à l'utilisation de l'aluminium dans les produits cosmétiques [25], l'Afssaps a demandé en 2007 la réalisation d'une étude *in vitro* sur peau humaine. Il en ressort que les quantités absorbées à l'issue des 24h correspondant à l'absorption systémique de l'aluminium peuvent être considérées comme négligeables (<0,03% de la dose appliquée) quelle que soit la formulation ou l'état de la peau (saine ou strippée*). Cependant, cette étude a également montré qu'en cas d'exposition sur peau strippée l'absorption par le compartiment cutané était de 18% alors qu'elle n'est que de 0,5% sur peau normale. Or l'aluminium présent dans le compartiment cutané est absorbable et susceptible de se retrouver dans la circulation systémique, ce qui a conduit l'Afssaps à recommander la restriction de la concentration d'aluminium dans les anti-transpirants et déodorants à 0,6% et la non utilisation des produits cosmétiques contenant de l'aluminium sur peau rasée ou présentant des microcoupures.

Contrairement aux voies digestives, pulmonaires et cutanées, l'aluminium injecté ne bénéficie d'aucune barrière. Environ 40 à 50% de l'aluminium injecté par voie intraveineuse

* Le « strippe » consiste en plusieurs applications consécutives de bandelettes adhésives afin d'altérer la peau pour mimer une peau rasée. Le but étant d'évaluer le niveau de pénétration de l'aluminium sur une peau rasée.

quitte le compartiment sanguin 15 min après injection [26, 27]. Au bout de 2 jours, il reste dans le sang moins de 1% de la dose initialement injectée. L'aluminium s'échappant du compartiment sanguin est distribué à d'autres parties du corps et éliminé par excrétion rénale.

Distribution :

Lorsqu'il circule dans le sang, l'aluminium se retrouve majoritairement dans la fraction plasmatique où il est transporté par la transferrine (80%) et par l'albumine (10%). Chez l'homme, la charge en aluminium se répartit essentiellement entre le système osseux (50%), les poumons (25%) et le foie (20-25%). On le retrouve également en plus faible quantité dans le système nerveux central, les systèmes hématopoïétique et immunitaire. Chez l'animal, des études ont montrées que l'aluminium est capable de franchir les barrières foeto-placentaires et hémato-encéphaliques [15, 22, 23].

Elimination :

Plus de 95% de l'aluminium ingéré n'est pas absorbé et se retrouve dans les fèces. La fraction absorbée est éliminée principalement par voie rénale [15, 22, 23].

Après injection intraveineuse d'aluminium, on retrouve 25% de la dose dans les urines à 5 jours. Au bout de 23 jours, il est éliminé à 83% par les urines et à 1,8% par les matières fécales [26, 27].

2.2.2 Cinétiques comparées de l'hydroxyde d'aluminium et du phosphate d'aluminium [28]

Des études de dissolution *in vitro* mimant l'action des acides organiques présents dans les fluides interstitiels sur les sels d'aluminium ont montrées que la cinétique de solubilisation du phosphate d'aluminium est plus rapide que celle de l'hydroxyde d'aluminium [29].

In vivo, ces deux adjuvants ont été administrés par voie intra-musculaire après marquage à ^{26}Al chez des lapins [28]. L'étude a consisté en l'analyse d'échantillons sanguins et urinaires recueillis pendant 28 jours, et de tissus (cerveau, cœur, rein, foie, ganglions lymphatiques mésentériques, rate, os) après sacrifice des animaux.

Les résultats montrent que la solubilisation de l'aluminium à partir de l'adjuvant commence rapidement (moins d'une heure après l'injection) et ce pour les deux types d'adjuvants. Durant le premier jour après administration, la vitesse d'absorption systémique de l'aluminium est plus élevée chez les animaux ayant reçus de l'hydroxyde d'aluminium que du phosphate d'aluminium, et ce phénomène s'inverse à partir du deuxième jour. Sur la totalité de l'étude (28 jours), il ressort que la quantité d'aluminium absorbé est plus importante lorsqu'il provient du phosphate d'aluminium.

La part d'aluminium éliminé dans les urines au cours des 28 jours est plus importante chez les animaux ayant reçus du phosphate d'aluminium (22% de la dose contre 6% de la dose pour l'hydroxyde d'aluminium).

La distribution tissulaire d'aluminium est indépendante du type d'adjuvant utilisé, les tissus localisant l'aluminium sont par ordre décroissant le rein, la rate, le foie, le cœur, le ganglion lymphatique et le cerveau qui présente les concentrations tissulaires les plus faibles (10^{-7} mg/g). Cependant, pour chaque tissu, la concentration d'aluminium est plus élevée chez les lapins qui ont reçu le phosphate d'aluminium (en moyenne 2,9 fois supérieures que pour l'hydroxyde d'aluminium).

In vitro, les études ont démontré que l'aluminium peut être solubilisé à partir d'un adjuvant aluminique par un acide organique à concentration physiologique. La vitesse de solubilisation dépend de la composition chimique et de la morphologie de l'adjuvant ; elle est plus rapide pour la forme phosphate que pour la forme hydroxyde, ce qui a été confirmé par les études *in vivo* chez le lapin. A partir des adjuvants, l'aluminium est absorbé au niveau systémique et se distribue dans de nombreux organes dont le cerveau [15].

2.3 Caractéristiques de la réponse immunitaire induite par les adjuvants aluminiques [11, 30, 31]

Grâce à leurs nombreuses années d'utilisation, on sait que les sels d'aluminium induisent des taux d'anticorps élevés et persistants. Cette production d'anticorps implique une collaboration étroite entre les LT CD4 effecteurs et les LB, afin que ces derniers deviennent des plasmocytes, cellules productrices d'anticorps. Les LT CD4 effecteurs proviennent de

l'activation des LT CD4 naïfs. La composition de l'environnement dans lequel survient cette différenciation et la nature des cytokines sécrétées influencent la différenciation et la nature des LT CD4 effecteurs. A l'origine, on en distingue deux sous-populations : les cellules Th1 sont induites par les sécrétions d'IL-12 et d'IFN γ et les cellules Th2 par les sécrétions d'IL-4. Cette différenciation est ensuite autorégulée et entretenue par les cellules Th1 et Th2 elles-mêmes, qui produisent chacune les cytokines favorisant leur différenciation (sécrétion d'IL-12 et d'IFN γ par les cellules Th1 et d'IL-4 par les cellules Th2).

Les nombreuses études qui se sont intéressées à l'immunité induite par les dérivés d'aluminium ont montré qu'ils induisent une polarisation des LT CD4 naïfs en cellules effectrices de type Th2 [11, 30-32]. L'induction préférentielle d'une immunité de type Th2 assure la mise en place d'une immunité spécifique humorale et permet une bonne production d'anticorps. En effet, les cellules Th2 sécrète de l'IL-4, cytokine qui favorise la sécrétion d'anticorps, principalement d'isotypes IgG1 et IgE.

Cependant l'absence d'induction d'une immunité de type Th1 empêche l'utilisation des dérivés d'aluminium pour la production d'une immunité spécifique cellulaire contre des pathogènes intracellulaires. En effet, les cellules Th1, via leur sécrétion d'IFN γ , activent les macrophages ce qui les rend capable de neutraliser divers microorganismes intracellulaires (bactéries invasives telles *Mycobacterium tuberculosis*, protozoaires, virus). De plus, les cellules Th1 contribuent à la mise en place des LT CD8 effecteurs qui sont capables, eux aussi, de reconnaître des cellules de l'organisme infectées par des pathogènes intracellulaires et d'induire leur apoptose grâce à leur activité cytotoxique.

Les mécanismes par lesquels les dérivés d'aluminium induisent préférentiellement une immunité de type Th2 ne sont pas encore complètement élucidés.

On sait déjà que l'IL-4 présente un rôle majeur dans la mise en place d'une telle immunité. Une étude [33] a montré que les sels d'aluminium induisent une accumulation de cellules productrices d'IL-4 dans la rate, six jours après l'immunisation. Cette population de cellules apparaît au niveau du site d'injection dans les 24 heures et est constituée principalement d'éosinophiles (80%) et de cellules myéloïdes. Ces cellules sécrètent de l'IL-4 qui permet la prolifération des cellules B et l'augmentation de leurs sécrétions d'anticorps. De surcroît, l'administration de vaccins adjuvés avec des dérivés d'aluminium à des souris chez qui on a

effectué l'ablation de cette population cellulaire sécrétrice d'IL-4 ou la neutralisation de l'IL-4, génère une production d'anticorps d'isotype IgG2, isotype qui signale la mise en place d'une immunité spécifique de type Th1 [34].

Enfin, on sait également que l'IL-4 inhibe la différenciation des LT CD4 en LT CD4 de type Th1.

Ces éléments confirment le rôle essentiel que joue l'IL-4 dans la mise en place d'une immunité spécifique de type Th2.

D'autres cytokines semblent également importantes. La neutralisation des IL-1 β , IL-18 et IL-33 par des anticorps spécifiques bloque, *in vitro*, la différenciation des LT CD4 naïfs en cellules Th2. Cette différenciation est également bloquée lorsqu'on utilise des inhibiteurs de caspase 1 (protéine activée grâce au complexe de l'inflammasome-NLRP3 et qui permet la production des formes actives d'IL-1 β , IL-18 et IL-33) [32]. De même les productions d'IgG1 et d'IgE dépendantes des cellules Th2 sont absentes chez des souris déficientes en NALP3 et/ou en protéine ASC [35, 36].

Les recherches de ces dernières années ont mis en évidence de nouvelles sous-populations de LT CD4, dont les cellules Th17 et les LT auxiliaires folliculaires (LT_{FH}). Les cellules Th17 sont principalement induites lors d'agressions des muqueuses par des bactéries ou des champignons, elles sécrètent principalement de l'IL-17 et de l'IL-22. Les LT auxiliaires folliculaires sont induits au niveau des organes lymphoïdes secondaires, ils se localisent dans les follicules et leur rôle est d'aider les LB en stimulant la production d'anticorps. Ils favorisent la maturation des anticorps et l'acquisition d'une grande affinité. L'impact des dérivés d'aluminium sur ces sous populations de LT CD4 effecteurs est donc à l'étude. Des études récentes [37, 38] ont déjà permis de montrer que suite à l'injection, chez des souris, de protéines précipitées avec de l'aluminium, on note une forte augmentation du nombre de LT_{FH} au niveau des ganglions lymphatiques drainant le site d'injection. Il semble, de plus, que les LT_{FH} sécrètent de plus grandes quantités d'IL-4 par rapport aux autres catégories de LT CD4 effecteurs [37]. L'effet des vaccins adjuvés avec des dérivés d'aluminium sur les populations de cellules Th17 reste à déterminer. En effet, bien que des études [39, 40] réalisées avec de tels vaccins chez la souris aient montré une polarisation des LT CD4 en

cellules Th17, leurs protocoles d'immunisation sont peu représentatifs d'une vaccination humaine (type d'antigène utilisé et concentration de l'antigène).

La réponse immunitaire induite par les adjuvants aluminiques implique donc, chez la souris, la mise en place de LT CD4 effecteurs de type Th2 et LT_{FH}. Chez l'homme cependant, les arguments en faveur d'une polarisation de la réponse sont plus controversés et l'identité des sous catégories de LT CD4 effecteurs produits après une vaccination avec des adjuvants aluminiques n'est pas parfaitement déterminée. Mais, dans tous les cas, ces LT CD4 effecteurs vont aider les LB à devenir des cellules productrices d'anticorps, éléments essentiels de l'immunité induite par les vaccins adjuvés avec des dérivés d'aluminium.

2.4 Mécanismes d'actions avancés pour expliquer l'activité adjuvante des sels d'aluminium

Malgré leur long passé d'utilisation et les millions de doses injectées à travers le monde, le mécanisme d'action des sels d'aluminium n'est que partiellement élucidé. La littérature de ces dernières années s'est enrichie de nouvelles hypothèses concernant leurs mécanismes d'action possible.

2.4.1 Relargage retardé des antigènes ou « effet dépôt » [30]

La première hypothèse qui a été avancée depuis leur découverte repose sur la formation d'un dépôt au niveau du granulome qui se forme au site d'injection.

Dès 1931, A.T Glenny suggère que la précipitation de l'antigène avec de l'aluminium réduit la vitesse d'élimination de l'antigène du site d'injection [41]. L'expérience a consisté à administrer par voie sous-cutané à des animaux des anatoxines diphtériques précipitées avec des sels d'aluminium ou des anatoxines diphtériques solubles. Après 3 jours, la portion de peau de ces animaux contenant le site d'injection est excisée et une émulsion de cette partie est réinjectée à des animaux sains. On observe alors que seuls les animaux ayant reçu l'émulsion de peau provenant des cobayes injectés avec de l'anatoxine précipitée avec des sels d'aluminium développent une réponse immunitaire. Les auteurs de l'expérience

suggèrent alors que la libération lente de l'antigène précipité a donné lieu, au niveau du site d'injection, à une exposition prolongée du système immunitaire aux antigènes vaccinaux et à une meilleure réponse immunitaire.

Le dépôt formé au site d'injection se compose des antigènes protéiques du vaccin et des sels insolubles d'aluminium. Il permet à l'antigène de rester beaucoup plus longtemps dans l'organisme et expose ainsi les cellules immunitaires à l'antigène pendant une durée plus longue, favorisant une production durable d'anticorps. En fonction de l'environnement dans lequel se trouve le complexe antigène-adjuvant, l'effet dépôt persiste plus ou moins longtemps et il peut s'observer jusqu'à un mois après l'injection.

D'autres expériences ont par la suite montré que les antigènes peuvent être retenus au niveau du site d'injection pendant au moins 7 semaines après l'injection [42].

Depuis les débuts de l'utilisation des adjuvants aluminiques, la théorie de « l'effet dépôt » a largement été soutenue par le monde scientifique bien qu'en 1950 Holt et son équipe avaient déjà commencé à le remettre en question [43]. A l'époque ils démontrent que l'excision des nodules, qui se constituent au niveau du site d'injection, au bout de 7 jours ou plus après la vaccination, n'interfère pas avec le développement de la réponse immunitaire humorale.

Les progrès scientifiques et les débats autour des sels d'aluminium dans les vaccins ont relancé les recherches autour des modes d'action de ces adjuvants et l'hypothèse de « l'effet dépôt » est de plus en plus remise en question.

Une étude récente a confirmé que l'effet dépôt et la libération lente des antigènes depuis le site d'injection n'est pas nécessaire à l'activité des adjuvants aluminiques [44]. Elle met en évidence qu'après immunisation avec des adjuvants aluminiques, le retrait du site d'injection ne modifie pas l'ampleur ni la cinétique des réponses immunitaires spécifiques de l'antigène. L'élimination du site 2 heures après l'injection ne modifie pas l'activité et la multiplication des cellules T, ni la production d'IL-4. L'étude de la cinétique de présentation de l'antigène par les cellules dendritiques et les cellules B ne révèle également aucune modification. Il semble donc que ni l'adsorption, ni la réponse inflammatoire locale au site d'injection ne soient nécessaires à l'activité des adjuvants aluminiques.

L'étude soulève l'hypothèse que le dépôt et la libération prolongée de l'antigène pourrait avoir une incidence sur la mémoire immunitaire. Mais là encore, l'ablation du site d'injection ne modifie ni l'ampleur ni le type de mémoire immunitaire induite, ce qui n'est pas en faveur de la théorie de « l'effet dépôt ».

Il semble tout de même que le site d'injection soit indispensable dans les deux premières heures suivant l'administration suggérant dans ce laps de temps l'importance d'un dépôt d'antigène.

Cette étude se heurte tout de même à quelques critiques. D'une part, rien ne permet d'écartier la possibilité que le traumatisme généré par l'ablation du site d'injection n'est pas généré à lui seul une production suffisante de signaux inflammatoires pour permettre le développement de la réponse immunitaire. D'autre part, bien que les adjuvants aluminiques présents dans les vaccins soient généralement des structures de l'ordre du micron, les composés qui les structurent sont des nanoparticules et on peut envisager une circulation de ces nanoparticules par la voie lymphatique jusqu'au ganglion proximal où elles exerceraient une activité adjuvante et la formation d'un dépôt d'antigène.

Enfin, après injection intramusculaire, la rétention au niveau du site d'injection d'un vaccin adsorbé sur du phosphate d'aluminium est plus grande que pour un vaccin non adsorbé (contenant tout de même de l'aluminium) mais les deux vaccins produisent pratiquement les mêmes titres d'anticorps. La présence de l'adjuvant aluminique se révèle indispensable mais l'adsorption de l'antigène à l'adjuvant n'est pas nécessaire pour augmenter l'immunisation comme nous l'avons vu précédemment (cette nécessité étant fonction de la dose d'antigènes, cf 2.1.3.2). La rétention au niveau du site d'injection n'est donc pas indispensable à une bonne immunisation. Il semble donc que les effets souhaités par l'ajout d'adjuvants aluminiques ne proviennent pas de l'adsorption de l'antigène à l'adjuvant ni d'un phénomène de rétention [17].

D'autres expérimentations [30] allant dans le même sens suggèrent que la libération prolongée de l'antigène après plusieurs jours ou semaines à partir du site de dépôt est peu susceptible de contribuer à l'effet adjuvant des particules d'aluminium.

2.4.2 Induction d'une réaction inflammatoire [31]

Le lieu de l'injection d'un vaccin adjuvé avec des sels d'aluminium est le siège d'une réaction inflammatoire que l'on considère comme faisant partie intégrante de l'activité adjuvante des dérivés d'aluminium.

Les expériences animales montrent qu'après injection intramusculaire d'anatoxines tétaniques combinées à de l'hydroxyde d'aluminium, on observe au niveau du site d'injection une nécrose des fibres musculaires et l'apparition d'un œdème interstitiel avec infiltration de leucocytes. Durant les 72 premières heures après l'injection, l'infiltrat se compose essentiellement de polynucléaires neutrophiles. Au bout d'une à deux semaines, la réponse inflammatoire aiguë évolue en réaction granulomateuse chronique et les polynucléaires neutrophiles sont remplacés par des macrophages qui s'accumulent au niveau du site d'injection [45, 46]. Les granulomes peuvent ainsi persister pendant plusieurs mois. Cependant ils ne semblent pas nécessaires au développement d'une réponse immunitaire spécifique comme mentionné précédemment. L'expérience de Holt à montrer que l'ablation de ces granulomes 7 jours après l'injection n'affectait pas l'amplitude ni la durée de la réponse immunitaire [43].

Lors de cette réponse inflammatoire on assiste également à l'augmentation de la production de diverses chimiokines et cytokines. Ce grand nombre de molécules orchestrent le recrutement des cellules de l'immunité. Parmi les cytokines produites on trouve l'IL-4. Rappelons que comme l'IL-4 bloque la différenciation des LT CD4 vers la voie Th1 on assiste à une orientation de la réponse immunitaire spécifique vers la voie Th2.

Les adjuvants aluminiques induisent donc une réaction inflammatoire locale permettant le recrutement de monocytes inflammatoires qui se différencient en macrophages et cellules dendritiques. Ces cellules prennent en charge l'antigène et le transportent vers le ganglion drainant initiant ainsi les réponses immunitaires spécifiques.

2.4.3 Effets des adjuvants aluminiques sur les cellules dendritiques et la présentation des antigènes [30]

La capacité des sels d'aluminium à promouvoir l'absorption de l'antigène et sa présentation par les cellules présentatrices d'antigène est connue depuis près de 20 ans et les données concernant ce sujet se sont enrichies ces dernières années de nouvelles découvertes.

Les dérivés d'aluminium sont capables d'induire la conversion des monocytes en cellule dendritiques matures capables de présenter des antigènes.

L'initiation de la réponse immunitaire se produit dans les ganglions lymphatiques qui drainent le site de vaccination. Les cellules dendritiques jouent un rôle essentiel dans le transport de l'antigène au ganglion lymphatique et dans la présentation et l'activation des cellules T naïves spécifiques de l'antigène. Les cellules dendritiques, d'abord immatures, permettent la capture et l'absorption des antigènes par les phénomènes de pinocytose et de phagocytose. A la suite de l'absorption de l'antigène et en présence de signaux de stimulation, les cellules dendritiques migrent vers le ganglion lymphatique via les vaisseaux lymphatiques afférents. Au cours de leur migration, les cellules dendritiques traitent l'antigène et subissent un processus de maturation. Elles expriment alors des molécules de co-stimulation (CD40, CD80, CD86) nécessaires à l'activation des LT CD4 naïfs. Ces LT CD4 vont donc reconnaître simultanément et spécifiquement l'antigène présenté par les cellules dendritiques matures exprimant des molécules de CMH de classe II, et activés par les molécules de co-stimulation se différencier en LT CD4 effecteurs.

Ulanova et son équipe ont été les premiers à montrer, *in vitro*, que des cellules mononuclées du sang ont été activées par un antigène combiné à des sels d'aluminium. Ces cellules deviennent capables de présenter efficacement l'antigène associé aux molécules de CMH de classe II, et expriment les molécules de co-stimulation CD40 et CD86 [47].

Des antigènes adsorbés sur de l'aluminium sont plus efficacement absorbés par les cellules dendritiques que les antigènes solubles et ce phénomène s'observe surtout lorsque la taille globale de l'adjuvant est plus petite que celle des cellules dendritiques [14].

Par la suite, d'autres études réalisées avec des cellules dendritiques sont parvenues à montrer que lorsque l'antigène est associé à un sel d'aluminium, la quantité d'antigènes absorbés par les cellules dendritiques est augmentée tout comme leur capacité à présenter l'antigène et à activer les LT spécifiques. Les cellules dendritiques ainsi stimulées sécrètent également diverses cytokines dont l'IL-1 β et l'IL-18. De plus, la neutralisation de ces cytokines par des anticorps spécifiques bloque la différenciation des LT CD4 naïfs en cellules Th2 ce qui suggère qu'elles ont un rôle important dans la polarisation de la réponse immunitaire [32].

Il semblerait que l'hydroxyde d'aluminium facilite la présentation des antigènes aux LT de manière plus efficace que le phosphate d'aluminium. L'hydroxyde d'aluminium induit l'expression des molécules de co-stimulation CD80 tandis que le phosphate d'aluminium ne produit pas cet effet. Ces observations suggèrent des différences d'actions biologiques entre les deux adjuvants [32].

2.4.4 Activation de l'inflammasome NLRP3 [11]

Plusieurs études ont montré que l'exposition *in vitro* de cellules à des sels d'aluminium induit l'activation de la caspase-1 et la libération des cytokines IL-1 β , IL-18 et IL-33. Grâce à ces expériences réalisées avec des inhibiteurs de la caspase-1, on sait que son activation est essentielle pour la production des formes actives de ces cytokines induites par les dérivés d'aluminium [32, 48]. Plus généralement, les sécrétions de telles cytokines impliquent la présence du récepteur cytoplasmique NLRP3 [35, 36, 49, 50]. NLRP3 s'active en présence de signaux de dangers comme les constituants microbiens, l'ATP, les cristaux d'acide urique et aussi en présence des dérivés d'aluminium. Comme nous l'avons vu, une fois activés, ces NLRP3 s'associent avec d'autres protéines, parmi lesquelles figurent la procaspase 1 et la protéine adaptatrice ASC, pour former un complexe protéique appelé NLRP3-inflammasome. Cet inflammasome permet le clivage des molécules de procaspase-1 en caspase-1 enzymatiquement actives. A son tour, cette caspase-1 déclenche la maturation des pro-IL-1 β et pro-IL-18 en cytokines IL-1 β et IL-18 actives qui sont ainsi sécrétées.

Plusieurs groupes de recherches ont donc entrepris des études sur les effets adjuvants des dérivés d'aluminium à l'aide de souris génétiquement modifiées et déficientes en plusieurs sous-unités protéiques du complexe NLRP3-inflammasome. Tous les groupes ont rapportés que des déficiences en NLRP3 ou ASC impactent la production d'IL-1 β suite à l'injection de dérivés d'aluminium [35, 36, 49, 50]. Mais à la question de savoir si l'activation du complexe de l'inflammasome est totalement nécessaire à la production des effets adjuvants des dérivés d'aluminium, les conclusions de ces études divergent. En l'absence de signalisation NLRP3, Eisenbarth *et al* [35] et Li *et al* [50] trouvent une abolition des réponses anticorps spécifiques vis-à-vis de l'antigène coadministré, Kool *et al* [36] concluent à une inhibition partielle des immunités cellulaires et humorales et Franchi et Nunez [49] ne trouvent aucun effet sur la production d'anticorps. Les raisons de ces résultats contradictoires ne sont pas connues mais pourraient correspondre à des différences dans les protocoles d'immunisation, dans la formulation de l'adjuvant aluminique voire dans le terrain génétique des souches de souris knock-out utilisées.

Concernant les mécanismes par lesquels les sels d'aluminium activent l'inflammasome NLRP3, ils ne sont pas encore totalement élucidés mais il existe deux hypothèses [11].

La première est un modèle d'activation directe de l'inflammasome dans lequel les cellules phagocytaires phagocytent directement les particules d'aluminium. Cette absorption entraînerait des dommages et une rupture lysosomale, suivie d'une libération d'antigènes et d'enzymes lysosomales en particulier de la cathepsine B, dans le cytoplasme de la cellule. La libération de la cathepsine B pourrait constituer un signal de danger suffisant qui conduirait à l'activation de NLRP3 [51].

2.4.5 Contribution des cristaux d'acide urique [11]

La seconde hypothèse décrite pour expliquer l'activation de l'inflammasome NLRP3 par les sels d'aluminium est un modèle indirect. Ce modèle propose que la cytotoxicité des sels d'aluminium conduit à la libération de motifs moléculaires associés au danger (DAMPs : Damage Associated Molecular Pattern) tels que l'acide urique. Ces DAMPs sont des molécules intracellulaires libérées par des cellules lésées. Elles permettent une

reconnaissance des signaux de danger par le système immunitaire et activent les cellules immunitaires innées.

Suite à l'injection intra-péritonéale à des souris d'antigènes associés à des dérivés d'aluminium, une augmentation locale de la concentration en acide urique a déjà pu être constatée. Un traitement de ces souris avec de l'uricase, enzyme capable de dégrader l'acide urique, a également mis en évidence une baisse du nombre de LT spécifiques de l'antigène présents au niveau du ganglion drainant [52]. L'acide urique semble donc jouer un rôle important dans le développement de la réponse immunitaire.

L'acide urique est le produit de dégradation des acides nucléiques de types purines libérés lors de la mort cellulaire. L'acide urique est très soluble lorsqu'il se trouve à l'intérieur des cellules mais l'est beaucoup moins lorsqu'il se trouve dans le milieu extracellulaire. Ainsi, suite à la mort cellulaire, il se retrouve dans le milieu extracellulaire en forte concentration et se solidifie rapidement sous forme de cristaux d'urate insolubles.

L'utilisation des dérivés d'aluminium induit, au niveau du site d'injection, la nécrose d'un certain nombre de cellules conduisant à la libération dans le milieu extracellulaire d'une grande quantité d'acide urique qui va donc cristalliser. Les cristaux d'urate sont ensuite détectés et pris en charge par des phagocytes. Lors de leur internalisation, ces cristaux pourraient, à la manière du modèle d'activation directe de l'inflammasome, entraîner des ruptures lysosomales et une libération de cathepsine B qui activerait l'inflammasome NLRP3 (figure 2).

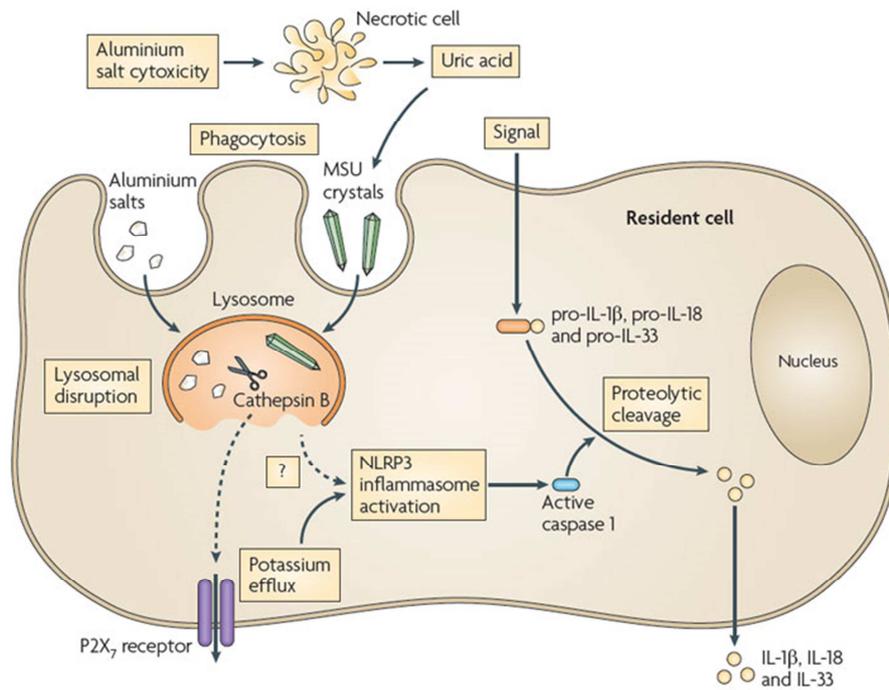


Figure 2 : Activation de l'inflammasome NLRP3 par les sels d'aluminium [11]

La cytotoxicité des sels d'aluminium conduit à la libération par la cellule nécrotique de motifs moléculaires associés au danger tel que l'acide urique. Lorsqu'il est présent à de fortes concentrations, l'acide urique prend la forme de cristaux d'urate (MSU crystals) qui sont ensuite phagocytés par les cellules résidentes. Ces cristaux d'urate mais aussi les sels d'aluminium directement phagocytés entraînent la rupture des lysosomes et conduit à la libération de cathepsine B. Celle-ci peut induire directement ou indirectement une sortie de potassium de la cellule qui serait un signal d'activation des récepteurs NLR dont NLRP3. L'inflammasome NLRP3 peut alors induire l'activation de la caspase 1 qui elle-même permet la production et la libération des formes actives d'IL-1 β , IL-18 et IL-33.

2.5 Toxicité de l'aluminium et tolérance des adjuvants aluminiques

L'aluminium n'est pas présent à l'état naturel dans l'organisme humain. Il n'a aucune fonction biologique, ne participe à aucune réaction enzymatique contrairement à des éléments comme le fer et le zinc. Il est un élément étranger pour l'organisme et peut, à ce titre, être responsable de manifestations toxiques.

2.5.1 Principaux effets toxiques de l'aluminium [15, 23]

2.5.1.1 Effets osseux

La toxicité osseuse de l'aluminium est reconnue aussi bien chez l'animal que chez l'homme. On l'a vu, l'aluminium se distribue essentiellement dans le squelette qui devient donc un réservoir capable de libérer progressivement de l'aluminium.

Il a été démontré qu'un dépôt excessif d'aluminium dans le tissu osseux conduisait à l'instauration d'un syndrome appelé « aluminum induced bone disease » ou AIBD, caractérisé par un défaut ou une réduction de minéralisation et un défaut de formation osseuse. L'insuffisance rénale serait un facteur déterminant pour la toxicité osseuse de l'aluminium [15, 23].

2.5.1.2 Effets hématopoïétiques

Les études animales soulèvent l'existence d'une altération de l'érythropoïèse lors d'expositions à long terme par voie orale. Chez l'homme, la toxicité hématopoïétique est visible chez les insuffisants rénaux chroniques ayant une charge importante en aluminium et chez qui on note une augmentation de la prévalence des anémies microcytaires hypochromes. Chez ces patients, les taux plasmatiques d'aluminium ont été corrélés à la sévérité de leur anémie. Des traitements chélateurs et un arrêt de l'exposition à l'aluminium ont permis de corriger cette anémie [23].

2.5.1.3 Neurotoxicité

L'accumulation d'aluminium dans la substance grise cérébrale peut générer des encéphalopathies. Ces effets neurologiques ont clairement été identifiés chez des patients insuffisants rénaux hémodialysés. La principale cause a été la contamination par l'aluminium de l'eau du dialysat provoquant une exposition des patients à de fortes concentrations d'aluminium sur une faible durée. S'ajoute à cela l'accumulation chronique d'aluminium par les voies parentérales et orale.

Le risque d'encéphalopathie lié à l'ingestion d'aluminium concernant la population générale est considéré comme nul étant donné que les doses cumulées d'aluminium reçus par les

sujets dialysés atteints d'encéphalopathie étaient bien supérieures aux doses pouvant être absorbées par voie alimentaire.

Des troubles psychomoteurs et une altération des performances cognitives ont pu être observés chez des personnes exposées professionnellement à l'aluminium (poussières, fumées,...).

L'étude du cas d'enfants nés prématurément à qui on a administré de manière prolongée des solutés de nutrition parentérale contenant 250 µg/l d'aluminium a révélé une baisse de leurs scores de développement mental à l'âge de 18 mois [15, 23, 53].

Plus largement, on suspecte aujourd'hui l'aluminium de jouer le rôle d'un co-facteur toxique dans l'apparition de maladies neurodégénératives (sclérose latérale amyotrophique, sclérose en plaques, maladie d'Alzheimer, maladie de Parkinson, syndrome de la guerre du Golfe). Mais les conclusions des études divergent notamment quant à la relation entre aluminium contenu dans l'eau de boisson et le développement de la maladie d'Alzheimer.

2.5.2 Tolérance des adjuvants aluminiques

Malgré leur long passé d'utilisation et leur bon profil de tolérance, les adjuvants aluminiques peuvent être responsables de réactions locales et, connaissant notamment le potentiel neurotoxique de l'aluminium, sont suspectés d'être impliqués dans le déclenchement de diverses pathologies.

2.5.2.1 Effets locaux observés après injection intramusculaire [54]

La réaction inflammatoire locale :

Une réponse inflammatoire aiguë, transitoire, caractérisée par une induration et un gonflement local est un effet secondaire fréquemment observé après une vaccination [54]. Elle est de courte durée et n'est pas spécifique des adjuvants aluminiques ; on l'observe de manière plus ou moins prononcée avec la quasi-totalité des adjuvants existants. Plus généralement, on l'observe après toute introduction dans l'organisme d'un élément pathogène. Elle correspond aux signaux d'alarmes moléculaires générés par les mastocytes et les macrophages en réponse à l'introduction d'un corps étrangers et aux dommages tissulaires.

Nodules sous cutanés et granulomes :

La vaccination peut provoquer l'apparition de nodules sous-cutanés qui sont des masses de tissu mou le plus souvent discrètes et bien délimitées au niveau du site d'injection [54]. Cette réaction locale est bénigne lorsque l'inoculum est rapidement éliminé mais peut aboutir à une réaction inflammatoire chronique s'il y a persistance de l'inoculum. Les nodules prennent alors la forme de granulomes et peuvent persister plusieurs mois après l'immunisation.

Ces nodules sous cutanés et granulomes ne s'observent pas avec tous les adjuvants vaccinaux. Des facteurs comme la biodégradabilité, la viscosité et la taille des particules de l'adjuvant influencent la formation de ces réactions locales. Les adjuvants aluminiques sont plus fréquemment impliqués dans la formation de nodules et granulomes que les autres adjuvants vaccinaux.

2.5.2.2 Implication dans le syndrome de la guerre du golfe [55]

L'aluminium vaccinal est particulièrement montré du doigt dans le Syndrome de la Guerre du Golfe (SGG). Le SGG apparaît chez des anciens combattants ayant participé à la Guerre du Golfe dans les années 1990-1991. Les malades présentent plusieurs symptômes dont une fatigue chronique, des douleurs musculaires et articulaires et des troubles du système nerveux central se traduisant par des troubles de l'humeur et de la cognition. Certains patients peuvent également développer des déficiences neurologiques très proches de la sclérose latérale amyotrophique, maladie neurodégénérative touchant des motoneurons et caractérisée par une paralysie musculaire progressive. L'aluminium est un des facteurs avancés pour expliquer le SGG. D'une part, parce que les soldats ont subi de multiples vaccinations rapprochées dans le temps par des vaccins contenant des sels d'aluminium comme adjuvant. D'autre part, parce que des expériences d'injection d'hydroxyde d'aluminium chez des souris ont montré une augmentation de l'apoptose des neurones moteurs notamment et la présence d'aluminium dans leur cytoplasme [56]. Le comportement des souris est également altéré : on observe une perte de certaines fonctions motrices et une diminution de leur capacité de mémoire spatiale. Une diminution progressive de la force et de l'endurance musculaire est également remarquée [55]. Cependant aujourd'hui aucun lien de causalité entre les adjuvants aluminiques et

l'apparition du syndrome de la guerre du golfe ne peut être retenu étant donné la complexité du syndrome et les multiples facteurs auxquels ont été exposés les soldats.

2.5.2.3 Le syndrome auto-immunitaire/inflammatoire induit par les adjuvants [57]

En 2011, un nouveau syndrome appelé ASIA « Autoimmune/Autoinflammatory Syndrome Induced by Adjuvant » (syndrome auto-immunitaire/inflammatoire induit par les adjuvants) a été définie par Y. Shoenfeld et N. Agmon-Levin [57] et tente de relier le déclenchement de maladies auto-immunes à l'exposition à des stimulus ayant des effets adjuvants tels que l'exposition chronique au silicone, au pristane*, à des éléments infectieux et également à l'aluminium. Ces facteurs pourraient induire une réaction d'auto-immunité : par exemple, la silicone serait associée à la « siliconose » (ensemble de symptômes présentés par les patientes suites à la rupture d'implant en gel de silicone) et l'hydroxyde d'aluminium aux réactions post-vaccinales et à la myofasciite à macrophages. Ainsi, la « siliconose », le syndrome de la guerre du golfe, la myofasciite à macrophages et les réactions post-vaccinales ont été regroupés sous le nom d'ASIA. Ces maladies ont en commun un ensemble de signes et de symptômes et peuvent être rapprochées à une exposition antérieure à un élément entraînant un effet adjuvant. Les symptômes les plus fréquemment rapportés sont des myalgies, des myosites, des arthralgies, des manifestations neurologiques, de la fièvre et des altérations cognitives. Un syndrome de fatigue chronique est également fréquemment retrouvé et est souvent associé à des troubles du sommeil. Shoenfeld retrouve également la présence d'auto-anticorps ou une maladie auto-immune déclarée chez 35% des patients [57]. Ces quatre affections se traduisent par des réponses immunitaires hyperactives suite à la stimulation chronique du système immunitaire par des éléments ayant des propriétés adjuvantes. Shoenfeld pose plusieurs hypothèses : le développement de ces maladies auto-immunes pourrait - être encouragé chez des sujets prédisposés par un terrain génétique particulier (hypothèse encouragée au regard de la rareté de ces événements) – nécessiter la co-exposition à plusieurs éléments déclencheurs (exposition à un agent infectieux) – nécessiter la co-exposition à plus d'une substance aux effets adjuvants.

* Le pristane, connu également sous le nom de tétraméthylpentadécane, est un alcane terpénoïde saturé qui peut être d'origine naturel (composant de l'huile de foie de requin) ou synthétique. Il est utilisé dans la recherche pour comprendre la pathogénèse de maladies auto-immunes comme la polyarthrite rhumatoïde et le lupus érythémateux disséminé.

2.5.2.4 La myofasciite à macrophages : à la frontière entre manifestation locale et réaction systémique [15]

La myofasciite à macrophages, qui va être détaillée dans le chapitre suivant, soulève de nombreux débats.

La myofasciite à macrophages (MFM) est une myopathie inflammatoire acquise dont l'étiologie serait l'aluminium présent en tant qu'adjuvant dans les vaccins. Elle se caractérise par la présence de lésions du muscle deltoïde qui correspondent à une infiltration de macrophages contenant des sels d'aluminium [58]. Ces lésions sont locales et délimitées autour du site d'injection. Les patients qui présentent de telles lésions montrent divers symptômes aux premiers rangs desquels figurent les myalgies, la fatigue chronique et les arthralgies. Des troubles de la fonction motrice et des troubles cognitifs s'ajoutent au tableau et laissent entendre une atteinte du système nerveux. Après avoir démontré que l'aluminium retrouvé au niveau des lésions locales était d'origine vaccinale, les études se concentrent sur le cheminement de l'aluminium et sa pénétration dans le cerveau, afin d'associer les réactions systémiques de la MFM aux adjuvants aluminiques.

3. La myofasciite à macrophages (MFM)

Nouvelle entité au sein des myopathies et des fasciites inflammatoires, la MFM connaît une incidence croissante depuis son apparition.

3.1 Historique [15]

Le premier cas fut d'abord rapporté en 1993 à Bordeaux. Une biopsie musculaire fut pratiquée sur une patiente chez qui on suspectait une polymyosite. Le résultat de la biopsie montrait des lésions inédites qui n'avaient jamais été observées dans d'autres maladies musculaires. De 1993 à 1997 plusieurs nouveaux cas sont découverts et l'Association Française contre les Myopathies (AFM) demande la création d'un groupe de recherche : le GERMMAD (Groupe de Recherche sur les Maladies Musculaires Acquisées et Dysimmunitaires) voit le jour. Ce groupe de travail présidé par le Pr Patrick Chérin, clinicien en médecine interne à la Pitié-Salpêtrière, se compose notamment de l'équipe du Professeur Gherardi (Inserm U955, équipe n°10, université de Créteil).

Leur première publication sur le sujet date de 1998. Ils font état dans *The Lancet* [59] de 18 cas d'une nouvelle pathologie associant des symptômes musculo-squelettiques (douleurs musculaires et articulaires, faiblesse musculaire) et des signes généraux (asthénie, fièvre). Les personnes souffrant de ces symptômes ont subi une biopsie musculaire pratiquée dans le deltoïde qui a révélé la présence d'une lésion histologique inhabituelle n'ayant jamais été retrouvée dans d'autres pathologies musculaires. Dénommée « myofasciite à macrophages » par les auteurs, cette lésion est caractérisée par une infiltration du muscle et de ses enveloppes par des macrophages. Après coloration et visualisation au microscope électronique, ces macrophages se sont avérés être porteurs d'inclusions micro-cristallines de nature inconnue. L'hypothèse d'une étiologie infectieuse a d'abord été soulevée.

En avril 1999, grâce à une micro-analyse aux rayons X en microscopie électronique, la nature des inclusions est précisée. Il s'agit de cristaux de sels d'aluminium et plus précisément d'hydroxyde d'aluminium (qui a une structure cristalline contrairement au phosphate d'aluminium qui a un aspect amorphe). Le GERMMAD émet alors l'hypothèse que

l'aluminium retrouvé est d'origine vaccinal et que la lésion pourrait correspondre à une réaction anormale suite à l'injection de vaccins contenant des sels d'aluminium comme adjuvant.

Cette découverte fut présentée à la première session du Comité Consultatif pour la Sécurité des Vaccins (CCSV) au siège de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), à Genève, les 14 et 15 septembre 1999. Cette commission qui regroupe des experts internationaux, notamment dans le domaine de l'épidémiologie, de l'immunologie, de la pédiatrie, de la santé publique et de la vaccinologie, a pour mission d'analyser les problèmes concernant la sécurité des vaccins de manière indépendante et notamment de déterminer les relations de cause à effet qui pourraient exister entre les vaccins ou leurs constituants et leurs effets indésirables. Le CCSV en tire des recommandations qui permettent de guider les politiques de sécurité vaccinale émises par l'OMS et les organisations nationales ou internationales.

Concernant la présentation des cas de myofasciite à macrophages, le CCSV conclue à un lien de causalité probable entre l'injection intramusculaire de vaccin contenant de l'aluminium et la présence de la lésion histologique locale caractérisant la MFM. Cependant, il considère que les données disponibles ne permettent pas d'établir un lien entre la lésion histologique et une maladie générale. Le Comité recommande la réalisation d'études supplémentaires afin de mieux caractériser la MFM sur des points cliniques, épidémiologiques, immunologiques et biologiques et de rechercher une association statistique entre la présence de la lésion histologique et la survenue d'une expression clinique spécifique [60].

Les études se poursuivent et le GERMMAD publie dans *Brain* en 2001 [58], le résultat de leurs travaux qui démontrent la présence d'aluminium au sein de la lésion histologique et son origine vaccinale, s'appuyant sur la reproduction des lésions de MFM chez des rats à qui ils ont injecté en intramusculaire un vaccin contenant de l'hydroxyde d'aluminium.

En mars 2001, l'Institut de Veille Sanitaire (InVS) rend ses conclusions à la suite d'une enquête épidémiologique débutée en mars 1998 et achevée en mai 2000 [61] et qui avait pour objectifs de « décrire précisément les cas identifiés dans les centres de myopathologie, proposer une définition de cas, générer des hypothèses quant à d'éventuels facteurs de risque de survenue de cette pathologie nouvelle ». L'analyse des cas de 53 patients montre

que les symptômes se manifestent plutôt chez l'adulte âgé de 45 ans et plus et que les deux sexes sont affectés de manière équivalente. Les conclusions vont dans le même sens que les hypothèses soulevées par le GERMAD : la lésion histologique observée est liée à l'administration de vaccins adjuvés avec de l'hydroxyde d'aluminium mais l'absence de groupe témoin fait qu'il n'est pas possible d'affirmer une association entre la présence de la lésion histologique et la symptomatologie. Les études se heurtent en effet à l'impossibilité d'ordre éthique de réaliser une biopsie musculaire deltoïdienne chez des sujets sains vaccinés afin de constituer un groupe témoin qui pourrait permettre une démonstration de l'innocuité de la persistance de l'aluminium sur le site d'injection du vaccin.

Dans le prolongement de l'étude de l'InVS, l'AFSSAPS demande et finance une étude épidémiologique exploratoire de la MFM en 2002 [62]. Il s'agissait d'une étude cas-témoin menée sur des patients ayant fait l'objet d'une biopsie musculaire avant février 1999. Tous les sujets avaient présenté des signes cliniques musculaires justifiant la réalisation d'une biopsie pour investigations. Les « cas » présentaient une lésion caractéristique de MFM à la biopsie. Les « témoins » étaient des patients présentant des signes cliniques musculaires et chez qui la biopsie ne montrait pas de lésion caractéristique de MFM. Ce recrutement rétrospectif avait pour objectif de minimiser un éventuel biais de sélection lié à la notoriété de l'association vaccination et MFM. Les résultats de l'étude sortent en 2003 et montrent que les sujets porteurs de la lésion histologique rapportent plus fréquemment une asthénie et ont des limitations fonctionnelles plus importantes que les sujets non porteurs de la lésion. Mais du fait de la faiblesse statistique de l'association et de la non spécificité du symptôme fatigue cela « ne permet pas de conclure quant à l'association entre la vaccination et l'existence d'une maladie en relation avec la lésion » [62].

La fatigue constante étant un des principaux symptômes exprimés par les malades, la MFM a été rapprochée du Syndrome de Fatigue Chronique (SFC) d'autant que celui-ci peut également se manifester par des douleurs articulaires et musculaires [63]. Plus de la moitié des patients atteints de MFM et souffrant de fatigue chronique satisfaisaient aux critères de syndrome de fatigue chronique définis selon le *Center for Disease Control and Prevention*.

Analysant les nouvelles données concernant la MFM produites par ces études, le CCSV concluait lors de sa neuvième réunion en décembre 2003, que « la persistance de macrophages contenant de l'aluminium au point de vaccination n'est pas associée à une maladie ou à des symptômes cliniques particuliers » [64].

Le Conseil scientifique de l'AFSSAPS est parvenu à des conclusions similaires en mai 2004 [65] lors de la synthèse des connaissances concernant la MFM. Il a été conclu :

- que l'association entre l'entité histologique MFM et l'administration de vaccins contenant un adjuvant aluminique était hautement probable ;
- que l'état actuel des connaissances ne permettait pas de considérer l'existence d'une association entre entité histologique MFM et syndrome clinique spécifique ;
- que la balance bénéfice-risque des vaccins adjuvés à l'aluminium n'était pas à remettre en cause.

Le lien entre la lésion histologique de MFM et l'administration de vaccins contenant des sels d'aluminium a encore été renforcé en 2005 par une étude chez des singes cynomolgus (*Macaca fasciculata*) [66] à qui on a administré un vaccin diphtérie-tétanos adjuvé avec soit de l'hydroxyde d'aluminium soit du phosphate d'aluminium. L'étude retrouve les caractéristiques histologiques de la lésion de MFM au point d'injection dans les deux cas et note une persistance plus longue de la lésion lorsqu'il s'agit d'hydroxyde d'aluminium.

Les chercheurs ont par la suite mis en évidence des troubles cognitifs chroniques chez les patients atteints de MFM. Deux études, une de 2009 [67], l'autre de 2011 [68], rapportent ainsi des troubles cognitifs particuliers indépendants des niveaux de fatigue, de dépression et de douleur et donc bien différents des troubles cognitifs non spécifiques que pourraient provoquer ces facteurs. Elles font état de détérioration de la mémoire de travail, de la planification, de la flexibilité, de l'attention et de l'inhibition. La mémoire visuelle était également affaiblie alors que la mémoire verbale et la langue semblaient préservées. Les patients n'étaient pas déments mais ils affichaient des performances cognitives anormales pour leurs âges dans certains domaines. Les auteurs ont émis l'hypothèse que ces troubles neurologiques pourraient être dus à des dépôts de particules d'aluminium dans le cerveau, particules qui proviendraient du site d'injection et qui auraient donc migrées à travers la barrière hémato-encéphalique.

Le Pr. Shoenfeld propose en 2011 de rattacher la MFM à un syndrome plus large qu'il nomme syndrome auto-immunitaire/inflammatoire induit par les adjuvants (ASIA) [57]. Il suggère l'existence d'un dénominateur commun à plusieurs affections dont la siliconose (troubles induit par des implants de silicone), le syndrome de la guerre du Golfe et les réactions post-vaccinales qui partagent un ensemble similaire de signes et de symptômes. Il émet l'hypothèse que le dénominateur commun à ces syndromes serait l'exposition à un élément qui entraîne un effet adjuvant.

Les recherches de ces trois dernières années se sont attachées à démontrer la façon dont l'aluminium migrait et pénétrait dans le cerveau. La principale hypothèse avancée, relatée dans une étude réalisée chez la souris [69], serait que les monocytes, dans le même principe que le mécanisme du « cheval de Troie », phagocyteraient les particules d'aluminium puis les transporteraient vers différents organes dont le cerveau. La translocation cérébrale serait d'autant plus facilitée lorsque la barrière hémato-encéphalique est altérée ou que la production de chimiokine CCL2 est élevée. CCL2 (aussi appelé MCP-1 pour *monocyte chemoattractant protein-1*) est une chimiokine qui exerce un pouvoir attractif sur certaines cellules immunitaires dont les monocytes.

3.2 Une lésion caractéristique en lien avec l'injection de vaccins contenant des adjuvants aluminiques

Nous venons de voir que l'analyse morphologique et immunohistologique de biopsies musculaires avait permis la mise à jour d'un nouveau type de myopathie inflammatoire. Ce tableau histologique particulier est marqué par la présence d'inclusions d'aluminium retrouvées au sein de macrophages, inclusions dont l'origine vaccinale est aujourd'hui démontrée.

3.2.1 Description histologique de la lésion et critère de diagnostic positif [59, 70, 71]

Les lésions caractéristiques de la MFM s'observent sur une biopsie musculaire du deltoïde, réalisée sur le bras non-dominant, qui est généralement le site d'injection des vaccins.

On y observe la présence de nombreux macrophages envahissant de manière centripète le tissu conjonctif du muscle squelettique. On les retrouve aussi bien dans l'épimysium entourant le muscle, que dans le périmysium autour de chaque faisceau de fibres musculaires et plus nombreux dans l'endomysium entourant chaque myocyte (figure 3). Ces macrophages sont cohésifs, ils ont un grand cytoplasme basophile (figure 4) qui contient des granulations réagissant de manière positive à la coloration à l'acide périodique de Schiff (PAS+) (figure 5). Les fibres musculaires les entourant sont intactes, il n'y a pas de nécrose. Au voisinage des macrophages, quelques lymphocytes T CD8 sont quasi-constamment retrouvés. Aucun micro-organisme n'a jamais été détecté par les colorations spécifiques, la microscopie électronique ou les techniques de biologie moléculaire (PCR).

La microscopie électronique montre que les macrophages contiennent des inclusions intracytoplasmiques osmiophiles (fixent l'osmium du tétr oxyde d'osmium) (figure 6), spiculées (en forme d'épi ou de dard) de taille nanoparticulaire (1 à 2 nm de large, 60 à 120 nm de long) (figure 7) dont certaines sont délimitées par une mince membrane pouvant indiquer leur possible origine lysosomale (figure 8).

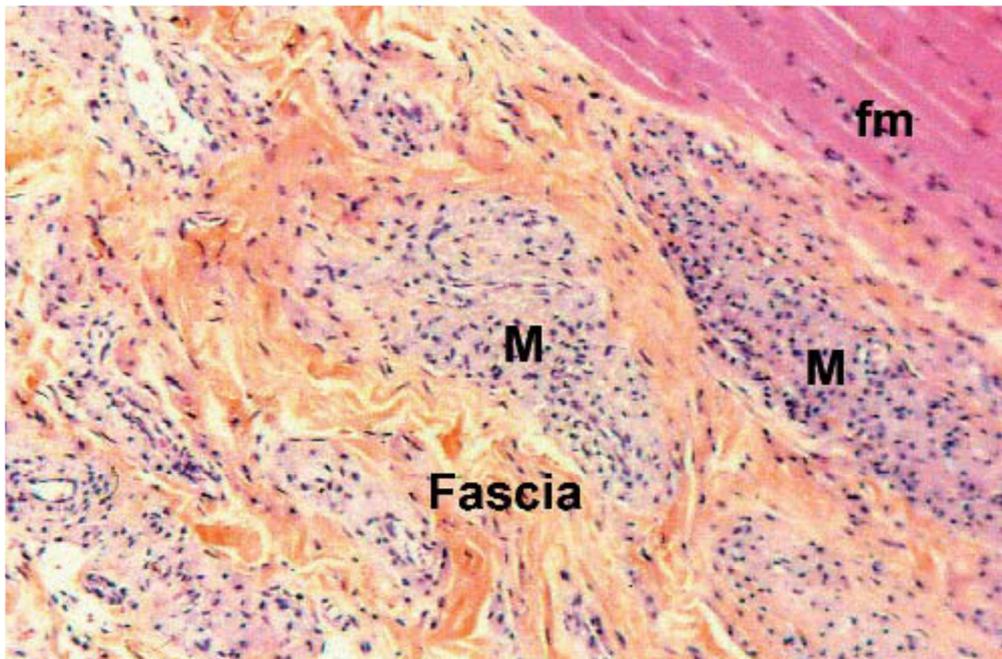


Figure 3 : biopsie musculaire deltoïdienne, coupe en paraffine, coloration HES (Hématéine (colorant basique), Eosine (colorant acide) et Safran (colore les fibres de collagènes en jaune)). Le fascia est envahi d'amas de macrophages basophiles (M). fm : fragment de fibre musculaire [72].

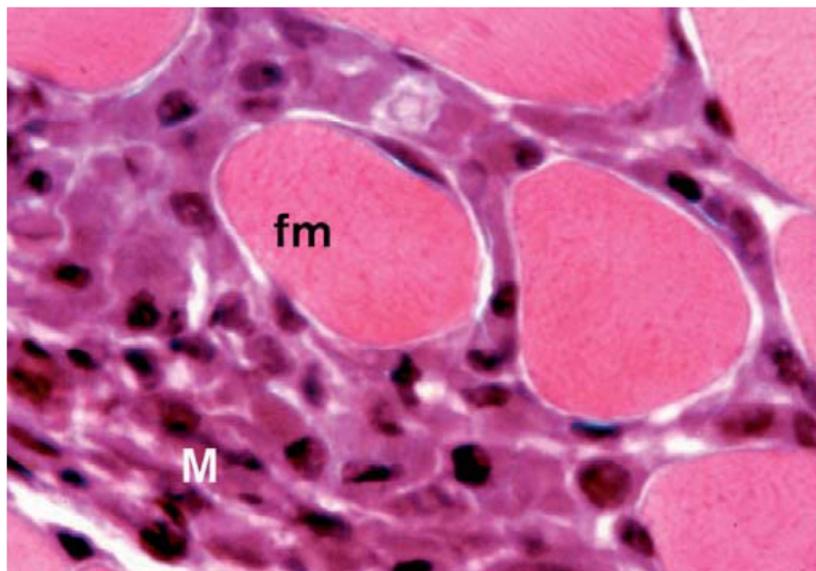


Figure 4 : coupe à congélation, coloration HE (Hématéine (colorant basique), Eosine (colorant acide)). Des macrophages basophiles (M) s'infiltrent entre des fibres musculaires normales (fm) [72].

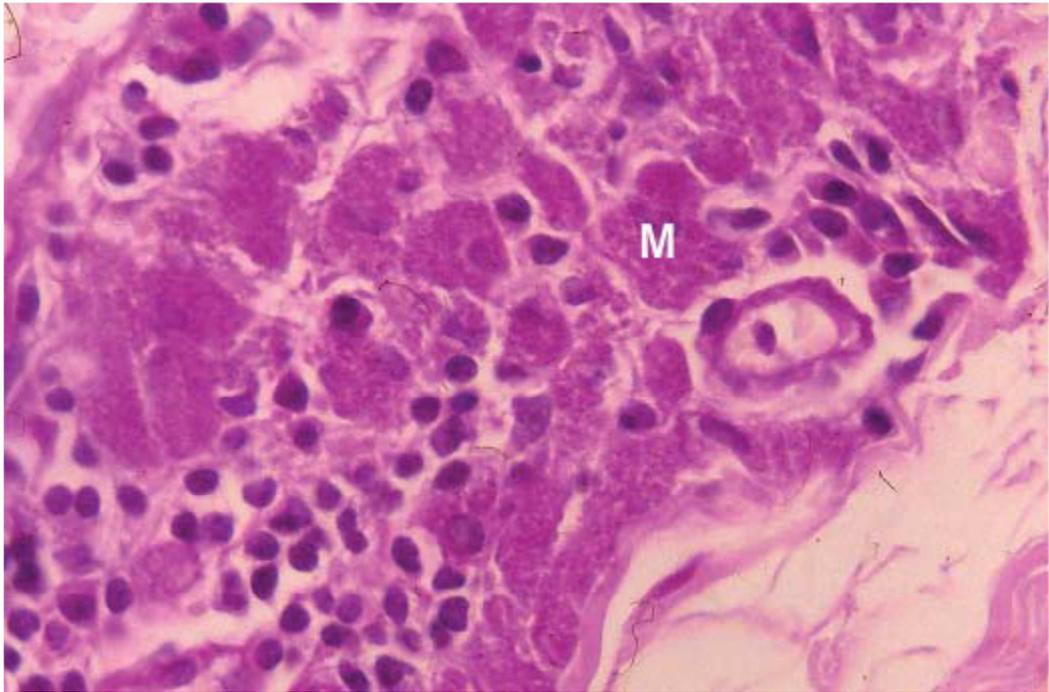


Figure 5 : coupe en paraffine, coloration PAS (Acide Périodique de Schiff). Les macrophages (M) contiennent des granulations rouges PAS+ [72].

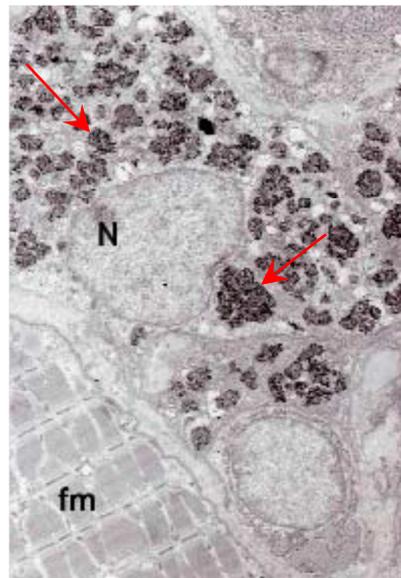


Figure 6 : microscopie électronique. Un macrophage, à côté d'une fibre musculaire (fm), rempli d'inclusions osmiophiles (zones foncées) autour du noyau (N) [72].

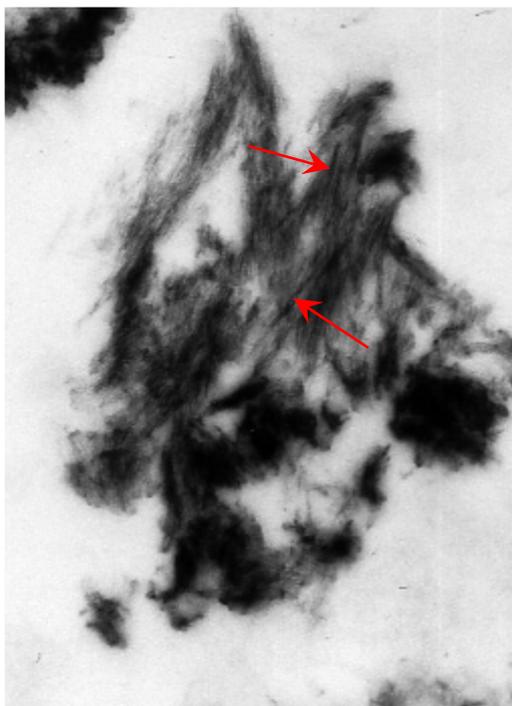


Figure 7 : microscopie électronique, fort grossissement. Une inclusion présentant des zones denses et des images en forme de spicules [72].

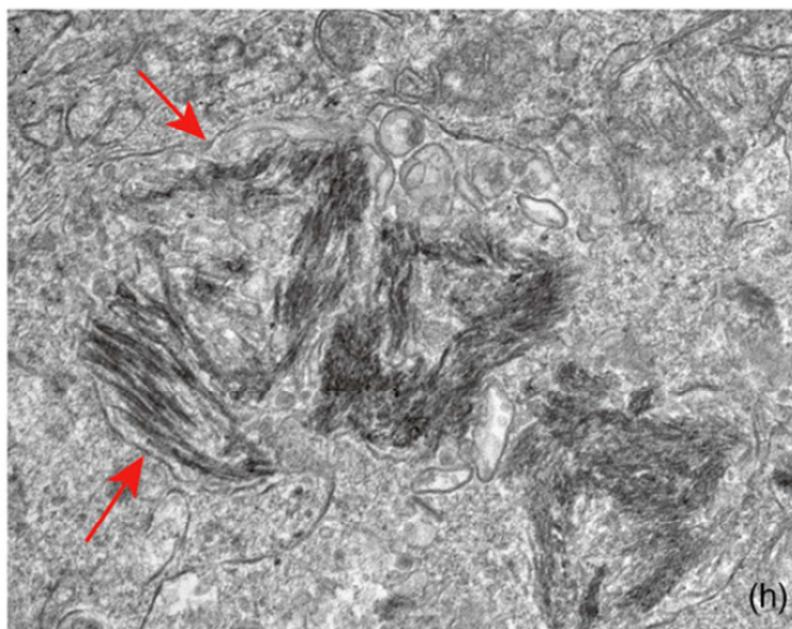


Figure 8 : microscope électronique, visualisation de la mince membrane (flèches rouges indiquant la membrane) pouvant parfois entourer les inclusions et indiquant une origine lysosomale [73].

Les techniques de micro-analyse aux rayons X et de spectrométrie d'absorption atomique permettent de préciser que ces amas correspondent à des structures cristallines

d'oxyhydroxyde d'aluminium (AlO(OH)) (et non pas à du phosphate d'aluminium qui est amorphe).

La localisation de cette histologie est particulière puisqu'elle n'a jamais été retrouvée dans un autre muscle que le muscle deltoïde.

Le diagnostic positif de MFM n'est posé que lors de la mise en évidence de ces lésions caractéristiques sur le site de vaccination. Cependant la lésion étant peu étendue et très localisée au point de l'injection, il se peut que la biopsie n'est pas incluse la zone concernée par la lésion. C'est pourquoi une biopsie négative ne permet pas d'éliminer le diagnostic de MFM.

3.2.2 Diagnostic différentiel [74, 75]

L'aspect particulier des lésions à la biopsie facilite la distinction entre MFM et les autres myopathies inflammatoires [74] :

- La dermatomyosite : elle est marquée par des dépôts du complexe d'attaque du complément (C5bC9) au niveau des capillaires endomysiaux, dépôts absents dans la MFM.
- La polymyosite et la myosite à inclusion : l'infiltrat inflammatoire est majoritairement constitué de lymphocytes T CD8+ ; les myocytes expriment des antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I ce qui n'est pas le cas dans la MFM sauf pour les myocytes au contact proche des fascia.
- Les myopathies nécrosantes : elles se distinguent notamment par la présence d'une nécrose musculaire et l'absence de globules blancs dans l'infiltrat inflammatoire d'ailleurs peu abondant.

La MFM est également à dissocier de la myopathie inflammatoire avec abondance de macrophages activés. Celle-ci se distingue de la MFM d'un point de vue histologique par une infiltration diffuse de macrophages non cohésifs, disposés en rubans, ne présentant aucune inclusion cristalline osmiophile, qui se retrouve dans tous les muscles et qui s'accompagne constamment de lésions des fibres musculaires. Des différences se retrouvent aussi sur les plans cliniques et étiologiques [75].

3.2.3 Les preuves de l'origine de l'aluminium des macrophages apportées par les expériences animales [58, 66]

La lésion caractéristique de la MFM a pu être reproduite à plusieurs reprises sur des modèles animaux et en premier lieu chez le rat.

L'expérience [58] a simplement consisté à injecter à des rats un vaccin contenant de l'hydroxyde d'aluminium comme adjuvant par voie intramusculaire. Le vaccin ici administré était le GenHevac[®], un vaccin immunisant contre l'hépatite B. L'équipe avait observé lors d'une précédente analyse sur 50 patients atteints de MFM, que 84% des malades avaient reçu comme dernier vaccin avant l'apparition des premiers symptômes, un vaccin contre l'hépatite B, ce qui a guidé le choix ici d'administrer ce type de vaccin. Les animaux ont ensuite été sacrifiés à 7, 14, 21 et 28 jours et la zone du muscle au niveau du site injection a été examinée au microscope optique et électronique. Au bout d'une et deux semaines, on observe autour du site d'injection des fibres musculaires endommagées entourées par de nombreux macrophages et lymphocytes. Ces lésions, qui s'observent chez tous les rats de l'étude, progressent, et au bout de la troisième et quatrième semaine on distingue une infiltration focale par de nombreux macrophages finement granulaires et PAS + sans dommage des fibres musculaires. Au microscope électronique on distingue la présence d'inclusions cristallines osmiophiles. On retrouve donc ici des lésions caractéristiques très semblables à celles observées sur les biopsies de sujets présentant une MFM. On notera cependant, qu'aucun groupe témoin ne sert de contrôle durant l'étude des lésions.

Néanmoins, une autre étude [76] menée également sur des rats mais cette fois avec un groupe témoin, arrive aux mêmes conclusions. L'objectif de l'étude n'était pas de prouver que l'aluminium des macrophages venait des adjuvants vaccinaux, mais de déterminer si la clairance de l'aluminium du muscle pouvait être influencée par un terrain génétique particulier (nous aborderons ce point dans une autre partie). Le vaccin utilisé était cette fois l'Engérix[®] B20, qui est également un vaccin contre l'hépatite B, choisi pour les mêmes raisons que celles expliquées précédemment. Les témoins ont quant à eux reçu une injection de NaCl 0,9%. Des lésions du type MFM ont été observées sur tous les rats à qui on avait injecté le vaccin et jusqu'à 2 mois après son administration ; ce délai pouvait aller jusqu'à 12 mois chez certains rats (détails cf 3.5.2).

Une expérimentation sur des singes cynomolgus (*Macaca fasciculata*) [66] est également arrivée à reproduire la lésion de MFM. On leur a administré par voie intramusculaire un vaccin diphtérie-tétanos adjuvé avec soit de l'hydroxyde d'aluminium soit du phosphate d'aluminium. Le lieu de l'injection a été marqué et l'analyse de fragments de muscle a été faite dans trois zones plus ou moins éloignées autour du point d'injection. L'analyse d'un fragment du muscle controlatéral a servi de témoin. Trois mois après l'injection, l'étude histologique des fragments de muscles quadriceps incluant le point d'injection montrait des lésions particulières se traduisant par une agrégation de macrophages concentrés essentiellement au niveau du site d'injection mais que l'on retrouvait également dans les fascia des faisceaux musculaires adjacents. Une infiltration lymphoïde était présente au niveau de ces agrégats de macrophages. La taille de la lésion inflammatoire était plus grande chez les singes ayant reçus le vaccin adjuvé à l'hydroxyde d'aluminium. Six mois après l'injection on ne distinguait plus qu'une légère infiltration lymphoïde sans macrophage chez les singes ayant reçu un vaccin adjuvé au phosphate d'aluminium alors que ceux ayant reçu de l'hydroxyde d'aluminium montraient des lésions composées de nombreux macrophages et qui persistaient jusqu'à un an après l'injection.

Une analyse de ces fragments de muscles par microsonde nucléaire a été entreprise afin de quantifier les taux d'aluminium présents dans ces prélèvements. Il en ressort que, trois mois après l'injection, la concentration en aluminium au point d'injection était quatre fois plus élevée chez les animaux ayant reçus l'hydroxyde d'aluminium que ceux traités par le phosphate d'aluminium. Au bout de six mois après l'injection, on trouvait encore, chez les animaux ayant reçu de l'hydroxyde d'aluminium, de fortes concentrations d'aluminium au point d'injection (baisse de 20% par rapport aux observations faites à 3 mois) alors que les animaux traités par le phosphate d'aluminium ne présentaient plus de lésions visibles et que leurs taux d'aluminium frôlaient les limites de détection.

Aucune lésion significative n'était retrouvée dans le muscle controlatéral. Ces lésions étaient encore une fois similaires à celles observées chez les patients MFM. La lésion serait donc une réaction habituelle à l'injection intramusculaire d'un vaccin adjuvé avec un composé aluminique que ce soit de l'hydroxyde ou du phosphate d'aluminium. Cependant, il semble que les lésions persistent plus longtemps lorsqu'il s'agit d'hydroxyde d'aluminium. Fait intéressant, durant l'étude aucun changement de comportement ni aucun signe de faiblesse musculaire n'a été observé chez les singes vaccinés ce qui n'est pas en faveur d'un lien de

cause à effet entre la présence de la lésion et une symptomatologie particulière. Une autre caractéristique importante de la lésion a également été bien mise en évidence, il s'agit de sa localisation. En effet, aucune modification n'a été observée dans les fragments de muscles situés à plus de 20 mm du site d'injection ce qui suggère la difficulté d'observer cette lésion si le site d'injection n'a pas été clairement identifié ou si les fragments examinés n'ont pas été pris à proximité du site d'injection.

Que ce soit chez le rat ou chez le singe, ces expériences montrent que l'injection d'un vaccin contenant des sels d'aluminium est capable d'induire, au niveau du site d'injection, une lésion présentant les mêmes caractéristiques histologiques que celles observées sur les biopsies musculaires des patients atteints de MFM. La présence d'aluminium persistant au sein de la lésion a également été confirmée. De plus, ces études révèlent qu'une seule injection d'un vaccin adjuvé avec des sels d'aluminium est suffisante pour induire des lésions de MFM chez l'animal.

Ces expériences confirment donc l'origine vaccinale de l'aluminium présent au sein des macrophages.

3.3 Les examens complémentaires [70, 72]

L'électromyogramme (EMG) présente chez certains malades (30-40% des cas) un tracé myogène.

La vitesse de sédimentation (VS) et le taux de créatine kinase (CPK) sont augmentés dans 40 à 50% des cas.

D'autres analyses biologiques révèlent la présence inconstante d'anomalies immunologiques, en particulier une augmentation du nombre de lymphocytes B circulants et la présence d'auto-anticorps anti-nucléaires et anti-phospholipides [77], [78].

On retrouve souvent une augmentation des taux circulants d'IL-6.

Les patients chez qui la biopsie musculaire du deltoïde a révélé la présence d'une MFM ont une fonction rénale normale et des concentrations plasmatiques d'aluminium également normales ce qui suggère une accumulation focale d'aluminium et non une intoxication systémique.

Une publication [79] fait cependant état du cas d'un patient présentant des taux urinaires d'aluminium beaucoup plus élevés que la normale ce qui laissait penser à une forte charge corporelle en aluminium (à noter que le taux sanguin d'aluminium chez ce patient n'a pas été mesuré). L'origine de cette charge corporelle n'est pas connue, l'étude rapporte juste une série de vaccination, contre l'hépatite A, l'hépatite B, la polio, le tétanos et la diphtérie, effectuée chez le patient sur une période d'un mois (tous les vaccins étaient adjuvés avec des sels d'aluminium). Il s'est tout de même écoulé 4 ans entre la série de vaccination et la détermination de son taux urinaire en aluminium. Néanmoins aucune précision n'est faite quand à une éventuelle intoxication chronique à l'aluminium due par exemple à une exposition professionnelle ou à un environnement particulier. Ce patient avait été diagnostiqué comme souffrant du SFC et d'une MFM. Dans le but de connaître plus précisément sa charge corporelle en aluminium, on a demandé au patient de boire un litre et demi par jour d'une eau minérale riche en silicium. Il semble en effet que le silicium soit « l'antagoniste naturel » de l'aluminium et qu'il permette de déstocker l'aluminium des tissus, réduisant ainsi la charge globale en aluminium. Ainsi, au bout de 5 jours les concentrations urinaires en aluminium du patient avaient considérablement augmenté (augmentation de plus de 20%). Le patient a continué de boire cette eau riche en silicium et au bout de 3 mois les analyses montraient une baisse significative de la sécrétion urinaire d'aluminium. Cependant, aucune amélioration de l'état du patient n'a été remarquée pendant cette durée.

La scintigraphie au citrate de gallium 67 est une méthode non invasive qui a été utilisée chez les patients atteints de MFM dès les années 2000 [80] pour essayer de différencier la MFM de la fibromyalgie et de la sarcoïdose. Le gallium 67 est un ion métallique qui se lie spécifiquement au récepteur de la transferrine exprimé à la surface des macrophages activés et de certains types de cellules lymphoïdes. La scintigraphie au gallium 67 est une technique très utilisée pour diagnostiquer et suivre l'évolution de foyers infectieux ou de processus inflammatoires. Chez tous les patients atteints de MFM, elle montre de discrètes anomalies se traduisant par une hyperfixation globale, bilatérale et homogène, prédominant dans les zones douloureuses et observée plus particulièrement dans les zones péri-articulaires des membres inférieurs. Ces aspects sont différents de ceux observés dans la fibromyalgie (aspect normal) et dans la sarcoïdose (lésions nodulaires). Néanmoins, cette technique ne

permet pas de déterminer la cause des douleurs musculo-squelettiques et le lien entre ces douleurs et l'hyperfixation de gallium est encore inexpliqué car les biopsies des muscles douloureux localisés à distance du site de vaccination ne montrent pas d'anomalie.

L'IRM musculo-squelettique est généralement non informative sauf en cas de myopathie diffuse associée.

L'IRM cérébrale l'est tout autant sauf en cas de sclérose en plaques associée.

En revanche, l'imagerie fonctionnelle (tomographie d'émission monophotonique) était anormale pour 89% des patients d'une étude [68] (imagerie pratiquée sur 18 patients) et révélait une hypoperfusion de l'hippocampe, de l'amygdale et du noyau caudé.

Ces examens complémentaires sont inconstamment anormaux et ne sont donc pas suffisamment pertinents pour les retenir en tant que critères pour l'élaboration d'une définition de cas.

3.4 Une symptomatologie rappelant le syndrome de fatigue chronique

Les manifestations cliniques retrouvées chez les porteurs de lésions de MFM sont globalement peu spécifiques et semblent se rapprocher d'un autre syndrome, le syndrome de fatigue chronique.

3.4.1 Symptomatologie présentée par les porteurs de lésions de MFM [81]

Les symptômes apparaissent à l'âge adulte, en moyenne à 43 ans, et touche autant les hommes que les femmes. Le délai d'apparition des symptômes après la dernière vaccination avec de l'hydroxyde d'aluminium varie de 1 mois à 6 ans.

L'analyse des cas présentés dans les études et des cas de pharmacovigilance [61, 62, 81] fait ressortir trois principaux symptômes : des douleurs arthro-myalgiques, une fatigue chronique et des troubles cognitifs.

Les myalgies touchent 55 à 96% des patients. Elles n'affectent pas spécifiquement le muscle deltoïdien, site de la lésion histologique. Elles sont d'intensité variable et débutent la plupart du temps de manière localisée aux membres inférieurs avant de s'étendre à tout le corps au cours du temps. Certains patients décrivent toutefois des douleurs généralisées et diffuses apparaissant d'emblée. Les douleurs peuvent aussi apparaître après un effort important et inhabituel. Une fois apparues, ces douleurs sont le plus souvent permanentes et persistent malgré le repos. Les sensations décrites par les patients pour qualifier ces myalgies sont à types de crampe, de contracture, de courbature et de muscle enraidit. Une diminution de la force musculaire peut aussi se manifester [82].

Les arthralgies sont moins fréquemment rapportées. Elles concernent 14 à 84% des patients (en fonction des séries de patients). Elles intéressent les grosses articulations périphériques mais aussi les articulations des mains et des pieds. Des douleurs de la colonne vertébrale sont également rapportées.

La localisation des douleurs musculaires et articulaires peut varier d'un jour à l'autre ou au cours d'une même journée mais elles sont généralement présentes dès le réveil, exacerbées par l'exercice et les activités quotidiennes, et non soulagées par le repos, entraînant une invalidité marquée.

La plupart des patients porteurs de lésions de MFM ne répondent pas aux critères de la fibromyalgie définie par l'*American College of Rheumatology* (1990) [83].

En fonction des études, la fatigue concerne 36 à 100% des patients. Elle est souvent importante et peut devenir une cause d'arrêt d'activité professionnelle et d'état dépressif. Dans certains cas la fatigue peut précéder les douleurs arthro-myalgiques de quelques mois.

De nombreux patients rapportent également des troubles cognitifs se traduisant par des problèmes de mémoire et des troubles du sommeil (réveils nocturnes multiples). La prévalence des plaintes cognitives varie de 20 à 68%. Les troubles cognitifs ont longtemps été passés sous silence car considérés comme non spécifiques, la douleur, la fatigue chronique et la dépression étant connus pour impacter les performances cognitives, notamment l'attention et la concentration. Il sont maintenant mieux caractérisés [67, 68] et s'avèrent différents de ceux qui peuvent être provoqués par ces facteurs. Les évaluations neuropsychologiques de 25 patients atteints de MFM [67] montrent une altération de la mémoire visuelle (à court terme et différée) et de la mémoire verbale (à court terme), de la

mémoire de travail, de la flexibilité, de l'attention et de l'inhibition, comparativement aux patients contrôles pour des niveaux équivalents de douleur, de fatigue et de dépression. Les malades affichent également de mauvais résultats au test de la répétition de phrases à l'oreille gauche ce qui pourrait traduire une déconnexion inter-hémisphérique autrement dit une mauvaise connexion et un problème dans la transmission de l'information entre les aires du cerveau. Les IRM conventionnelles pratiquées chez ces patients n'ont cependant pas fait apparaître de changements structurels du cerveau qui pourraient être associés à ces observations.

Les altérations cognitives n'ont pas été corrélées avec le niveau de fatigue, le niveau de dépression ou le niveau de douleur. Il semble donc que les troubles cognitifs observés chez les patients soient indépendants de ces facteurs, et qu'ils puissent « refléter une implication cérébrale organique sous-jacente, inflammatoire ou toxique » [67].

On note parfois la présence supplémentaire d'autres symptômes comme une toux ou une dyspnée, des céphalées, des troubles digestifs ou urinaires et une perte de poids.

Hormis les myalgies et la fatigue chronique, les symptômes présentés par les patients sont inconstants et insuffisamment caractéristiques pour poser à eux seul le diagnostic de MFM. Il faut de plus les différencier d'une dépression et de la fibromyalgie qui présentent des symptômes proches.

En plus de ces symptômes, les équipes de recherche de l'Université de Créteil rapportent que 15 à 20% des patients présentent une maladie auto-immune caractérisée au moment du diagnostic de MFM. Ils retrouvent des pathologies comme la sclérose en plaques [84], la myosite à inclusions [85], la dermatomyosite [86], la tyroïdite d'Hashimoto, la polyarthrite rhumatoïde et le syndrome de Sjögren [87, 88].

3.4.2 Lien avec le syndrome de fatigue chronique (SFC) [63]

Les principaux symptômes présentés par les patients ayant une MFM ont fait considérer l'existence d'un lien entre le SFC et la MFM. En effet le SFC se caractérise cliniquement par la présence d'une fatigue chronique associée à d'autres symptômes tels des troubles de la

mémoire et du sommeil, des myalgies, une polyarthralgie, des céphalées, des malaises après un effort physique... Dans une étude réalisée sur 30 patients présentant une MFM prouvée par biopsie, 53% des patients répondaient aux critères du SFC définis par le *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) [63]. Pour Authier et Gherardi, la MFM pourrait être considérée « comme une cause possible de SFC ou comme un nouveau critère d'exclusion pour le diagnostic de SFC idiopathique » [70]. Les troubles cognitifs observés chez les patients atteints de MFM évoquent également ceux exprimés par les patients atteints de SFC ce qui laisse également les chercheurs suggérer que « les lésions histologiques de la MFM sont un marqueur d'une sous-catégorie particulière de SFC » [67]. L'aluminium a, de plus, déjà été relié au SFC dans une étude où les concentrations sériques en aluminium se sont révélées significativement plus élevées chez les patients atteints de SFC que chez les témoins [89].

La pathogénèse du SFC reste encore inconnue. Plusieurs agents infectieux ont été suspectés (virus d'Epstein-Barr (EBV) et virus Herpès Humain de type 6 (HHV-6) mais aussi bactéries et mycoplasmes) notamment à cause du rapprochement fait entre le symptôme majeur du SFC, la fatigue chronique, et les états de fatigue post-infectieux que l'on connaît bien. Mais aucune étude n'a pu mettre en cause de façon définitive l'un de ces agents infectieux dans l'apparition du SFC. Des facteurs psychologiques, environnementaux, et des déséquilibres hormonaux ont également été suspectés. Une stimulation immunitaire chronique de mécanisme inconnu fait également partie du lot des hypothèses du fait de la présence d'anomalies immunologiques retrouvées chez les patients comme celle d'un déséquilibre du profil des cytokines, l'activation de cytokines pro-inflammatoires dont l'IL-6 [90-92] et la production d'auto-anticorps [93]. Le décalage des cytokines vers un profil Th2 pro-inflammatoire a été observé chez des patients atteints de SFC, et, du fait de la capacité qu'ont les vaccins adjuvés à l'aluminium à induire une réponse dominante de type Th2, ils constituent une étiologie envisageable du SFC [94].

3.5 Hypothèses pathogéniques

Si les études et les modèles animaux ont permis de prouver l'origine de l'aluminium présent dans les macrophages, elles tentent aujourd'hui d'établir un lien entre les symptômes présentés par les porteurs de lésions de MFM et l'utilisation de vaccins contenant des

dérivés d'aluminium. De plus la rareté de survenue de la MFM laisse planer l'existence d'une susceptibilité individuelle que les chercheurs tentent de caractériser.

3.5.1 Persistance prolongée d'une stimulation immunitaire de faible intensité [78]

On l'a vu, les symptômes affectant les personnes atteintes de lésions de MFM se rapprochent de ceux observés dans le SFC. Du fait de ces similarités, les chercheurs ont tenté de transposer les hypothèses pathogéniques soulevées pour le SFC au « syndrome » de la MFM. Une stimulation du système immunitaire au long cours fait donc partie des hypothèses pathogéniques envisagées pour expliquer les symptômes cliniques des patients présentant des lésions de MFM. L'hydroxyde d'aluminium qui persiste dans les tissus musculaires et lymphoïdes à l'intérieur de cellules immunocompétentes pourrait en être la cause. Cette hypothèse est appuyée par la mise en évidence, chez des patients présentant des lésions de MFM, de concentrations plasmatiques d'IL-6 plus élevées que la normale comme dans le cas du syndrome de fatigue chronique, et la présence, chez certains patients, d'auto-anticorps anti-nucléaires et anti-phospholipides [78]. Ces marqueurs immunologiques pourraient témoigner d'une stimulation à bas bruit du système immunitaire.

3.5.2 L'existence de facteurs de prédisposition individuels [76, 95]

Dès 1999, au regard du faible nombre de cas signalés par rapport au nombre de sujets vaccinés, l'OMS [60] émet l'hypothèse de l'existence d'individus qui auraient en commun une capacité diminuée à éliminer l'aluminium de leurs muscles. Ces sujets, mauvais éliminateurs de l'aluminium seraient donc prédisposés à développer une lésion MFM.

Dès lors, pourquoi existe-t-il des sujets « bons » ou « mauvais » éliminateurs ? Ainsi émerge l'idée que le terrain génétique pourrait influencer la persistance à long terme des lésions.

Une étude expérimentale [76] a été menée chez des rats afin de déterminer si la clairance de l'aluminium du muscle pouvait être influencée par un terrain génétique particulier. Les chercheurs ont utilisé deux types d'animaux : des rats Sprague-Dawley dont l'immunité Th1/Th2 est équilibrée et des rats Lewis qui ont une immunité orientée Th1. Les résultats ne

montrent pas de différence significative dans la réduction de la surface des lésions de MFM avec le temps entre les deux types de rats. Cependant, l'étude montre que les rats Sprague-Dawley présentent des lésions de volume beaucoup plus important que les rats Lewis. Le nombre de lymphocytes observés au sein des lésions augmente progressivement sur les 12 mois de l'étude mais, au bout d'un an, l'augmentation du nombre de ces lymphocytes est nettement moins importante pour les rats Sprague-Dawley que pour les rats Lewis dont le nombre augmente brutalement à partir du 6^{ème} mois après l'injection du vaccin contenant de l'aluminium. L'hypothèse émerge donc que des facteurs génétiques impliquant les réponses immunitaires pourraient conditionner la persistance des lésions de MFM induites par les vaccins.

Les mécanismes impliqués dans la clairance des lésions de MFM sont à l'heure actuelle inconnus et font l'objet de recherches plus approfondies.

La découverte de lésions de MFM chez deux sœurs jumelles [96] conforte l'hypothèse que des facteurs génétiques pourraient influencer l'apparition de la MFM. Ces deux sœurs ont développé des douleurs arthro-myalgiques entre 6 et 7 mois après une immunisation contre l'hépatite B avec un vaccin contenant de l'hydroxyde d'aluminium. La nature du facteur génétique prédisposant n'est pas connue mais leur type HLA (Human Leucocyte Antigen, molécules présentes à la surface des leucocytes qui permettent l'identification par le système immunitaire), HLA-DRB1*01, pourrait représenter l'arrière-plan génétique responsable d'une susceptibilité accrue à la maladie ou à une baisse de la capacité des macrophages à éliminer l'aluminium.

L'apparition de la maladie chez une mère et son fils [97], confirmée par la présence des lésions caractéristiques, pourrait refléter une génétique commune prédisposante, terrain qui expliquerait donc la rareté de la myofasciite à macrophages (estimée à un peu plus de 1000 cas en France sur des millions de personnes vaccinées). Mais l'influence des facteurs environnementaux, bien que non identifiés, ne peut pas être exclue étant donné la découverte concomitante de la maladie dans ce cas familial.

Sur un échantillon de 10 patients avec une MFM, 66% d'entre eux avait un typage HLA-DRB1*01 ce qui est une proportion élevée comparé à la fréquence de 17% retrouvée dans le

groupe contrôle des personnes non atteintes [95]. Les auteurs suggèrent que le typage HLA pourrait prédire un risque accru de développer une MFM et pourrait donc être utilisé pour mieux évaluer le rapport bénéfice-risque des vaccinations. Le gène HLA-DRB1*01 est déjà connu pour être un gène de susceptibilité vis-à-vis de la polyarthrite rhumatoïde et de la pseudo-polyarthrite rhizomélique.

3.5.3 Migration de l'aluminium dans le cerveau : rôle de la chimiokine CCL2 [69, 98]

Les preuves de la pénétration de l'aluminium vaccinal dans le cerveau s'accumulent.

Phosphate et hydroxyde d'aluminium se distribuent dans de nombreux organes dont le cerveau (en faible quantité) comme l'ont montré des expériences *in vivo* chez des lapins après marquage à l'²⁶Al [28].

Afin de mieux rendre compte du parcours de l'aluminium après injection intramusculaire, des chercheurs ont étudié la biodistribution de billes de latex fluorescentes recouvertes d'une couche d'hydroxyde d'aluminium après les avoir mélangées à un vaccin puis injectées dans le muscle de rongeurs [69]. Les résultats font ressortir une migration des billes fluorescentes vers les ganglions lymphatiques drainant le site d'injection. Elles quittent ensuite le système lymphatique et on les retrouve associées aux cellules phagocytaires dans le sang puis dans des organes distants comme la rate et le foie. Mais les résultats préoccupants de l'étude concerne l'accumulation des macrophages chargés de billes fluorescentes observée dans la substance grise du cerveau et dont la détection est encore possible un an après l'injection. Durant les 6 mois de l'étude, les matériaux fluorescents se sont accumulés dans différentes parties du système nerveux (en faible concentration tout de même). De plus cette accumulation est augmentée lorsque l'injection a lieu chez des souris ayant une anomalie de perméabilité de la barrière hématoencéphalique. En revanche, il n'y a pas d'accumulation lorsqu'on réalise l'exérèse des ganglions de drainage ni lors d'une injection IV. Un mécanisme du type « cheval de Troie » est proposé pour expliquer la pénétration de l'aluminium dans le cerveau. Les monocytes chargés d'aluminium franchiraient la barrière hémato-encéphalique et atteindraient le système nerveux.

L'étude utilise également des animaux ayant gagné ou perdu les fonctions de la protéine CCL2. CCL2 (aussi appelé MCP-1 pour *monocyte chemoattractant protein-1*) est une chimiokine qui exerce un pouvoir attractif sur certaines cellules immunitaires dont les monocytes. CCL2 est sécrétée par les lymphocytes T, les monocytes, les cellules endothéliales et les fibroblastes lorsqu'un problème infectieux ou une lésion tissulaire est détecté, et attirent par un gradient de concentration les monocytes sensibles porteurs du récepteur particulier CCR2. Ainsi, ces monocytes migrent des zones où la concentration en chimiokine CCL2 est faible vers les zones plus riches, rejoignant ainsi le foyer infectieux ou le site de lésion tissulaire. Une fois sur site, ces monocytes se différencient en macrophages doués d'une activité phagocytaire, ou en cellules dendritiques participant ainsi à la présentation des antigènes aux lymphocytes au niveau des organes lymphoïdes secondaires et initiant la réponse immunitaire adaptative.

Les animaux ayant gagné en fonction CCL2 affichent une augmentation importante de l'accumulation des billes fluorescentes dans leur tissu cérébral comparé aux animaux déficients en protéine CCL2, suggérant donc un mécanisme de passage cérébral dépendant de CCL2. Dans des conditions normales, le pourcentage de billes fluorescentes injectées qui est retrouvé dans le tissu cérébral est faible (de l'ordre de 1 cellule sur 10^7), ce qui, selon les auteurs, est cohérent avec l'excellente tolérance que montre la majorité des individus vis-à-vis de l'injection de faibles doses d'aluminium, malgré son potentiel neurotoxique. Les auteurs suggèrent un risque dès lors qu'on multiplie le nombre d'injections (d'un adjuvant peu biodégradable), qu'on l'administre à des individus dont la barrière hémato-encéphalique est altérée ou immature, ou à des individus affichant une production élevée de protéine CCL2.

Cette étude a fait l'objet de nombreuses critiques. La nature du matériau utilisé pour représenter les particules d'aluminium est particulièrement contesté, l'AFSSAPS le considérant « non représentatif de l'aluminium utilisé comme adjuvant vaccinal » [15, p. 50].

Dernièrement, Authier et Gherardi ont montré, qu'en moyenne, les patients atteints de MFM ont des taux de cytokine CCL2 augmentés comparativement à des sujets sains. Par ailleurs, ces patients atteints de MFM affichent des taux normaux pour les autres cytokines. L'effet inverse s'observe chez des patients atteints de pathologies inflammatoires : leurs taux de protéines CCL2 sont normaux tandis que les autres cytokines sont plus élevées [99].

Or, comme on vient de le voir, la cytokine CCL2 serait impliquée dans la pénétration des nanomatériaux dans le cerveau [69], ce qui pourrait permettre de faire un lien entre la MFM et les symptômes cliniques.

L'aluminium associé aux vaccins pourrait donc s'accumuler dans le système nerveux et cette accumulation serait favorisée par une fragilité de la barrière hémato-encéphalique ou encore par une prédisposition génétique à produire plus de protéine CCL2. Une fois qu'il a pénétré le tissu cérébral, il peut y rester très longtemps. Sa demi-vie est estimée à environ 150 jours [100]. Or on connaît déjà la neurotoxicité de l'aluminium qui se révèle lors d'intoxications aiguës. Il est capable d'affecter les performances cognitives, d'induire des troubles psychomoteurs, d'altérer les neurotransmissions et l'activité synaptique. Il peut également endommager la barrière hémato-encéphalique comme l'ont montré des études animales. L'aluminium injecté à de jeunes rats compromet l'intégrité et modifie la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique, si bien que des macromolécules comme l'albumine, normalement incapable de la traverser, réussissent à la franchir et se retrouve dans le système nerveux central [101]. L'aluminium modifie l'ultrastructure de la barrière hémato-encéphalique en induisant des dommages au niveau des jonctions serrées qui relient les cellules endothéliales tapissant les capillaires cérébraux. L'expression de deux protéines clés constitutives de la barrière hémato-encéphalique, l'actine-F et l'occludine, est clairement diminuée chez les rats ayant reçus des injections d'aluminium.

Dès lors, il est légitime de se demander si les atteintes avérées du système nerveux, que l'on sait causées par l'aluminium en situation d'intoxication aiguë ou d'expositions importantes et prolongées, peuvent se reproduire en situation d'accumulation chronique par le biais de l'administration répétée de vaccins contenant des sels d'aluminium. Les recherches actuelles tentent donc d'établir un lien entre les symptômes notamment d'ordres neurologiques présentés par les porteurs de lésions de MFM et l'administration de vaccins adjuvés avec des dérivés d'aluminium.

3.6 Traitements envisagés

Le diagnostic des premiers patients chez qui la biopsie a révélé des macrophages contenant des inclusions réagissant positivement à la coloration à l'acide périodique de Schiff, laissait supposer une maladie de Whipple. Il s'agit d'une pathologie infectieuse chronique due à la bactérie *Tropheryma whipplei* qui envahit tissus et organes. D'un point de vue histologique, la maladie de Whipple et la MFM ont en commun de présenter des macrophages contenant des granulations PAS+. De plus, des myopathies ont déjà été décrites au cours de la maladie de Whipple. Dans cette maladie, les macrophages sont essentiellement présents dans la muqueuse duodénale mais ils peuvent également se retrouver dans d'autres tissus. Ils n'ont cependant jamais été retrouvés au niveau de la localisation de la lésion de la MFM. Dans l'hypothèse initiale d'une maladie de Whipple, les premiers cas de MFM ont donc été traités par des antibiotiques, ou des corticoïdes ou l'association des deux. Sur 10 patients, 8 ont été améliorés et 2 autres stabilisés [59].

Dans une étude concernant 22 patients [71], 18 patients ont été traités dans le cadre de leur MFM (une maladie de Whipple ayant été éliminée par la recherche de *T. whipplei* par PCR) :

- 8 ont reçu une corticothérapie seule à des doses variant de 0,3 à 1 mg/kg/j : 4 patients ont montré une réponse complète et les 4 autres une réponse partielle ;
- 7 ont reçu une association corticothérapie et antibiothérapie (cotrimoxazole, chloramphénicol, pyrazinamide, éthambutol, isoniazide, rifampicine, minocycline, azythromycine, en monothérapie ou successivement) et ont présenté une nette amélioration de leurs symptômes ;
- 3 ont reçu uniquement une antibiothérapie (macrolide et fluoroquinolone) et 2 patients ont vu leur symptomatologie améliorée au bout de 3 mois.

Concernant les 4 patients non traités : les symptômes ont persisté mais ce sont stabilisés pour un et se sont aggravés progressivement pour les 3 autres.

Des anti-inflammatoires non stéroïdiens ont été testés chez 8 patients mais ce sont révélés inefficaces.

Les premières publications sur le sujet montrent donc que les corticoïdes associés ou non à des antibiotiques donnent des résultats intéressants. Cependant il n'est plus fait mention de ces traitements dans les dernières publications.

La prise en charge actuelle des patients se concentre sur le traitement des douleurs, des myalgies et des arthralgies. Ainsi, pour diminuer la douleur, on associe thérapeutiques médicamenteuses (antalgiques de palier I et II essentiellement) et non médicamenteuses (rééducation, kinésithérapie, thérapie cognitivo-comportementale). Il ne faut également pas oublier de traiter spécifiquement l'anxiété et la dépression qui peuvent s'installer du fait de l'évolution de la maladie, de l'intensité et de la chronicisation des douleurs et de la limitation de mobilité pouvant en découler [64].

3.7 Données de pharmacovigilance

La plupart des données chiffrées relatives aux patients atteints de MFM sont comptabilisées par le système de pharmacovigilance français qui, depuis la découverte de la maladie, a initié plusieurs enquêtes épidémiologiques afin de faire un état des lieux des cas de MFM.

3.7.1 Données générales françaises [15]

Du point de vue histologique, il est impossible de connaître le nombre de personnes présentant une lésion de type MFM. En effet, il se peut que des personnes asymptomatiques soient porteuses d'une lésion MFM cachée. Les raisons éthiques empêchant de réaliser des biopsies musculaires chez des sujets asymptomatiques on ne peut pas déterminer directement l'effectif de cette population de « porteurs sains ». Il est évident qu'une procédure invasive ne peut convenir à l'enquête de routine de tous les patients atteints de douleurs musculo-squelettiques. Afin d'aider à la prise de décision dans la pratique courante, une étude rétrospective [83] a réalisé des biopsies de muscle deltoïde chez 130 patients souffrant de douleurs musculo-squelettiques diffuses et qui avaient tous des antécédents de vaccination avec des vaccins contenant des dérivés d'aluminium. Il s'avère que la plupart des personnes immunisées avec ce type de vaccin ne présente pas de lésion de MFM. Chaque personne vaccinée n'a donc pas systématiquement une lésion de MFM qui

persiste au long cours. Il y a tout de même une forte prévalence (32%) de cas de MFM parmi les patients ayant développé des douleurs arthro-myalgiques après une vaccination. La réalisation de biopsies du deltoïde n'étant pas, à l'heure actuelle, systématique chez les patients arthro-myalgiques, et la possibilité que la biopsie, quand elle est réalisée, n'est pas incluse le site d'injection, on peut raisonnablement supposer qu'il existe une sous-évaluation du nombre de cas de MFM en France. Cette sous-évaluation doit être beaucoup plus importante dans les autres pays qui, eux, ne réalise jamais la biopsie dans le muscle deltoïde, estimant que ce muscle est sujet à de trop nombreux traumatismes puisque c'est le lieu de multiples injections. Dans la mesure où la maladie n'est pas connue des médecins, elle n'est ni repérée ni diagnostiquée ce qui contribue également à la sous-estimation du nombre de cas selon les associations de patients.

Le nombre de patients atteints de MFM correspondant à la partie visible de l'iceberg est évalué par les signalements recueillis par la pharmacovigilance et les enquêtes épidémiologiques. Comme pour tout médicament, les vaccins font l'objet, depuis l'instant de leur commercialisation, d'une surveillance continue par le système de pharmacovigilance. Celle-ci recueille les notifications d'effets indésirables graves et/ou inattendus émanant des professionnels de santé et des patients et résultant de l'utilisation des médicaments à usage humain. Dans cet objectif elle peut être amenée à réaliser des enquêtes épidémiologiques pour analyser les risques.

Une première enquête épidémiologique descriptive a été menée par l'InVS entre 1998 et 2000 [61] et a rapporté 93 cas identifiés par une biopsie. Dans le prolongement de cette étude, l'AFSSAPS a demandé une étude de type cas-témoin qui était conduite par le CHU de Bordeaux [62]. Débutée en février 2002 elle a été conduite sur des sujets ayant fait l'objet d'une biopsie musculaire avant février 1999 afin de minimiser un possible biais de sélection lié à la notoriété de l'association vaccination et MFM.

Depuis 2002, le CRPV de Nancy est chargé de colliger les observations et les diagnostics histopathologiques de MFM confirmés par une biopsie positive.

Au 31 décembre 2013, l'ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé, anciennement Afssaps) donne les chiffres suivants [102]: 538

observations dont 463 retenues comme MFM grâce à la réalisation d'une biopsie. Les femmes sont plus concernées que les hommes et représentent 2/3 des cas.

Si on s'intéresse aux antécédents vaccinaux des patients on note que plus de 69% d'entre eux ont été vaccinés contre le virus de l'hépatite B. Cette forte proportion pouvant s'expliquer par la campagne nationale de vaccination contre le virus de l'hépatite B menée dans les années 90. Plus de 90% des patients ont reçu au moins une dose de vaccin aluminique dans les dix années précédant la réalisation de la biopsie. Ce chiffre peut être porté à 100% en fonction de la cohorte de patients qui est considérée. L'âge des patients lors de la dernière vaccination (contenant de l'aluminium) précédant les premiers signes cliniques est en moyenne de 40 ans. La dernière vaccination aluminique avant la biopsie musculaire peut dater de 3 mois à 8 ans avant celle-ci avec un délai moyen variant de 24 à 59 mois. On considère actuellement que des lésions de MFM sont pathologiques lorsqu'elles sont découvertes au moins 18 mois après la dernière vaccination contenant de l'aluminium. Les symptômes sont rapportés par les patients en moyenne un an et demi après la dernière vaccination.

Après analyse de ces données épidémiologiques, le HCSP (Haut Conseil de la Santé Publique) tire deux conclusions [15] : l'aluminium des vaccins peut persister plusieurs années dans le muscle sous la forme d'une lésion histologique localisée mais « il n'existe pas d'arguments épidémiologiques probants pour étayer la relation entre la vaccination et l'existence d'une maladie en relation avec la lésion ».

3.7.2 La myofasciite à macrophages à l'étranger [15]

Les détracteurs de la thèse d'un lien causal entre l'administration de vaccins adjuvés à l'aluminium et l'apparition d'une maladie systémique s'appuient notamment sur le peu de cas rapportés par la littérature internationale. Une dizaine d'observations (tableau 1) de MFM chez des adultes ont été publiées depuis la publication des cas français par l'équipe de Gherardi.

Pays, année	Circonstances de la découverte du cas	Conclusion des auteurs
Etats-Unis, 2002 [103]	Un patient dont la biopsie musculaire montre des lésions de MFM et qui présente un épaississement des valves aortiques et mitrales (observations non rapportées par les équipes françaises) ainsi que des anomalies de la substance blanche.	Un diagnostic d'histiocytose (probable) a été retenu pour ce patient.
Etats-Unis, 2008 [104]	Un patient de 35 ans investigué pour fatigue chronique, myalgies diffuses, arthralgies et diminution de la force musculaire dans un contexte de pathologies auto-immunes multiples (diabète de type I, maladie cœliaque, vitiligo). Découverte de lésions de MFM 5 ans après l'administration d'un vaccin contre l'anthrax.	Les multiples maladies auto-immunes du patient pourraient être à l'origine de la fatigue extrême.
Corée du Sud, 2005 [105]	Une femme de 59 ans investiguée pour de sévères douleurs aux muscles de la cuisse droite. La biopsie musculaire montre des lésions de MFM. La patiente n'a pas reçu de vaccins contenant des adjuvants aluminiques depuis 40 ans.	Cas particulier d'une MFM se traduisant par une sévère douleur unilatérale et qui ne peut être reliée à une vaccination avec des adjuvants aluminiques. Les auteurs suggèrent de rechercher d'autres explications que la vaccination.
Allemagne, 2003 [106]	Un homme de 67 ans présentant des douleurs musculaires progressant lentement et une faiblesse musculaire généralisée. La biopsie musculaire du deltoïde met en évidence des lésions de MFM mais sans que l'analyse de l'ultra-structure n'est pu mettre en évidence la présence des inclusions d'aluminium. L'analyse sérologique est compatible avec une vaccination anti-tétanique.	Evolution favorable sous traitement associant corticoïdes et azathioprine pendant 2 ans.
Allemagne, 2003 [107]	Une femme médecin généraliste de 62 ans présentant une atrophie et une faiblesse musculaires évoluant depuis 10 ans, sans antécédents familiaux de maladie musculaire. Une biopsie montre des lésions de MFM dans le deltoïde gauche, muscle qui avait reçu 4 semaines avant des injections de vaccins anti-hépatite A et B.	Aucun diagnostic certain n'a pu être établi pour cette patiente mais les auteurs estiment que les lésions de MFM mises en évidence sont sans relation avec la symptomatologie.
Australie, 2005 [108]	Un homme de 32 ans ne présentant aucun symptôme musculaire mais chez qui on réalise une biopsie musculaire en raison d'une élévation des CPK observée lors d'investigations pour un reflux gastro-oesophagien. La biopsie révèle des signes de MFM. Le patient a été vacciné 3 ans avant contre la polio et l'hépatite A et a reçu un rappel anti-hépatite A 2 ans avant la biopsie.	La découverte des lésions de MFM chez ce patient est considérée comme étant une coïncidence, d'autant plus que le patient est asymptomatique. La cause de l'élévation des CPK reste inconnue.
Irlande, 2006 [109]	Une femme de 50 ans présentant une élévation des CPK ainsi que des douleurs dans la partie supérieure du corps, particulièrement du côté gauche. Une biopsie du deltoïde gauche révèle des lésions de MFM. Ses dernières vaccinations remontent à 10 ans avant l'apparition des signes cliniques. Du fait de nombreux voyages, elle a reçu de nombreuses vaccinations durant les 30 dernières années.	Ce cas de MFM est considéré inhabituel de par l'intervalle prolongé entre la vaccination et l'apparition des symptômes et la présentation unilatérale de ces derniers. A noter qu'une corticothérapie a permis d'améliorer les signes cliniques et de faire baisser les CPK. Mais l'arrêt du traitement a été suivi d'une réapparition des symptômes.
Portugal, 2011 [110]	Une femme de 47 ans investiguée pour des arthralgies diffuses, une lombalgie et une asthénie qui durent depuis plus de 4 ans. Une biopsie musculaire a été pratiquée et a révélé une MFM.	Aucun lien entre une vaccination et les symptômes de la patiente n'est retenu bien qu'elle est reçue un vaccin anti-coquelucheux et anti-tétanique 3 ans auparavant.
Royaume-Uni, 2001 [111]	Un homme de 32 ans souffrant de douleurs progressives et de raideurs dans les cuisses et les épaules déclenchées par l'activité musculaire. La biopsie du deltoïde révèle des lésions de MFM.	Les antécédents vaccinaux du patient ne sont pas connus. Il s'agit uniquement d'une présentation du cas qui est le premier décrit au Royaume-Uni.
Royaume-Uni, 2012 [73]	Une femme de 54 ans qui présente depuis 6 mois une fatigue généralisée et une faiblesse musculaire. D'autres symptômes sont également rapportés comme des arthralgies, des difficultés de concentration et des troubles de la mémoire. Sa dernière vaccination remonte à 11 ans et concernait l'hépatite B. Une biopsie du deltoïde gauche a montré des lésions de MFM.	Le cas est inhabituel en raison de la très longue durée qui s'est écoulée entre la vaccination et l'apparition des symptômes, c'est pourquoi les auteurs ne peuvent retenir un lien de causalité entre la persistance d'aluminium au sein des macrophages et les signes cliniques.

Tableau 1 : détails des observations de MFM concernant des adultes rapportés par la littérature étrangère

Le faible nombre de cas étrangers de MFM relatés s'explique notamment par les recommandations sur la réalisation des biopsies faites dans les autres pays que la France qui préconisent en général de ne pas biopsier les muscles qui sont les lieux d'injection des vaccins.

Globalement, les équipes étrangères n'associent pas les symptômes présentés par les patients à l'utilisation de vaccins aluminiques ni à la lésion de MFM, ce qui laisse certains penser que la lésion histologique de MFM n'est qu'une coïncidence. Selon les chercheurs français, le plus grand nombre de cas sur notre territoire s'expliquerait par la forte proportion d'adultes immunisés contre l'hépatite B en France par rapport aux autres pays, phénomène en parti expliqué par la campagne de vaccination menée dans les années 1990 en France et qui utilisait des vaccins contenant de l'hydroxyde d'aluminium.

En définitive, les autorités françaises considèrent « qu'il n'existe pas actuellement de publication convaincante concernant la MFM dans la littérature internationale » [15].

3.7.3 Peu d'enfants touchés [15]

En raison de la neurotoxicité connue de l'aluminium, l'administration de vaccins adjuvés avec des sels d'aluminium aux nourrissons et aux jeunes enfants préoccupent une communauté d'experts. Cette population est d'autant plus susceptible d'être sensible aux effets neurotoxiques de l'aluminium que le développement de leur cerveau n'est pas achevé. La barrière hémato-encéphalique est immature et est donc davantage perméable aux substances toxiques. De plus, leurs capacités d'élimination des substances toxiques sont incomplètes en raison de l'immaturité de leur système rénal.

Or les nourrissons et les enfants reçoivent de nombreux vaccins durant les premières années de vie, pour la plupart adjuvés avec des sels d'aluminium. Au regard du calendrier vaccinal français 2015 (cf annexe 1), les enfants auront reçus à l'âge d'1 an 7 doses de vaccins contenant de l'aluminium : trois doses d'un hexavalent immunisant contre la diphtérie, le tétanos, la poliomyélite, la coqueluche, l'*Haemophilus influenzae b* et l'hépatite B coadministrées pour chacune avec une dose d'un vaccin immunisant contre le

pneumocoque, et une dose d'un vaccin immunisant contre le méningocoque C. A un an, un enfant pourra avoir reçu en fonction des spécialités vaccinales choisies jusqu'à 3,335 mg d'aluminium (cf annexe 2). Au regard de leur masse corporelle les nourrissons et les enfants sont donc fortement exposés aux adjuvants aluminiques.

Pourtant, bien que les enfants semblent la catégorie de population la plus exposée à l'aluminium vaccinal, très peu d'observations de MFM chez des enfants sont rapportées.

En France, il y a peu d'observations d'enfants porteurs de lésions de MFM. Un seul cas a été publié en détail [97]. Il s'agit d'un jeune garçon de 11 ans qui présentait des myalgies chroniques et une asthénie depuis plus de 2 ans. La mère étant elle-même porteuse d'une lésion de MFM, une biopsie a été pratiquée chez l'enfant et a montré ces mêmes lésions. Les symptômes de l'enfant sont survenus entre 18 et 24 mois après une vaccination contre l'hépatite B.

La plupart des cas pédiatriques de MFM rapportés dans la littérature étrangère sont considérés comme des découvertes fortuites et les lésions histologiques ne sont pas considérées par les auteurs comme étant liées aux signes cliniques. On retrouve 33 cas : 8 cas d'Arabie Saoudite [112], 3 cas du Brésil [113], 6 cas des Etats-Unis[114], [115], 7 cas d'Espagne [116], 1 cas d'Italie [117], 6 cas d'Israël [118] et 2 cas d'Allemagne [119] . Le plus jeune cas rapporté était âgé de 5 mois, il présentait une hypotonie musculaire qui a motivé la réalisation d'une biopsie. Tous les enfants présentaient des antécédents de vaccination avec des vaccins contenant de l'aluminium. Les symptômes présentés par les enfants sont des hypotonies musculaires, des myotonies, des retards de développement ou des retards moteurs. Les manifestations cliniques amenant à la réalisation d'une biopsie du quadriceps sont cependant très diverses et bien moins homogènes que celles présentés par les adultes. Certains auteurs considèrent donc que cette diversité de symptômes n'est pas en faveur d'une corrélation entre les lésions histologiques et les troubles présentés et retiennent l'idée que les lésions de MFM constituent une empreinte localisée d'une vaccination comportant un adjuvant aluminique. Il pourrait aussi s'agir d'un phénomène localisé qui pourrait émerger dans un contexte particulier de maladies neurologiques et/ou génétique.

4. Discussion : inquiétudes sur la vaccination et l'innocuité des adjuvants aluminiques

La MFM vient aujourd'hui s'ajouter aux controverses et inquiétudes autour de la vaccination. Au cœur du débat se trouve l'utilisation des adjuvants aluminiques.

4.1 La vaccination, un enjeu majeur de santé publique malmené par plusieurs controverses

4.1.1 Importance de la vaccination [120]

La vaccination est l'une des plus importantes avancées dans le domaine de la santé publique. La vaccination systématique des populations a permis de sauver des millions de vie. L'OMS estime que la vaccination sauve chaque année 2,5 millions de personnes dans le monde [121]. Grâce à de nombreuses campagnes internationales de promotion de la vaccination, le risque d'épidémie a diminué de manière drastique. L'éradication de la variole en illustre leurs succès.

La vaccination concerne tous les âges de la vie. Elle est d'abord essentielle chez les nourrissons qui sont particulièrement vulnérables face aux maladies infectieuses en raison de leur système immunitaire insuffisamment développé. Ils sont vaccinés selon les calendriers vaccinaux établis par les autorités sanitaires. Les schémas de vaccinations tiennent compte de l'âge des individus, des risques infectieux et proposent des rappels vaccinaux afin d'obtenir une protection à long terme. Les enfants et les adultes doivent continuer de recevoir des vaccins tout au long de leur vie afin d'entretenir leur immunité qui s'affaiblit avec le temps. Certaines professions sont soumises à des obligations ou à des recommandations vaccinales particulières en raison d'un risque majoré d'exposition à certains agents infectieux. C'est le cas par exemple des médecins, des infirmiers, des personnels des laboratoires d'analyses médicales, des assistants maternels, ... Enfin, les personnes âgées dont le système immunitaire s'affaiblit doivent continuer d'être

correctement protégées. Il faut notamment qu'elles soient immunisées chaque année contre la grippe saisonnière qui peut entraîner de graves complications chez des personnes souffrant souvent de multiples pathologies [122].

Les bénéfices de la vaccination sont bien sûr individuels mais ils profitent également à l'échelle de la population générale. Les sujets vaccinés protègent ceux qui ne le sont pas en diminuant la circulation de l'agent pathogène. On estime qu'une immunité collective s'installe si 95% des individus sont vaccinés. De nombreuses maladies autrefois courantes ont pu être contrôlées, voire, éliminées grâce aux campagnes d'immunisations. Pourtant, il faut rester vigilant car une baisse de la couverture vaccinale peut faire ressurgir des maladies presque oubliées, comme en illustre la vague d'épidémie de rougeole observée en France entre 2008 et 2012.

Grâce à la vaccination, des économies sont réalisées car des traitements coûteux, des hospitalisations et les handicaps et incapacités pouvant résulter de certaines maladies sont évités. Des arrêts de travail ayant des répercussions organisationnelles et économiques sur les entreprises sont également prévenus.

Ainsi, outre les bénéfices individuels, la vaccination apporte de nombreux effets socio-économiques positifs à la société. Elle doit être considérée comme une responsabilité, individuelle, collective et gouvernementale.

4.1.2 Controverses et inquiétudes autour de la vaccination [120]

Aujourd'hui le vaccin n'est plus uniquement une affaire médicale, il prend une dimension sociétale de plus en plus importante et sensible. Depuis quelques années, les polémiques concernant la sécurité des vaccins ne cessent de se multiplier. Le battage médiatique qui en résulte ne cesse de réduire la confiance des français vis-à-vis de la vaccination, ce qui tend à diminuer la couverture vaccinale.

A la fin des années 1990, le vaccin contre l'hépatite B est accusé en France d'induire des scléroses en plaques. Introduite en France dès 1981, la vaccination contre l'hépatite B a

connu un franc succès dans les années 1994 lors d'une campagne de grande envergure. Cette campagne faisait suite aux recommandations de l'OMS de 1993 qui préconisait la vaccination universelle contre l'hépatite B. En France, elle ciblait les nourrissons et les pré-adolescents afin que les enfants soient protégés lorsqu'ils arriveraient à l'âge des premières expositions au risque. Aucune obligation de vaccination, la campagne recommandait fortement de se faire vacciner en mettant l'accent sur le danger et le risque encouru à ne pas se faire vacciner. Si bien que, très vite, la cible de vaccination a été dépassée, touchant également de nombreux adultes. Mais des cas de poussées de sclérose en plaques sont rapportés chez des sujets récemment vaccinés. Une thèse de médecine [123] paraît sur le sujet des accidents de la vaccination contre l'hépatite B et très vite les médias s'emparent du débat. Une forte suspicion s'installe dans la population. En 1997, une association de victimes du vaccin contre l'hépatite B est créée : le « REVAHB » (Réseau Vaccin Hépatite B). Les autorités françaises finissent par suspendre le programme de vaccination en octobre 1998. De nombreuses études se sont ensuite penchées sur les risques d'atteintes démyélinisantes du système nerveux central suite à une vaccination contre l'hépatite B. Les études cas-témoins qui ont été réalisées n'ont montré aucun sur-risque significatif causé par le vaccin. Reste l'hypothèse d'une atteinte latente chez des sujets génétiquement prédisposés qui pourrait être démasquée par le vaccin [124]. Toujours est-il que le débat qui a eu lieu autour du lien entre vaccin contre l'hépatite B et atteinte démyélinisante a généré au sein de la population de nombreuses inquiétudes sur la sécurité des vaccins.

D'autres débats sont ensuite venus grandir l'inquiétude naissante autour de la vaccination.

En 1998, une étude anglaise dirigée par le Dr Andrew Wakefield [125]^{*} associe le vaccin ROR (dirigé contre la rougeole, les oreillons, la rubéole) et l'autisme. La médiatisation de ces résultats provoque un vent de panique auprès de la population britannique et on assiste à une chute de la vaccination ROR. Mais la publication, entachée de nombreux conflits d'intérêts et de faux résultats, est vivement critiquée par la communauté scientifique. Les

* La revue The Lancet a depuis retiré l'article en raison de nombreuses irrégularités commises par les auteurs, d'éléments inexacts et d'un manquement à l'éthique médicale.

nombreuses études épidémiologiques qui ont été effectuées à la suite de cette polémique n'ont jamais mis en lumière de lien effectif entre vaccination ROR et autisme [120].

En 2009, un nouveau virus frappe de nombreux pays et apparaît comme une menace mondiale : il s'agit du virus de la grippe A (H1N1). Afin d'enrayer la pandémie, les états instaurent des campagnes de vaccination massives. La France commande 94 millions de doses de vaccins aux laboratoires afin de couvrir 75% de la population. Mais les français se montrent particulièrement hostiles à cette vaccination. En cause, les multiples controverses autour de ce vaccin et de ses effets indésirables, les critiques concernant la réelle ampleur de la menace, et les soupçons de conflits d'intérêts et de manipulation pesant sur les industriels producteurs du vaccin. Au final, 8% de la population française seulement acceptera de se faire vacciner et cette campagne de vaccination sera qualifiée de surdimensionnée d'autant que le virus se sera avéré moins virulent et dangereux que prévu. Mais cet épisode continue encore aujourd'hui d'ébranler la confiance de la population envers la vaccination en raison d'un grave effet indésirable qui a été observé. Les données de pharmacovigilance font état de près de 200 cas de narcolepsie en Europe rapportés peu de temps (entre 1 et 6 mois) après la vaccination contre la grippe A. De nombreuses investigations épidémiologiques ont été menées par la suite et confirment l'existence d'un risque augmenté de survenue de narcolepsie à la suite d'une vaccination H1N1. Plusieurs malades ont d'ores et déjà été indemnisés par l'ONIAM (Office National d'Indemnisation des Accidents Médicaux) [126].

Plus récemment, ce sont les vaccins dirigés contre le papillomavirus humain (HPV) (Gardasil®, laboratoire Sanofi Pasteur MSD ; Cervarix®, laboratoire Glaxosmithkine) qui font polémique. A l'origine du débat, des jeunes filles avaient développé des maladies auto-immunes et des effets neurologiques dans les mois qui ont suivi une vaccination HPV. Il s'agit principalement d'affections démyélinisantes et de syncopes brutales. Pour les victimes, difficile d'accepter qu'une maladie, rare chez de jeunes adolescentes, ne soit pas reliée à l'évènement précédent, ici la vaccination, surtout lorsqu'un emballement médiatique contribue à véhiculer largement une telle théorie. Pourtant, les études sur l'incidence des maladies auto-immunes sur plusieurs cohortes de jeunes filles n'ont jamais démontré de relation entre le vaccin et le développement d'une maladie auto-immune [127].

Ces différentes controverses largement relayées par les médias ont provoqué une véritable crise de confiance de la population envers la vaccination en général. L'adhésion à la vaccination semble pourtant repartir à la hausse. Le baromètre santé 2014 de l'Inpes (Institut national de prévention et d'éducation pour la santé) fait état de 79% de français favorables à la vaccination contre 61% en 2010.

4.2 Points de vue des différents acteurs du débat « MFM et aluminium vaccinal »

Appuyé par une diffusion médiatique, le problème de l'implication des adjuvants aluminiques dans la MFM fait réagir de nombreux acteurs. Autour de la table, des industriels du vaccin accusés d'escroquerie, des patients réclamant justice et indemnités, des autorités sanitaires devant apprécier un bénéfice/risque vaccinal individuel et collectif et se positionner sans effrayer la population, et des médias accusés de véhiculer une frayeur, aident d'une polémique de sécurité sanitaire.

4.2.1 Les associations de patients [128]

Les personnes atteintes de MFM se sont très vite regroupées et ont créé en mai 2001 l'association « Entraide aux Malades de la Myofasciite à Macrophages » (E3M). L'association E3M bénéficie d'un agrément au niveau national qui lui permet de représenter les usagers dans les instances hospitalières ou de santé publique. Elle représente également les patients dans certaines commissions de l'ANSM.

Les membres de l'association ont pour objectifs d'aider les malades, en leur apportant un soutien moral et une aide concernant leurs démarches auprès des administrations et organismes sociaux (demandes d'allocation pour personne handicapée, de carte d'invalidité, de prise en charge au titre d'affection longue durée...).

Ils soutiennent également spécialistes et chercheurs dans leurs études concernant l'identification des causes de la maladie et son développement. Ils souhaitent faire connaître

la maladie afin qu'elle puisse être mieux connue du corps médical et qu'elle soit donc mieux diagnostiquée. Ils demandent que la recherche sur l'impact à long terme de l'aluminium vaccinal sur la santé soit financée par les pouvoirs publics.

Ils militent pour une reconnaissance de la maladie par les autorités publiques. Cette reconnaissance faciliterait notamment l'indemnisation des victimes de la maladie suite à une vaccination obligatoire. En France, les articles L.3111-2 et 3 du Code de la sante publique et les décrets R.3111-2 et 3 rendent la vaccination contre la diphtérie, le tétanos et la poliomyélite obligatoire chez les enfants jusqu'au rappel à l'âge de 11 mois. Au-delà de cet âge, seul les rappels pour la poliomyélite sont obligatoires chez les enfants jusqu'à l'âge de 13 ans. A l'âge adulte, seules certaines catégories de personnes sont soumises à une obligation vaccinale. Il s'agit notamment des professionnels de santé visés par l'article L.3111-4 du Code de la sante publique (obligation de vaccination BCG, DTPolio, hépatite B si exposé, fièvre typhoïde pour les personnels des laboratoires d'analyses médicales), de certains personnels du secteur social et médico-social comme les assistants maternels, les personnels des établissements d'hébergement pour personnes âgées... (BCG, DTPolio). Les résidents du département de la Guyane sont également soumis à une obligation de vaccination contre la fièvre jaune [122].

Ainsi la reconnaissance d'un lien de causalité par les autorités publiques entre les adjuvants aluminiques et les symptômes des patients atteints de MFM permettrait, chez les malades ayant été soumis à des vaccins obligatoires contenant de l'aluminium, de reconnaître leur maladie en accident du travail ou d'établir une reconnaissance de l'imputabilité au service, suite à vaccination obligatoire. Les victimes seraient ainsi indemnisées par l'ONIAM, ce qui leur a toujours été refusé pour le moment.

Mais les patients n'ont pas attendu qu'une reconnaissance soit établie pour demander réparation devant les tribunaux lorsqu'ils avaient subi des vaccinations obligatoires. Depuis novembre 2012, le conseil d'Etat a émis six arrêts accordant des indemnisations de malades de MFM (novembre 2012, mars 2013, décembre 2013 à deux reprises, avril et juillet 2014). L'association estime qu'à présent une solide jurisprudence est établie. Elle compte utiliser cette fenêtre de tir pour que les 50 dossiers de patients déposés le 29 mai 2015 à l'ONIAM soient acceptés sans faire appel à la justice [129].

Ils ne se revendiquent pas « anti-vaccination », ils contestent l'utilisation d'adjuvants aluminiques. Ils militent pour que le vaccin DTPolio® sans aluminium soit remis sur le marché afin de satisfaire à l'obligation vaccinale des enfants entrant dans une structure collective (école, garderie, colonie de vacances). Aujourd'hui, avec les vaccins multivalents il n'est en effet pas possible d'administrer aux enfants uniquement les trois vaccins obligatoires. En juin 2008, la firme pharmaceutique Sanofi Pasteur MSD a suspendu la commercialisation du DTPolio Mérieux, vaccin trivalent sans aluminium utilisé depuis 1966. Cette suspension fait suite, selon le laboratoire pharmaceutique, à une hausse importante du nombre des notifications de réactions allergiques (hypersensibilité immédiate) à type d'urticaire généralisé ou d'œdème [130]. Ces manifestations allergiques se manifestent jusqu'à 24 heures après la vaccination, et leur évolution est favorable. Leur nombre a augmenté entre le début de l'année 2008 et le mois de juin de façon importante sans qu'aucune cause de cette augmentation n'ait pu être identifiée. L'association E3M soutient que cette hausse d'effets indésirables a été « fabriquée » par le laboratoire pharmaceutique. Celui-ci aurait reporté des effets indésirables survenus en 2007 sur l'année 2008. L'association explique cette falsification de données par une volonté industrielle de rationaliser la fabrication des vaccins, ce qui passe par la suppression des vaccins les moins chers dont le DTPolio faisait partie. En supprimant ce vaccin, le report de prescription se fait vers d'autres vaccins plus chers ce qui profite à l'industriel. Ce vaccin correspondant à l'obligation vaccinale des enfants, il ne peut être suspendu que si un motif important de santé publique justifie son retrait. Selon l'association un motif a donc été créé de toute pièce par le laboratoire afin de justifier la suspension du vaccin qui s'est ensuite transformé en arrêt de commercialisation [131]. L'association a décidé de porter plainte contre X pour « faux, usage de faux, et escroquerie » devant le Procureur de la République [132].

Dans la continuité de leurs convictions, ils préconisent un retour au phosphate de calcium comme adjuvant des vaccins afin d'offrir au patient le droit de pouvoir choisir entre l'administration d'aluminium ou de phosphate de calcium. Comme nous allons le voir dans le paragraphe suivant, cet adjuvant a longtemps fait partie de la composition des vaccins jusqu'à son abandon dans les années 1985 au profit de l'hydroxyde d'aluminium (cf 4.2.2).

4.2.2 L'industrie pharmaceutique [131, 133]

Au début des années 1970, un industriel faisait marche arrière sur le choix de son adjuvant. L'Institut Pasteur choisissait d'éliminer l'aluminium de ses vaccins et de le remplacer par du phosphate de calcium. Le choix est appuyé de nombreux arguments. Tout d'abord sur des études démontrant, aussi bien chez l'homme que chez l'animal, que les adjuvants aluminiques accroissent le risque de réactions allergiques en augmentant le niveau d'anticorps IgE chez le sujet vacciné. Ensuite sur le fait que le phosphate de calcium est un composant naturel de l'organisme (il entre dans la composition minérale des dents et des os), qui est donc bien toléré, facilement résorbé, n'augmente pas la production d'IgE et donne de bons taux d'anticorps IgG. Enfin, à l'époque, de nombreux vaccins adjuvés au phosphate de calcium sont déjà commercialisés et les effets secondaires rapportés sont faibles. L'Institut Pasteur développait alors une gamme de vaccins adsorbés sur phosphate de calcium dénommée IPAD (Institut Pasteur Adsorbés sur phosphate de calcium) [131].

Quinze ans plus tard, la branche vaccins de l'Institut Pasteur est rachetée par l'Institut Mérieux. Ces derniers commercialisaient des vaccins sans adjuvant ou adjuvés sur hydroxyde d'aluminium. Les vaccins IPAD sont à ce moment-là accusés d'être moins bien tolérés. Ils auraient des propriétés inflammatoires plus puissantes et des effets secondaires supérieurs à ceux des sels d'aluminium. Ils induiraient notamment plus de granulomes post-vaccinaux. De plus, d'un point de vue immunologique, ils n'apporteraient pas de bénéfice supplémentaire. Les firmes vont donc décider de ne garder qu'un seul adjuvant qui sera l'hydroxyde d'aluminium. Les vaccins IPAD deviennent alors des vaccins soit sans adjuvant (DTPolio, TP, Polio), soit avec hydroxyde d'aluminium (DT, DTCP, T) avec la dénomination de « vaccin Pasteur ». Leurs compositions est alors identiques aux vaccins Mérieux [131] (tableau 2).

	Spécialités	Laboratoire exploitant	Adjuvant	Evolution lors de la fusion Pasteur-Mérieux en 1985
TETRAVALENTS	IPAD DTCP Pasteur	Pasteur	Phosphate de calcium	Transformé en DTCP Pasteur avec aluminium
	Tetracoq	Mérieux	Aluminium	Conservé
TRIVALENTS	IPAD DTP Pasteur	Pasteur	Phosphate de calcium	Transformé en DTP Pasteur sans adjuvant
	DT Polio Mérieux	Mérieux	Aucun	Conservé
BIVALENTS	IPAD DT Pasteur	Pasteur	Phosphate de calcium	Transformé en DT Pasteur avec aluminium
	DT Vax	Mérieux	Aluminium	Conservé
	IPAD TP Pasteur	Pasteur	Phosphate de calcium	Transformé en TP Pasteur sans adjuvant
	TPolio Mérieux	Mérieux	Aucun	Conservé
MONOVALENTS	IPAD Tétanique Pasteur	Pasteur	Phosphate de calcium	Transformé en Tétanique Pasteur avec aluminium
	Tétavax	Mérieux	Aluminium	Conservé
	IPAD P Pasteur	Pasteur	Phosphate de calcium	Transformé en P Pasteur sans adjuvant
	IMOVAX	Mérieux	Aucun	Conservé

Tableau 2 : Vaccins incluant une ou plusieurs des valences diphtérie, tétanos, polio, coqueluche commercialisés dans les années 1985 et leur devenir après la fusion des laboratoires Pasteur et Mérieux.

En mars 2001, les laboratoires Pasteur-Mérieux devenus Aventis-Pasteur annoncent l'arrêt de la commercialisation du « vaccin DTP Pasteur » et du « vaccin TP Pasteur », tous deux sans adjuvant. En octobre 2004 c'est au tour du « TPolio Mérieux » sans adjuvant.

En juin 2008, Sanofi Pasteur MSD (Sanofi rachète Aventis en 2004) suspend la commercialisation du DTPolio Mérieux, en application du principe de précaution suite à l'observation d'une hausse importante d'effets indésirables et notamment du nombre de manifestations allergiques, comme nous l'avons vu précédemment (cf 4.2.1). Le laboratoire n'a pu identifier aucune cause expliquant cette augmentation [130]. Mais ce DTPolio Mérieux était le dernier vaccin sans adjuvant et donc sans aluminium qui restait sur le marché et qui permettait de satisfaire à l'obligation vaccinale, ce qui déclenche la colère des associations de patients comme nous l'avons vu précédemment (cf 4.2.1).

Ainsi, la commercialisation des vaccins sans aluminium intégrant les valences diphtérie, tétanos, polio a été progressivement arrêtée par les laboratoires pharmaceutiques (Pasteur qui commercialisait des vaccins adjuvés au phosphate de calcium et Mérieux qui commercialisait son DTP sans adjuvant). Il ne reste aujourd'hui que l'Imovax Polio® (Sanofi Pasteur), vaccin dirigé contre la poliomyélite sans adjuvant. Mais, face à la révolte des patients, les industriels se sont engagés à fournir gracieusement et sur demande des médecins, un vaccin permettant aux enfants de répondre à l'obligation vaccinale. Ce vaccin, le DT Vax (vaccin antidiphtérique et antitétanique, Sanofi Pasteur) est cependant adjuvé avec de l'hydroxyde d'aluminium. Il permet de répondre à la demande des familles qui ne souhaitent pas vacciner leurs enfants, pour des raisons personnelles ou de tolérance, avec les autres vaccins multivalents existants (cf annexe 3). Dans ce cas, les enfants sont alors vaccinés avec l'Imovax Polio® (vaccin antipolio injectable) et le DT Vax® [133].

4.2.3 La communauté scientifique [133]

Aucun professeur, chercheur, médecin, ne remet en cause le principe de la vaccination. Ils alertent les autorités sanitaires sur les effets toxiques et indésirables qui semblent être provoqués par l'utilisation des adjuvants aluminiques dans les vaccins.

Les travaux du Pr Gherardi, chef du service d'histologie-embryologie de l'hôpital Henri Mondor à Créteil, montrent le caractère bio-persistant et neuro-migrant de l'aluminium injecté par voie intra-musculaire dont on connaît par ailleurs ses propriétés neurotoxiques. Il insiste sur le fait que les patients atteints de myofasciite à macrophages ne sont pas des fibromyalgiques car ils n'ont pas ou peu de points fibromyalgiques et présentent des altérations du système nerveux que n'ont pas les patients répondants aux critères internationaux des fibromyalgies.

Le Pr Yehuda Shoenfeld, chef du département de médecine de l'université de Tel Aviv, spécialiste des questions sur l'auto-immunité défend l'idée que le développement des maladies auto-immunes résulte de deux facteurs : la prédisposition génétique et les facteurs environnementaux [133]. Selon lui, les adjuvants sont des facteurs environnementaux capables d'induire des maladies auto-immunes. Il reste encore à détecter les sujets prédisposés.

Concernant l'argument épidémiologique utilisé par les autorités de santé (le faible nombre de cas de MFM) pour évaluer le rapport bénéfice/risque, il est, selon les chercheurs, faussé. Le syndrome de la MFM ne peut être considéré comme un événement aigu post-vaccinal puisque les symptômes peuvent survenir plusieurs années après la vaccination. Cette durée limite notamment les signalements d'effets indésirables de la part des patients (un événement aigu post-vaccinal étant plus facilement rapporté qu'un syndrome qui survient plusieurs années après la vaccination) mais aussi du corps médical qui, non suffisamment informé, ne connaît pas forcément le possible lien qu'il existe entre les signes exprimés et la vaccination [133].

Toutefois, il n'y a pas encore de consensus au sein de la communauté scientifique sur l'existence de l'entité MFM en tant que pathologie et sur un lien de causalité entre la symptomatologie des porteurs de lésions et les sels d'aluminium contenus dans les vaccins. La symptomatologie peu spécifique, qui pourrait d'ailleurs être provoquée par une multitude d'autres pathologies, et l'absence de marqueurs cliniques et biologiques précis et constants, fragilisent l'hypothèse d'un possible dysfonctionnement biologique [134].

Les opposants à la reconnaissance de la MFM avancent différents arguments. Etant donné que l'inflammation est localisée au site de la vaccination et qu'elle n'est pas retrouvée dans d'autres muscles, il ne s'agit pas d'une myopathie inflammatoire musculaire diffuse ; elle est pour cette raison qualifiée de « tatouage vaccinal » par les opposants. La persistance d'aluminium sur le site d'injection plusieurs années après une vaccination reflèterait alors la queue de distribution normale de l'élimination de l'aluminium au sein de la population [135].

Le fait qu'il y ait peu de cas notifiés par les autres pays du monde est également pointé du doigt. Car les mêmes vaccins sont utilisés à l'étranger mais la sécurité des vaccins contenant de l'aluminium n'y est pas remise en cause. De la même façon, il y a peu de cas d'enfants rapportés dans la littérature alors qu'il s'agit de la population la plus exposée aux adjuvants aluminiques [136].

D'autres soulignent que les extrapolations qui sont faites des données des modèles expérimentaux animaux à l'homme sont délicates surtout quand il s'agit de posologies et de développements pathologiques. De plus, si des études semblent montrer que l'aluminium passe dans le cerveau, les chercheurs n'ont pas encore démontré qu'il était bien à l'origine des troubles. Les facteurs qui font qu'un individu est plus sensible à la toxicité de l'aluminium ne sont également pas encore déterminés ni même les circonstances de cette toxicité. De trop nombreuses inconnues demeurent sur les travaux de l'équipe du Pr Gherardi sur le sujet de la MFM [133].

L'ensemble de ces arguments est mis en avant par les détracteurs de la MFM et viennent appuyer la pensée que la MFM est née du besoin (compréhensible) des médecins de trouver une explication aux symptômes inexpliqués présentés par certains patients, auquel s'ajoute l'intérêt des chercheurs d'identifier une nouvelle maladie.

4.2.4 Les autorités de santé [133]

Les autorités de santé se sont positionnées sur le sujet des adjuvants aluminiques. Aucune ne reconnaît de lien entre les adjuvants aluminiques et d'éventuelles pathologies. Elles continuent de recommander l'utilisation des vaccins adjuvés avec de l'aluminium en se basant sur le rapport bénéfice/risque de ces vaccins. Ce rapport bénéfice/risque doit être apprécié à l'échelle individuelle mais aussi collective.

Pour ce qui est des bénéfices d'abord, l'utilisation des adjuvants aluminiques dans les vaccins permet d'améliorer grandement la vaccination, dont nous avons vu précédemment l'importance et les bénéfices tant individuels que collectifs. Les adjuvants aluminiques améliorent fortement la réponse immunitaire au vaccin, ce qui permet, d'une part, d'augmenter le nombre de sujets protégés, et, d'autre part, de diminuer le nombre d'injections nécessaires à une bonne immunisation, facilitant ainsi les schémas de vaccination.

En ce qui concerne les risques, il s'agit d'étudier les données scientifiques disponibles montrant un lien entre l'utilisation des adjuvants aluminiques et le développement de

maladies, comme la myofasciite à macrophages ou certaines maladies auto-immunes.

Plusieurs instances de santé se sont positionnées sur le sujet :

- L'ANSM : elle n'est pas en charge de la politique vaccinale. Autour des vaccins, elle a pour rôle la surveillance de leurs utilisations, l'évaluation des risques sanitaires qui en découle, et l'organisation de la pharmacovigilance. Après analyses des données disponibles sur les adjuvants aluminiques, elle conclue « qu'aucun syndrome clinique spécifique n'est retrouvé associé à la vaccination avec des vaccins contenant un adjuvant aluminique » [65].
- Le HCSP : il a pour mission de définir la politique vaccinale. Dans son rapport de 2013 [15], une revue de la littérature concernant la MFM lui a permis de conclure qu'il n'existe pas de lien direct entre les lésions de MFM et des manifestations systémiques, et qu'il n'existe pas d'arguments épidémiologiques probants reliant la vaccination et l'existence d'une maladie en relation avec la lésion.
- L'Académie nationale de médecine : dans son rapport sur les adjuvants vaccinaux de 2012 [137], elle estime qu'aucun élément ne prouve la nocivité des adjuvants aluminiques. Bien qu'il existe un consensus sur le caractère neurotoxique de l'aluminium, cette propriété ne peut être transposée à l'aluminium vaccinal car la neurotoxicité de l'aluminium n'est reconnue que pour des intoxications aiguës par forte ingestion ou en cas de consommation chronique de fortes doses. Or la quantité d'aluminium contenue dans les vaccins est faible comparée à celle que l'organisme ingère via l'eau ou les aliments.
- L'OMS : elle élabore des recommandations générales et des stratégies pour contribuer à améliorer l'utilisation des vaccins dans le monde. Créé par l'OMS pour la conseiller sur les problèmes de sécurité vaccinale, le comité consultatif mondial de la sécurité vaccinale évalue les risques liés à l'utilisation des vaccins. Son dernier avis rendu sur la question de la myofasciite à macrophage était que « la persistance de macrophages contenant de l'aluminium au point de vaccination n'est pas associée à une maladie ou à des symptômes cliniques particuliers » [64].

Donc, aujourd'hui, aucune autorité de santé ne remet en cause la balance bénéfique/risque des vaccins contenant un adjuvant aluminique.

Enfin, comme nous allons le voir dans le paragraphe suivant, la mise en place d'une alternative aux adjuvants aluminiques est complexe, peu envisageable dans l'immédiat, et, sans alternative aux adjuvants aluminiques, les autorités de santé ne peuvent pas affirmer qu'il existe un risque vaccinal au risque de dissuader la population de se faire vacciner et de voir réapparaître rapidement les maladies.

4.3 Une alternative aux adjuvants aluminiques est-elle envisageable ? [133]

En mars 2012, au vu des résultats des études réalisées sur la migration de l'aluminium, et, en application du principe de précaution, le groupe d'études sur la vaccination de l'Assemblée nationale recommande un moratoire sur les adjuvants aluminiques [138]. Mais l'application du principe de précaution n'est pas envisageable selon les autorités de santé. suspendre la vaccination avec les adjuvants aluminiques alors que ceux-ci entre dans la composition de plus de la moitié des vaccins et au regard du faible nombre de cas de MFM rapportés, c'est exposer la population à une résurgence rapide des maladies prévenues par ces vaccins. Cette résurgence peut en effet être brutale lorsque les vaccins concernent la prévention de maladies transmises par voie respiratoire, voie de propagation très rapide [133]. Il en découlerait une morbidité très supérieure à celle de la MFM et des hypothétiques maladies auto-immunes imputées à la vaccination [137].

Parmi les alternatives à l'aluminium, le phosphate de calcium apparaît comme un bon candidat puisqu'il a déjà été utilisé par le passé comme nous l'avons vu précédemment (cf 4.2.2). Les raisons avancées pour justifier de son retrait ont été, selon les industriels, une moins bonne tolérance et plus d'effets secondaires qu'avec l'utilisation des sels d'aluminium. A noter qu'on trouve dans la littérature des avis divergents sur la question de la tolérance et de l'efficacité du phosphate de calcium comparé aux sels d'aluminium [46, 139] ; certaines études lui attribuant un meilleur profil sur ces deux points [140]. Les associations de patients pensent, elles, à une raison plus économique. La disparition du phosphate de calcium correspondant à la fusion des branches vaccins de l'Institut Pasteur et de l'Institut Mérieux, elles pensent que c'est un souci de rationalisation des processus de

fabrication qui a guidé le choix de ne conserver qu'un seul adjuvant. Selon eux, les industriels ont un intérêt économique à ne garder qu'un seul adjuvant puisque l'approvisionnement en matières premières et les chaînes de fabrications sont simplifiés (une ligne unique, il n'y a plus de précaution à prendre pour éviter les problèmes de contaminations entre chaînes de production et produits qu'on ne doit pas mélanger) [141]. L'hydroxyde d'aluminium a donc été choisi pour harmoniser la production vaccinale française et permettait aux industriels de rester compétitifs sur les marchés étrangers, les autres pays utilisant principalement l'aluminium. Un retour au phosphate de calcium engendrerait inévitablement un coût important pour les industriels. Ces derniers préfèrent s'exprimer sur le recul limité en termes de sécurité du phosphate de calcium. Celui-ci était utilisé finalement à petite échelle, à une époque où le système de pharmacovigilance n'était pas aussi perfectionné.

Globalement, l'hypothèse d'une substitution des adjuvants aluminiques par un autre adjuvant ne semble pas possible de façon simple et rapide. Le nouvel adjuvant devant évidemment subir une batterie d'études et de tests afin d'établir son profil de sécurité et de s'assurer qu'il garantit au minimum la même efficacité vaccinale que les adjuvants aluminiques. Ces études prendraient nécessairement du temps et il n'est pas sûr qu'au terme des recherches les nouveaux vaccins soient équivalents, en matière d'efficacité, aux vaccins avec aluminium.

De tels changements représentent également d'énormes enjeux financiers (formulation à refaire, études sur l'efficacité des vaccins, processus de fabrication,...) pour les laboratoires pharmaceutiques. Ce qui laisse certains penser que les industriels n'ont pas d'intérêt à investir dans la recherche de nouveaux adjuvants puisque les vaccins actuels avec aluminium sont suffisamment efficaces et générateurs de profits, qu'ils présentent une certaine sécurité d'emploi prouvée par leur long passé d'utilisation, et qu'investir dans la recherche d'autres adjuvants représente une prise de risque trop importante quand on ne connaît pas d'avance leurs inconvénients. Jean-Louis Tourraine, député et membre de l'Office Parlementaire d'Evaluation des Choix Scientifiques et Technologiques (OPECST) concluait ainsi le débat tenu à l'OPECST en janvier 2015 [133] : « les laboratoires ne vont pas substituer un risque connu et minime à un risque inconnu. Il importe donc que la puissance

publique prenne en charge cette recherche ». Il rejoint le souhait émis par certains patients et chercheurs que les travaux de recherche dans ce domaine soient financés par des fonds publics, d'autant que lorsque ce sont les laboratoires et les entreprises qui les assument, leurs conclusions sont suspectées d'être guidées par des intérêts économiques.

CONCLUSION

Les adjuvants dérivés des sels d'aluminium sont à ce jour les plus utilisés dans les vaccins, que ce soit en France mais aussi dans le reste du monde. Utilisés depuis les années 1926, leur efficacité n'est plus à démontrer. Leur mécanisme d'action n'est cependant pas tout à fait élucidé bien que des hypothèses récentes notamment sur leurs facultés à activer le complexe de l'inflammasome semblent se préciser. On sait qu'ils induisent préférentiellement une immunité de type Th2 même si la nature des signaux et les voies de signalisation aboutissant à cette réponse sont encore incomplètement déterminés. Cette propriété leur permet d'assurer la mise en place d'une immunité spécifique humorale et permet une bonne production d'anticorps. Leur faiblesse tient notamment dans leur incapacité à induire une immunité spécifique cellulaire de type Th1, ce qui limite leur utilité dans des vaccins dirigés contre des pathogènes intracellulaires.

Malgré leurs nombreux avantages dans l'élaboration d'une immunité efficace, les adjuvants aluminiques sont aujourd'hui au cœur d'une controverse sur leur toxicité à long terme. Il est aujourd'hui reconnu que la lésion histologique de MFM est constamment associée à la présence de cristaux d'hydroxyde d'aluminium qui proviennent d'une vaccination intramusculaire avec un vaccin contenant des adjuvants aluminiques. Mais l'état actuel des connaissances ne permet pas d'associer cette entité histologique à un syndrome clinique spécifique. Le caractère diffus des symptômes cliniques, d'ailleurs peu spécifiques, présentés par les patients contraste avec le caractère focal de la lésion limitée au site de la vaccination. Le diagnostic de myofasciite à macrophages reste donc à l'heure actuelle un diagnostic anatomopathologique établi par biopsie musculaire et le rapport bénéfice/risque des vaccins contenant un adjuvant aluminique n'est pas remis en cause par les autorités de santé.

Le devenir de l'aluminium injecté après une vaccination fait l'objet de nombreuses recherches mais déjà certains résultats montrant une possible accumulation dans le cerveau préoccupent. Relayées par les médias, les préoccupations concernant les adjuvants aluminiques inquiètent de plus en plus la population et suscitent des réactions passionnées.

Les associations de patients, qui militent pour une reconnaissance de la MFM en tant que maladie liée aux vaccins aluminiques, réclament la mise à disposition de vaccins sans aluminium répondant à l'obligation vaccinale des enfants et prônent un retour au phosphate de calcium comme adjuvant des vaccins afin d'offrir au patient le droit de choisir une alternative à l'aluminium. L'hypothèse d'une substitution rapide des adjuvants aluminiques par un autre adjuvant est cependant difficile à appréhender car la sécurité doit être assurée et l'efficacité vaccinale certaine, afin d'éviter une résurgence des maladies. Ce débat reste d'autant plus complexe qu'il mêle intérêts de santé et intérêts financiers.

ANNEXES

Annexe 1 : Tableaux des vaccinations recommandées en 2015

Vaccins contre :		Naissance	2 mois	4 mois	11 mois	12 mois	16-18 mois	6 ans	11 - 13 ans	15 ans	16-18 ans
Recommandations générales	Diphthérie (D), Tétanos (T), coqueluche acellulaire (Ca), Poliomyélite (P)		DTCaP	DTCaP	DTCaP			DTCaP			
	<i>Haemophilus influenzae</i> b (Hib)		Hib	Hib	Hib						
	Hépatite B (Hep B)		Hep B	Hep B	Hep B						
	Pneumocoque (PnC) ¹		PnC	PnC	PnC						
	Méningocoque C (vaccin conjugué)					MnC					
	Rougeole (R), Oreillons (O), Rubéole (R)					ROR 1	ROR 2				
	diphthérie (d), Tétanos (T), coqueluche acellulaire (ca), Poliomyélite (P) ²								dTcaP		
	Papillomavirus humains (HPV) chez jeunes filles								vaccin quadrivalent (11/13 ans) et vaccin bivalent (11/14 ans) : 2 doses (0, 6 mois)		
Rattrapage	Hépatite B									3 doses selon le schéma 0, 1, 6 mois ou, de 11 à 15 ans révolus, 2 doses selon le schéma 0, 6 mois ³	
	Méningocoque C (vaccin conjugué)									1 dose jusqu'à 24 ans ⁴	
	Papillomavirus humains (HPV) chez jeunes filles									3 doses selon le schéma 0, 1, 6 mois ou 0, 2, 6 mois (jeunes filles de 14 ou 15 à 19 ans révolus) selon le vaccin utilisé	
	Rougeole (R), Oreillons (O), Rubéole (R)									2 doses à au moins 1 mois d'intervalle si pas de vaccin antérieur ; 1 dose si une seule dose vaccinale antérieure	

Tableau des vaccinations recommandées chez les enfants et les adolescents en 2015 [122]. N.B : les vaccins indiqués sur fond jaune existent sous forme combinée. Encadrés verts : co-administration possible.

Vaccins contre :		18-24 ans	25 ans	35 ans	45 ans	65 ans	> 65 ans
Recommandations générales	Diphthérie (d), Tétanos (T), Poliomyélite (P) Coqueluche acellulaire (ca)		Rappel dTcaP ¹ ou dTP si dernier rappel de dTcaP < 5 ans		Rappel dTP	Rappel dTP	Rappel dTP à 75, 85 ans...
	Grippe					1 dose annuelle	
Rattrapage	Coqueluche acellulaire (ca)		1 dose dTcaPolio chez l'adulte jusqu'à 39 ans révolus, n'ayant pas reçu de rappel à 25 ans				
	Méningocoque C (vaccin conjugué)	1 dose ²					
	Papillomavirus humains (HPV) chez jeunes femmes	3 doses selon le schéma 0, 1, 6 mois ou 0, 2, 6 mois (jeunes femmes jusqu'à l'âge de 19 ans révolus)					
	Rougeole (R), Oreillons (O), Rubéole (R)	Atteindre 2 doses au total chez les personnes nées depuis 1980					
Rubéole				1 dose de ROR chez les femmes non vaccinées			

Tableau des vaccinations recommandées chez les adultes en 2015 (en dehors des vaccinations réalisées en milieu professionnel) [122]. N.B : les vaccins indiqués sur fond jaune existent sous forme combinée. Encadrés verts : co-administration possible.

Vaccination : êtes-vous à jour ?

2015 calendrier simplifié des vaccinations

Âge approprié	Naissance	2 mois	4 mois	11 mois	12 mois	16-18 mois	6 ans	11-13 ans	14 ans	25 ans	45 ans	65 ans et +
BCG	Naissance											
Diphthérie-Tétanos-Poliomyélite		2 mois	4 mois	11 mois			6 ans	11-13 ans		25 ans	45 ans	Tous les 10 ans
Coqueluche		2 mois	4 mois	11 mois			6 ans	11-13 ans		25 ans		
Haemophilus Influenzae de type b (HIB)		2 mois	4 mois	11 mois								
Hépatite B		2 mois	4 mois	11 mois								
Pneumocoque		2 mois	4 mois	11 mois								
Méningocoque C					12 mois							
Rougeole-Oreillons-Rubéole					12 mois	16-18 mois						
Papillomavirus humain (HPV)								11-13 ans	14 ans			
Grippe												Tous les ans

Calendrier simplifié des vaccinations 2015 [122]

Annexe 2 : Teneur en aluminium de différents vaccins français

Indications vaccinales	Spécialité	Nature du sel d'aluminium	Quantités d'aluminium
Tétanos	Vaccin Tétanique Pasteur®	Hydroxyde d'aluminium	0,60 mg Al
Diphtérie (d) – tétanos – polio	Revaxis®	Hydroxyde d'aluminium	0,35 mg Al ³⁺
Diphtérie (d) – tétanos – polio – coqueluche	BoostrixTetra®	Hydroxyde et phosphate d'aluminium	0,30 mg Al ³⁺ (hydroxyde) et 0,20 mg Al ³⁺ (phosphate)
	Repevax®	Phosphate d'aluminium	0,33 mg Al
Diphtérie – tétanos – polio - coqueluche	InfanrixTetra®	Hydroxyde d'aluminium	0,50 mg Al ³⁺
	Tetravac®	Hydroxyde d'aluminium	0,30 mg Al ³⁺
Diphtérie – tétanos – polio – coqueluche acellulaire – haemophilus influenza B	InfanrixQuinta®	Hydroxyde d'aluminium	0,50 mg Al ³⁺
	Pentavac®	Hydroxyde d'aluminium	0,30 mg Al ³⁺
Diphtérie – tétanos – polio – coqueluche acellulaire – haemophilus influenza B – hépatite B	InfanrixHexa®	Hydroxyde et phosphate d'aluminium	0,50 mg Al ³⁺ (hydroxyde) et 0,32 mg Al ³⁺ (phosphate)
Hépatite A	Havrix® 720UI (pédiatrique)	Hydroxyde d'aluminium	0,25 mg Al ³⁺
	Havrix® 1440UI (adulte)	Hydroxyde d'aluminium	0,50 mg Al ³⁺
	Avaxim® 80UI (pédiatrique)	Hydroxyde d'aluminium	0,15 mg Al
	Avaxim® 160UI (adulte)	Hydroxyde d'aluminium	0,30 mg Al
Hépatite A - hépatite B	Twinrix® Enfant	Hydroxyde et phosphate d'aluminium	0,025 mg Al ³⁺ (hydroxyde) + 0,20 mg Al ³⁺ (phosphate)
	Twinrix® Adulte	Hydroxyde et phosphate d'aluminium	0,05 mg Al ³⁺ (hydroxyde) + 0,40 mg Al ³⁺ (phosphate)
Hépatite B	Engérix® B10	Hydroxyde d'aluminium	0,25 mg Al ³⁺
	Engérix® B20	Hydroxyde d'aluminium	0,50 mg Al ³⁺
	HBVAX PRO® 5	Sulfate d'hydroxyphosphate amorphe d'aluminium	0,25 mg Al ⁺
	HBVAX PRO® 10	Sulfate d'hydroxyphosphate amorphe d'aluminium	0,50 mg Al ⁺
	HBVAX PRO® 40	Sulfate d'hydroxyphosphate amorphe d'aluminium	0,50 mg Al ⁺
	Vaccin Genhevac B Pasteur®	Hydroxyde d'aluminium	NC
Méningocoque C	Neisvac®	Hydroxyde d'aluminium	0,50 mg Al ³⁺
	Menjugatekit®	Hydroxyde d'aluminium	0,30-0,40 mg Al ³⁺
	Meningitec®	Phosphate d'aluminium	0,125 mg Al ³⁺
Méningocoque B	Bexsero®	Hydroxyde d'aluminium	0,50 mg Al ³⁺
Pneumocoque (13 valences)	Prevenar®	Phosphate d'aluminium	0,125 mg Al
Papillomavirus quadrivalent	Gardasil®	Sulfate d'hydroxyphosphate amorphe d'aluminium	0,225 mg Al
Papillomavirus bivalent	Cervarix®	Hydroxyde d'aluminium	0,50 mg Al ³⁺
Encéphalite à tiques	Ticovac® enfant	Hydroxyde d'aluminium	0,17 mg Al ³⁺
	Ticovac® adulte	Hydroxyde d'aluminium	0,35 mg Al ³⁺
	Encepur®	Hydroxyde d'aluminium	0,30-0,40 mg Al ³⁺
Encéphalite japonaise	Ixiaro®	Hydroxyde d'aluminium	0,25 mg Al ³⁺
Typhoïde – Hépatite A	Tyavax®	Hydroxyde d'aluminium	0,30 mg Al

NC : non communiqué

Source : base de donnée thériaque consultée le 14/05/15

Annexe 3 : Vaccins multivalents actuellement disponibles en France incluant les valences diphtérie, tétanos, polio

Population cible	Valences vaccinales	Spécialités	Laboratoire exploitant
HEXAVALENTS			
Nourrissons	Diphtérie, Tétanos, Polio, Coqueluche, Haemophilus influenzae b, Hépatite B	Infanrix Hexa	Glaxosmithkline
PENTAVALENTS			
Nourrissons	Diphtérie, Tétanos, Polio, Coqueluche, Haemophilus influenzae b	Infanrix Quinta	Glaxosmithkline
		Pentavac	Sanofi Pasteur
TETRAVALENTS			
Primovaccination et rappel chez l'enfant jusqu'à 13 ans (diphtérie à 30 UI/dose)	Diphtérie, Tétanos, Polio, Coqueluche	Infanrix Tetra	Glaxosmithkline
		Tetravac	Sanofi Pasteur
Rappel chez l'adulte vacciné antérieurement (quantité d'anatoxine diphtérique réduite à 2 UI/dose)	diphtérie, Tétanos, Polio, Coqueluche	Repevax	Sanofi Pasteur
		Boostrix Tetra	Glaxosmithkline
TRIVALENTS			
Rappel chez l'adulte vacciné antérieurement (quantité d'anatoxine diphtérique réduite à 2 UI/dose)	diphtérie, Tétanos, Polio	Revaxis	Glaxosmithkline

BIBLIOGRAPHIE

- [1] E. Espinosa and P. Chillet, *Immunologie*, Ellipses. 2010.
- [2] R. Medzhitov, P. Preston-Hurlburt, and C. A. Janeway, "A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity," *Nature*, vol. 388, no. 6640, pp. 394–397, 1997.
- [3] J.-L. Imler and J. A. Hoffmann, "Toll receptors in innate immunity," *Trends Cell Biol.*, vol. 11, no. 7, pp. 304–311, 2001.
- [4] T. Gicquel, "Implication des récepteurs purinergiques dans l'activation de l'inflammasome NLRP3 dans les macrophages," Université de Rennes 1, 2014.
- [5] N. Ajjan, *La vaccination - Manuel pratique de tous les vaccins*, Masson. 2009.
- [6] M. O. C. Ota, J. Vekemans, S. E. Schlegel-Haueter, K. Fielding, H. Whittle, P.-H. Lambert, K. P. W. McAdam, C.-A. Siegrist, and A. Marchant, "Hepatitis B immunisation induces higher antibody and memory Th2 responses in new-borns than in adults," *Vaccine*, vol. 22, no. 3–4, pp. 511–519, 2004.
- [7] G. Ramon, "Sur l'augmentation anormale de l'antitoxine chez les chevaux producteurs de sérum antidiphthériques," *Bull. Société Cent. Médecine Vét.*, no. 101, pp. 227–234, 1925.
- [8] R. L. Coffman, A. Sher, and R. A. Seder, "Vaccine Adjuvants : Putting Innate Immunity to Work," *Immunity*, vol. 33, no. 4, pp. 492–503, 2010.
- [9] N. Garçon, P. Stern, T. Cunningham, and L. Stanberry, *Understanding Modern Vaccines : Perspectives in Vaccinology*, Elsevier. 2011.
- [10] J. Gaudelus, *Vaccinologie*, Doin. 2008.
- [11] P. Marrack, A. S. McKee, and M. W. Munks, "Towards an understanding of the adjuvant action of aluminium," *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 9, no. 4, pp. 287–293, 2009.
- [12] A. A. Paneque-Quevedo, "Inorganic compounds as vaccine adjuvants," *Biotechnol. Apl.*, vol. 30, pp. 250–256, 2013.
- [13] S. L. Hem, C. T. Johnston, and H. HogenEsch, "Imject® Alum is not aluminum hydroxide adjuvant or aluminum phosphate adjuvant," *Vaccine*, vol. 25, no. 27, pp. 4985–4986, 2007.

- [14] R. C. Rowe, P. J. Sheskey, and M. E. Quinn, *Handbook of pharmaceutical excipients*, Sixth edition. Pharmaceutical Press, 2009.
- [15] Haut Conseil de la Santé Publique, “Aluminium et vaccins,” 2013.
- [16] J. Brewer, “(How) do aluminium adjuvants work?,” *Immunol. Lett.*, vol. 102, no. 1, pp. 10–15, 2006.
- [17] S. M. Noe, M. A. Green, H. HogenEsch, and S. L. Hem, “Mechanism of immunopotentiality by aluminum-containing adjuvants elucidated by the relationship between antigen retention at the inoculation site and the immune response,” *Vaccine*, vol. 28, no. 20, pp. 3588–3594, 2010.
- [18] B. Hansen, A. Sokolovska, H. HogenEsch, and S. L. Hem, “Relationship between the strength of antigen adsorption to an aluminum-containing adjuvant and the immune response,” *Vaccine*, vol. 25, no. 36, pp. 6618–6624, 2007.
- [19] G. L. Morefield, A. Sokolovska, D. Jiang, H. HogenEsch, J. P. Robinson, and S. L. Hem, “Role of aluminum-containing adjuvants in antigen internalization by dendritic cells in vitro,” *Vaccine*, vol. 23, no. 13, pp. 1588–1595, 2005.
- [20] I. Z. Romero Méndez, Y. Shi, H. HogenEsch, and S. L. Hem, “Potentiation of the immune response to non-adsorbed antigens by aluminum-containing adjuvants,” *Vaccine*, vol. 25, no. 5, pp. 825–833, 2007.
- [21] I. Berthold, M.-L. Pombo, L. Wagner, and J. L. Arciniega, “Immunogenicity in mice of anthrax recombinant protective antigen in the presence of aluminum adjuvants,” *Vaccine*, vol. 23, no. 16, pp. 1993–1999, 2005.
- [22] C. Gourier-Fréry and N. Fréry, “Aluminium,” *EMC - Toxicol.-Pathol.*, vol. 1, no. 3, pp. 79–95, 2004.
- [23] INVS, AFSSA, and AFSSAPS, “Evaluation des risques sanitaires liés à l’exposition de la population française à l’aluminium,” 2003.
- [24] N. D. Priest, R. J. Talbot, J. G. Austin, J. P. Day, S. J. King, K. Fifield, and R. G. Cresswell, “The bioavailability of ²⁶Al-labelled aluminium citrate and aluminium hydroxide in volunteers,” *Biometals*, vol. 9, no. 3, pp. 221–228, 1996.
- [25] AFSSAPS, “Evaluation du risque lié à l’utilisation de l’aluminium dans les produits cosmétiques,” 2011.

- [26] C. Steinhausen, G. Kislinger, C. Winklhofer, E. Beck, C. Hohl, E. Nolte, T. H. Ittel, and M. J. L. Alvarez-Brückmann, "Investigation of the aluminium biokinetics in humans: a ²⁶Al tracer study," *Food Chem. Toxicol.*, vol. 42, no. 3, pp. 363–371, 2004.
- [27] N. D. Priest, D. Newton, J. P. Day, R. J. Talbot, and A. J. Warner, "Human metabolism of aluminium-26 and gallium-67 injected as citrates," *Hum. Exp. Toxicol.*, vol. 14, no. 3, pp. 287–293, 1995.
- [28] R. Flarend, S. Hem, J. White, D. Elmore, M. Suckow, A. Rudy, and E. Dandashli, "In vivo absorption of aluminium-containing vaccine adjuvants using ²⁶Al," *Vaccine*, vol. 15, pp. 1314–1318, 1997.
- [29] S. L. Hem, "Elimination of aluminum adjuvants," *Vaccine*, vol. 20, pp. S40–S43, 2002.
- [30] H. HogenEsch, "Mechanisms of stimulation of the immune response by aluminum adjuvants," *Vaccine*, vol. 20, pp. S34–S39, 2002.
- [31] B. N. Lambrecht, M. Kool, M. A. Willart, and H. Hammad, "Mechanism of action of clinically approved adjuvants," *Curr. Opin. Immunol.*, vol. 21, no. 1, pp. 23–29, 2009.
- [32] A. Sokolovska, S. Hem, and H. Hogenesch, "Activation of dendritic cells and induction of CD4+ T cell differentiation by aluminum-containing adjuvants," *Vaccine*, vol. 25, no. 23, pp. 4575–4585, 2007.
- [33] M. B. Jordan, D. M. Mills, J. Kappler, P. Marrack, and J. C. Cambier, "Promotion of B cell immune responses via an alum-induced myeloid cell population," *Science*, vol. 304, no. 5678, pp. 1808–1810, 2004.
- [34] A. S. McKee, M. MacLeod, J. White, F. Crawford, J. W. Kappler, and P. Marrack, "Gr1+IL-4-producing innate cells are induced in response to Th2 stimuli and suppress Th1-dependent antibody responses," *Int. Immunol.*, vol. 20, no. 5, pp. 659–669, 2008.
- [35] S. C. Eisenbarth, O. R. Colegio, W. O'Connor, F. S. Sutterwala, and R. A. Flavell, "Crucial role for the Nalp3 inflammasome in the immunostimulatory properties of aluminium adjuvants," *Nature*, vol. 453, no. 7198, pp. 1122–1126, 2008.
- [36] M. Kool, V. Petrilli, T. De Smedt, A. Rolaz, H. Hammad, M. van Nimwegen, I. M. Bergen, R. Castillo, B. N. Lambrecht, and J. Tschopp, "Cutting Edge : Alum Adjuvant Stimulates Inflammatory Dendritic Cells through Activation of the NALP3 Inflammasome," *J. Immunol.*, vol. 181, no. 6, pp. 3755–3759, 2008.
- [37] K. Serre, C. Bénézech, G. Desanti, S. Bobat, K.-M. Toellner, R. Bird, S. Chan, P. Kastner, A. F. Cunningham, I. C. M. MacLennan, and E. Mohr, "Helios Is Associated with CD4 T

Cells Differentiating to T Helper 2 and Follicular Helper T Cells In Vivo Independently of Foxp3 Expression," *PLoS ONE*, vol. 6, no. 6, p. e20731, 2011.

- [38] K. Serre, E. Mohr, C. Bénézech, R. Bird, M. Khan, J. H. Caamano, A. F. Cunningham, and I. C. M. MacLennan, "Selective effects of NF- κ B1 deficiency in CD4+ T cells on Th2 and TFh induction by alum-precipitated protein vaccines," *Eur. J. Immunol.*, vol. 41, no. 6, pp. 1573–1582, 2011.
- [39] L. Lin, A. S. Ibrahim, X. Xu, J. M. Farber, V. Avanesian, B. Baquir, Y. Fu, S. W. French, J. E. Edwards, and B. Spellberg, "Th1-Th17 Cells Mediate Protective Adaptive Immunity against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* Infection in Mice," *PLoS Pathog.*, vol. 5, no. 12, p. e1000703, 2009.
- [40] H. HogenEsch, A. Dunham, B. Hansen, K. Anderson, J.-F. Maisonneuve, and S. L. Hem, "Formulation of a killed whole cell pneumococcus vaccine-effect of aluminum adjuvants on the antibody and IL-17 response," *J. Immune Based Ther. Vaccines*, vol. 9, no. 1, p. 5, 2011.
- [41] A. T. Glenny, G. A. H. Buttle, and M. F. Stevens, "Rate of disappearance of diphtheria toxoid injected into rabbits and guinea-pigs: Toxoid precipitated with alum," *J. Pathol. Bacteriol.*, vol. 34, no. 2, pp. 267–275, 1931.
- [42] W. T. Harrison, "Some Observations on the Use of Alum Precipitated Diphtheria Toxoid*," *Am. J. Public Health Nations Health*, vol. 25, no. 3, pp. 298–300, 1935.
- [43] L. B. Holt, *Developments in diphtheria prophylaxis.*, London, Heinemann. 1950.
- [44] S. Hutchison, R. A. Benson, V. B. Gibson, A. H. Pollock, P. Garside, and J. M. Brewer, "Antigen depot is not required for alum adjuvanticity," *FASEB J.*, vol. 26, no. 3, pp. 1272–1279, 2012.
- [45] N. Goto and K. Akama, "Histopathological Studies of Reactions in Mice Injected with Aluminum-Adsorbed Tetanus Toxoid," *Microbiol. Immunol.*, vol. 26, no. 12, pp. 1121–1132, 1982.
- [46] N. Goto, H. Kato, J. Maeyama, M. Shibano, T. Saito, J. Yamaguchi, and S. Yoshihara, "Local tissue irritating effects and adjuvant activities of calcium phosphate and aluminium hydroxide with different physical properties.," *Vaccine*, no. 15, pp. 1364–1371, 1997.
- [47] M. Ulanova, A. Tarkowski, M. Hahn-Zoric, and L. A. Hanson, "The Common Vaccine Adjuvant Aluminum Hydroxide Up-Regulates Accessory Properties of Human Monocytes

- via an Interleukin-4-Dependent Mechanism," *Infect. Immun.*, vol. 69, no. 2, pp. 1151–1159, 2001.
- [48] H. Li, S. Nookala, and F. Re, "Aluminum Hydroxide Adjuvants Activate Caspase-1 and Induce IL-1 and IL-18 Release," *J. Immunol.*, vol. 178, no. 8, pp. 5271–5276, 2007.
- [49] L. Franchi and G. Núñez, "The Nlrp3 inflammasome is critical for aluminium hydroxide-mediated IL-1 β secretion but dispensable for adjuvant activity," *Eur. J. Immunol.*, vol. 38, no. 8, pp. 2085–2089, 2008.
- [50] H. Li, S. B. Willingham, J. P.-Y. Ting, and F. Re, "Cutting Edge: Inflammasome Activation by Alum and Alum's Adjuvant Effect Are Mediated by NLRP3," *J. Immunol.*, vol. 181, no. 1, pp. 17–21, 2008.
- [51] V. Hornung, F. Bauernfeind, A. Halle, E. O. Samstad, H. Kono, K. L. Rock, K. A. Fitzgerald, and E. Latz, "Silica crystals and aluminum salts activate the NALP3 inflammasome through phagosomal destabilization," *Nat. Immunol.*, vol. 9, no. 8, pp. 847–856, 2008.
- [52] M. Kool, T. Soullie, M. van Nimwegen, M. A. M. Willart, F. Muskens, S. Jung, H. C. Hoogsteden, H. Hammad, and B. N. Lambrecht, "Alum adjuvant boosts adaptive immunity by inducing uric acid and activating inflammatory dendritic cells," *J. Exp. Med.*, vol. 205, no. 4, pp. 869–882, 2008.
- [53] N. J. Bishop, R. Morley, J. P. Day, and A. Lucas, "Aluminum neurotoxicity in preterm infants receiving intravenous-feeding solutions," *N. Engl. J. Med.*, vol. 336, no. 22, pp. 1557–1562, 1997.
- [54] A. Batista-Duharte, D. Portuondo, I. Z. Carlos, and O. Pérez, "An approach to local immunotoxicity induced by adjuvanted vaccines," *Int. Immunopharmacol.*, vol. 17, no. 3, pp. 526–536, 2013.
- [55] M. S. Petrik, M. C. Wong, R. C. Tabata, R. F. Garry, and C. A. Shaw, "Aluminum Adjuvant Linked to Gulf War Illness Induces Motor Neuron Death in Mice," *NeuroMolecular Med.*, vol. 9, no. 1, pp. 83–100, 2007.
- [56] C. A. Shaw and M. S. Petrik, "Aluminum hydroxide injections lead to motor deficits and motor neuron degeneration," *J. Inorg. Biochem.*, vol. 103, no. 11, pp. 1555–1562, 2009.
- [57] Y. Shoenfeld and N. Agmon-Levin, "'ASIA' – Autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants," *J. Autoimmun.*, vol. 36, no. 1, pp. 4–8, 2011.

- [58] R. K. Gherardi, M. Coquet, P. Chérin, L. Belec, P. Moretto, P. Dreyfus, J. F. Pellissier, P. Chariot, and F. J. Authier, "Macrophagic myofasciitis lesions assess long-term persistence of vaccinederived aluminium hydroxide in muscle," *Brain*, vol. 124, pp. 1821–1831, 2001.
- [59] R. K. Gherardi, M. Coquet, P. Cherin, F. J. Authier, P. Laforet, L. Belec, D. Figarella-Branger, J. M. Mussini, J. F. Pellissier, and M. Fardeau, "Macrophagic myofasciitis: an emerging entity," *The Lancet*, vol. 352, no. 9125, pp. 347–352, 1998.
- [60] World Health Organization, "Macrophagic myofasciitis and aluminium-containing vaccines," *Vaccine Safety Advisory Committee*, 74, 1999.
- [61] INVS, "Myofasciite à macrophage : rapport d'investigation exploratoire," 2001.
- [62] CHU de Bordeaux and AFSSAPS, "Etude épidémiologique exploratoire de la myofasciite à macrophages," 2003.
- [63] F.-J. Authier, S. Sauvat, J. Champey, I. Drogou, M. Coquet, and R. K. Gherardi, "Chronic fatigue syndrome in patients with macrophagic myofasciitis," *Arthritis Rheum.*, vol. 48, no. 2, pp. 569–570, 2003.
- [64] World Health Organization, "Aluminium-containing vaccines and macrophagic myofasciitis," *Vaccine Safety Advisory Committee*, 79, 2004.
- [65] AFSSAPS, "Myofasciite à macrophages, 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," 2004.
- [66] F. Verdier, R. Burnett, C. Michelet-Habchi, P. Moretto, F. Fievet-Groyne, and E. Sauzeat, "Aluminium assay and evaluation of the local reaction at several time points after intramuscular administration of aluminium containing vaccines in the Cynomolgus monkey," *Vaccine*, vol. 23, no. 11, pp. 1359–1367, 2005.
- [67] M. Couette, M.-F. Boisse, P. Maison, P. Brugieres, P. Cesaro, X. Chevalier, R. K. Gherardi, A.-C. Bachoud-Levi, and F.-J. Authier, "Long-term persistence of vaccine-derived aluminum hydroxide is associated with chronic cognitive dysfunction," *J. Inorg. Biochem.*, vol. 103, no. 11, pp. 1571–1578, 2009.
- [68] E. Passeri, C. Villa, M. Couette, E. Itti, P. Brugieres, P. Cesaro, R. K. Gherardi, A.-C. Bachoud-Levi, and F.-J. Authier, "Long-term follow-up of cognitive dysfunction in patients with aluminum hydroxide-induced macrophagic myofasciitis (MMF)," *J. Inorg. Biochem.*, vol. 105, no. 11, pp. 1457–1463, 2011.

- [69] Z. Khan, C. Combadière, F.-J. Authier, V. Itier, F. Lux, C. Exley, M. Mahrouf-Yorgov, X. Decrouy, P. Moretto, O. Tillement, R. K. Gherardi, and J. Cadusseau, "Slow CCL2-dependent translocation of biopersistent particles from muscle to brain," *BMC Med.*, no. 11, p. 99, 2013.
- [70] F.-J. Authier and R. K. Gherardi, "Myofasciite à macrophages : état des connaissances," *Rev. Neurol. (Paris)*, vol. 163, no. 10, pp. 985–993, 2007.
- [71] P. Chérin, P. Laforêt, R. K. Ghérardi, F. J. Authier, M. Coquet, T. Maisonobe, J. M. Mussini, J. F. Pellissier, and S. et le Herson, "La myofasciite à macrophages: description, hypothèses étiopathogéniques," *Rev. Médecine Interne*, vol. 20, no. 6, pp. 483–489, 1999.
- [72] M. COQUET, "Myofasciite à Macrophages," *Kinésithérapie Rev.*, no. 79, pp. 16–21, 2008.
- [73] A. Shivane, D. A. Hilton, R. M. Moate, P. R. Bond, and A. Endean, "Macrophagic myofasciitis: a report of second case from UK," *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, vol. 38, no. 7, pp. 734–736, 2012.
- [74] E. Hewer and H. H. Goebel, "Myopathology of non-infectious inflammatory myopathies – The current status," *Pathol. - Res. Pract.*, vol. 204, no. 9, pp. 609–623, 2008.
- [75] G. Bassez, F.-J. Authier, E. Lechapt-Zalcman, M. H. Delfau-Larue, A. Plonquet, M. Coquet, I. Illa, and R. K. Gherardi, "Inflammatory myopathy with abundant macrophages (IMAM): a condition sharing similarities with cytophagic histiocytic panniculitis and distinct from macrophagic myofasciitis," *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, vol. 62, no. 5, pp. 464–474, 2003.
- [76] F.-J. Authier, S. Sauvat, C. Christov, P. Chariot, G. Raisbeck, M.-F. Poron, F. Yiou, and R. Gherardi, "Al(OH)₃-adjuvanted vaccine-induced macrophagic myofasciitis in rats is influenced by the genetic background," *Neuromuscul. Disord.*, vol. 16, no. 5, pp. 347–352, 2006.
- [77] P. Chérin, S. Pelletier, P. Laforêt, A. Teixeira, C. Chantalat-Augier, O. Benveniste, A. Simon, B. Eymard, and S. Herson, "Statut immunologique au cours de la myofasciite à macrophages," *Rev. Médecine Interne*, vol. 22, suppl 1, p. 61, 2001.
- [78] R. K. Gherardi, A. Plonquet, C. Andre, L. Intrator, F. Poron, M. Coquet, and F.-J. Authier, "Macrophagic myofasciitis : evidence for chronic local and systemic immune

activation associated with persistence of aluminum hydroxide-loaded macrophages in muscle [abstract],” *Neurology*, vol. 56 (suppl 3), no. 8, p. A62 (P01.121), 2001.

- [79] C. Exley, L. Swarbrick, R. K. Gherardi, and F.-J. Authier, “A role for the body burden of aluminium in vaccine-associated macrophagic myofasciitis and chronic fatigue syndrome,” *Med. Hypotheses*, vol. 72, no. 2, pp. 135–139, 2009.
- [80] P. Chérin, F.-J. Authier, R. K. Gherardi, P. Laforêt, B. Eymard, S. Herson, and N. Caillaat-vigneron, “Gallium-67 scintigraphy in macrophagic myofasciitis,” *Arthritis Rheum.*, vol. 43, no. 7, pp. 1520–1526, 2000.
- [81] M. Rigolet, J. Aouizerate, M. Couette, N. Rangunathan-Thangarajah, M. Aoun-Sebaiti, R. K. Gherardi, J. Cadusseau, and F.-J. Authier, “Clinical Features in Patients with Long-Lasting Macrophagic Myofasciitis,” *Front. Neurol.*, vol. 5, 2014.
- [82] L. Douay and E. Serra, “Prise en charge de la douleur au cours de la Myofasciite à Macrophages,” *Kinésithérapie Rev.*, vol. 8, no. 79, pp. 37–39, 2008.
- [83] N. Rangunathan-Thangarajah, C. Le Beller, P. Boutouyrie, G. Bassez, R. K. Gherardi, S. Laurent, and F.-J. Authier, “Distinctive clinical features in arthro-myalgic patients with and without aluminum hydroxyde-induced macrophagic myofasciitis: An exploratory study,” *J. Inorg. Biochem.*, vol. 128, pp. 262–266, 2013.
- [84] F.-J. Authier, P. Cherin, A. Creange, B. Bonnotte, X. Ferrer, A. Abdelmoumni, and R. K. Gherardi, “Central nervous system disease in patients with macrophagic myofasciitis,” *Brain*, vol. 124, pp. 974–983, 2001.
- [85] P. Chérin, D. Menard, P. Mouton, J. . Viillard, C. Le Hello, F.-J. Authier, R. K. Gherardi, M. Coquet, S. Herson, and J. . Leroi, “Macrophagic myofasciitis associated with inclusion body myositis : a report of three cases,” *Neuromuscul. Disord.*, vol. 11, pp. 452–457, 2001.
- [86] E. Lazaro, M.-S. Doutre, M. Coquet, S. Bouillot, M. Beylot-Barry, and C. Beylot, “Coexistence d’une dermatomyosite et d’une myofasciite à macrophages,” *Presse Médicale*, vol. 34, no. 6, pp. 438–440, 2005.
- [87] R. K. Gherardi and F.-J. Authier, “Aluminum inclusion macrophagic myofasciitis: a recently identified condition,” *Immunol. Allergy Clin. North Am.*, vol. 23, no. 4, pp. 699–712, 2003.

- [88] E. Israeli, N. Agmon-Levin, M. Blank, and Y. Shoenfeld, "Macrophagic Myofasciitis a Vaccine (alum) Autoimmune-Related Disease," *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, vol. 41, no. 2, pp. 163–168, 2010.
- [89] S. J. Van Rensburg, F. C. V. Potocnik, T. Kiss, F. Hugo, P. Van Zijl, E. Mansvelt, M. E. Carstens, P. Theodorou, P. R. Hurly, R. A. Emsley, and others, "Serum concentrations of some metals and steroids in patients with chronic fatigue syndrome with reference to neurological and cognitive abnormalities," *Brain Res. Bull.*, vol. 55, no. 2, pp. 319–325, 2001.
- [90] C. C. Chao, M. Gallagher, J. Phair, and P. K. Peterson, "Serum neopterin and interleukin-6 levels in chronic fatigue syndrome," *J. Infect. Dis.*, vol. 162, no. 6, pp. 1412–1413, 1990.
- [91] D. Buchwald, M. H. Wener, T. Pearlman, and P. Kith, "Markers of inflammation and immune activation in chronic fatigue and chronic fatigue syndrome," *J. Rheumatol.*, vol. 24, no. 2, pp. 372–376, 1997.
- [92] S. Gupta, S. Aggarwal, D. See, and A. Starr, "Cytokine production by adherent and non-adherent mononuclear cells in chronic fatigue syndrome," *J. Psychiatr. Res.*, vol. 31, no. 1, pp. 149–156, 1997.
- [93] K. Konstantinov, A. von Mikecz, D. Buchwald, J. Jones, L. Gerace, and E. M. Tan, "Autoantibodies to nuclear envelope antigens in chronic fatigue syndrome," *J. Clin. Invest.*, vol. 98, no. 8, pp. 1888–1896, 1996.
- [94] S. Appel, J. Chapman, and Y. Shoenfeld, "Infection and vaccination in chronic fatigue syndrome: Myth or reality?," *Autoimmunity*, vol. 40, no. 1, pp. 48–53, 2007.
- [95] S. Guis, J.-F. Pellissier, F. Nicoli, D. Reviron, J.-P. Mattei, R. K. Gherardi, J. Pelletier, G. Kaplanski, D. Figarella-Branger, and J. Roudier, "HLA-DRB1*01 and macrophagic myofasciitis," *Arthritis Rheum.*, vol. 46, no. 9, pp. 2535–2537, 2002.
- [96] S. Guis, J. P. Mattei, F. Nicoli, J. F. Pellissier, G. Kaplanski, D. Figarella-Branger, G. C. Manez, G. M. Antipoff, and J. Roudier, "Identical twins with macrophagic myofasciitis: Genetic susceptibility and triggering by aluminic vaccine adjuvants?," *Arthritis Rheum.*, vol. 47, no. 5, pp. 543–545, 2002.
- [97] Z. Amoura, N. Costedoat, T. Maisonobe, P. Godeau, and J. Piette, "Familial macrophagic myofasciitis," *Ann. Rheum. Dis.*, vol. 59, no. 11, p. 926, 2000.

- [98] R. K. Gherardi, H. Eidi, G. Crépeaux, F. J. Authier, and J. Cadusseau, "Biopersistence and Brain Translocation of Aluminum Adjuvants of Vaccines," *Front. Neurol.*, vol. 6, 2015.
- [99] J. Cadusseau, N. Raganathan-Thangarajah, M. Surenaud, S. Hue, F.-J. Authier, and R. K. Gherardi, "Selective Elevation of Circulating CCL2/MCP1 Levels in Patients with Longstanding Post-vaccinal Macrophagic Myofasciitis and ASIA," *Curr. Med. Chem.*, no. 21, pp. 511–517, 2014.
- [100] R. A. Yokel, "Brain uptake, retention, and efflux of aluminum and manganese," *Environ. Health Perspect.*, vol. 110, no. Suppl 5, pp. 699–704, 2002.
- [101] Y. Song, Y. Xue, X. Liu, P. Wang, and L. Liu, "Effects of acute exposure to aluminum on blood–brain barrier and the protection of zinc," *Neurosci. Lett.*, vol. 445, no. 1, pp. 42–46, 2008.
- [102] ANSM, "Surveillance des vaccins à l'ANSM," 2014.
- [103] D. A. Simpson, "Systemic histiocytosis presenting as macrophagic myofasciitis," *J. Clin. Neuromuscul. Dis.*, vol. 4, no. 1, pp. 19–22, 2002.
- [104] B. J. Theeler, N. B. Simper, and J. P. Ney, "Polyglandular autoimmunity with macrophagic myofasciitis," *Clin. Rheumatol.*, vol. 27, no. 5, pp. 667–669, 2008.
- [105] J. Park, K. Na, Y. Park, S. Paik, and D. Yoo, "Macrophagic myofasciitis unrelated to vaccination," *Scand. J. Rheumatol.*, vol. 34, no. 1, pp. 65–67, 2005.
- [106] D. Fischer, J. Reimann, and R. Schröder, "Macrophagic myofasciitis: inflammatory, vaccination-associated muscular disease," *Dtsch. Med. Wochenschr. 1946*, vol. 128, no. 44, pp. 2305–2308, 2003.
- [107] A. Bornemann, J. Bohl, H.-M. Schneider, H. H. Goebel, P. F. Schmidt, and R. K. Gherardi, "July 2003: 62-year-old female with progressive muscular weakness.," *Brain Pathol.*, vol. 14, no. 1, pp. 109–110, 2003.
- [108] M. Shingde, J. Hughes, R. Boadle, E. J. Wills, and R. Pamphlett, "Macrophagic myofasciitis associated with vaccine-derived aluminium," *Med. J. Aust.*, vol. 183, no. 3, pp. 145–146, 2005.
- [109] A. M. Ryan, N. Bermingham, H. J. Harrington, and C. Keohane, "Atypical presentation of macrophagic myofasciitis 10 years post vaccination," *Neuromuscul. Disord.*, vol. 16, no. 12, pp. 867–869, 2006.

- [110] J. Polido Pereira, C. Barroso, T. Evangelista, J. E. Fonseca, and J. A. Pereira da Silva, "Macrophagic myofasciitis: a case report of autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA)," *Acta Reumatol. Port.*, vol. 36, pp. 75–76, 2011.
- [111] D. Crooks, S. Roy-Choudhury, and R. J. . Bartlett, "Macrophagic myofasciitis in Britain," presented at the Centenary Meeting of the British Neuropathological Society, Londres, 2001, vol. 27, p. 158.
- [112] B. Lach and E. J. Cupler, "Macrophagic myofasciitis in children is a localized reaction to vaccination," *J. Child Neurol.*, vol. 23, no. 6, pp. 614–619, 2008.
- [113] R. K. Kalil, A. Monteiro, M. I. Lima, E. B. Silveira, F. S. S. Foltran, C. E. S. Martins, and I. M. Rizzo, "Macrophagic Myofasciitis in Childhood: The Role of Scanning Electron Microscopy/Energy-Dispersive Spectroscopy for Diagnosis," *Ultrastruct. Pathol.*, vol. 31, no. 1, pp. 45–50, 2007.
- [114] K. Gruis, J. Teener, and Blaivas M, "Pediatric macrophagic myofasciitis associated with motor delay," *Clin. Neuropathol.*, vol. 25, no. 4, pp. 172–179, 2006.
- [115] A. G. Lacson, C. A. D'Cruz, E. Gilbert-Barness, L. Sharer, S. Jacinto, and R. Cuenca, "Aluminum phagocytosis in quadriceps muscle following vaccination in children : relationship to macrophagic myofasciitis," *Pediatr. Dev. Pathol. Off. J. Soc. Pediatr. Pathol. Paediatr. Pathol. Soc.*, vol. 5, no. 2, pp. 151–158, 2002.
- [116] E. Rivas, M. Gómez-Arnáiz, J. R. Ricoy, F. Mateos, R. Simón, J. J. García-Peñas, M. T. Garcia-Silva, E. Martín, M. Vázquez, A. Ferreiro, and A. Cabello, "Macrophagic Myofasciitis in Childhood: A Controversial Entity," *Pediatr. Neurol.*, vol. 33, no. 5, pp. 350–356, 2005.
- [117] A. Di Muzio, M. Capasso, A. Verrotti, D. Trotta, S. Lupo, N. Pappalepore, C. Manzoli, F. Chiarelli, and A. Uncini, "Macrophagic myofasciitis: an infantile Italian case," *Neuromuscul. Disord.*, vol. 14, no. 2, pp. 175–177, 2004.
- [118] Y. Nevo, M. Kutai, J. Jossiphov, A. Livne, Z. Neeman, T. Arad, R. Popovitz-Biro, J. Atsmon, Y. Shapira, and D. Soffer, "Childhood macrophagic myofasciitis—consanguinity and clinicopathological features," *Neuromuscul. Disord.*, vol. 14, no. 4, pp. 246–252, 2004.
- [119] H. D. Müller, F. K. H. van Landeghem, P. F. Schmidt, C. Sommer, and H. H. Goebel, "Macrophagic myofasciitis plus (distinct types of muscular dystrophy)," *Neuropediatrics*, vol. 40, no. 4, pp. 174–178, 2009.

- [120] A. Guimezanes and M. Mathieu, *Vaccination : agression ou protection ?*, Le muscadier. 2015.
- [121] World Health Organization, "Couverture vaccinale - Aide mémoire n°378," *WHO*, 2015. [En ligne]. Disponible sur : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs378/fr/>. [Consulté le : 23/09/2015].
- [122] Ministère des Affaires sociales, de la Santé et des Droits des femmes, "Calendrier des vaccinations et recommandations vaccinales 2015," 2015.
- [123] P. Grézard, "Accidents de la vaccination contre l'hépatite B : à propos de 9 cas observés de début 1994 à fin 1995," Faculté de médecine Lyon Grange-Blanche, 1996.
- [124] P. Calès, "Vaccination anti-hépatite B et effets secondaires graves: ne pas confondre séquence et conséquence," 2008.
- [125] A. J. Wakefield, S. H. Murch, A. Anthony, J. Linnell, D. M. Casson, M. Malik, M. Berelowitz, A. P. Dhillon, M. A. Thomson, P. Harvey, A. Valentine, S. E. Davies, and J. A. Walker-Smith, "Ileal-lymphoid-nodular hyperplasia, non-specific colitis, and pervasive developmental disorder in children," *Lancet Lond. Engl.*, vol. 351, no. 9103, pp. 637–641, 1998.
- [126] ANSM, "Vaccins pandémiques grippe A (H1N1) et narcolepsie : Mise à jour de l'information sur les dernières données scientifiques- Point d'information," 19/09/2013.
- [127] ANSM, "Compte rendu de séance - Réunion du Comité technique de pharmacovigilance - CT012014023," 28/03/2014.
- [128] E3M, "Association Entraide aux Malades de Myofasciite à Macrophages." [En ligne]. Disponible sur : <http://www.myofasciite.fr/>.
- [129] Le Quotidien du Médecin, "Myofasciite à macrophages : les malades réclament une indemnisation équitable," 01/06/2015. [En ligne]. Disponible sur : http://www.lequotidiendumedecin.fr/actualites/article/2015/06/01/myofasciite-macrophages-les-malades-reclament-une-indemnisation-equitable_758156. [Consulté le : 02/06/2015].
- [130] ANSM, "Vaccin DTPolio® (Diphtérie-Tétanos-Poliomyélite) de Sanofi Pasteur MSD : suspension temporaire de distribution par mesure de précaution." 12-Jun-2008.
- [131] E3M, "Suspension du DTPolio sans aluminium : les preuves d'une falsification des données," 2013.
- [132] E3M, "E3M porte plainte pour 'faux et escroquerie,'" 2014.

- [133] OPECST, “Les adjuvants vaccinaux : une question controversée,” 2015.
- [134] C.-A. Siegrist, “Les adjuvants vaccinaux et la myofasciite à macrophages,” *Arch. Pédiatrie*, vol. 12, no. 1, pp. 96–101, 2005.
- [135] T. Papo, “Myofasciite à macrophages: maladie systémique ou tatouage post-vaccinal?,” *Rev. Neurol. (Paris)*, vol. 163, no. 10, pp. 981–984, 2007.
- [136] C.-A. Siegrist, “Les adjuvants vaccinaux et la myofasciite à macrophages,” *Arch. Pédiatrie*, vol. 11, pp. 993–995, 2004.
- [137] P. Bégué, M. Girard, H. Bazin, and J.-F. Bach, “Les adjuvants vaccinaux: quelle actualité en 2012 ?,” Académie Nationale de Médecine, 2012.
- [138] Assemblée Nationale, “Synthèse des recommandations du groupe d’études sur la vaccination,” Assemblée Nationale, 2012.
- [139] H. Aggerbeck, C. Fenger, and I. Heron, “Booster vaccination against diphtheria and tetanus in man. Comparison of calcium phosphate and aluminium hydroxide as adjuvants—II,” *Vaccine*, vol. 13, no. 14, pp. 1366–1374, 1995.
- [140] H. Aggerbeck, J. Wantzin, and I. Heron, “Booster vaccination against diphtheria and tetanus in man. Comparison of three different vaccine formulations—III,” *Vaccine*, vol. 14, no. 13, pp. 1265–1272, 1996.
- [141] E3M, “DT Polio : des autorités sanitaires sous influence.” 2012.

MALÉ Clémentine

La myofasciite à macrophages et le rôle de l'aluminium d'origine vaccinal

Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie

Université de Picardie Jules Verne

Année 2016

Mots clefs : myofasciite, macrophages, adjuvants aluminiques, aluminium, vaccin

Résumé :

De nos jours, les adjuvants dérivés des sels d'aluminium sont les adjuvants les plus utilisés dans les vaccins. Ils bénéficient d'un long passé d'utilisation qui a largement contribué à démontrer leur efficacité à améliorer la réponse immunitaire aux antigènes vaccinaux. Bien qu'ils présentent un bon profil de tolérance au regard des nombreuses populations vaccinées, leur devenir après l'injection vaccinale et leur toxicité à long terme sont remis en question et font l'objet d'une controverse. Ils seraient notamment impliqués dans la myofasciite à macrophage, une nouvelle myopathie inflammatoire dont le diagnostic repose sur une biopsie musculaire mettant en évidence une lésion histologique caractéristique. Les symptômes présentés par les patients sont des myalgies, des arthralgies et une fatigue chronique. S'il est aujourd'hui reconnu que ce sont bien les adjuvants aluminiques des vaccins qui induisent la lésion musculaire, ils ne sont pour l'instant pas reliés à un syndrome clinique spécifique, la lésion n'étant pas elle-même associée aux symptômes présentés par les patients. Des zones d'ombres persistent donc dans la caractérisation de cette nouvelle maladie. De plus, certains résultats concernant une possible migration de l'aluminium du muscle et son accumulation dans le cerveau inquiètent. Ces préoccupations alimentent aujourd'hui un débat public mêlant intérêts de santé et intérêts financiers et réunissant citoyens, patients, industriels et chercheurs.

Abstract :

Aluminum adjuvants are the most used adjuvants of today's vaccines. They benefit from a long history of usage showing their efficiency in improving immune response to vaccinal antigens. Although they show a good tolerance regarding the large vaccinated population, their future after injection and their long-term toxicity are controversial and being questioned. They could be involved in the macrophagic myofasciitis, a new inflammatory myofasciitis. Diagnosis relies on a muscular biopsy highlighting a distinctive histological lesion. Affected patients reveal myalgias, arthralgias and a chronic fatigue. Even if it is accepted that aluminum adjuvants are indeed inducing the muscular lesion, they cannot be linked for now to a specific clinical syndrome. The lesion itself is not associated to the patients' symptoms. Grey areas persist in the characterization of this new illness. Moreover, certain results concerning a possible displacement of the aluminum and its accumulation in the brain are worrying. These concerns are feeding a public debate mixing health and financial stakes, bringing together citizens, patients, industrialists and researchers.

Jury :

Président : Madame le Professeur Théodora POPOVICI

Membre : Madame Pascale LEFEVRE

Membre : Monsieur Emmanuel BULLOT