

## COMMUNICATION

### **Bio-persistance et distribution systémique des particules injectées par voie intra-musculaire : quelle incidence sur la tolérance à long terme des adjuvants aluminiques ?**

MOTS-CLÉS: FASCIITE. ADJUVANTS IMMUNOLOGIQUES. HYDROXYDE D'ALUMINIUM

*Biopersistence and systemic distribution of intramuscularly injected particles: what impact on long-term tolerability of alum adjuvants?*

KEY-WORDS: FASCIITE. ADJUVANTS, IMMUNOLOGIC. ALUMINUM HYDROXIDE

Romain K. GHERARDI \*, Josette CADUSSEAU \*, François-Jérôme AUTHIER \*, \*\*

**Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en relation avec le contenu de cet article.**

## RÉSUMÉ

*L'oxyhydroxide d'aluminium (alum), un composé nano-cristallin formant des agglomérats, est utilisé pour ses propriétés d'adjuvant vaccinal depuis 1927. Les mécanismes par lesquels il stimule la réponse immune restent mal compris. Généralement bien toléré, l'alum pourrait cependant être à l'origine de troubles chroniques occasionnels chez des sujets prédisposés. De rares sujets vaccinés présentent des myalgies retardées et diffuses, un état d'épuisement chronique et des troubles cognitifs invalidants. Ces symptômes sont associés à la persistance prolongée (jusqu'à douze ans) de macrophages chargés en alum au site d'immunisations intramusculaires antérieures, constituant une lésion nommée myofasciite à macrophages (MFM). Les manifestations sont celles du syndrome de fatigue chronique/encéphalomyélite myalgique (CIM 10 G93.3 de l'OMS). Elles ont été utilisées comme paradigme du « syndrome auto-immun/inflammatoire induit par les adjuvants » (ASIA). Les troubles cognitifs stéréotypés rappellent ceux des travailleurs exposés aux particules d'aluminium inhalées. Des facteurs de susceptibilité individuelle sont probables, influant notamment sur*

\* Université Paris Est, Inserm, U955-E10, Faculté de Médecine, Créteil.

\*\* Hôpital H. Mondor, Centre de Référence Neuromusculaire GNMH, Créteil.

Tirés à part : Professeur Romain K. GHERARDI ; e-mail : romain.gherardi@hmn.aphp.fr

Article reçu le 7 août 2013, accepté le 7 octobre 2013

*la bio-persistance de l'adjuvant (particulièrement longue chez les patients), et sa diffusion à distance des points d'injection. Chez la souris des particules bio-persistantes, telles que des nano-hybrides aluminiques fluorescents, injectées dans le muscle sont en partie transportées à distance par des cellules de la lignée monocyttaire, d'abord vers les ganglions lymphatiques de drainage puis, probablement via le canal thoracique, vers la circulation sanguine, avec une accumulation retardée et progressive dans le cerveau (cellules microgliales). Quoique constante, la pénétration cérébrale reste extrêmement faible en conditions normales ce qui est cohérent avec la bonne tolérance générale à l'alum malgré son potentiel neurotoxique. Néanmoins, la biodistribution systémique et cérébrale des particules augmente considérablement sous l'influence de la signalisation MCP-1, chemoattractant majeur des monocytes, dont la production est sujette à des variations interindividuelles importantes liées à l'âge, et à des facteurs génétiques et environnementaux. Nous venons d'identifier l'élévation sélective du MCP-1 comme biomarqueur circulant de la MMF.*

## SUMMARY

*Aluminium oxyhydroxide (alum), a nanocrystalline compound that forms agglomerates, has been widely used as a vaccine adjuvant since 1927, but the mechanisms by which it stimulates immune responses remain poorly understood. Although generally well tolerated, alum may occasionally cause chronic health problems in presumably susceptible individuals. Some individuals may rarely develop delayed-onset diffuse myalgia, chronic exhaustion and cognitive dysfunction, associated with long-term persistence (up to 12 years) of alum-loaded macrophages at site of i.m. immunization, defining so-called macrophagic myofasciitis (MMF). Symptoms are consistent with the chronic fatiguelmyalgic encephalomyelitis (CFS/ME) syndrome, and have been used as a paradigm of the "autoimmunel inflammatory syndrome induced by adjuvants" (ASIA). Cognitive dysfunction is reminiscent of that described in workers exposed to inhaled Al particles. Individual susceptibility may influence both alum biopersistence and diffusion away from injection sites. Biopersistent particles such as fluorescent alum-coated nanohybrids, when injected into mouse muscle, are captured by monocyte-lineage cells and then carried to distant organs, draining lymph nodes and blood, probably via the thoracic duct, with delayed and accumulative translocation to the brain (microglial cells). Brain penetration occurs at extremely low levels in normal conditions, possibly explaining the good tolerance of alum despite its high neurotoxic potential. However, systemic diffusion is considerably enhanced by the potentiating effect of MCP-1, the main monocyte chemoattractant factor, the production of which is subject to marked variations linked to age and to genetic and environmental factors. Selective MCP-1 elevation is the only known circulating biomarker of MMF.*

## INTRODUCTION

Au cours du siècle dernier, des milliards d'hommes ont été vaccinés ce qui a permis une forte régression voire l'éradication de plusieurs maladies infectieuses particulièrement graves. L'application potentielle des vaccins s'étend maintenant bien au-delà de la seule prévention des maladies infectieuses ce qui promeut les stratégies vaccinales au rang des armes les plus prometteuses dans la lutte contre un nombre

sans cesse croissant de maladies. De façon générale, la sécurité vaccinale a été considérée comme excellente à l'échelon de la population mais des effets secondaires ont aussi été rapportés [1]. Compte tenu du développement considérable de la vaccination à l'échelle mondiale, des signaux ponctuels en la matière requièrent toute l'attention de la communauté médicale et scientifique même si leur intensité peut, *a priori*, paraître peu importante. Dans ce contexte, nous rapportons l'expérience de notre équipe pouvant susciter des interrogations sur l'innocuité à long terme des adjuvants aluminiques des vaccins.

En 1998, un consortium de myopathologistes français a décrit une condition émergente, de cause inconnue, caractérisée par une lésion pathognomonique à la biopsie musculaire, que nous avons appelée myofasciite à macrophages MFM [2]. Les macrophages, principal type cellulaire dans la lésion, renferment dans leur cytoplasme des agglomérats microniques de cristaux nanométriques. Ces inclusions, constamment détectées en microscopie électronique, entourées ou non de membranes altérées, correspondent à des particules d'aluminium [3]. La MFM est particulièrement détectée dans le muscle deltoïde et peut être différenciée, tant d'un point de vue clinique que pathologique, des histiocytoses infectieuses et des fasciites et panniculites dysimmunes diffuses [4]. L'apparence cristalline des inclusions est caractéristique des sels d'aluminium de forme hydroxyde. Les patients ont une fonction rénale normale, et aucune exposition particulière à l'aluminium autre que celle conférée par une immunisation préalable (100 %) par des vaccins contenant l'adjuvant (oxy)hydroxide d'aluminium (ou « alum ») utilisé pour stimuler les réponses immunes : vaccins contre l'hépatite B (VHB), l'hépatite A (HAV) ou la toxine tétanique (TT) [3]. Il est évident maintenant que l'émergence rapide de la MFM en France reflétait la combinaison de trois facteurs : 1) le remplacement au début des années 1990 de la voie sous-cutanée (s.c.) par la voie intramusculaire (i.m.) pour la vaccination ; 2) le développement à grande échelle, au même moment, de la primo-vaccination anti-VHB chez la population adulte française ; et 3) le choix du muscle deltoïde (également utilisé pour la vaccination i.m.) pour la biopsie musculaire de routine en France, alors que les muscles *biceps brachialis* et *quadriceps femoris* sont habituellement choisis dans la plupart des autres pays. La lésion MFM est maintenant universellement reconnue comme révélatrice d'une persistance durable de l'alum au site d'une immunisation i.m. préalable [5]. L'alum a toujours été considéré comme bien toléré sur la base d'observations sur le court terme, et la signification exacte de la détection de la MFM à long terme chez un patient demeure inexpliquée en raison 1) de manifestations cliniques apparemment peu spécifiques, qui bien sûr ne signifient pas qu'elles ne sont pas invalidantes ; et 2) le manque de lien évident entre la persistance des agglomérats d'alum dans les macrophages au site d'immunisation et le déclenchement retardé des manifestations systémiques et cliniques. La caractérisation du syndrome auto-immun/inflammatoire induit par les adjuvants (ASIA pour « Autoimmune/inflammatory Syndrome Induced by adjuvants ») [6] et la connaissance nouvelle de la biodistribution de particules à biodégradabilité lente prises en charge par les cellules de la lignée monocyttaire dans les

tissus périphériques fournissent les éléments pour une meilleure compréhension des effets secondaires rares de l'alum.

### **Histopathologie de la MFM**

La biopsie du muscle deltoïde montre des lésions stéréotypées, comportant une infiltration focale de l'épimysium, du périmysium et de l'endomysium périfasciculaire par des bandes cohésives et bien circonscrites de grandes cellules mononucléées de la lignée monocytes/macrophages, accompagnées d'une population lymphocytaire d'importance variable. La section de la lésion est d'une taille maximale observée de 1cm. Les sels d'aluminium sont colorés par l'hématéine, conférant un aspect basophile (bleu noir) au cytoplasme des macrophages sur les coupes congelées colorées par l'hématéine-éosine. Après fixation par le formol, en raison de réactions chimiques spécifiques, les macrophages présentent un contenu gris beige finement granulaire. Les macrophages sont toujours toujours bien colorés par l'acide périodique de Schiff (PAS) et la coloration de Morin pour l'aluminium. Des cellules T CD3<sup>+</sup>, et essentiellement CD8<sup>+</sup>, sont systématiquement observées formant souvent des manchons périvasculaires. Des lymphocytes B CD19<sup>+</sup> et des plasmocytes peuvent parfois être détectés, formant occasionnellement des follicules lymphoïdes. Aucune cellule géante multinuclée n'est détectée. Dans de rares cas (environ 1 %) le granulome peut se trouver entouré d'un épais tissu fibreux, et présenter une aire nécrotique centrale rappelant un nodule rhumatoïde. Les myofibres éloignées de l'infiltrat sont typiquement intactes, mais la MFM peut occasionnellement être associée à une dermatomyosite typique ou une myopathie nécrosante auto-immune. Aucun micro-organisme n'est détecté.

Des lésions similaires peuvent être détectées dans le *quadriceps* chez le nourrisson et l'enfant, en raison de l'utilisation de ce muscle pour les vaccinations pédiatriques. La lésion MFM qui peut être reproduite expérimentalement par la vaccination i.m. chez la souris, le rat et le singe [3, 7, 8], diminue progressivement avec le temps [7], et commence à disparaître après 6 mois [8]. Il est donc important de déterminer si la lésion persiste de façon inhabituelle, en récapitulant l'historique des vaccinations chez les patients biopsiés. Dans la pratique nous considérons que la lésion MFM est persistente quand la durée depuis la dernière immunisation jusqu'à la détection de la MFM est supérieure à 18 mois. Ce point est particulièrement important chez l'enfant jeune qui reçoit de nombreuses injections de vaccins aluminiques dans la première année de vie, ce qui augmente le risque d'associations fortuites. Le risque existe potentiellement chez l'adulte mais les patients porteurs d'une MFM chronique et d'une maladie héréditaire caractérisée représentent un pourcentage extrêmement faible des cas. L'administration s.c. de vaccins aluminiques peut causer des lésions différentes de la MFM mais également associées à des macrophages chargés d'aluminium, comme les pseudo-lymphomes cutanés chez l'homme [9], et le fibrosarcome chez le chat [10].

## **Du syndrome associé à la MFM à l'ASIA**

Selon l'association de malades plus de 1000 patients avec une MFM avérée ont été identifiés en France, mais en l'absence de registre dédié le chiffre exact des patients est inconnu. Des cas occasionnels ont été rapportés dans de nombreux pays [5]. La structure des symptômes est identique dans les cohortes indépendantes de patients français adultes [5]. Nous avons récemment réexaminé les dossiers de 583 patients adultes collectés dans notre centre entre 1994 et 2012. Les patients ont été soit examinés et biopsiés (n=352) à Créteil (Centre de Référence Neuromusculaire Garches-Necker-Mondor-Hendaye) soit transmis pour un suivi ou un examen complémentaire après détection de la MFM dans un autre hôpital français par l'un des myopathologistes qui a décrit la lésion (n=231).

La plupart des patients sont des femmes (70 %) d'âge moyen au moment de la biopsie (médiane 45 ans, extrêmes 12-83). Ils avaient reçu 1 à 17 administrations i.m. de vaccin contenant de l'aluminium (moyenne 5,3) dans les dix ans avant la détection de la MFM, et ceux-ci incluaient des vaccinations anti-VHB dans 89,7 % des cas, anti-tétanique dans 67,9 % des cas, et anti-VHA dans 14,1 % des cas.

Les patients se plaignaient dans la plupart des cas de myalgies diffuses chroniques supérieures à 6 mois (89 %), avec ou sans arthralgies, une fatigue chronique invalidante supérieure à 6 mois (77 %), des altérations cognitives manifestes affectant la mémoire et l'attention (51 %), et une dyspnée (50 %). Le début de ces symptômes cliniques était toujours retardé par rapport à l'immunisation, le temps médian après la dernière injection étant de 7 mois (extrêmes 0,5-84) pour les symptômes cliniques initiaux, et 11 mois (extrêmes 0-72) pour les premières myalgies [5]. Le temps écoulé entre la dernière administration vaccinale et la biopsie était d'une médiane de 65 mois (extrêmes 3-219). Comparé à nos points précédents, ce délai a progressivement augmenté (36 mois dans la série initiale de 2001, 53 mois dans la série de 2003) [5], indiquant que les patients MFM ont une maladie chronique, et, bien que souvent vaccinés à la fin des années 1990 ou début des années 2000, ont été diagnostiqués bien après le déclenchement des symptômes.

Les myalgies et la fatigue peuvent ne pas être synchrones. Le début des myalgies est souvent consécutif à un exercice d'intensité inhabituelle ; elles commencent en général au niveau des membres inférieurs [5], et presque jamais au site des injections vaccinales antérieures. Les myalgies s'étendent progressivement vers le haut du corps pour atteindre les muscles paravertébraux et devenir diffuses au moment de la biopsie [5]. On observe rarement une faiblesse musculaire authentique. Un électromyogramme myopathique et une élévation de la créatine kinase (CK) sont respectivement observés dans un peu moins de la moitié des patients. Contrairement aux patients fibromyalgiques, les patients porteurs de MFM ont rarement les 11 points douloureux des critères ACR de 1990 pour la fibromyalgie et ont fréquemment des potentiels évoqués visuels, auditifs et somesthésiques perturbés [12]. La scintigraphie au <sup>67</sup>gallium a montré une fixation anormale du radiomarqueur dans les régions douloureuses, le long des fascia des muscles des membres inférieurs et dans les tissus

para-articulaires chez tous les patients testés [11]. Ceci n'a pas été observé chez les fibromyalgiques utilisés comme témoins.

La fatigue, les troubles du sommeil avec un sommeil non réparateur, et parfois les maux de tête peuvent être très invalidant et ont fréquemment des répercussions graves sur la vie professionnelle et personnelle. Une étude cas-témoins menée par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS) sur la période antérieure à l'implication des vaccins à l'origine de la lésion a montré que la fatigue chronique était à la fois significativement plus fréquente et plus sévère chez les patients porteurs d'une MFM comparé à ceux sans MFM dans le deltoïde \*.

Prises individuellement, aucune des manifestations cliniques couramment associées à la MFM persistante n'est spécifique d'une cause donnée. Néanmoins, la combinaison entre myalgies chroniques, épuisement chronique et dysfonctions cognitives concorde avec un syndrome de fatigue chronique (SFC) [13]. Ce syndrome, également appelé encéphalomyélite myalgique (EM), est identifié à la rubrique maladies neurologiques de la classification internationale des maladies (CIM 10 G93.3 de l'OMS). Malgré la fréquence des arthromyalgies dans le SFC/EM et la possibilité de signes dépressifs associés, le SFC/EM est distingué de la fibromyalgie et de la psychasthénie par l'OMS qui en 2012 classe ces affections respectivement aux chapitres musculo-squelettiques (M79.7) et psychiatriques (F48.8).

L'implication du système nerveux central chez les patients porteurs de MFM chronique est attestée par la présence de troubles cognitifs. Les patients se plaignent de troubles de la mémoire, de difficultés à maintenir leur attention, et de troubles de l'humeur. Bien que souvent invalidants, les troubles cognitifs sont souvent sous-estimés ou ne sont pas détectés par l'examen de routine. Une batterie exhaustive de tests neurologiques effectués dans une première série de 25 patients MFM consécutifs, non atteints de sclérose en plaque (SP), a montré des altérations chez tous les individus [14]. Elles correspondaient à une atteinte cognitive modérée mais incluaient le plus souvent au moins un test atteignant le seuil de démence [14]. Comparés à 11 patients arthritiques appariés pour la sévérité et la durée de la douleur, la dépression et le niveau d'éducation, les patients MFM présentaient des atteintes distinctes et marquées de la mémoire visuelle, de la mémoire de travail et de l'écoute dichotique, un ensemble suggestif d'une atteinte cortico-sous-corticale organique [14]. Ce déficit cognitif modéré multidimensionnel est stable dans de temps [15]. Sur un total actuel de 105 patients extensivement évalués (arthromyalgies 91 %, fatigue chronique 84 %) les plaintes relatives à l'attention et à la mémoire étaient rapportées par 102/105 (97 %) et les tests neuropsychologiques étaient anormaux chez 93/105 (89 %) des patients [16]. Une remarquable corrélation entre les troubles cognitifs et l'imagerie cérébrale par SPECT a été observée, avec des hyposignaux prédominant dans l'hippocampe, les aires postérieures, le cingulum, et le corps calleux (Itti et al, en préparation). Ces troubles cognitifs stéréotypés suggèrent un possible mécanisme toxique et/ou inflammatoire. Ils rappellent ceux

---

\* <[http://ansm.sante.fr/var/ansm\\_site/storage/original/application/030593fa4e393af7cec8ff7092832215](http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/030593fa4e393af7cec8ff7092832215)>

rapportés chez les travailleurs exposés aux particules d'aluminium inhalées [17-19] et chez les sujets infectés par le VIH ou le virus de l'hépatite C [14]. Leur éventuelle corrélation avec la charge corporelle en aluminium n'a pas encore été explorée sur une base systématique [20].

En plus du SFC/EM, 15-20 % des patients MFM développent parallèlement une maladie auto-immune, les plus fréquentes étant des pathologies démyélinisantes apparentées à la sclérose en plaque [21, 22], la thyroïdite de Hashimoto, et la dermatomyosite ou les myopathies nécrosantes auto-immunes. En dehors des maladies auto-immunes déclarées [23], des titres faibles d'auto-anticorps variés peuvent être détectés, ainsi qu'un syndrome inflammatoire biologique inconstant, et surtout des anomalies très fréquentes du métabolisme du fer [5].

Nous avons précédemment noté la structure similaire des symptômes associés à la MFM et ceux des patients atteints du syndrome de la guerre du Golfe [5], dont la survenue est fortement associée à la réalisation de vaccinations multiples [24, 25], avec un accent particulier mis sur le vaccin contre l'anthrax, un vaccin aluminique, administré en six injections, et capable d'induire une MFM chronique [23]. En s'appuyant sur ces bases, nous avons proposé comme hypothèse que les symptômes associés à la MFM puissent être considérés comme un syndrome des adjuvants [26]. À partir de constatations analogues et de sa propre expérience sur les manifestations associées à la rupture des implants mammaires, le Pr Yehuda Shoenfeld (Tel-Aviv) a récemment proposé le terme ASIA (« auto-immune/inflammatory syndrome induced by adjuvants ») pour désigner les syndromes combinant arthromyalgies, fatigue chronique, troubles cognitifs et degré variable d'autoimmunité, quelque soit la nature de l'adjuvant immunologique impliqué (alum, squalène, silicone, composants viraux, etc.) [6]. Les critères de définition proposés sont actuellement en attente de validation. Le concept d'ASIA s'est étendu au domaine vétérinaire, pour désigner l'épizootie d'une pathologie neuroinflammatoire et dégénérative secondaire aux campagnes intensives de vaccinations aluminiques contre la fièvre catarrhale du mouton [27].

### **Transport systémique des nanomatériaux bio-persistants par les phagocytes**

Le déséquilibre entre le nombre énorme d'individus vaccinés et le nombre relativement faible de cas de MFM suggère l'implication de facteurs de susceptibilité individuelle. Chez le rat, le fond génétique influence fortement la taille de la lésion induite par l'injection i.m. d'alum [7], et chez l'homme des gènes favorisant le développement de maladies auto-immunes, tels que le groupe HLA-DRB1\*01, ont été incriminés [28]. Définir les facteurs génétiques pouvant influencer une réponse favorable (bonne immunisation) ou défavorable (effet indésirable rare) aux vaccins constitue un axe majeur de recherche en vaccinologie [1]. Une meilleure compréhension des interactions gène-environnement pourrait ouvrir la voie à une médecine personnalisée, mais les gènes pouvant moduler la tolérance aux vaccins sont encore largement inconnus.

L'aluminium est un neurotoxique bien étudié, affectant la mémoire, la cognition, et le contrôle psychomoteur ; troublant la neurotransmission et l'activité synaptique ; altérant la barrière hémato-encéphalique ; exerçant des effets pro-oxydant ; activant la microglie et la neuroinflammation ; déprimant le métabolisme cérébral du glucose et les fonctions mitochondriales ; interférant avec l'activité transcriptionnelle ; et favorisant la formation de la bêta-amyloïde et l'aggrégation neurofilamentaire [29]. Plusieurs conditions proches ont été associées à une surcharge aluminique, incluant la MFM [20], le SFC/EM idiopathique [30], et la sclérose en plaque [31]. En outre, la suspicion d'un lien possible entre le syndrome de la guerre du Golfe et l'administration d'alum a été corroborée expérimentalement [32]. En toute logique, cela fait émerger des questions au sujet du niveau exact de sécurité à long terme des adjuvants aluminiques [33].

Bien que l'alum soit utilisé chez l'homme et chez l'animal depuis des décennies, les mécanismes par lesquels il stimule la réponse immune demeurent mal compris [34]. L'alum est capable d'adsorber durablement les antigènes/ADN vaccinaux à sa surface [35]. Comparé à l'aluminium soluble, le caractère solide et cristallin de l'alum lui confère un caractère particulièrement irritant sans doute lié à l'engagement de voies de signalisation spécifiques aux interfaces cristallines [36]. L'alum est un puissant activateur de l'inflammasome NLRP3, mais cet effet proinflammatoire n'est pas indispensable à son effet adjuvant [37].

La MFM a révélé la bio-persistance, parfois extrêmement longue, de l'alum dans l'organisme. Cette caractéristique est *a priori* indésirable, mais le lien conceptuel entre cette persistance dans les macrophages (MP) au site de l'immunisation, et les manifestations systémiques en particulier neurologiques n'est pas clair. Le risque toxique semble dépendre non seulement de la bio-persistance mais de la dispersion de l'adjuvant dans des organes et tissus situés à distance [38, 39]. Il nous a donc semblé nécessaire de caractériser le devenir des particules d'alum injectées pour tester la plausibilité d'un lien biologique entre l'injection i.m. d'un vaccin aluminique causant la MFM et les troubles systémiques observés.

L'étude de référence basée sur l'utilisation d'alum enrichi en isotope Al [26] a montré que celui-ci était faiblement éliminé dans les urines après son injection par voie i.m. chez le lapin (6 % au 28<sup>e</sup> jour, point terminal de l'étude), mais retrouvé, sous une forme physico-chimique indéterminée, dans les ganglions lymphatiques, la rate, le foie et le cerveau [40]. La biodistribution des nanomatériaux solides à biodégradation lente comme l'alum après injection i. m. n'était pas déterminée.

L'oxyhydroxide d'aluminium est constitué d'agrégats microniques/submicroniques de nanoparticules fibreuses élémentaires. Jusqu'à l'avènement de la MFM, le modèle théorique d'action de l'alum considérait que ces agrégats injectés dans les tissus demeuraient dans le milieu extracellulaire jusqu'à leur complète solubilisation par les acides faibles du liquide interstitiel [40]. Nous savons maintenant qu'il n'en est rien et que les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) capturent les particules d'alum avec beaucoup d'avidité [41] ce qui promet leur survie [42] et soustrait l'alum à l'effet solubilisant du liquide interstitiel. Les monocytes inflammatoires



(MO) sont attirés dans le muscle par des signaux de danger, deviennent des macrophages et des cellules dendritiques (CD) dérivées de monocytes inflammatoires, avant de migrer vers les ganglions lymphatiques de drainage (GLD) [43]. Étant donné que l'une des fonctions des CD migratoires est de transmettre le matériel antigénique à un réseau étendu de CD résidentes éloignées, nous avons vérifié si des nanomatériaux fluorescents injectés dans le muscle pouvaient être transférés vers des organes à distance sur la base d'un mécanisme général lié à la phagocytose.

Cette hypothèse a été confirmée chez la souris grâce à des particules fluorescentes de substitution recouvertes d'alum précipité [44]. Nous avons montré leur capture rapide par les macrophages qui constituent un granulome similaire à celui observé dans le cas de la lésion MFM. Une large proportion de particules quitte le muscle injecté, essentiellement à l'intérieur de cellules immunes, et gagne les ganglions lymphatiques locaux. Les cellules chargées en particules sortent ensuite du système lymphatique et atteignent la circulation sanguine (vraisemblablement par le canal thoracique), ce qui leur permet d'atteindre des organes à distance tels que la rate, le foie et, plus tardivement, le cerveau. La réalisation d'une lymphadénectomie préalable à l'injection i.m. des particules, l'utilisation de cytokines recombinantes et de souris génétiquement modifiées, nous a permis de montrer que la biodistribution systémique de particules injectées dans le muscle impliquait une prise en charge cellulaire initiale, au niveau du muscle ou dans les ganglions de drainage, et dépendait crucialement de signaux attractifs pour les monocytes, à savoir la chimiokine MCP-1/CCL2. Les cellules immunes chargées en particules circulent donc durablement après injection i.m. et peuvent gagner des tissus éloignés comme le cerveau où elles restent piégées dans les cellules microgliales.

Quoique constante, la pénétration cérébrale est extrêmement faible en conditions normales, ce qui est cohérent avec la bonne tolérance générale à cet adjuvant. Néanmoins, nous avons montré que la translocation cérébrale des particules peut augmenter considérablement en cas de perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BHE) ou sous l'influence de la signalisation MCP-1, que celle-ci s'exerce au niveau périphérique ou cérébral. La production de MCP-1/CCL2 est sujette à des variations interindividuelles importantes liées à l'âge, et à des facteurs génétiques et environnementaux. Nous venons d'identifier (a) l'élévation sélective du MCP-1 comme un biomarqueur circulant de la MFM [16] ; et (b) une variation dans la région régulatrice du gène de MCP-1, liée au polymorphisme 927G>C, plus fréquente chez les patients MFM [44].

Les mécanismes cellulaires identifiés pourraient également s'appliquer à d'autres matériaux faiblement biodégradables tels que le gel de silicone, autre composé aux propriétés adjuvantes, capturé par les monocytes/macrophages et impliqué dans la survenue d'un ASIA. Il reste bien sûr beaucoup à faire pour déterminer dans quelles conditions et dans quelle mesure l'alum pénétrant dans le cerveau par un mécanisme de cheval de Troie similaire à celui utilisé par les particules infectieuses, comme le VIH ou le VHC, pourraient engendrer une inflammation neurotoxique significative [32].

## CONCLUSION

En conclusion, l'alum est un adjuvant historique, utilisé depuis des décennies à des concentrations considérées par l'industrie et les agences de régulation comme constituant un compromis acceptable entre son rôle d'adjuvant et son effet toxique. L'émergence de la MFM au cours des années 90 a révélé d'importantes lacunes dans les connaissances sur les mécanismes d'action, le devenir, la diffusion systémique et la sécurité à long terme des particules d'alum. Des efforts pour mieux comprendre cet adjuvant ont été entrepris dans de nombreux pays. Nos travaux cliniques et expérimentaux montrent le caractère bio-persistant et neuro-migrant de ces particules dont le caractère pro-inflammatoire et neurotoxique est bien établi. Dans le contexte d'une expansion programmée des politiques vaccinales à l'échelle mondiale, il nous paraît souhaitable : (1) qu'une plus grande attention soit portée aux possibles effets insidieux de long terme des adjuvants aluminiques, notamment neurologiques, pour l'évaluation des balances bénéfice/risque ; (2) que l'escalade des doses d'alum administrées soit contrôlée à l'échelon individuel et à celui de la population ; (3) que l'impact des facteurs de susceptibilité soient spécifiquement étudiés, notamment l'âge (BHE immature des nourrissons, vieillissement cérébral et immunitaire) et les facteurs de prédisposition génétiques ; (4) que la réflexion soit sérieusement engagée sur les modalités d'un possible retrait progressif des sels d'aluminium des vaccins humains, à l'instar des cosmétiques et des vaccins vétérinaires où le retrait a déjà commencé, au profit d'adjuvants alternatifs plus physiologiques et rapidement biodégradables. De nombreuses difficultés sont à prévoir. Si plusieurs des points soulevés relèvent de la pure exécution et dépendent essentiellement du financement de la recherche, la définition/validation/introduction au niveau international des bons adjuvants alternatifs (retour à l'ancien phosphate de calcium ou adjuvants de nouvelle génération) est une entreprise complexe et difficile. Le franchissement de cet obstacle constitue d'ores et déjà un défi pour les industriels et une épreuve pour les régulateurs.

## RÉFÉRENCES

- [1] MOXON E.R., SIEGRIST C.A. — The next decade of vaccines: societal and scientific challenges. *Lancet.*, 2011, 378, 348-59.
- [2] GHERARDI R.K., COQUET M., CHERIN P., *et al.* — Macrophagic myofasciitis: an emerging entity. *Lancet.*, 1998, 352, 347-52.
- [3] GHERARDI R.K. *et al.* — Macrophagic myofasciitis lesions assess long-term persistence of vaccine-derived aluminium hydroxide in muscle. *Brain.*, 2001, 24, 1821-31.
- [4] BASSEZ G., AUTHIER F.J., LECHAPT-ZALCMAN E., *et al.* — Inflammatory myopathy with abundant macrophages (IMAM): a condition distinct from macrophagic myofasciitis, sharing similarities with cytophagic histiocytic panniculitis. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 2003, 62, 464-74.
- [5] GHERARDI R.K., AUTHIER F.J. — Aluminum inclusion macrophagic myofasciitis: a recently identified condition. *Immunol. Allergy. Clin. North. Am.*, 2003, 23, 699-712.

- [6] SHOENFELD Y., AGMON-LEVIN N. — 'ASIA' autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants. *J. Autoimmun.*, 2011, 36, 4-8.
- [7] AUTHIER F.J., SAUVAT S., CHRISTOV C., *et al.* — AIOH3-adjuvanted vaccine induced macrophagic myofasciitis in rats is influenced by the genetic background. *Neuromuscul. Disord.*, 2006, 16, 347-52.
- [8] VERDIER F., BURNETT R., MICHELET-HABCHI C., *et al.* — Aluminium assay and evaluation of the local reaction at several time points after intramuscular administration of aluminium containing vaccines in the Cynomolgus monkey. *Vaccine*. 2005, 23, 1359-67.
- [9] MAUBEC E., PINQUIER L., VIGUIER M., *et al.* — Vaccination-induced cutaneous pseudolymphoma. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2005, 52, 623-29.
- [10] MADEWELL B.R., GRIFFEY S.M., MCENTEE M.C., *et al.* — Feline vaccine-associated fibrosarcoma: an ultrastructural study of 20 tumors (1996-1999). *Vet. Pathol.*, 2001, 38, 196-202.
- [11] CHERIN P., AUTHIER F.J., GHERARDI R.K., *et al.* — Gallium-67 scintigraphy in macrophagic myofasciitis. *Arthritis. Rheum.*, 2000, 43, 1520-26.
- [12] RAGUNATHAN-THANGARAJAH N., LE BELLER C., BOUTOUYRIE P., *et al.* — Distinctive clinical features in arthro-myalgic patients with and without aluminum hydroxyde-induced macrophagic myofasciitis: an exploratory study. *J. Inorg. Biochem.*, 2013, 128, 262-6.
- [13] AUTHIER F.J., SAUVAT S., CHAMPEY J., *et al.* — Chronic fatigue syndrome in patients with macrophagic myofasciitis. *Arthritis. Rheum.*, 2003, 48, 569-70.
- [14] COUETTE M., BOISSE M.F., MAISON P., *et al.* — Long-term persistence of vaccine-derived aluminum hydroxide is associated with chronic cognitive dysfunction. *J. Inorg. Biochem.*, 2009, 103, 1571-78.
- [15] PASSERI E., VILLA C., COUETTE M., *et al.* — Long-term follow-up of cognitive dysfunction in patients with aluminium hydroxide-induced macrophagic myofasciitis (MMF). *J. Inorg. Biochem.*, 2011, 105, 1457-1463.
- [16] CADUSSEAU J., RAGUNATHAN-THANGARAJAH N., SURENAUD M., *et al.* — Selective elevation of circulating CCL2/MCP1 levels in patients with longstanding post-vaccinal macrophagic myofasciitis and ASIA. *Curr. Med. Chem.*, 2014, 21(4), 511-7.
- [17] RIFAT S.L., EASTWOOD M.R., MCLACHLAN D.R., *et al.* — Effect of exposure of miners to aluminium powder. *Lancet.*, 1990, 336, 1162-5.
- [18] AKILA R., STOLLERY B.T., RIIHIMAKI V. — Decrements in cognitive performance in metal inert gas welders exposed to aluminum. *Occup. Environ. Med.*, 1999, 56, 632-9.
- [19] POLIZZI S., PIRA E., FERRARA M., *et al.* — Neurotoxic effects of aluminium among foundry workers and Alzheimer's disease. *Neurotoxicology*. 2002, 23, 761-74.
- [20] EXLEY C., SWARBRICK L., GHERARDI R.K., *et al.* — A role for the body burden of aluminium in vaccine-associated macrophagic myofasciitis and chronic fatigue syndrome. *Med. Hypotheses.*, 2009, 72, 135-9.
- [21] AUTHIER F.J., CHERIN P., CREANGE A., *et al.* — Central nervous system disease in patients with macrophagic myofasciitis. *Brain*. 2001, 124, 974-83.
- [22] SIMPSON D.A. — Systemic histiocytosis presenting as macrophagic myofasciitis. *J. Clin. Neuro-musc. Dis.*, 2002, 4, 19-22.
- [23] THEELER B.J., SIMPER N.B., NEY J.P. — Polyglandular autoimmunity with macrophagic myofasciitis. *Clin. Rheumatol.*, 2008, 27, 667-9.
- [24] HOTOPF M., DAVID A., HULL L., *et al.* — Role of vaccinations as risk factors for ill health in veterans of the Gulf war: cross sectional study. *BMJ*. 2000, 320, 1363-7.
- [25] CHERRY N., CREED F., SLIMAN A., *et al.* — Health and exposures of United Kingdom Gulf war veterans. Part II: The relation of health to exposure. *Occup. Environ. Med.*, 2001, 58, 299-306.

- [26] GHERARDI R.K. — Lessons from macrophagic myofasciitis: towards definition of a vaccine adjuvant-related syndrome. *Rev. Neurol.*, 2003 159, 162-4.
- [27] LUJÁN L., PÉREZ M., SALAZAR E., *et al.* — Autoimmune/autoinflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA syndrome) in commercial sheep. *Immunol. Res.*, 2013, 56(2-3), 317-24.
- [28] GUI S., PELLISSIER J.F., NICOLI F., *et al.* — HLA-DRB1\*01 and macrophagic myofasciitis. *Arthritis. Rheum.*, 2002, 46, 2535-7.
- [29] TOMLJENOVIC L. — Aluminum and Alzheimer's disease: after a century of controversy, is there a plausible link? *J. Alzheimer Dis.*, 2011, 23, 567-98.
- [30] VAN RENSBURG S.J., POTOCNIK F.C.V., KISS T., *et al.* — Serum concentrations of some metals and steroids in patients with chronic fatigue syndrome with reference to neurological and cognitive abnormalities. *Brain. Res. Bull.*, 2001, 55, 319-25.
- [31] EXLEY C., MAMUTSE G., KORCHAZHKINA O., *et al.* — Elevated urinary excretion of aluminium and iron in multiple sclerosis. *Mul. Scler.*, 2006, 12, 533-40.
- [32] SHAW C.A., PETRIK M.S.J. — Aluminum hydroxide injections lead to motor deficits and motor neuron degeneration. *J. Inorg. Biochem.*, 2009, 103, 1555-62.
- [33] TOMLJENOVIC L., SHAW C.A. — Aluminum vaccine adjuvants: are they safe? *Curr. Med. Chem.*, 2011, 18, 2630-7.
- [34] EXLEY C., SIESJOÅN P., ERIKSSON H. — The immunobiology of aluminium adjuvants: how do they really work? *Trends Immunol.*, 2010, 31, 103-9.
- [35] LEE S.H. — Detection of human papillomavirus (HPV) L1 gene DNA possibly bound to particulate aluminum adjuvant in the HPV vaccine Gardasil. *J. Inorg. Biochem.*, 2012, 117, 85-92.
- [36] SHI Y. — To forge a solid immune recognition. *Protein Cell.* 2012, 3, 564-70.
- [37] FRANCHI L., NUNEZ G. — The Nlrp3 inflammasome is critical for aluminium hydroxide-mediated IL-1beta secretion but dispensable for adjuvant activity. *Eur. J. Immunol.* 2008, 38, 2085-9.
- [38] WANG X.Y., YAO X., WAN Y.M., *et al.* — Responses to multiple injections with alum alone compared to injections with alum adsorbed to proteins in mice. *Immunol. Lett.*, 2012, 149, 88-92.
- [39] CAIN D.W., SANDERS S.E., CUNNINGHAM M.M., *et al.* — Disparate adjuvant properties among three formulations of "alum". *Vaccine.* 2013, 31, 653-60.
- [40] FLAREND R.E., HEM S.L., WHITE J.L., *et al.* — In vivo absorption of aluminium-containing vaccine adjuvants using 26 Al. *Vaccine.* 1997, 15, 1314-8.
- [41] MOREFIELD G.L., SOKOLOVSKA A., JIANG D., *et al.* — Role of aluminum-containing adjuvants in antigen internalization by dendritic cells *in vitro*. *Vaccine.*, 2005, 23, 1588-95.
- [42] HAMILTON J.A., BYRNE R., WHITTY G. — Particulate adjuvants can induce macrophage survival, DNA synthesis, and a synergistic proliferative response to GM-CSF and CSF-1. *J. Leukoc. Biol.*, 2000, 67, 226-32.
- [43] BRIGITTE M., SCHILTE C., PLONQUET A., *et al.* — Muscle resident macrophages control the immune cell reaction in a mouse model of notexin-induced myoinjury. *Arthritis Rheum.*, 2010, 62, 268-79.
- [44] KHAN Z., COMBADIERE C., AUTHIER F.J., *et al.* — Slow CCL2-dependent translocation of biopersistent particles from muscle to brain. *BMC Med.*, 2013, 11, 99.

## DISCUSSION

### M. Jean-Pierre GOULLÉ

*Votre présentation semble remettre en cause ce que l'on connaît aujourd'hui sur la toxicocinétique et plus généralement la toxicologie de l'aluminium. Plusieurs remarques :*

- *Les travailleurs exposés aux particules inhalées d'aluminium qui présentent des troubles cognitifs présentent tous des aluminémies élevées ;*
- *Les états de fatigue rapportés chez les sujets qui abusent d'agents antitranspirants à base de chlorure d'aluminium sur peau lavée ou rasée ont tous une aluminémie élevée ;*
- *L'encéphalopathie des dialysés due à l'aluminium, malades qui montraient des aluminémies très importantes guérissaient après greffe de rein (il y avait 10 à 20 % de mortalité chez ces patients à l'époque) ;*
- *Avec les vaccins nous ne sommes pas dans le même ordre de grandeur, 1 mg contre plus de 100 000 mg dans les cas cités précédemment, c'est en quelques sortes une dose homéopathique. Pour rappel notre exposition quotidienne en métal dans la nourriture est de 10 à 15 mg/jour.*

*Avez-vous dosé l'aluminium dans le cerveau de sujets décédés présentant une myofasciite à macrophages ?*

Pour répondre à votre question, il est nécessaire de considérer plusieurs éléments importants concernant la toxicologie de l'aluminium.

- Le premier est le caractère actuel ou, au contraire, ancien de l'exposition. Les aluminémies élevées sont le fait des intoxications massives ou liées à des expositions récentes ou en cours : c'est le cas des situations que vous décrivez. Au contraire, en cas d'intoxication ponctuelle antérieure, l'aluminémie est souvent normale ou subnormale malgré un stock tissulaire en aluminium élevé (stockage osseux ou cérébral par exemple). Dans ce cas il faut évaluer la charge corporelle en aluminium grâce à un protocole de chélation (diurèse silicatée) rigoureusement conduit et contrôlé. Un patient index a été étudié par ce protocole et a effectivement montré une charge corporelle en aluminium nettement élevée (référence 20). Une étude confirmatoire prospective est en cours d'achèvement à Créteil.
- Le deuxième point à considérer est le caractère soluble ou particulaire de l'aluminium. Schématiquement l' $Al^{3+}$  sous forme soluble est pris en charge par les transporteurs du fer et semble en grande partie éliminé rapidement par voie rénale, alors que l'aluminium particulaire est capturé par les monocytes/macrophages ce qui soustrait les particules à la solubilisation par les acides faibles du liquide interstitiel. La toxicité phagolysosomale des cristaux d'hydroxyde d'aluminium est bien établie. Les cristaux sont observés dans le cytosol des macrophages, soit nus soit entourés d'une membrane phagosomale très altérée. L'absence de formation d'un phago-lysosome rend la solubilisation des cristaux par le pH acide des lysosomes impossible ce qui constitue probablement un facteur essentiel de leur bio-persistence. La forme physique de l'aluminium influe également sur la toxicité, les particules cristallines étant beaucoup plus irritantes que leur équivalent sous forme ionique. De ce fait, la toxicologie particulaire ne répond pas aux règles de la toxicologie classique notamment en termes de relation dose-réponse.

- Le troisième point est la voie d'exposition. L'organisme est protégé par des barrières naturelles très efficaces que seule l'aiguille vaccinale traverse sans difficulté. C'est le cas notamment de la barrière intestinale qui ne laisse passer qu'une fraction infime de l'aluminium alimentaire (2/1000) et encore sous une forme d' $Al^{3+}$  éliminable par voie rénale car les particules d'hydroxyde d'aluminium se collent au mucus digestif et sont pour l'essentiel éliminées dans les selles.

Nous n'avons que deux cerveaux de patients décédés avec une myofasciite à macrophage. Les prélèvements ont malheureusement été effectués sans mesure de protection particulière contre une pollution par l'aluminium environnemental. Aucun dosage global de l'aluminium n'a été réalisé à ce jour. Au regard de ce que nous observons chez la souris il semble que si une accumulation d'aluminium existe dans le cerveau de ces patients, elle prendra la forme d'accumulations focales, à rechercher notamment au niveau des nodules microgliaux et de certains neurones. Ce travail reste à faire.

### M. Pierre BÉGUÉ

*La première question concerne la biodistribution de l'hydroxyde d'aluminium chez l'animal d'expérience. L'accumulation dans le cerveau est-elle supérieure à ce que l'on connaissait déjà après le travail de Flarend avec l'aluminium isotopique ?*

La comparaison avec l'étude de Flarend est difficile car ce groupe a utilisé une méthode isotopique de référence pour étudier la biodistribution de l' $Al^{3+}$  mais chez seulement 2 lapins pour l'hydroxyde d'aluminium, sans tenir compte de la forme physique de l'aluminium (soluble ou particulaire), et sur une durée de seulement 28 jours après injection i.m. Cette étude constate une diffusion systémique de l'aluminium dérivé de l'alum injecté, comportant notamment une pénétration cérébrale constante quoique faible, et une absence d'élimination urinaire à 28 jours d'une grande partie de l'aluminium injecté. Nos résultats sont donc cohérents avec ceux de Flarend, mais montrent ce qu'il n'a pu voir, à savoir un processus d'accumulation cérébrale des particules dont l'essentiel est observé au-delà du 28<sup>e</sup> jour.

*La deuxième question concerne le système MCP1. Cette action est-elle spécifique de l'aluminium ou bien d'autres adjuvants pourraient-ils avoir un effet similaire ?*

Le système MCP-1 gouverne la migration des monocytes inflammatoires circulants vers les tissus, notamment leur accès au muscle vacciné et leur éventuelle pénétration cérébrale ultérieure. Son implication dans la diffusion systémique des autres adjuvants dépendra a priori de leur phagocytose (ou non) par les cellules de la lignée monocyttaire, et de leur caractère biopersistant (ou non) condition préalable à une pénétration cérébrale tardive.

### M. Roger NORDMANN

*Vos conclusions insistent, à juste titre, sur la neuro-toxicité insidieuse des adjuvants aluminiques, notamment chez les sujets âgés. Il est, en effet, bien établi que l'aluminium agit au niveau neuronal en tant que métal de transition favorisant la production de radicaux libres par le biais de la réaction de Haber-Weiss. Cependant, le fait de ne citer que les dangers potentiellement neuro-toxiques ne risque-t-il pas de limiter la couverture vaccinale de la population (notamment des sujets âgés) et ne serait-il pas préférable d'évoquer le*

*rapport bénéfices/risques des vaccins (même de ceux comportant de l'aluminium à titre d'adjuvant) ?*

Je suis bien sûr d'accord sur la nécessité de considérer le rapport bénéfice/risque comme meilleure boussole en matière vaccinale. Néanmoins, pour que le rapport bénéfice/risque soit valablement établi il est nécessaire de connaître très précisément les deux éléments du rapport. Je n'ai personnellement aucun doute sur les énormes bénéfices sanitaires qu'ont apportés les vaccins dans le passé, et je ne suis pas qualifié pour évaluer la réalité des bénéfices des vaccins en développement. En revanche, il est clair que, sur la base d'hypothèses de biodisposition erronées, le risque de toxicité chronique des adjuvants aluminiques n'a pas été évalué. On ne dispose actuellement d'aucune estimation même grossière de ce risque. Il me paraît indispensable de clarifier ce point essentiel. A la condition de ne pas omettre de recommander l'engagement de travaux dans ce sens, communiquer sur les bénéfices de la vaccination à l'échelle de la population reste bien entendu important.

## M. Gilles BOUVENOT

*Pourquoi faire la différence entre « survaccination », vaccinations itératives annuelles du sujet âgé, calendrier vaccinal ? Faute de quoi la communication de l'Académie nationale de médecine dans le domaine risque d'être brouillée.*

Je comprends bien votre préoccupation. Il me semble que l'on devrait considérer distinctement deux points qu'il faudrait maîtriser :

- la « survaccination » individuelle, c'est à dire l'accumulation médicalement injustifiée de vaccinations effectuées sans maîtrise de ce qui a été antérieurement administré : répétition automatique, parfois à plusieurs reprises, de séries de vaccins anti-VHB au motif d'une administration manquante ou trop tardive, ou par obstination à vouloir obtenir une séroconversion ; vaccins anti-tétaniques administrés systématiquement à des patients régulièrement admis aux urgences ; vaccins multiples administrés sur des périodes courtes en raison de contraintes particulières, en milieu militaire ou en médecine tropicale, sans précaution au regard des antécédents autoimmuns personnels ou familiaux des individus ; et surtout, à l'ère du nomadisme médical, absence de traçabilité des vaccins administrés par perte ou oubli du carnet vaccinal, cause principale de vaccinations inutilement réitérées.
- la surexposition de la population mondiale aux vaccins aluminiques : elle est imminente au regard du nombre considérable de vaccins aluminiques en développement, d'autant plus que l'utilisation systématique de placebos adjuvantés empêche toute détection du risque lié aux adjuvants aluminiques (Exley C. Aluminium-based adjuvants should not be used as placebos in clinical trials. *Vaccine*. 2011 21 ; 29:9289). Bien entendu, plus le nombre d'administrations augmentera dans la population, moins les facteurs de susceptibilité individuelle seront déterminants dans la survenue d'éventuels effets indésirables. Il serait d'ailleurs prudent d'éviter dorénavant en matière d'adjuvant aluminique, le mot « innocuité » (du latin *innocuus* « qui ne cause aucun tort ») qui suggère une absence complète de risque. Il vaudrait mieux parler de risque minime, pour certaines personnes probablement prédisposées, acceptable au regard des bénéfices de la vaccination pour la population.

**M. Jean-Louis MONTASTRUC**

*Le rapport, à l'Agence du médicament, de Fourier et al. de 2003 concluait à l'absence de relation entre les signes cliniques et l'intensité des lésions histologiques. Je désirerais savoir ce qu'il en est actuellement. Quelle est la spécificité des signes cliniques ? Quel est le tableau symptomatique et/ou génomique ? Par ailleurs, quel est le risque des médicaments à base d'aluminium (pansements digestifs...)*

Il est utile de rappeler que l'association entre une fatigue invalidante chronique et la MFM histologique a été très clairement établie par l'étude cas-témoins menée par l'AFSSAPS en 2002/2003, et jamais remise en cause par les études ultérieures. L'étude de l'AFSSAPS, menée selon une procédure visant à « minimiser un éventuel biais de sélection lié à la notoriété de l'association vaccination — MFM », a conclu que « les sujets porteurs de la lésion histologique caractéristique de la myofasciite à macrophage rapportent plus fréquemment une asthénie au début de leur maladie » et « ont des limitations fonctionnelles liées à la fatigue plus importantes que des sujets non porteurs de la lésion ». Le caractère invalidant était lié à la dimension « cognitive » prédominante de la fatigue. Cette même étude suggère sur la base des antécédents pathologiques plus fréquents chez les témoins, que « les cas et les témoins sont deux populations distinctes de malades qui ne diffèrent pas simplement par le fait qu'on aurait trouvé une « cicatrice vaccinale » chez les cas ». S'il est exact que selon ses auteurs « cette étude ne peut pas permettre de conclure quant à l'association entre la vaccination et l'existence d'une maladie en relation avec la lésion », cette réserve est de nature purement technique puisque « pour qu'une telle association puisse être étudiée de façon valable, il serait nécessaire que soit comparé des cas et des témoins en appliquant pour la sélection des cas une définition préétablie de la maladie ». Toute notre recherche clinique a visé depuis à répondre très exactement au souhait de l'AFSSAPS émis le 7/05/2004 « que la connaissance clinique progresse pour améliorer la caractérisation clinique des symptômes décrits par les patients et de l'éventuel syndrome qu'ils pourraient constituer ». Nous avons montré successivement que cette fatigue associée à des myalgies chroniques (i) répond habituellement aux critères internationaux du syndrome de fatigue chronique ou encéphalomyélite myalgique (EM/SFC), (ii) présente une dimension cognitive quasi-constante et stéréotypée touchant la mémoire, les fonctions exécutives et l'écoute dichotique, et (iii) s'associe à des anomalies d'imagerie cérébrale par SPECT également stéréotypées, touchant électivement les aires associatives postérieures, temporales internes, cérébelleuses, periventriculaires et calleuses, et parfaitement corrélées aux déficits cognitifs (étude soumise pour publication). Contrairement à la fibromyalgie classique, le syndrome d'EC/SFC de nos patients se caractérise par une atteinte nette du système nerveux central et un faible nombre de points fibromyalgiques (référence 12). Il n'a pas été observé de signal particulier concernant les pansements gastriques ou autres médications orales à base d'aluminium dans notre cohorte.

**M. Pierre GODEAU**

*Le concept de myofasciite à macrophages très séduisant dont le professeur Gherardi a été un des pionniers garde une part de doute car semble-t-il c'est uniquement au point d'injection que sont constatées les lésions anatomiques spécifiques et jamais à distance dans d'autres groupes musculaires. Qu'en pensez-vous ?*



Depuis 2001 nous savons que la lésion de MFM est focale. La MFM n'est pas une maladie mais le biomarqueur robuste d'une persistance anormalement longue de l'adjuvant aluminique dans les cellules immunitaires (si l'on a vérifié l'existence d'un délai de sécurité d'au moins 18 mois après la dernière injection). La mise en évidence du caractère intracellulaire des cristaux a fortement contribué à remettre en question les idées classiques sur les adjuvants aluminiques. Leur biopersistance longue s'accompagne de manifestations systémiques correspondant à un syndrome de fatigue chronique ou encéphalomyélite myalgique (EM/SFC), qui figure à la rubrique maladies neurologiques de la classification internationale des maladies de l'OMS. Il ne s'agit donc pas d'une myopathie inflammatoire mais d'une maladie du système nerveux central, dont une recherche sur PubMed montre qu'elle a donné lieu à un total de 6185 articles internationaux. Nos études expérimentales montrent que la capture et la biopesistance de l'adjuvant au sein des cellules immunitaires permettent sa migration systémique et cérébrale. Nous en sommes là pour l'instant.

### **M. Jean-Jacques HAUW**

*Rares sont les personnes qui développent une myofasciite à macrophages avec expression clinique parmi celles qui sont correctement vaccinées selon le calendrier, puis subissent de nombreuses autres vaccinations Il y a certainement un facteur de susceptibilité. Avez-vous effectué une analyse génétique pour rechercher ce facteur ?*

Il me semble que les facteurs de susceptibilité génétique que vous évoquez peuvent être :

- (i) des facteurs de bio-persistance : nous recherchons actuellement des polymorphismes hypomorphes dans les gènes de la machinerie de la xeno/autophagie responsable de l'élimination des particules par les macrophages ;
- (ii) des facteurs de neuromigration : nous recherchons des polymorphismes gain-de-fonction dans le gène MCP1/CCL2, la chimiokine gouvernant la distribution systémique et l'incorporation cérébrale des monocytes chargés de particules.
- (iii) des facteurs de susceptibilité à développer des réactions autoimmunes, qui ont été déjà proposés par des immunologistes travaillant sur les groupes HLA.

Si les approches type gène-candidat sont infructueuses des approches pan-génomiques seront peut être nécessaires.

