

# 参考資料集

- ① WHO/GACVS Statement & Qanda 2008  
(MMF) P. 1~5
- ② WHO/GACVS Report 27 July 2012 P. 7~12
- ③ WHO/GACVS Report 14 February 2014 P. 13~22
- ④ 仏・高等公衆衛生審議会報告書 P. 23~58  
(アルミニウムとワクチン)
  - 経緯 (仮訳)
  - 提言 (仮訳)
  - フランス語版
- ⑤ FDA [米国食品医薬品局] P. 59~60  
(DNA Fragments についての声明)
- ⑥ EMA [欧州医薬品庁] P. 61  
(DNA Fragments についてのレター)
- ⑦ CDC/CISA (HPV ワクチン接種後の脳血管炎についての報告書) P. 63~65
- ⑧ Immunisation Advisory Centre, P. 67~72  
The University of Auckland (NZ)  
(アルミニウム及び DNA Fragments についてのコメント)



## Global Vaccine Safety

---

### Statement from the Global Advisory Committee on Vaccine Safety on aluminium-containing vaccines

The Global Advisory Committee on Vaccine Safety reports no evidence of a health risk from aluminium-containing vaccines

At present there is no evidence of a health risk from aluminium-containing vaccines or any justification for changing current vaccination practices. The Global Advisory Committee on Vaccine Safety (GACVS) suggests more research is required to determine if there are links between macrophagic myofasciitis (MMF) and aluminium-containing vaccines.

Deltoid muscle biopsies performed in France in a number of patients with a variety of complaints have revealed in a small number the presence of a minute inflammatory focus of macrophages with associated necrosis. These localised lesions, called MMF, have been shown to contain aluminium salts. Since the location of the lesions in the deltoid muscle coincides with the usual site of injection for vaccines, it would appear that these microscopic lesions are related to immunization. In addition, scientists from the Groupe d'études et de recherche sur les maladies musculaires acquises et dysimmunitaires (GERMAAD) have suggested that vaccination and localized MMF lesions might be associated with a multi-system disorder. However, it remains possible that the finding is only coincidental.

On the advice of the GACVS, WHO initiated a broad consultation on the issue, holding consultations in September 1999 with experts, GERMAAD scientists, and interested pharmaceutical companies. The need was identified to determine why macrophagic inflammation persists in a small number of subjects following immunization, and whether this histological lesion may or may not be responsible for generalized symptoms in some patients. These questions can only be resolved by epidemiologic studies comparing individuals with and without the lesion.

French study reviewing association between local MMF lesions and any generalized illness has been completed in 2003 and concluded that the persistence of aluminium-containing macrophages at the site of a previous vaccination is not associated with specific clinical symptoms or disease.

Results of animal studies conducted in monkeys<sup>1</sup> and rats that looked at long-term persistence of aluminium and histopathologic changes at the vaccine injection site, as well as comparative

studies of macrophagic function in patients with MMF and healthy subjects, further support the idea that MMF represent a simple marker of vaccination with long-term persistence of aluminium at the injection site and local inflammatory response to it, without other symptoms or consequences.

From the most recent evidence available, there is no reason to conclude that a health risk exists as a result of administration of aluminium-containing vaccines, nor is there any good reason for changing current vaccination practice. The GACVS will continue to review the evidence that might emerge from on-going studies.

1. Verdier F, Burnett R, Michelet-Habchi C, Moretto P, Fievet-Groyne F, Sauzeat E. Aluminium assay and evaluation of the local reaction at several time points after intramuscular administration of aluminium containing vaccines in the Cynomolgus monkey. *Vaccine*; 23(11):1359-1367, 2005 [full text available with subscription].

*The GACVS is a scientific advisory body established by WHO to provide a reliable and independent scientific assessment of vaccine safety issues in order to respond promptly, efficiently and with scientific rigour to such issues. Membership includes experts from around the world in the fields of epidemiology, paediatrics, internal medicine, pharmacology and toxicology, infectious diseases, public health, immunology and autoimmunity, drug regulation, and safety.*

Page last updated: 23 October 2008

Page last reviewed: 3 December 2008

## Global Vaccine Safety

---

### Questions and Answers about macrophagic myofasciitis (MMF)

**Q1. What is MMF and how is it related to aluminium in vaccines?**

A. Deltoid muscle biopsies performed in France in patients with a variety of complaints have revealed in a small number the presence of a minute inflammatory focus of macrophages, along with crystal inclusions and associated microscopic muscle necrosis. These localized lesions have been shown to contain aluminium salts. Since the location of the lesions in the deltoid muscle coincides with the usual site of injection for vaccines, it would appear that these microscopic lesions are likely to be related to immunization with vaccines that contain aluminium adjuvants.

**Q2. Is MMF a general disease or syndrome?**

A. There is no evidence to suggest that MMF is a specific illness. MMF is a lesion containing aluminium salts, identified by histopathological examination, found at the site of previous vaccination with an aluminium-containing vaccine (like a residual "tattoo" left behind). The World Health Organization (WHO)'s Global Advisory Committee on Vaccine Safety (GACVS) has been reviewing evidence since the findings emerged and has concluded that there is no evidence to suggest a resulting clinical illness or disease.

**Q3. Do patients with the MMF lesion have any specific clinical symptoms?**

A. It has been suggested that vaccination and localized MMF lesions might be associated with a multi-system disorder. However, the linkage of MMF with a multi-system disorder has been suggested by comparing an unmatched population of similar patients who underwent biopsies of the deltoid muscle and patients with the MMF lesion suffering from diffuse muscle pain. However, the prevalence of MMF in the general population is not known, and the patients studied were not matched with a control group - a necessary step to rule out confounding factors and other possible explanations. It is also unclear whether patients without biopsy evidence of MMF, who had previously received an aluminium-containing vaccine, might have the typical lesion of MMF elsewhere in the muscle, with it being missed on biopsy.

**Q4. Does everyone vaccinated with an aluminium-containing vaccine have the MMF lesion?**

A. Since muscle biopsies have only been carried out in patients with myopathic symptoms, there is currently no information on whether the characteristic localized histological pattern would be found in the healthy population after vaccination. It has been suggested that there might be a predisposed subset of individuals with impaired ability to clear aluminium from the deltoid muscle. Whether this reflects macrophagic dysfunction, or

the tail-end of a normal population distribution of aluminium clearance and local tissue response, has not been determined.

The GACVS recommended that to further understand MMF, additional research studies needed to be undertaken to evaluate the clinical, epidemiological, immunological and basic science aspects of MMF. Studies have been conducted in monkeys and rats to examine the long-term persistence of aluminium and histopathological changes at the injection site, and macrophagic function is being compared between patients with MMF and healthy controls. Initial results support the idea that MMF may represent a simple marker of vaccination with long-term persistence of aluminium at the injection site and local inflammatory response to it, without other symptoms or consequences.

**Q5. The Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé conducted a study on MMF. What did this study show?**

A. This study, initiated in 2002, compared control patients (who had muscle biopsies that did not show MMF) with patients with MMF, by biopsy site, gender, and approximate age and date of biopsy, to determine whether there is an association between MMF and a distinct clinical syndrome. The study confirmed that patients with MMF are more likely to have received vaccines containing aluminium hydroxide adjuvants. Fatigue and related functional limitations were more prevalent in patients with MMF compared with the control group, and fatigue was more prevalent at the beginning of the illness that led to the muscle biopsy. Myalgia and arthralgia were reported infrequently among patients with MMF, contrary to previous reports, and no other differences in symptoms or risk factors were identified that were specific to patients with MMF.

**Q6. What were the conclusions reached by the Global Advisory Committee on Vaccine Safety (GACVS)?**

A. From the most recent evidence, there is no reason to conclude that a health risk exists as a result of administration of aluminium-containing vaccines. Neither is there any good scientific or clinical basis for recommending any change in vaccination practice. The GACVS reviewed the data of the case-control study performed in France and concluded that the evidence does not support an association between the persistence of aluminium-containing macrophages at the site of a previous vaccination and clinical symptoms or disease.

**Q7. Does any scientific evidence to date change any conclusions about MMF and any recommendations on the use of aluminium-containing vaccines?**

A. At present there is no evidence of a health risk from aluminium-containing vaccines or any justification for changing current vaccination practices. The independent advice provided to the French Ministry of Health with respect to the most recent study results concurred with GACVS and, furthermore, did not recommend that additional epidemiological research be initiated at this time.

**Q8. Why did this issue appear to surface only in France?**

A. Different biopsy practices may explain why MMF has predominantly been observed in France. In France biopsies are performed in the deltoid muscle whereas in most other countries biopsies are not taken from that muscle. The apparent increase in the number of cases diagnosed in

France might also be explained by the change of vaccine administration from the subcutaneous to the intramuscular route, along with the widespread promotion of the hepatitis B vaccine to adults.

**Q9. Have cases of MMF been reported from other countries or from other groups of patients?**

A. Yes, there are few case reports originating from other countries as well as reports of MMF lesions found in muscle biopsies of adults or children with other clinical presentations than those described above. In other countries, quadriceps muscle is more commonly biopsied than deltoid muscle. Quadriceps muscle is a traditional site of infant and early childhood immunizations, while deltoid muscle is preferred site for late childhood, adolescence and adulthood immunizations. Muscular biopsy is a frequent diagnostic procedure performed in evaluation of various neuromuscular, metabolic and some genetic disorders of infancy and childhood. Based on current knowledge, MMF lesions findings are considered coincidental and independent of condition under evaluation.

Page last updated: 23 October 2008

Page last reviewed: 3 December 2008





## Global Vaccine Safety

### Global Advisory Committee on Vaccine Safety, report of meeting held 6-7 June 2012

[Share](#)[Print](#)

Published in the WHO Weekly Epidemiological Record on 27 July 2012

The Global Advisory Committee on Vaccine Safety (GACVS), an expert clinical and scientific advisory body, was established by WHO to provide independent, scientifically rigorous advice on vaccine safety issues of potential global importance.<sup>1</sup> GACVS held its 26th meeting in Geneva, Switzerland, on 6–7 June 2012.<sup>2</sup> The Committee reviewed the following specific topics:

- the safety of thiomersal;
- the safety of aluminium adjuvants;
- the safety profile of influenza vaccines during pregnancy.

It also reviewed 3 general issues for vaccine pharmacovigilance:

- safety of immunization during pregnancy and lactation;
- causality assessment for serious individual cases of adverse events following immunization (AEFI);
- core variables for AEFI monitoring.

#### Thiomersal in vaccines

In 1999, concerns were raised in the United States of America (USA) regarding exposure to mercury following immunization with thiomersal-containing vaccines. This was based on the calculation that the cumulative amount of mercury in primary infant immunization schedules in the USA potentially exceeded the recommended threshold set by its Environmental Protection Agency for methyl mercury. Hence, the policy decision in the USA to use only vaccines without thiomersal was based on a precautionary principle founded on the presumption of equal pharmacokinetics of ethyl mercury and methyl mercury, despite the fact that thiomersal contains only ethyl mercury.

Between 2002 and 2008, GAVCS reviewed several pharmacokinetic and epidemiological studies concerning thiomersal. Pharmacokinetic data in human infants, including premature and low birth-weight infants, established that the half-life of ethyl mercury is 3–7 days, and that ethyl mercury is efficiently excreted in the stools and does not accumulate over the long-term in blood, since levels returned to baseline within 30 days of vaccination.

At the June 2012 meeting, GACVS reviewed the most recently available information concerning the safety of thiomersal since it last reviewed this topic in 2008. A comprehensive review identified 28 publications that addressed mercury blood levels in the short and long term following vaccine administration, and epidemiological studies that examined the relation between thiomersal receipt and several health outcomes. Three

ecological studies suggesting an association between thiomersal and neurodevelopmental disorders were found to be fraught with methodological flaws. In addition, the continuous increase in the number of cases of autism diagnosed in the USA despite removal of thiomersal from most vaccines strongly argues against a causal association (fulfilling the exposure and removal criteria). All other studies reviewed, which were conducted with more robust epidemiological designs and in different countries, failed to identify any association with neurodevelopmental disorders.

Recently published studies confirm that in all populations studied, including pre-term and low birth-weight babies, the half-life of ethyl mercury in blood is between 3 and 7 days. A quantitative risk assessment model for cumulative toxicity of thiomersal in humans by US Federal Drug Administration (FDA) was also reviewed. This methodology is based on a pharmacokinetic model of ethyl mercury and provides a framework for interpreting studies in animals and humans that evaluate linkages among dose, blood and brain levels, and toxicity. Using this framework the GACVS concluded that animal or human toxicity studies suggest that the levels of ethyl mercury attained in the blood and brain from cumulative doses of vaccines do not reach toxic levels, making biologically implausible any relation between thiomersal in vaccines and neurological toxicity.

Based on the current evidence, GACVS considers that no additional studies of the safety of thiomersal in vaccines are warranted and that available evidence strongly supports the safety of the use of thiomersal as a preservative for inactivated vaccines. GACVS believes that consideration of additional evidence suggestive of the contrary should be based on studies using the same high standards of epidemiological and causal inference needed for scientific research. Thiomersal allows millions of people worldwide to have access to life-saving vaccines and to date, no other safer and equally efficacious alternative has been identified for many vaccines.

#### Aluminium adjuvants

The GACVS reviewed 2 published papers alleging that aluminium in vaccines is associated with autism spectrum disorders<sup>3,4</sup> and the evidence generated from quantitative risk assessment by a US FDA pharmacokinetic model of aluminium-containing vaccines.

GACVS considers that these 2 studies<sup>3,4</sup> are seriously flawed. The core argument made in these studies is based on ecological comparisons of aluminium content in vaccines and rates of autism spectrum disorders in several countries. In general, ecological studies cannot be used to assert a causal association because they do not link exposure to outcome in individuals, and only make correlations of exposure and outcomes on population averages. Therefore their value is primarily for hypothesis generation. However, there are additional concerns with those studies that limit any potential value for hypothesis generation. These include: incorrect assumptions about known associations of aluminium with neurological disease, uncertainty of the accuracy of the autism spectrum disorder prevalence rates in different countries, and accuracy of vaccination schedules and resulting calculations of aluminium doses in different countries.

The GACVS also reviewed the US FDA risk assessment model of aluminium in vaccines. The FDA calculations incorporate the most recently published aluminium risk assessments by adjusting for gastrointestinal absorption and uptake from the site of injection. The FDA analysis indicates that the body burden of aluminium following injections of aluminium-containing vaccines never exceeds safe US regulatory thresholds based on orally ingested aluminium even for low birth-weight infants. GACVS concludes that this comprehensive risk assessment further supports the clinical trial and epidemiological evidence of the safety of aluminium in vaccines. Current research on pharmacokinetics of aluminium in vaccines is ongoing and should be encouraged as a means of further validating and improving this model.

#### **Vaccine safety in pregnancy and lactation**

Several available vaccines have the potential to reduce maternal and fetal morbidity and mortality from preventable diseases. Thus, optimal protection against preventable diseases that pose a higher risk for disease and death in pregnant woman and their offspring should be balanced against the risk of malformations, abortions, stillbirth or other adverse outcomes that theoretically could affect the fetus as a result of vaccination in pregnancy. Maternal antibodies induced by vaccination during pregnancy are actively transferred to the fetus and confer passive protection in the infant after birth. GACVS recently established a subgroup to review the safety profile of several important vaccines for pregnant and lactating women. In addition to the review of available data on influenza vaccines described below, the committee also reviewed the accumulated safety data for rubella-containing vaccines when inadvertently administered to pregnant women to complement the review conducted in June 2008. GACVS concludes that the data remain very reassuring for the use of vaccines during pregnancy, with no evidence of adverse fetal outcomes identified. Protection of mothers at risk and their young infants will be critical to attain the reduction of morbidity and mortality due to infections that affect many populations around the world.

#### **Use of influenza vaccines during pregnancy**

As the risk of influenza disease is increasingly recognized among pregnant women and a growing body of evidence supports the benefits to infants of maternal vaccination, the committee reviewed the safety data available for influenza vaccines derived from clinical trials, observational studies, and spontaneous reporting. The data confirm the safety of non-adjuvanted trivalent inactivated seasonal influenza vaccines in pregnancy. For example in the USA outcomes of pregnancy were assessed in 3719 vaccinated pregnant women compared with 45 866 controls in the Vaccine Safety Datalink during the period 1997–2002. From 1990–2009, an estimated 11.8 million pregnant women were vaccinated in the USA. In addition, a review of spontaneous reports found no maternal deaths, no unexpected pattern of adverse pregnancy events or fetal outcomes, and no increased risk of adverse pregnancy outcomes when compared to background rates. Extensive evaluation during the 2009 influenza A(H1N1)pdm09 pandemic supported the safety of adjuvanted and non-adjuvanted influenza vaccines when used in pregnant women; overall, the safety profile was comparable to seasonal influenza vaccine in non-pregnant adults, and there was no evidence of teratogenicity or any other negative impact on pregnancy outcomes. In addition, preliminary data from a few studies of influenza vaccine in pregnant women have confirmed not only the benefit of

providing protection in this vulnerable population, but positive effects in their infants, including the reduction of low birth weights, and a significant decrease in influenza-related pneumonia in young children.

### Causality assessment of Adverse Events following Immunization

Attribution of causality to AEFI, especially those considered severe, of public importance, and programmatically disruptive, are critical for ensuring vaccine safety. In 2005, WHO published an aide-mémoire to a systematic, standardized causality assessment process for serious AEFI (including clusters), providing a method for individual causality assessment to be used by staff of national immunization programmes, regulatory authorities and pharmacovigilance or surveillance departments.<sup>5</sup> After 7 years, several limitations had been identified during its use in the field, including: the need for more detailed guidance on the elements required to perform the assessment of causality, confusion over the terms used to classify the likelihood of association of the event to the vaccine, and the incomplete use of parameters for establishing causal association.

Following the GACVS decision to review the causality assessment system in December 2010, a working group was established to review the aide-mémoire and develop a method that would be simple, objective, adaptable and evidence-based when used by countries with different resources and capabilities. After concluding a thorough review of the most innovative methods available for determining causation for drugs and biologicals, an algorithmic scheme that incorporates additional elements of causation was designed. The guide was harmonized after the Clinical Immunization Safety Assessment (CISA) network's newly developed algorithm which is available in the USA<sup>6</sup> and the new definition of AEFI proposed by the Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS).<sup>7</sup>

The new WHO proposed method allows the National Committees for AEFI case review and causality assessment to screen serious cases reported by their surveillance system for completeness and quality of information, ensuring the objectiveness of the assessment. Cases deemed incomplete are directed towards additional case investigation and review. A checklist containing the elements of causality assessment was included to guide the committee or the assessor to gather the evidence needed for case review, and when completed allows the application of an algorithm that helps determine if the AEFI could be consistent or inconsistent with an association with the immunization, or is deemed indeterminate due to lack of evidence. A repository of all AEFI cases sorted through this new document is considered critical and recommended to allow for future signal detection and determining the need for additional epidemiological studies.

GACVS recognizes the boundaries of the newly developed method, mainly the limitations in the ability to associate novel, previously unknown AEFIs potentially associated with immunizations, and restrictions due to insufficient information available for individual cases. However, the new AEFI causality assessment system will provide a standardized and transparent method that allows stakeholders to understand the nature of the decision-making process, and pave the way for future evaluation of the guide to refine its effectiveness. GACVS has recommended that this new WHO AEFI causality assessment approach

should be made public as soon as it is finalized, and that complementary materials and simple software be developed for use in countries to enable immunization staff to field-test the algorithm. Of the next steps deemed most important is the development of a booklet to codify the algorithm and train countries in its use. The committee encouraged the subgroup to further develop the product and endorsed the work process.

#### **Core variables for AEFI monitoring**

Collection of harmonized data on AEFI allows for better comparison and pooled analysis with findings from vaccine safety surveillance systems. In collaboration with a network of countries and independent experts, a preliminary list of core variables had been proposed. This list was subsequently compared with the reporting forms from the WHO Programme for International Drug Monitoring (Uppsala Monitoring Centre) to verify which variables are captured by the current reporting forms. Through this exercise, it became apparent that vaccine safety monitoring needs tools which are more specific to the type of variables required for proper AEFI surveillance and that the current web-based interface developed for reporting of suspected drug reactions (VigiFlow) should be adapted for AEFI reporting. To address these issues, the GACVS in December 2011 suggested developing a simpler and vaccine-specific user interface to enter AEFI data. A subgroup of GACVS was tasked to address those issues and presented the status of ongoing activities at the June 2012 meeting.

#### **Collection of basic and advanced AEFI information**

It is recognized that for the purpose of signal detection, data collection tools should remain as simple as possible. However, when signals are detected, or in cases of serious AEFI, additional data are essential to allow inferences to be drawn on the association with vaccines and to assess the need for further investigation and action. The subcommittee presented GACVS with 22 core variables that should be collected for any AEFI (basic information) and an additional 33 variables of interest for a more detailed case review (advanced information). Basic information collected needs to be prioritized because the AEFI data collection, collation, transmission, analysis and feedback systems in different countries are heterogeneous. In addition, quantitative and qualitative aspects of data need to be considered. The suggested approach proposes a basic minimum of 22 variables with 10 identified as critical. This simple structure is expected to encourage countries that do not yet have an AEFI surveillance system in place to develop one. It is proposed that the reporting tool include the WHO-ART dictionary in order to standardize the terminology used to record signs, symptoms or a diagnosis, as well as a vaccine dictionary that will include details pertaining to all of the vaccines suspected. For the advanced information, details on the nature and frequency of reporting for events such as in campaigns or in routine immunization programmes, breast or bottle feeding, status of previous vaccination are proposed.

#### **Vacciflow**

"VacciFlow" will be developed as the adaptation of drug-specific VigiFlow 4.2 to facilitate the entry of vaccine-related AEFI data including immunization programme errors. Ideally "VacciFlow" will be used by both the national regulatory authority and the immunization programme staff. The possibility of incorporating this new interface with minimal computer capabilities and mobile phone technology was encouraged by GACVS.

There will be 3 flexible levels created in "VacciFlow" enabling national and subnational level users to analyse and use the data available for action at each level. Automatic feedback to reporters on the status of the report will be built in. Adapting (modifying) existing AEFI reporting systems to adjust to the data proposed in this core set of variables will require an educational and dissemination effort in many countries. It is expected that the upcoming "VacciFlow" will be sufficiently simple and user-friendly to allow tailor-made adjustment for locally collected information.

1. See No. 41, 1999, pp. 337–338.
2. GACVS invited additional experts to present and discuss evidence related to particular topics. These experts included persons affiliated with: Bambino Gesù Hospital, Rome, Italy; Center for Biologics Evaluation and Research (U.S. F.D.A), Rockville MD, USA; John Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore MD, USA; Program for Applied Technologies in Health, Seattle, USA; Rochester General Hospital Research Institute, Rochester NY, USA; Shantha Biotechnics Limited, Hyderabad, India; University of California, Los Angeles CA, USA; University of Washington, Seattle WA, USA; Uppsala Monitoring Centre, Uppsala, Sweden.
3. Tomljenovic L, Shaw CA. Do aluminum vaccine adjuvants contribute to the rising prevalence of autism? *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2011; 105: 1489–1499.
4. Tomljenovic L, Shaw CA. Aluminum vaccine adjuvants: are they safe? *Current Medicinal Chemistry*, 2011; 18(17):2630–2637.
5. Aide-mémoire: Adverse events following immunization (AEFI): causality assessment. Geneva, World Health Organization, 2005. Available from [http://whqlibdoc.who.int/aide-memoire/a87773\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/aide-memoire/a87773_eng.pdf); accessed July 2012.
6. Halsey NA et al. Algorithm to assess causality after individual adverse events following immunizations. *Vaccine*, 2012. Available online at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22507656>, accessed July 2012.
7. Definitions and application of terms for vaccine pharmacovigilance. Geneva, World Health Organization/ Council for International Organizations of Medical Sciences, 2012. Available at [http://whqlibdoc.who.int/publications/2012/9789290360834\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2012/9789290360834_eng.pdf), accessed July 2012.

## 平成26年2月14日に世界保健機関（WHO）が発表した HPVワクチンの安全性に関する情報について

平成25年12月11日、12日に開催されたWHOワクチンの安全性に関する諮問委員会（GACVS）がHPVワクチンの安全性について以下のようにとりまとめた。

- GACVSは、平成25年6月に米国、オーストラリア、日本及びHPVワクチンの製造業者（メルク及びグラクソスミスクライン）で収集されたデータを検討し、HPVワクチンは安全性に問題ないという結論を得ていた。
- GACVSは、その後もHPVワクチンの安全性についての評価を継続しており、今回、自己免疫性疾患とHPVワクチンの関連性についてのデータを検討し、特に多発性硬化症に焦点をあてた。
- HPVワクチンについての市販前及び市販後調査に関する複数の報告では、ワクチン接種により多発性硬化症を含む自己免疫性疾患の危険性は増加しないとの結果であった。
  - スウェーデンとフィンランドで行われた、30万人のHPVワクチン接種者に関する研究では、HPVワクチンと自己免疫疾患、神経学的疾患及び静脈血栓症の関連性はないとした。
  - 3万人のサーバリックス接種者に関する研究では、サーバリックス接種後の自己免疫疾患の発症率は、非接種群と比較して変わらないという結果であった。
- フランスではワクチン接種後の多発性硬化症の症例報告が数例あったが、同国にはHPVワクチン接種により自己免疫疾患による入院が増加しないという疫学研究がある。



- **HPVワクチン接種により多発性硬化症を含む自己免疫疾患にかかるリスクが増加することはないことを、複数の研究が示している。**
- GACVSはHPVワクチンの安全性についての評価を継続していく。
- 不完全な情報によりワクチン接種による有害性を訴えることは、有効なワクチンが使われなくなるという悪影響を来す可能性がある。

③

出典：WHO Weekly epidemiological record 平成26年2月14日付け







## Contents

- 53 Global Advisory Committee  
on Vaccine Safety,  
11–12 December 2013

## Sommaire

- 53 Comité consultatif mondial  
de la Sécurité vaccinale,  
11–12 décembre 2013

## Global Advisory Committee on Vaccine Safety, 11–12 December 2013

The Global Advisory Committee on Vaccine Safety (GACVS), an expert clinical and scientific advisory body, was established by WHO to provide independent, scientifically rigorous advice on vaccine safety issues of potential global importance.<sup>1</sup> GACVS held its 29th meeting in Geneva, Switzerland, on 11–12 December 2013.<sup>2</sup> The committee reviewed the following topics: the safety profiles of chimeric Japanese encephalitis, inactivated poliovirus, and rotavirus vaccines; allegations related to the safety of human papillomavirus vaccine (HPV); investigations related to increased pyrogenicity of seasonal influenza vaccine; and the development of a global vaccine safety surveillance manual addressing basic concepts for immunization programme managers and regulatory staff.

### Safety profile of Japanese encephalitis (JE) chimeric vaccine

During the June 2013 meeting of GACVS the safety profiles of 1 live attenuated and 2 inactivated Japanese encephalitis (JE) vaccines based on the SA 14-14-2 strain were considered, and the committee concluded that there were no significant concerns regarding the safety profile of these vaccines.<sup>3</sup> During the December 2013 meeting GACVS considered the safety profile of a novel chimeric JE vaccine (Imojev). This vaccine is a live vaccine construct using the yellow fever (YF) 17D and

## Comité consultatif mondial de la Sécurité vaccinale, 11–12 décembre 2013

Le Comité consultatif mondial de la Sécurité vaccinale (GACVS), composé d'experts cliniques et scientifiques, a été créé par l'OMS pour la conseiller, en toute indépendance et avec la rigueur scientifique voulue, sur des problèmes de sécurité vaccinale pouvant avoir une importance mondiale.<sup>1</sup> Le GACVS a tenu sa vingt-neuvième réunion à Genève (Suisse) les 11 et 12 décembre 2013.<sup>2</sup> Il a examiné les questions suivantes: les profils d'innocuité de 3 vaccins (le vaccin chimère contre l'encéphalite japonaise, le vaccin antipoliomyélitique inactivé et le vaccin antirotavirus); les allégations concernant l'innocuité des vaccins anti-papillomavirus (PVH); les enquêtes relatives à la pyrogénicité accrue du vaccin contre la grippe saisonnière; et l'élaboration d'un manuel pour la surveillance de l'innocuité vaccinale au niveau mondial traitant des concepts essentiels à l'intention des administrateurs de programme de vaccination et du personnel chargé de la réglementation.

### Profil d'innocuité du vaccin chimère contre l'encéphalite japonaise (EJ)

Au cours de sa réunion de juin 2013, le GACVS avait examiné les données récentes sur les profils d'innocuité d'un vaccin vivant atténué et de 2 vaccins inactivés contre l'encéphalite japonaise (EJ) préparés à partir de la souche SA-14-14-2, et avait conclu que le profil d'innocuité de ces vaccins ne soulevait aucune préoccupation majeure.<sup>3</sup> Au cours de la réunion de décembre 2013, le GACVS a examiné le profil d'innocuité d'un nouveau vaccin chimère EJ (Imojev). Il s'agit d'un vaccin vivant construit à partir des souches vaccinales 17D du virus de

WORLD HEALTH  
ORGANIZATION  
Geneva

ORGANISATION MONDIALE  
DE LA SANTÉ  
Genève

Annual subscription / Abonnement annuel  
Sw. fr. / Fr. s. 346.–

02.2014  
ISSN 0049-8114  
Printed in Switzerland

<sup>1</sup> See No. 41, 1999, pp. 337–338.

<sup>2</sup> GACVS invited additional experts to present and discuss evidence related to particular topics. These experts included persons affiliated with: Center for Biologics Evaluation and Research (U.S. F.D.A.), Rockville MD, USA; Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta GA, USA; CSL, Parkville, Australia; Emory University, Atlanta GA, USA; National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan; National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, The Netherlands; Royal Children's Hospital, Melbourne, Australia; Sanofi Pasteur, Lyon, France; Therapeutic Goods Administration, Symonston, Australia.

<sup>3</sup> See No. 88, 2013, pp. 301–312.

<sup>1</sup> Voir N° 41, 1999, pp. 337–338.

<sup>2</sup> Le GACVS a invité d'autres experts pour présenter et discuter les données relatives à des sujets particuliers. Il s'agissait notamment des personnes affiliées aux organismes suivants: Center for Biologics Evaluation and Research (U.S. F.D.A.), Rockville MD, États-Unis; Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta GA, États-Unis; CSL, Parkville, Australie; Emory University, Atlanta GA, États-Unis; National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japon; National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, Pays-Bas; Royal Children's Hospital, Melbourne, Australie; Sanofi Pasteur, Lyon, France; Therapeutic Goods Administration, Symonston, Australie.

<sup>3</sup> Voir N° 88, 2013, pp. 301–312.

JE SA-14-14-2 vaccines strains. Construction of the vaccine involves insertion of the nucleic acid sequences encoding the envelope proteins (prM and E) of the JE SA 14-14-2 strain into the YF17D backbone, resulting in a chimeric vaccine virus which is attenuated and lacks neurotropic properties.

Pre-licensure and post-licensure safety and immunogenicity data for Imojev were presented. This vaccine is currently licensed in Australia, Malaysia, the Philippines and Thailand. Pre-licensure data are available for 2486 adults and 2248 children (9–18 months, at first dose). The vaccine is immunogenic and immunogenicity does not appear to be affected by concomitant administration of the measles/mumps/rubella (MMR) vaccine. Short-term safety data for injection site and systemic reactions (reported by >10% of vaccine recipients) were presented and showed that in the adult population, adverse reaction rates were significantly lower with Imojev than with a mouse brain-derived vaccine.<sup>4</sup> There is limited post-licensure safety experience with Imojev, with approximately 49 000 doses administered to date, and a larger safety database will be necessary to evaluate the risk of rare adverse events.

GACVS expressed interest in receiving additional information about potential environmental safety issues relative to the use of a chimeric vaccine. These include the theoretical risk of reversion or genetic reassortment with wild-type JE viruses or other circulating flaviviruses that could result in the vaccine virus acquiring neurotropic and/or infectivity properties, and vaccine virus transmission through mosquito hosts. However the biological plausibility of this is remote, given the short duration of viraemia post vaccination and the limited potential for virus vaccine replication and dissemination within the mosquito.

Post-licensure studies are essential in countries where widespread use of a JE chimeric vaccine is planned or is currently implemented. In particular, post-licensure studies and surveillance should include active surveillance of cases of encephalitis along with a laboratory determination of the aetiology of the encephalitis. Safety data on JE vaccines (including but not limited to the chimeric vaccine) administered to immunocompromised persons and pregnant and lactating women are limited.

#### **Safety of inactivated poliovirus vaccines (IPV)**

With several countries on the threshold of adopting the use of IPV, in line with the Global Vaccine Action Plan (GVAP) strategy for polio eradication, the GACVS session on IPV focussed on visiting: i) the safety record of IPV, as determined in controlled clinical trials during development of the currently available stand-alone and IPV-containing combination vaccines; ii) Adverse events following immunization (AEFI) reports related to IPV from the Vaccine Adverse Events Reporting System (VAERS) of the USA; and iii) issues related to the manufacturing process for IPV.

<sup>4</sup> Torresi J, McCarthy K, Feroldi E, et al. Immunogenicity, safety and tolerability in adults of a new single-dose, live-attenuated vaccine against Japanese encephalitis: randomised controlled phase 3 trials. *Vaccine*. 2010; 28:7993-8000.

la fièvre jaune (FJ) et SA-14-14-2 du virus de l'EJ. La construction du vaccin fait intervenir l'introduction des séquences d'acide nucléique codant pour les protéines d'enveloppe (prM et E) de la souche EJ SA-14-14-2 dans la structure de base YF17D, ce qui donne un virus vaccinal chimère atténué qui ne possède pas de propriétés neurotropiques.

Des données préhomologation et posthomologation relatives à l'innocuité et à l'immunogénicité du vaccin Imojev ont été présentées. Ce vaccin est actuellement homologué en Australie, en Malaisie, aux Philippines et en Thaïlande. Les données préalables à l'homologation sont disponibles pour 2486 adultes et 2248 enfants (âgés de 9 à 18 mois, lors de la première dose). Le vaccin est immunogène et l'immunogénicité ne semble pas atténuée par l'administration concomitante du vaccin rougeole-oreillons-rubéole (ROR). On dispose de données relatives à l'innocuité à court terme concernant les réactions au point d'injection et les réactions systémiques (signalées par >10% des personnes vaccinées) qui démontrent que, dans la population adulte, les taux de réactions indésirables étaient nettement inférieurs avec Imojev qu'avec un vaccin préparé sur cerveau de souris.<sup>4</sup> Les données d'expérience relatives à l'innocuité posthomologation d'Imojev sont limitées, le nombre de doses administrées jusque-là étant approximativement de 49 000; il sera nécessaire de disposer d'une base de données plus importante sur l'innocuité pour évaluer le risque de manifestations indésirables rares.

Le GACVS souhaiterait obtenir davantage d'informations sur les éventuelles questions de sécurité environnementale liées à l'utilisation d'un vaccin chimère. Parmi celles-ci figurent notamment la question du risque théorique de réversion ou de réassortiment génétique avec les virus EJ de type sauvage ou d'autres flavivirus circulants qui aboutirait à l'acquisition par le virus vaccinal de propriétés neurotropiques et/ou infectieuses, et la question de la transmission du virus vaccinal par l'intermédiaire de moustiques hôtes. Toutefois, la plausibilité biologique d'un tel phénomène est toutefois limitée du fait de la faible durée de la virémie postvaccinale et de la capacité limitée du virus vaccinal à se répliquer et se diffuser dans l'organisme du moustique.

Il est essentiel de mener des études posthomologation dans les pays où une large utilisation du vaccin chimère EJ est prévue ou actuellement mise en œuvre. En particulier, les études et la surveillance posthomologation doivent inclure une surveillance active des cas d'encéphalite accompagnée d'une détermination en laboratoire de l'étiologie de l'encéphalite. Les données relatives à l'innocuité des vaccins EJ administrés aux personnes immunodéprimées, aux femmes enceintes et allaitantes restent limitées (y compris mais non seulement pour le vaccin chimère).

#### **Sécurité du vaccin antipoliomyélitique inactivé (VPI)**

Plusieurs pays étant sur le point d'adopter le VPI, conformément à la stratégie d'éradication de la poliomyélite définie dans le Plan d'action mondial pour les vaccins, la séance du Comité consacrée au VPI s'est attachée à examiner: i) le bilan du VPI, tel qu'il ressort des essais cliniques contrôlés menés lors de l'élaboration du vaccin existant actuellement administré seul ou des vaccins associés contenant le VPI; ii) les rapports de manifestations postvaccinales indésirables (MAPI) relatifs au VPI provenant du Vaccine Adverse Events Reporting System (Système de notification des manifestations postvaccinales indésirables - VAERS) des États-Unis; et iii) les questions liées au processus de fabrication du VPI.

<sup>4</sup> Torresi J, McCarthy K, Feroldi E, et al. Immunogenicity, safety and tolerability in adults of a new single-dose, live attenuated vaccine against Japanese encephalitis: randomised controlled phase 3 trials. *Vaccine*. 2010; 28:7993-8000.

The first polio vaccine was developed by Jonas Salk, from formaldehyde-inactivated wild polio viruses. Salk's IPV was tested and proved highly efficacious against paralytic poliomyelitis in a large clinical trial conducted in US schoolchildren in 1954, which was rapidly followed by licensure of the product and implementation of mass vaccination campaigns in children in the USA, Canada and Western Europe. In less than a year, however, this first IPV was the centre of one of the most serious vaccine safety events recorded, the Cutter incident, in which inadequate inactivation of the polio viruses during the manufacturing process resulted in 61 cases of vaccine-associated paralytic poliomyelitis (VAPP), 80 family contact cases, 17 community contact cases and 11 deaths. Following this incident, IPV manufacturing techniques were modified to ensure complete inactivation and avoid any potential risk of injecting live polio viruses. This also resulted in a reduction of the immunogenicity of IPV preparations. In the 1970s an enhanced-potency IPV, similar in immunogenicity to the original product, replaced the second generation IPV. Currently IPV is offered as an individual vaccine as well as in vaccine combinations for primary immunization and for boosters. The available data indicate that known adverse events following IPV administered alone are limited to non-serious reactions. Local reactions, as may occur with any inactivated vaccine, are most common. Adverse events due to IPV administered as a combination with other vaccines are difficult to differentiate from those induced by the other vaccines, e.g. diphtheria+ tetanus+ whole cell pertussis (DTwP). Reviews have not documented any serious adverse events causally related to IPV. Further, a dose of IPV administered prior to a course of oral poliovirus vaccine (OPV) reduces the risk of VAPP compared with an exclusively OPV series.

IPV was introduced in the childhood immunization schedule in the USA in 1997, replacing OPV. Currently, there are 4 licensed vaccines of which 1 is IPV stand-alone vaccine and 3 are in combination with other vaccines. An assessment of AEFI in all ages indicated that most adverse events in VAERS reported from 1 January 1999 to 31 December 2012 were non-serious. Less than 1% of reports were for IPV given alone. The vaccines most commonly co-administered with IPV are pneumococcal conjugate, *Haemophilus influenzae* type b (Hib), hepatitis B, diphtheria+ tetanus+ acellular pertussis (DTaP), and rotavirus vaccines. Although sudden infant death syndrome (SIDS) is the most commonly coded term for deaths in infants for all IPV-containing vaccines, the Institute of Medicine review (2003) rejected a causal relationship between SIDS and multiple vaccines.<sup>5</sup> Based on available data, GACVS is reassured that IPV and IPV-containing vaccines have an excellent safety profile.

Le premier vaccin antipoliomyélique a été mis au point par Jonas Salk, à partir de virus sauvages de la poliomyélite inactivés par le formaldéhyde. Le vaccin antipoliomyélique inactivé de Salk a été testé et s'est avéré très efficace contre la poliomyélite paralytique lors d'un gigantesque essai clinique mené chez des enfants d'âge scolaire aux États-Unis en 1954, lequel a été rapidement suivi de l'homologation du produit et de la mise en œuvre de campagnes de vaccination de masse chez les enfants aux États-Unis, au Canada et en Europe occidentale. Toutefois, moins d'une année plus tard, ce premier VPI a été au cœur de l'un des plus graves événements postvaccinaux jamais survenus, le *Cutter incident*, au cours duquel un procédé d'inactivation inapproprié du virus de la poliomyélite au cours du processus de fabrication a abouti à 61 cas de poliomyélite paralytique associée au vaccin (PPAV), 80 cas contacts dans les familles, 17 cas contacts dans la communauté et 11 décès. À la suite de cet accident, les techniques de fabrication du VPI ont été modifiées pour garantir l'inactivation complète du virus et éviter que des virus poliomyéliquiques vivants puissent être injectés à la personne vaccinée. Cela s'est également traduit par une réduction de l'immunogénicité des préparations de VPI. Dans les années 1970, un VPI à activité renforcée, semblable par son immunogénicité au produit original, a remplacé la deuxième génération de VPI. Le VPI est actuellement proposé seul ou en association avec d'autres vaccins pour la vaccination primaire ou de rappel. Les données disponibles indiquent que les manifestations indésirables connues du VPI administré seul sont essentiellement des manifestations bénignes. Il s'agit le plus souvent de réactions locales pouvant survenir avec tout vaccin inactivé. Les manifestations indésirables lorsque le VPI est administré en association avec d'autres vaccins sont difficiles à différencier des manifestations indésirables dues à ces autres vaccins (par exemple le vaccin antidiphthérique- anticoquelucheux - antitétanique (DTC) à cellules entières). Les examens n'ont pas permis d'obtenir des informations sur d'éventuelles manifestations indésirables graves liées expressément au VPI. Une première dose de VPI administrée avant le vaccin antipoliomyélique oral (VPO) réduit également le risque de cas de PPAV par comparaison à une vaccination utilisant exclusivement le VPO.

Le VPI a été introduit dans le programme de vaccination infantile aux États-Unis en 1997 en remplacement du VPO. Il existe actuellement 4 vaccins homologués, l'un est un vaccin VPI administré seul et 3 sont des vaccins associés. Une évaluation des MAPI indépendamment de l'âge a montré que la plupart des manifestations indésirables signalées par le VAERS entre le 1<sup>er</sup> janvier 1999 et le 31 décembre 2012 n'étaient pas graves. Moins de 1% des notifications concernaient le VPI administré seul. Les vaccins les plus fréquemment administrés conjointement au VPI sont le vaccin antipneumococcique conjugué, le vaccin contre *Haemophilus influenzae* de type b (Hib), les vaccins contre l'hépatite B, la diphtérie, le tétanos, le vaccin anticoquelucheux acellulaire (DTaC) et les vaccins antirotavirus. Bien que le syndrome de mort subite du nourrisson (MSN) soit le terme le plus fréquemment codé pour les décès de nourrissons pour tous les vaccins contenant le VPI, l'examen mené par l'Institute of Medicine des États-Unis (2003) a rejeté tout lien de causalité entre le syndrome de MSN et plusieurs vaccins.<sup>5</sup> Sur la base des données disponibles, le GACVS est convaincu que le VPI et les vaccins contenant le VPI présentent un excellent profil d'innocuité.

<sup>5</sup> Stratton K et al. Immunization safety review: vaccinations and sudden unexpected death in infancy. Institute of Medicine (IOM), 2003.

<sup>5</sup> Stratton K et al. Immunization safety review: vaccinations and sudden unexpected death in infancy. Institute of Medicine, 2003.

GACVS was also presented with an overview of the manufacturing process of IPV by a licensed vaccine manufacturer. The complexities of the manufacturing process were noted, in particular the methods used to ensure virus inactivation and containment to prevent accidental environmental contamination. WHO discussed plans for IPV vaccine technology transfer to emerging country vaccine manufacturers. GACVS noted, given the complexities of the IPV manufacturing process, the importance of ensuring appropriate technical support, training and regulatory oversight to IPV vaccine manufacturers.

### **Increased occurrence of febrile seizures with a seasonal influenza vaccine**

GACVS reviewed progress by the Australian Therapeutic Goods Administration (TGA) and the company that manufactures Fluvax (CSL, Parkville, Victoria, Australia) a trivalent influenza vaccine (TIV) vaccine which, in 2010, was associated with an increased risk of fever and febrile seizures, particularly in children aged <5 years.<sup>6</sup> This resulted in a 3-month suspension of the Australian influenza vaccination programme for children. Subsequent investigations confirmed that no other TIVs were associated with this increased risk. Fluvax is now contraindicated in children aged <5 years and avoided in those aged <9 years.

The manufacturer has conducted several analyses in order to clarify the etiological mechanism of increased pyrogenicity of this specific vaccine product. Initial findings identified several possible contributing factors that may have triggered the reaction to the vaccine. These factors include, in particular, the presence of large RNA fragments, as well as characteristics of the B Brisbane seed virus strain used in seasonal influenza vaccines in 2010 that has a greater ability to maintain RNA fragments during the manufacturing process. GACVS noted that the virus splitting process used by CSL differs from that used by other manufacturers. The company informed GACVS of a planned modification to the vaccine manufacturing process that will be implemented in 2014. It is expected that this modification will lead to a reduction or elimination of the possible contributing factors and therefore a reduction in the additional pyrogenicity.

GACVS recommended that further studies be undertaken in healthy adult (non-pregnant) subjects to ascertain the impact of the new manufacturing process, particularly on safety of the product. Once shown to be safe in this group, the safety of Fluvax in pregnant women will need to be assessed. GACVS concurred with TGA's decision to contraindicate the use of the present CSL vaccine in children aged <5 years. The committee also took note of measures mandated by TGA to reduce inadvertent vaccination, which have included a number of programmatic measures including package labelling. GACVS noted these events illustrate the importance of post-licensure brand-specific safety surveillance which

Un exposé du processus de fabrication du VPI a été présenté au GACVS par le fabricant d'un vaccin homologué. Le Comité a noté la complexité du procédé de fabrication, en particulier des méthodes utilisées pour garantir l'inactivation et l'endiguement du virus afin de prévenir une éventuelle contamination environnementale accidentelle. L'OMS a débattu des projets de transfert de technologie du vaccin VPI aux fabricants de vaccins des pays émergents. Le GACVS a noté que, compte tenu de la complexité du procédé de fabrication du VPI, il importait de garantir un soutien technique, une formation et une supervision réglementaire appropriés aux fabricants de vaccins anti-poliomyélitiques inactivés.

### **Augmentation des convulsions fébriles après l'administration de vaccins contre la grippe saisonnière**

Le GACVS a examiné les progrès réalisés dans l'enquête menée par les autorités de réglementation australiennes (Australian Therapeutic Goods Administration - TGA) et l'entreprise qui fabrique le Fluvax (CSL - Parkville, Victoria, Australie), un vaccin trivalent contre la grippe qui, en 2010, a été associé à un risque accru de fièvre et de convulsions, en particulier chez les enfants âgés de <5 ans.<sup>6</sup> L'Australie avait en conséquence suspendu pour une période de 3 mois le programme de vaccination des enfants contre la grippe. Les enquêtes ultérieures ont confirmé qu'aucun autre vaccin trivalent contre la grippe n'était associé à ce risque accru. Le Fluvax est désormais contre-indiqué chez les enfants âgés de <5 ans et doit être évité chez ceux âgés de <9 ans.

Le fabricant a mené plusieurs analyses afin de préciser le mécanisme étiologique de la pyrogénicité accrue de ce produit vaccinal spécifique. Les conclusions initiales ont décelé plusieurs facteurs ayant pu déclencher la réaction au vaccin. Parmi ces facteurs figurent, notamment, la présence de larges fragments d'ARN, ainsi que les caractéristiques de la souche virale B Brisbane utilisée dans les vaccins contre la grippe saisonnière en 2010 qui présente une plus grande capacité à conserver des fragments d'ARN au cours du procédé de fabrication. Le GACVS a noté que le procédé de fragmentation des virus utilisé par le CSL diffère de celui utilisé par d'autres fabricants. L'entreprise a informé le Comité qu'il était prévu de modifier le procédé de fabrication du vaccin à compter de 2014. On escompte que cette modification conduira à une réduction voire à l'élimination des facteurs supposés contribuer à la pyrogénicité accrue et par conséquent, à une réduction de celle-ci.

Le GACVS a recommandé que des études plus approfondies soient menées chez des sujets adultes (sauf chez les femmes enceintes) en bonne santé afin de confirmer l'impact du nouveau procédé de fabrication et surtout, l'innocuité du produit. Une fois que l'innocuité du produit aura été avérée pour ce groupe, il sera nécessaire d'évaluer l'innocuité du Fluvax chez les femmes enceintes. Le GACVS a approuvé la décision des autorités australiennes concernant la contre-indication de l'utilisation de l'actuel vaccin de CSL chez les enfants âgés de <5 ans. Le Comité a également pris note des mesures prescrites par les TGA afin de réduire la vaccination par inadvertance, parmi lesquelles figurent un certain nombre de mesures programmatiques dont l'étiquetage des emballages. Le GACVS

<sup>6</sup> See No. 29, 2013, pp. 301-312.

<sup>6</sup> Voir N° 29, 2013, pp. 301-312.

presents particular challenges with seasonal influenza vaccines.

### Update on intussusception following rotavirus vaccine administration

GACVS last reviewed the safety profile of Rotateq and Rotarix vaccines during its December 2011 meeting.<sup>7</sup> At that time, the committee concluded that both vaccines had a good safety profile, but that they may be associated with an increased (up to 6-fold) risk of intussusception after the first dose of vaccine in some populations. During the current meeting, new data from Australia and the USA were reviewed in order to update the assessment of intussusception risk related to both vaccines.

In Australia, a recently published study of intussusception cases identified from national hospitalization databases, supplemented by active hospital-based surveillance from July 2007 through June 2010, was reviewed.<sup>8</sup> As both vaccines are available in the country, the study allowed estimation of product-specific risks of intussusception. Findings were similar for both vaccines, suggesting that a significant risk of intussusception exists after the first and second dose of both vaccines. The average vaccine-attributable risk for intussusception, based on the estimated relative incidence in the 1–21 days after dose 1 and the 1–7 days after dose 2, was estimated to be 5.6 additional cases per 100 000 vaccinated infants.

In the USA, data are available from the spontaneous reporting system for vaccine safety (VAERS), as well as from 2 distinct vaccine safety monitoring systems that allow for cohort study designs: the Vaccine Safety Datalink (VSD) and the Post-licensure Rapid Immunization Safety Monitoring system (PRISM). VSD is a network of linked databases, involving 9 integrated health-care delivery institutions, whilst PRISM is a sentinel-like system using claims data from national health insurance companies. VAERS data showed that for Rotateq, from 2006 to 2012, 584 confirmed cases of intussusception were reported for 47 million doses distributed. A cluster of cases was observed between days 3 and 6 after doses 1 and 2. For Rotarix, 66 confirmed intussusception cases were reported for 7.4 million doses distributed. The VSD analyses identified a small cluster of cases following Rotarix, with 6 cases of intussusception for 200 000 doses administered. In contrast, no such cluster was found with Rotateq, with 8 intussusception cases identified (4 each after dose 1 and dose 3) for 1.3 million doses administered. The PRISM data suggest that Rotateq is also associated with clusters of intussusception cases with an attributable risk of approximately 1 case per 100 000 doses whilst the number of cases is currently too small to allow calculation of an attributable risk for Rotarix.

GACVS acknowledged that the findings from both countries tend to confirm a risk of intussusception following

a noté que ces manifestations illustrent l'importance de la surveillance de la sécurité spécifique aux marques après l'homologation, qui pose des défis particuliers lorsqu'il s'agit des vaccins saisonniers contre la grippe.

### Actualisation des données sur l'invagination après l'administration d'un vaccin antirotavirus

Le GACVS a procédé pour la dernière fois à l'examen du profil d'innocuité des vaccins Rotateq et Rotarix au cours de la réunion de décembre 2011.<sup>7</sup> Le Comité avait alors conclu que les 2 vaccins avaient un bon profil d'innocuité, mais pouvaient être associés à un risque accru (pouvant être multiplié par 6) d'invagination après la première dose de vaccin dans certaines populations. Au cours de la présente réunion, de nouvelles données en provenance d'Australie et des États-Unis ont été examinées afin d'actualiser l'évaluation du risque d'invagination lié aux 2 vaccins.

Pour l'Australie, l'étude examinée<sup>8</sup> est l'étude publiée récemment sur les cas d'invagination recensés à partir des bases de données d'hospitalisation au niveau national, qui a été complétée par une surveillance active dans les établissements hospitaliers, menée de juillet 2007 à juin 2010. Étant donné que les 2 vaccins sont disponibles dans le pays, l'étude a permis une estimation des risques d'invagination spécifiques au produit. Les conclusions ont été semblables pour les 2 vaccins, suggérant qu'un risque significatif d'invagination existe après la première et la deuxième dose des 2 vaccins. On estime que le risque moyen d'invagination attribuable au vaccin, basé sur l'estimation de l'incidence relative entre les premier et 21<sup>e</sup> jours après la dose 1 et les premier et septième jours après la dose 2, est de 5,6 cas supplémentaires pour 100 000 nourrissons vaccinés.

Aux États-Unis, les données sont issues du système de notification des manifestations postvaccinales indésirables (VAERS), ainsi que de 2 systèmes de suivi de la sécurité vaccinale distincts qui permettent de réaliser des études de cohorte: le Vaccine Safety Datalink (VSD) et le Post-licensure Rapid Immunization Safety Monitoring system (PRISM). VSD est un réseau de bases de données reliées entre elles, auquel participent 9 établissements de prestation de soins intégrés, tandis que PRISM est un système de type sentinelle utilisant les compagnies d'assurance maladie nationales qui fournissent des données relatives aux demandes d'indemnisation. Les données du VAERS montraient que, pour le Rotateq, de 2006 à 2012, 584 cas confirmés d'invagination ont été signalés sur un total de 47 millions de doses distribuées. On observe une grappe de cas entre les troisième et sixième jours après les doses 1 et 2. Pour le Rotarix, 66 cas confirmés d'invagination ont été notifiés sur un total de 7,4 millions de doses distribuées. Les analyses menées par VSD ont recensé une grappe de cas survenus après l'administration du Rotarix, sur un petit nombre limité à 6 cas d'invagination pour 200 000 doses administrées. À l'inverse, aucune grappe de cas de ce type n'a pu être constatée avec le Rotateq sur les 8 cas d'invagination recensés (4 après la dose 1 et la dose 3) pour 1,3 million de doses administrées. Les données de PRISM suggèrent que le Rotateq est également associé à des grappes de cas d'invagination avec un risque attribuable d'environ 1 cas pour 100 000 doses, tandis que le nombre de cas est actuellement trop faible pour permettre un calcul du risque attribuable par le Rotarix.

Le GACVS a pris note des conclusions des 2 pays qui tendent à confirmer un risque d'invagination suite à l'administration

<sup>7</sup> See No. 6, 2012, pp. 54–56.

<sup>8</sup> Carlin JB et al. Clin Infect Dis. 2013; 57:1427–34.

<sup>7</sup> Voir N° 6, 2012, pp. 54–56.

<sup>8</sup> Carlin JB et al. Clin Infect Dis. 2013; 57:1427–34.

administration of both vaccines, in particular during the first 7 days following a first dose. The committee noted that attributable risk estimates vary across studies. This might reflect differences in the background rate of intussusception (estimated to be double in Australia compared to the USA) but could also reflect sampling uncertainty in all available estimates and limitations of the surveillance systems that lead to some uncontrolled biases (e.g. differences in diagnostic tests and case definitions in different settings). Overall, the findings remain reassuring that the risk of intussusception following current rotavirus vaccines remains small compared to the benefits of preventing the impact of severe diarrhoea. Given possible population differences in risk of intussusception, it is important that rotavirus vaccine introduction in other parts of the world be accompanied by similar active intussusception surveillance studies together with rotaviral disease surveillance so that the benefits and risks can be ascertained with relevant evidence.

### Human papillomavirus vaccines safety (HPV)

GACVS reviewed evidence related to autoimmune disease and the HPV, with a focus on multiple sclerosis (MS). The last review was conducted in June 2013, when the Committee reviewed updated data from the USA, Australia, Japan, and the manufacturers of Cervarix (GlaxoSmithKline) and Gardasil (Merck). With >175 million doses distributed worldwide and more countries offering the vaccine through national immunization programmes, the Committee continued to be reassured by the safety profile of the available products. Serious adverse events that have been reported as potential signals have been investigated in more detail and were not confirmed, including Guillain-Barré syndrome, seizures, stroke, venous thromboembolism, anaphylaxis and other allergic reactions. Surveillance of pregnancy outcomes among women inadvertently vaccinated during pregnancy through spontaneous reports and registries has not detected any adverse outcomes above expected rates.

While surveillance data and epidemiologic studies on HPV vaccine have remained reassuring, allegations have continued to surface in the media and elsewhere about the safety of the vaccine. Epidemiologic studies before and after licensure showed no increased risk of autoimmune disease, including MS. Since the introduction of HPV vaccines, such diseases have been under particularly careful investigation given their correspondingly high age-specific background incidence.<sup>9, 10, 11</sup>

<sup>9</sup> Siegrist CA. Autoimmune diseases after adolescent or adult immunization: what should we expect? *CMAJ*. 2007 Nov 20;177(11):1352-4.

<sup>10</sup> Siegrist CA, Lewis EM, Eskola J, Evans SJ, Black SB. Human papilloma virus immunization in adolescent and young adults: a cohort study to illustrate what events might be mistaken for adverse reactions. *Pediatr Infect Dis J*. 2007 Nov;26(11):979-84.

<sup>11</sup> Callréus T, et al. Human papillomavirus immunisation of adolescent girls and anticipated reporting of immune-mediated adverse events. *Vaccine*. 2009 May 14;27(22):2954-8.

des 2 vaccins, en particulier au cours des 7 premiers jours suivant une première dose vaccinale. Le Comité note que les estimations relatives au risque attribuable varient d'une étude à l'autre. Ces variations peuvent être le reflet de différences dans le taux d'invagination de référence (2 fois plus élevé en Australie qu'aux États-Unis), mais peuvent aussi refléter des incertitudes liées à l'échantillonnage pour l'ensemble des estimations disponibles ainsi que les limites des systèmes de surveillance qui conduisent à certains biais non maîtrisés (par exemple des différences dans les tests de diagnostic et les définitions des cas d'un lieu à l'autre). D'une manière générale, les conclusions restent rassurantes, confirmant que le risque d'invagination dû aux vaccins antirotavirus actuels reste faible par comparaison aux avantages de la prévention de la diarrhée sévère et de ses conséquences. Compte tenu des différences possibles dans le risque d'invagination au sein des populations, il est important que l'introduction du vaccin antirotavirus dans d'autres parties du monde soit accompagnée d'études semblables de surveillance active de l'invagination et d'une surveillance des maladies à rotavirus de façon à ce que des éléments probants permettent d'évaluer les avantages et les risques.

### Innocuité des vaccins contre le papillomavirus humain (PVH)

Le GACVS a examiné les données factuelles liées aux maladies auto-immunes et à la vaccination par le vaccin contre le PVH. Le dernier examen de ces vaccins avait été effectué en juin 2013, lorsque le Comité avait examiné les données actualisées provenant des États-Unis, de l'Australie, du Japon et des fabricants du Cervarix (GlaxoSmithKline) et du Gardasil (Merck). Avec >175 millions de doses distribuées dans le monde et davantage de pays proposant la vaccination par l'intermédiaire des programmes de vaccination nationaux, le Comité continue à se montrer satisfait du profil d'innocuité des produits disponibles. Les manifestations indésirables graves qui ont été notifiées en tant que signes d'alerte potentiels ont fait l'objet d'enquêtes plus approfondies et n'ont pas été confirmées, qu'il s'agisse du syndrome de Guillain-Barré, de convulsions, d'AVC, de thrombo-embolie veineuse, d'anaphylaxie ou d'autres réactions allergiques. La surveillance des issues de la grossesse chez les femmes vaccinées par inadvertance, qui a été effectuée par une notification spontanée ou examen des registres, n'a pas permis de recenser des issues défavorables allant au-delà des taux escomptés.

Bien que les données de surveillance et les études épidémiologiques concernant le vaccin anti-papillomavirus restent rassurantes, des allégations mettant en doute l'innocuité du vaccin continuent à être relayées par les médias notamment. Les études épidémiologiques menées avant et après l'homologation n'ont montré aucun risque accru de maladie auto-immune, y compris de sclérose en plaques. Cependant, depuis l'introduction du vaccin contre le PVH, ces maladies font l'objet d'enquêtes particulièrement approfondies compte tenu de leur incidence de fond élevée dans la tranche d'âge correspondante.<sup>9, 10, 11</sup>

<sup>9</sup> Siegrist CA. Autoimmune diseases after adolescent or adult immunization: what should we expect? *CMAJ*. 2007 Nov 20; 177(11):1352-4.

<sup>10</sup> Siegrist CA, Lewis EM, Eskola J, Evans SJ, Black SB. Human papilloma virus immunization in adolescent and young adults: a cohort study to illustrate what events might be mistaken for adverse reactions. *Pediatr Infect Dis J*. 2007 Nov; 6(11):979-84.

<sup>11</sup> Callréus T, et al. Human papillomavirus immunisation of adolescent girls and anticipated reporting of immune-mediated adverse events. *Vaccine*. 2009 May 14; 27(22):2954-8.

Examples of such studies include a register-based cohort study in Sweden and Finland that included almost 1 million girls aged 10–17 years, among whom almost 300 000 were vaccinated against HPV.<sup>12</sup> The study investigated whether vaccination was associated with an increased risk of autoimmune, neurological or thromboembolic events. The study results did not show evidence of any association between exposure to HPV vaccine and autoimmune, neurological, and venous thromboembolic adverse events.

In the USA, an observational study involving almost 200 000 girls and young women who had received at least 1 dose of HPV vaccine found no increased incidence of 16 investigated autoimmune diseases in the vaccinated compared to the non-vaccinated group.<sup>13</sup> The incidence of MS in the vaccinated cohort, for example, was not significantly higher than the non-vaccinated cohort (incidence rate ratio 1.37, 95% confidence interval 0.74–3.20). In a third study, a pooled analysis of data from 11 clinical trials involving nearly 30 000 participants aged >10 years, of which 16 142 received at least 1 dose of Cervarix and 13 811 received either a placebo containing aluminium hydroxide or 1 of 2 different hepatitis A vaccines. No increased risk for the onset of autoimmune diseases after administration of Cervarix was observed in comparison to the control group.<sup>14</sup>

The committee was provided with an overview of cases that were the subject of concern in France. These included one case of MS that had been adjudicated by a French Regional Commission for Conciliation and Compensation. Another 14 cases of MS were reported through regional pharmacovigilance centres and/or the manufacturers to the European Medicines Agency. All 15 cases had been classified as being of “doubtful” causality, according to the French grading system. In addition, the overview from France included results of a cohort study involving 2 million girls aged 12–16 showing a lack of increase in hospitalization rates for autoimmune diseases among those who received the HPV vaccine (2.1/10 000 patients/year) compared to those who did not (2.09/10 000 patients/year).

In summary, GACVS was presented with a series of cases of adverse events following administration of the HPV vaccine. Multiple studies have demonstrated no increase in risk of autoimmune diseases, including MS, among girls who have received HPV vaccine compared to those who have not. The Committee remains reassured by the safety profile of the vaccine, but noted the importance of continued surveillance and epidemiological investigation with an emphasis on the collection of high quality data; such data are essential for interpretation of any adverse events which may occur following vaccination. Alle-

Parmi les exemples de ces études figure une étude de cohorte basée sur les registres menée en Suède et en Finlande, qui a porté sur près de 1 million de jeunes filles âgées de 10 à 17 ans, chez lesquelles presque 300 000 ont été vaccinées contre le PVH.<sup>12</sup> L'étude a recherché si la vaccination était associée à un risque accru de manifestations auto-immunes, neurologiques ou thrombo emboliques. Les résultats de l'étude n'ont apporté aucun élément probant à l'appui de l'association entre l'exposition au vaccin anti-PVH et les manifestations indésirables prenant la forme de maladies auto-immunes, neurologiques ou thrombo emboliques veineuses.

Aux États-Unis, une étude d'observation impliquant près de 200 000 jeunes filles et jeunes femmes qui avaient reçu au moins 1 dose de vaccin anti-PVH n'a constaté aucune augmentation de l'incidence des 16 maladies auto-immunes recherchées chez les personnes vaccinées par comparaison au groupe des personnes non vaccinées.<sup>13</sup> L'incidence de la sclérose en plaques dans la cohorte vaccinée, par exemple, n'était pas nettement plus importante que dans la cohorte non vaccinée (ratio du taux d'incidence: 1,37, intervalle de confiance de 95%: 0,74 à 3,20). Dans une troisième étude, une méta-analyse de données provenant de 11 essais cliniques incluant près de 30 000 participants âgés de >10 ans, dont 16 142 avaient reçu au moins une dose du Cervarix et 13 811 avaient reçu soit un placebo contenant un hydroxyde d'aluminium soit 1 des 2 différents vaccins contre l'hépatite A, aucun risque accru d'apparition d'une maladie auto-immune après l'administration du Cervarix n'a été observé par comparaison au groupe contrôle.<sup>14</sup>

Un exposé des cas qui ont soulevé des craintes en France a été présenté au Comité. Parmi ceux-ci figurait un cas de sclérose en plaques qui a fait l'objet d'une décision d'une commission régionale française de conciliation et d'indemnisation. Quatorze autres cas de sclérose en plaques ont été signalés par l'intermédiaire des centres régionaux de pharmacovigilance et/ou des fabricants à l'Agence européenne des Médicaments. Les 15 cas avaient été classés comme présentant un lien de causalité «douteux» selon le système de classement français. En outre, la synthèse présentée par la France comprenait les résultats d'une étude de cohorte portant sur 2 millions de jeunes filles âgées de 12 à 16 ans, montrant l'absence d'augmentation des taux d'hospitalisation pour les maladies auto-immunes parmi celles qui avaient reçu le vaccin anti-papillomavirus (2,1/10 000 patientes par an) par comparaison à celles qui n'avaient pas reçu de vaccin (2,09/10 000 patientes par an).

En résumé, une série de cas de manifestations indésirables suite l'administration du PVH a été présentée au Comité. De multiples études n'ont démontré aucune augmentation du risque de maladies auto-immunes, y compris de sclérose en plaques, parmi les jeunes filles ayant reçu le vaccin contre le PVH humain par comparaison à celles qui ne l'avaient pas reçu. Le Comité continue à être satisfait du profil d'innocuité du vaccin, mais note qu'il est important de poursuivre la surveillance et les enquêtes épidémiologiques en mettant l'accent sur la collecte de données de grande qualité; de telles données sont indispensables pour interpréter les manifestations indésirables qui se produisent à la suite de la vaccination. Les allégations de dommages dus

<sup>12</sup> Arnheim-Dahlström L, et al. Autoimmune, neurological, and venous thromboembolic adverse events after immunisation of adolescent girls with quadrivalent human papillomavirus vaccine in Denmark and Sweden: cohort study. *BMJ*. 2013 Oct 9; 347.

<sup>13</sup> Chao C et al. Surveillance of autoimmune conditions following routine use of quadrivalent human papillomavirus vaccine. *J Intern Med*. 2012 Feb; 271 (2):193-203.

<sup>14</sup> Descamps D, et al. Safety of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine for cervical cancer prevention: a pooled analysis of 11 clinical trials. *Hum Vaccin*. 2009 May; 5(5):332-40.

<sup>12</sup> Arnheim-Dahlström L, et al. Autoimmune, neurological, and venous thromboembolic adverse events after immunisation of adolescent girls with quadrivalent human papillomavirus vaccine in Denmark and Sweden: cohort study. *BMJ*. 2013 Oct 9; 347.

<sup>13</sup> Chao C et al. Surveillance of autoimmune conditions following routine use of quadrivalent human papillomavirus vaccine. *J Intern Med*. 2012 Feb; 271 (2):193-203.

<sup>14</sup> Descamps D, et al. Safety of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine for cervical cancer prevention: a pooled analysis of 11 clinical trials. *Hum Vaccin*. 2009 May; 5(5):332-40.

gations of harm due to vaccination based on incomplete information may lead to unnecessary harm when effective vaccines are not used.

### Vaccine safety monitoring manual

There is a need for a global manual that addresses the basic concepts of vaccine safety surveillance. GACVS reviewed a draft document based on a recent publication<sup>15</sup> by the WHO Regional Office for the Western Pacific. GACVS advised that the global version should be designed primarily for immunization programme managers (at all levels) and for regulatory authority staff. Such a manual should focus on the general principles of immunization, AEFI detection, reporting, investigation, analysis and follow-up activities. It is essential to provide guidance on the systems and functions required of AEFI surveillance, and the channels of communication of safety data, as well as including sample forms that can be adapted by individual countries.

It is important to note that the manual should not be exhaustive with respect to all vaccine safety monitoring principles and methods. It should, however, provide links to the appropriate references and materials. For example, the new causality assessment classification endorsed by GACVS is described in another manual<sup>16</sup> that, although designed as a reference for expert review committee members, can serve to supplement the chapter in the general document. The new manual should, therefore, limit its content to an explanation of the need for and basic principles of causality assessment and what is the purpose, general principles and outcomes of causality assessment, without advanced technical discussion. Links to periodically updated e-documents such as the AEFI rate sheets<sup>17</sup> will be more helpful than incorporating them into the main text of the manual which could quickly become outdated.

The committee also advised on some important aspects to be addressed in the manual. It should describe the general structure of an AEFI surveillance system. This includes in particular a focus on relationships between immunization programmes and regulatory agencies. It should also stress the importance of vaccine safety communication to the community, to decision makers and to all levels of immunization services. With respect to clinical interventions or recommended diagnostic methods for specific AEFI, GACVS advised that the manual should focus on general principles, given the diversity of current clinical practices and health-care resources. However, the manual should include generic forms for use in surveillance of vaccine safety and investigation of serious AEFI. Likewise, it should provide access to the content of the aide-memoires on AEFI investigation<sup>18</sup> and causality assessment.<sup>19</sup> ■

<sup>15</sup> Immunization safety surveillance guidelines for immunization programme managers on surveillance of adverse events following immunization (Second Edition). World Health Organization, Western Pacific Region, 2013.

<sup>16</sup> See [http://www.who.int/vaccine\\_safety/publications/gvs\\_aefi/en/index.html](http://www.who.int/vaccine_safety/publications/gvs_aefi/en/index.html)

<sup>17</sup> See [http://www.who.int/vaccine\\_safety/initiative/tools/vaccinfosheets/en/index.html](http://www.who.int/vaccine_safety/initiative/tools/vaccinfosheets/en/index.html)

<sup>18</sup> See [http://www.who.int/vaccine\\_safety/publications/AEFI\\_Investigation\\_Aide\\_Memoire.pdf](http://www.who.int/vaccine_safety/publications/AEFI_Investigation_Aide_Memoire.pdf)

<sup>19</sup> See [http://www.who.int/vaccine\\_safety/publications/AEFI\\_aide\\_memoire.pdf](http://www.who.int/vaccine_safety/publications/AEFI_aide_memoire.pdf)

à la vaccination reposant sur des informations incomplètes peuvent conduire à des dommages inutiles lorsque des vaccins efficaces ne sont pas utilisés.

### Manuel de suivi de l'innocuité des vaccins

Il est nécessaire de disposer, au niveau mondial, d'un manuel qui traite des principes essentiels de la surveillance de l'innocuité vaccinale. Le GACVS a examiné un projet de document basé sur une publication récente<sup>15</sup> du Bureau régional OMS du Pacifique occidental. Le Comité a recommandé que la version mondiale soit conçue en premier lieu pour les administrateurs de programme de vaccination (à tous les niveaux) et pour les autorités chargées de la réglementation. Un tel manuel doit être axé sur les principes généraux de la vaccination, le dépistage des MAPI, la notification, les enquêtes, l'analyse et les activités de suivi. Il est indispensable de fournir des orientations sur les fonctions et systèmes requis pour la surveillance des MAPI, et les circuits de communication des données relatives à l'innocuité, ainsi que de fournir des formulaires types qui puissent être adaptés par les différents pays.

Il est important de noter que le manuel ne doit pas être exhaustif s'agissant de l'ensemble des principes et méthodes de suivi de l'innocuité vaccinale. Il doit toutefois fournir des liens vers les outils de référence et documents appropriés. Ainsi, le nouveau classement d'évaluation de la causalité approuvé par le GACVS est décrit dans un autre manuel<sup>16</sup> qui, bien que conçu comme un outil de référence pour les membres du Comité d'experts, peut permettre de compléter ce chapitre du document général. Le nouveau manuel doit par conséquent se limiter dans son contenu à une explication de la nécessité et des principes de base de l'évaluation de la causalité, ainsi que de son but, ses principes généraux et ses résultats, pour laisser de côté les discussions techniques plus poussées. Il sera plus utile de fournir des liens vers des documents électroniques tels que les fiches d'information sur les taux de MAPI<sup>17</sup> qui seront périodiquement mises à jour plutôt que de les intégrer dans le corps du manuel, au risque qu'elles soient rapidement obsolètes.

Le Comité a également donné des conseils sur certains aspects importants qui devront être abordés dans le manuel. Il devra ainsi décrire la structure générale d'un système de surveillance des MAPI. Il convient ainsi de mettre l'accent sur les liens entre les programmes de vaccination et les organismes de réglementation. Il doit également souligner l'importance de la communication sur l'innocuité vaccinale auprès de la communauté, des responsables politiques et à tous les niveaux des services de vaccination. S'agissant des interventions cliniques ou des méthodes de diagnostic recommandées pour des MAPI spécifiques, le GACVS a recommandé que le manuel n'aborde que des principes généraux compte tenu de la diversité des pratiques cliniques actuelles et des ressources en matière de soins. Le manuel doit toutefois inclure des formulaires types pour la surveillance de l'innocuité vaccinale et les enquêtes sur les manifestations indésirables graves. De même, il doit donner un accès au contenu des aide-mémoire sur les enquêtes sur les MAPI<sup>18</sup> et l'évaluation de la causalité.<sup>19</sup> ■

<sup>15</sup> Immunization safety surveillance guidelines for immunization programme managers on surveillance of adverse events following immunization (Second Edition). Région du Pacifique occidental de l'Organisation mondiale de la Santé, 2013.

<sup>16</sup> Voir [http://www.who.int/vaccine\\_safety/publications/gvs\\_aefi/en/index.html](http://www.who.int/vaccine_safety/publications/gvs_aefi/en/index.html)

<sup>17</sup> Voir [http://www.who.int/vaccine\\_safety/initiative/tools/vaccinfosheets/en/index.html](http://www.who.int/vaccine_safety/initiative/tools/vaccinfosheets/en/index.html)

<sup>18</sup> Voir [http://www.who.int/vaccine\\_safety/publications/AEFI\\_Investigation\\_Aide\\_Memoire.pdf](http://www.who.int/vaccine_safety/publications/AEFI_Investigation_Aide_Memoire.pdf)

<sup>19</sup> Voir [http://www.who.int/vaccine\\_safety/publications/AEFI\\_aide\\_memoire.pdf](http://www.who.int/vaccine_safety/publications/AEFI_aide_memoire.pdf)



## 「アルミニウムとワクチン」経緯（仮訳）

### 再確認されたアルミニウムアジュバントの安全性

－フランスにおける議論のきっかけとその結論－

アルミニウムアジュバントは、60年間以上の長きにわたり世界中で多くのワクチンに使用されてきた。一時、フランス内のある特定の研究チームの報告をきっかけに安全性についての再確認を求める声が高まったが、最終的にはアルミニウムアジュバントの安全性が再確認され、現在に至っている。

論争の発端は、1998年、とある研究チームが筋骨格系の症状と全身症状を呈する一連の成人患者18例の症例とその筋生検の所見を報告し、マクロファージ筋膜炎(MMF)という疾患を提唱したことだった。ワクチン接種後に筋肉内に生じる肉芽腫からアルミニウムが見つかることはこの報告以前から知られていた。そこで、この研究チームは、アジュバントに含まれるアルミニウムが長く組織内に残留した結果、MMFが発症するという仮説をたてその立証をこころみた。しかし、症状との関連性を結論づけることはできず、その後も、多発性硬化症と推測される中枢神経系損傷との関連可能性、慢性疲労症候群との関係可能性、アルミニウムのナノ粒子が血液脳関門を通過して脳に沈着した結果、神経学的障害がおこるとの推測、ASIA症候群（アジュバントにより惹起される自己免疫・自己炎症症候群）でシリコン・インプラントなどに含まれるという見解、などが出されている。直近では動物実験のデータを根拠とし、単球を介した脳へのアルミニウム移行に関する仮説を提唱しているが、証明されていない。

一方、世界保健機関（WHO）において、さまざまな分野の国際的専門家が総合的に検討した結果、アルミニウムアジュバントを含むワクチンの接種と組織学的所見の存在に関連はあるがその所見とMMFで報告されている病状の関連性は言えない（この組織学的所見により症状は説明できない）こと、さらなる疫学的研究等が必要であることが報告された。その後フランス政府によりおこなわれた疫学的研究により、「マクロファージ内のアルミニウムと疾患発生に関連性はない」ことが確認された。

2003年12月、WHOは「ワクチン接種後に見られるアルミニウムを含有するマクロファージは、疾患にも特定の臨床症状にも関係ない」と結論付けた。

フランス公衆衛生関連専門家会議は、ワクチンに含まれるアルミニウムアジュバントとMMFの関連性に関する検討結果とアルミニウムアジュバントの安全性を確認したという結論をまとめ、2013年に報告しており、その報告書の中で、ワクチン接種続行の推奨と同時にワクチン接種率低下による感染症流行に対し警告を発している。

## 「アルミニウムとワクチン」 - 提言 - (仮訳)

全体として、Haut Conseil de la santé publique (フランス高等公衆衛生審議会) は以下を認めている：

- ・世界中で使用されている不活化ワクチンおよびサブユニットワクチンのほとんどに、ワクチンの有効性に必要なアジュバントが使われている。
- ・アルミニウム塩は最も多く使用されているアジュバントである。
- ・アルミニウム塩は 1920 年以降ワクチン抗原に添加されてきたが、今までアルミニウム塩の添加やアルミニウムアジュバントを含有したワクチンの安全性について問題視する国や公的機関はなかった。
- ・マクロファージ筋膜炎の一連の成人症例に関する公表文献は、世界でわずか 1 つのチームが発表しているだけである。ワクチン接種とアルミニウムを含む肉芽腫の存在との関連性は知られていたが、報告された臨床症状とアルミニウムを含む肉芽腫との因果関係を確認できた試験の文献はない。
- ・この 1 チームのみが発表した症状は、主に過去 10 年間に数多く (平均 5 回) ワクチンを接種された成人の症状である。乳幼児では、接種回数が多い予防接種計画を採用している国 (米国など)、または過去に採用していた国においては、その分、ワクチンによるアルミニウム塩の暴露も多くなっている。しかし、これらの症状は、乳幼児では報告されていない。
- ・高用量のアルミニウムの脳に対する毒性は周知の事実であり、マクロファージ筋膜炎に関連すると記載されている臨床症状とは別の臨床症状の原因である。
- ・マウスを用いて実施した最近の研究として、ヒトおよびワクチンに置き換えてかんがえることが難しいような実験条件の下、脳などのさまざまな器官へのアルミニウムの輸送機序を示す情報が提供された。しかし、アルミニウムの毒性や脳におけるアルミニウムの存在の可能性とマクロファージ筋膜炎の臨床症状との関連性を示す証拠は示されなかった。
- ・アルミニウムのヒト脳への移行を促進する可能性を示す遺伝要因の証拠は示されていない。
- ・アルミニウム以外のアジュバントは過去も使用されてきており、現在も使用されている。しかし、アルミニウム以外のアジュバントの有効性または忍容性のプロファイルを見たところ、現時点でリスク/ベネフィットのバランスがアルミニウムよりも良好となるアジュバントはない。
- ・アルミニウム含有ワクチン (過去に使用されたワクチンも含む) に代わる新たなアジュバントを組み込んだワクチンが開発され承認されるには数年かかると考えられる。

このため、Haut Conseil de la santé publique (フランス高等公衆衛生審議会) は、

- ・現在入手できる科学的データにより、リスク/ベネフィットの観点からアルミニウム含有ワクチンの安全性が疑問視されることはないと判断する。
- ・実施されているワクチンスケジュールに従ってワクチン接種を続行することを推奨する。
- ・科学的根拠なしにアルミニウム含有ワクチンが疑問視されたことで、ワクチン接種率の低下から生じ得る感染症再出現の影響を警告する。

- ・ 現在入手できるアジュバントおよび開発中のアジュバントの安全性の評価を目的とした研究の継続を奨励する。

CTV（フランス予防接種専門委員会）は2013年7月4日に委員会を開催した：投票権のある17名の委員のうち15名が出席した。利害衝突はなく、賛成15票、棄権0票、反対0票で本文書は承認された。

CSMT（フランス感染症委員会）は2013年7月11日に委員会を開催した：投票権のある15名の委員のうち8名が出席した。利害衝突はなく、賛成8票、棄権0票、反対0票で本文書は承認された。



# Aluminium et vaccins

Collection  
*avis et Rapports*

## Aluminium et vaccins

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

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

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

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

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

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



## Aluminium et vaccins

Rapport

11 juillet 2013

## GROUPE DE TRAVAIL

### Composition

Brigitte AUTRAN, HCSP-CTV

Jean BEYTOUJ, HCSP-CTV

Daniel FLORET, HCSP-CTV

Alexis JACQUET, ANSM

Jean-Louis KOECK, Service de santé des Armées

Daniel LEVY-BRUHL, InVS

Isabelle MORER, ANSM

Henri PARTOUCHE, HCSP-CTV

Corinne LE GOASTER, SG-HCSP

Odile LAUNAY, HCSP-CTV

Didier TORNY, HCSP-CTV

### Personne auditionnée

Pr Romain GHERARDI, Hôpital Universitaire Henri Mondor, Créteil

### Déclarations publiques d'intérêt

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

## SOMMAIRE

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

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

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

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

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

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

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

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

## Références

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

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

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

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

## 1 - Genèse et chronologie d'une controverse

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

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

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

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

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

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

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



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

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

### 2.1 - La myofasciite à macrophages : une affection essentiellement française

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

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

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

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

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

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

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

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

[4] Gherardi RK, Coquet M, Cherin P, et al. Macrophagic myofasciitis lesions assess long-term persistence of vaccine-derived aluminium hydroxide in muscle. *Brain* 2001 ; 124: 1821-31.

[5] Authier FJ, Cherin P, Creange A, et al. Central nervous system disease in patients with macrophagic myofasciitis. *Brain* 2001; 124: 974-83.

[6] Myofasciite à macrophages. Rapport d'investigation exploratoire. INVS / GERMAD. Octobre 2011. Disponible à <http://www.invs.sante.fr/publications/myofasciite/index.htm>

[7] Organisation Mondiale de la Santé. Sécurité des vaccins. Comité consultatif pour la sécurité des vaccins. Relevé Épidémiologique Hebdomadaire 1999 ; 41:337-40.

[8] Organisation Mondiale de la Santé. Sécurité des vaccins. Comité consultatif pour la sécurité des vaccins. Relevé Épidémiologique Hebdomadaire 2004 ; 3 :20

[9] Authier FJ, Sauvat S, Champey J, et al. Chronic fatigue syndrome in patients with macrophagic myofasciitis. *Arthritis & Rheumatism* 2003; 48: 569-72.

[10] Couette M, Bolisse MF, Maison P, et al. Long-term persistence of vaccine-derived aluminium hydroxide is associated with chronic cognitive dysfunction. *Journal of Inorganic Biochemistry* 2009; 103: 1571-78.

[11] Passeri E, Villa C, Couette M, et al. Long-term follow up of cognitive dysfunction in patients with aluminium hydroxide-induced macrophagic myofasciitis. *Journal of Inorganic Biochemistry* 2011; 105: 1457- 63.

[12] Shoenfeld Y, Agmon-Levin N. ASIA- Autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants. *J Autoimmunity* 2011; 36: 4-8.

[13] Khan Z, Combadière C, Authier FJ, et al. Slow CCL2-dependent translocation of biopersistent particles from muscle to brain. *BMC Medicine* 2013, 11: 99.

▪ L'article de Chérin *et al.* [7] publié en 2001 rapporte 3 cas d'adultes présentant une faiblesse musculaire liée à une myosite inflammatoire à inclusions prouvée par biopsie. Une nouvelle biopsie motivée par une aggravation confirme le diagnostic initial mais révèle des signes associés de MFm. Dans un cas, la biopsie initiale avait été faite dans le quadriceps, alors que la biopsie montrant des lésions de MFm a été faite dans le deltoïde, avec des vaccinations (contre le virus de l'hépatite B (VHB), et contre le virus de l'hépatite (VHA)) réalisées entre les deux biopsies. Dans un cas, les deux biopsies ont été réalisées dans le deltoïde et il n'y a pas eu de vaccination (entre les 2 ?) et dans le troisième cas la vaccination (VHB) avait été réalisée avant le début de la maladie, la première biopsie réalisée dans le quadriceps, la seconde dans le deltoïde.

▪ L'article de Authier *et al.* [8] publié en 2001 signale que parmi les 92 cas de MFm diagnostiqués, 14 présentent des signes d'atteinte du système nerveux central. Seulement 7 de ces cas sont présentés dans l'article : 5 présentent une sclérose en plaques (SEP) certaine et 2 une SEP probable. Ces patients ont tous reçu 3 à 78 mois avant la biopsie (en moyenne 33 mois) un vaccin contenant de l'aluminium (4 VHB, 1 Tétanos+VHB, 2 Tétanos). Les biopsies ont été pratiquées en raison des douleurs qui ne sont pas inhabituelles chez les patients atteints de SEP (douleurs du dos, douleurs musculaires ou articulaires) [9] et en pleine période de polémique concernant les relations vaccin hépatite B/SEP.

▪ L'article de Gherardi *et al.* [10] publié en 2001 fait état de plus de 130 cas de MFm répertoriés en France (38 cas supplémentaires par rapport à la publication précédente quelques mois plus tôt !). L'étude présentée comporte une étude ultra structurale et chimique musculaire pratiquée sur 40 patients atteints de MFm comparés à 40 patients atteints de dermatomyosite et 40 atteints d'une dystrophie musculaire congénitale. Cette étude montre que les inclusions détectées dans les muscles des patients atteints de MFm correspondent à de l'aluminium. Dans cette même étude, l'incidence des myalgies chez 46 patients atteints de MFm est comparée à celle de 1252 patients biopsiés sans diagnostic de MFm : l'incidence est de 85 % chez les MFm contre 45 % pour les témoins. Ce résultat peut s'expliquer facilement puisque les myalgies représentaient l'indication essentielle de pratique de la biopsie pour les patients avec le diagnostic de MFm.

▪ Le statut vaccinal est étudié chez 50 patients MMF : tous ont reçu des vaccins contenant de l'aluminium dans les 8 ans : 84 % ont reçu la vaccination VHB, 19 % VHA et 58 % la vaccination contre le tétanos (ce qui n'est pas surprenant pour un vaccin recommandé tous les 10 ans). Il n'y a pas de groupe contrôle. La proportion de personnes vaccinées contre l'hépatite B peut paraître élevée. Certaines séries de MFm ont montré un pourcentage élevé de personnes travaillant à l'hôpital : ces personnes ont plus facilement accès à des structures spécialisées où les biopsies musculaires sont pratiquées. En outre, la période de recrutement de ces patients est celle où les polémiques sur les effets secondaires de la vaccination contre l'hépatite B étaient à leur maximum. Il est possible de supposer que les personnes vaccinées ont davantage consulté pour des pathologies non spécifiques qu'elles pensaient liées au vaccin et que la notion de vaccination a pu influencer la décision de biopsier un muscle dans lequel la probabilité de trouver de l'aluminium était élevée. Enfin, cet article rapporte la reproduction expérimentale de lésions de MFm par l'injection intramusculaire (IM) de vaccin GenHevac B® chez le rat.

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

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

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

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

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

Les symptômes présentés par ces malades sont :

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

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

- 4 non pas été traités : 3 se sont aggravés, 1 est resté stable ;
- 8 ont reçu des corticoïdes avec dans 4 cas une réponse complète et dans 4 cas une réponse partielle ;
- 7 ont reçu antibiotiques et corticoïdes avec une amélioration nette ;
- 3 ont reçu des antibiotiques seuls dont 2 ont été améliorés.

➤ La même équipe a publié en 2000 deux autres articles [5-6] : le premier fait référence à 65 cas répertoriés, le second à 70 cas mais ces deux publications dont l'analyse porte sur 22 cas qui semblent les mêmes que ceux rapportés dans la publication de 1999 [4].

➤ A partir de 2001, apparaissent dans les publications de cette équipe, d'une part les liens de la MFm avec la vaccination et la notion de manifestations relevant d'une atteinte du système nerveux central :

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

Il est possible de comparer les manifestations cliniques rapportées dans cette revue à la synthèse faite par Israël *et al.* [12] à partir des publications antérieures des mêmes auteurs (Tableau 4).

Tableau 1 – Synthèse des manifestations cliniques rapportées [12]

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

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

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

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

➤ Dans une communication brève, Authier *et al.* en 2003 [11] sur une série de 30 patients avec MFM (« non sélectionnés ») compare leur symptomatologie aux critères des *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) et aux critères d'Oxford de définition du syndrome de fatigue chronique. La fatigue est présente chez 93 % des patients, invalidante chez 87 %. Les auteurs estiment que 53 % des malades remplissent les critères de définition du syndrome de fatigue chronique (47 % du CDC, 40 % d'Oxford et 37 % des deux) ; 19/20 avaient reçu un vaccin contenant de l'aluminium avant le début des symptômes.

➤ Enfin en 2012, une revue générale sur la MFM est publiée par Gherardi et Authier dans la revue *Lupus* [1]. Les auteurs estiment que plus de 1 000 cas de MFM ont été documentés en France. Ils estiment que la fréquence de cette maladie en France est liée à trois raisons :

- le passage dans les années 90 de la voie sous-cutanée (SC) à la voie intramusculaire (IM) pour l'administration des vaccins (sans se demander si les autres pays ont des pratiques différentes, ce qui n'est pas le cas) ;
- l'ampleur de la campagne de vaccination contre l'hépatite B chez les adultes à cette époque (réelle) ;
- le choix par leur équipe de réaliser les biopsies musculaires au niveau du deltoïde (alors que la plupart des autres pays recommandent d'éviter de biopsier les muscles dans lesquels sont injectés les vaccins...).

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

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

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

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

Pour tester cette hypothèse chez la souris, ils évaluent si diverses préparations contenant divers sels d'aluminium injectés dans le muscle sont absorbées par des cellules dendritiques migrant ensuite dans des organes distants selon un mécanisme lié à la phagocytose et à l'action de la chimiokine CCL2 ou MCP 1. Les auteurs utilisent pour cela un modèle de souris adultes C57B/6, de souris mdx ayant une anomalie de perméabilité de la barrière hémato-encéphalique, des souris déficientes en CCL2CX3, ou des souris CR1-GFP+. Dans une 1ère série d'expériences, l'injection IM d'une quantité de vaccin anti-HBV (d'origine non communiquée) contenant 0,5mg d'Alu censée reproduire 5 doses vaccinales humaines induit une réaction inflammatoire avec infiltrat de macrophages chargés d'Alu à J4 suivie d'une décroissance locale de 50 % du taux d'Alu de J4 à J21 et de l'accumulation d'Alu dans le muscle, la rate et le cerveau jusqu'à 6 et 12 mois. Une 2<sup>ème</sup> série d'expériences utilise des IM de billes de latex fluorescentes de 500nm qui migrent en 1h vers le ganglion de drainage, sont capturées et concentrées par des macrophages inflammatoires à J4 puis leur taux décroît localement, suivi d'un passage sanguin et d'une accumulation dans la rate et le cerveau de J21 à J90-180. Ces macrophages chargés de billes sont détectés majoritairement dans la substance grise de façon diffuse de M3 à M12. Cette accumulation est abrogée par l'exérèse des ganglions de drainage ou l'injection IV alors que l'injection IM de ces particules dans des souris mdx augmente l'accumulation cérébrale, démontrant que le passage intra-cérébral nécessite une injection IM et un passage dans le ganglion de drainage et est facilitée par la porosité de la barrière hémato-encéphalique (BHE). Une 3<sup>ème</sup> série d'expériences utilise des particules fluorescentes recouvertes d'Alu censées « mimer » les adjuvants à base de sels d'Alu. Les mêmes IM induisent les mêmes effets que précédemment, amplifiés après injections SC, alors que l'IM à des souris déficientes en CCL2 diminue de 80 % la distribution tissulaire, que l'injection IM de CCL2 recombinante à des souris normales accroît la distribution tissulaire et que l'injection intra-cérébrale de CCL2 accroît l'accumulation cérébrale, suggérant un mécanisme de pénétration cérébrale dépendant de CCL2. Les auteurs concluent de cette étude murine

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

- des études expérimentales chez le rat [17] : les auteurs provoquent des lésions de MMF par l'injection de vaccin hépatite B chez des rats Sprague-Dawley (qui ont une immunité Th1/Th2 équilibrée) et des rats Lewis (qui ont une immunité orientée Th1). Ils pensent montrer en comparant la clearance de l'aluminium du muscle est différente dans les deux groupes : en réalité, l'examen des courbes montre que les rats SD ont des lésions d'embâle de surface beaucoup plus importante et que la réduction de la surface de ces lésions (on peut s'interroger sur la fiabilité de cette détermination) semble se faire avec le temps sans différence évidente de vitesse dans les deux groupes.

➤ Une surcharge en aluminium : ceci s'appuie sur le cas [18] d'un patient diagnostiqué MFM trois ans après le début d'une symptomatologie étiquetée syndrome de fatigue chronique. Les troubles ont débuté quelques mois après avoir reçu cinq injections de vaccin contenant de l'aluminium. Une surcharge en aluminium est montrée à partir de l'excrétion urinaire « significativement plus élevée que la normale pour l'âge » dont les valeurs ne sont pas fournies.

➤ L'adjonction de silicose à l'eau de boisson augmente l'excrétion d'aluminium pendant quelques mois avant de revenir à des valeurs basses. Il n'y a aucune amélioration clinique. Ce cas unique va à l'encontre des données antérieures montrant que les patients atteints de MFM n'ont pas de surcharge en aluminium.

➤ La migration de l'aluminium dans le cerveau. Il est fait référence à des nano matériaux, ce qui apparaît erroné : les agrégats d'hydroxyde d'alumine qui se déposent dans les muscles sont des cristaux dont la dissociation n'est possible qu'à pH 2, qui n'est pas un pH physiologique. Il n'est donc pas possible qu'à l'état physiologique les adjuvants aluminiques libèrent des nanoparticules d'aluminium [19]. Par ailleurs, après injection d'aluminium, le dépôt viscéral est faible, se fait essentiellement dans les os et le cerveau est l'organe qui en fixe le moins [20]. Enfin le mécanisme de la barrière hémato-encéphalique de monocytes chargés de nanoparticules d'aluminium) est proposé à partir de travaux récents. Les références citées [21-22] sont des présentations dans des congrès en 2010 et 2011. Une étude expérimentale chez la souris vient d'être publiée par cette même équipe en appui de cette théorie [23].

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

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

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

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

### 2.3 - La myofasciite à macrophages et les enfants

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

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

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

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

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

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

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

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

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

En dehors des articles de l'équipe française, aucune série de MFM de l'adulte n'est retrouvée dans la littérature internationale. Quelques articles de synthèse issus d'un nombre limité d'auteurs accèdent les thèses de Gherardi et Authier [12,35-39] ou élargissent le cadre définissant une maladie des adjoints ASIA [13,37-39]. D'autres, tout en reconnaissant l'entité MFM, ne se prononcent pas formellement sur sa signification [40]. Au total, 10 observations de MFM de l'adulte sont publiées provenant des Etats-Unis (2 cas), de Corée (1 cas), d'Allemagne (2 cas), d'Australie (1 cas), d'Irlande (1 cas), du Portugal (1 cas) et du Royaume-Uni (2 cas).

Les observations américaines concernent : un patient qui présentait en fait une histiocytose et chez qui la biopsie musculaire a révélé des lésions de MFM [41] ; un patient présentant une pathologie auto-immune multiple (anémie hémolytique, diabète, maladie oculaire, vitiligo) avant débuté à l'âge de 33 ans, dans un contexte familial [42]. Investigué à 35 ans pour fatigue, myalgies, arthralgies et diminution de la force musculaire, des lésions de MFM sont découvertes par une biopsie de deltoïde dans lequel le patient avait reçu, 5 ans auparavant, un vaccin contre l'antrax. Le traitement par corticoïdes et perfusion d'immunoglobulines a été inefficace. Les auteurs pensent que l'existence de multiples maladies auto-immunes a pu contribuer à la genèse de cette fatigue extrême et à l'échec du traitement. □

L'observation coréenne [43] concerne un homme de 59 ans investigué pour une induration musculaire localisée avec des lésions unilatérales de myofasciite. La biopsie musculaire a révélé des lésions de MFM. Aucun lien avec une vaccination n'a été mis en évidence et les auteurs estiment que d'autres explications que la vaccination devraient être recherchées.

Les observations allemandes concernent :

- un homme de 67 ans présentant depuis six semaines des douleurs musculaires progressives et une faiblesse musculaire généralisée [44]. La biopsie musculaire a révélé des lésions de MFM mais l'étude ultra structurale n'a pas mis en évidence la présence d'aluminium. Les antécédents de vaccination ne sont pas mentionnés mais le dosage d'anticorps est compatible avec une vaccination antitétanique. Le malade a complètement guéri avec un traitement comportant des corticoïdes et de l'azathioprine pendant deux ans (Nota bene : article en allemand. Seul le résumé a été consulté).
- une femme âgée de 62 ans [45] présentant une faiblesse musculaire progressive depuis 10 ans [44]. La biopsie musculaire a révélé des lésions de MFM que les auteurs estiment sans relation avec la symptomatologie.

L'observation australienne [46] concerne un homme de 32 ans chez qui a été découvert fortuitement lors des investigations pour un reflux gastro-œsophagien (RGO) une élévation des CPK. A noter que son père était décédé de maladie neuromusculaire et qu'un frère présentait des fasciculations musculaires. La biopsie musculaire a été pratiquée alors que le patient ne présentait aucun signe de

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

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

- existe-t-il, comme cela avait été suggéré par l'OMS [53], des facteurs notamment génétiques faisant que certaines personnes puissent éliminer l'aluminium de leurs muscles plus lentement que d'autres ?
- Toutes ces questions restent pour l'instant sans réponses.
- La thèse d'un lien de cause à effet entre la lésion histologique de MFM et la survenue d'une pathologie systémique est soutenue par l'équipe française sur la foi d'études à la fois cliniques et expérimentales menées sur une quinzaine d'années. Deux types d'explications ont été avancés pour attribuer à l'aluminium des vaccins la responsabilité de manifestations systémiques :
    - dans un premier temps, il a été proposé par ce groupe que la persistance de l'adjuvant aluminium était responsable d'une stimulation immunitaire qui dépasse son but et déclenche un processus d'auto-immunité. Le nombre de patients atteints de pathologie auto-immune notamment de SEP, dans les publications initiales, suggère un biais de recrutement de ce type de patients dès lors qu'ils se plaignaient de douleurs musculaires, ce qui est relativement banal. Les défenseurs du concept de l'ASIA défendent toujours cette théorie [12, 13, 36, 37].
    - dans un second temps, le groupe a fait évoluer le concept et s'est axé sur la migration de l'aluminium dans le cerveau avec accumulation et toxicité neurologique centrale.
  - Comme cela a été souligné dans l'analyse de la production scientifique de l'équipe de Créteil, de nombreuses remarques peuvent être formulées sur ces travaux :
    - la cohorte de patients s'est progressivement étoffée mais les critères d'inclusion des patients extraits de la cohorte dans les études successives ne sont pas précisés ;
    - la symptomatologie clinique des manifestations systémiques de la MFM a varié avec le temps (cf. supra). Les myalgies représentent le signe essentiel de la maladie (le contraire étonnerait dans la mesure où ce symptôme a, à l'évidence, représenté le critère le plus fréquent d'indication de la biopsie musculaire). Le second symptôme est la fatigue, ce qui permet de rapprocher la MFM du syndrome de fatigue chronique, syndrome de définition imprécise et sur lequel nombre de spécialistes s'interrogent. Les arthralgies initialement dominantes disparaissent quasiment des dernières publications. A l'inverse, la dyspnée prend une grande importance. On s'étonne de voir que le sex-ratio H/F était de 1,3 dans les premières publications alors que les femmes représentent 70 % des cas dans la publication faite dans la revue *Lupus* [1]. Les patients de la cohorte de Créteil ont été recrutés pour la plupart en pleine période de polymie sur l'association sclérose en plaque-vaccination contre l'hépatite B. On peut se demander dans quelle mesure les antécédents vaccinaux n'ont pas influencé la décision de biopsier le deltoïde. Ceci expliquerait notamment le fait que 85 % des patients aient des antécédents de vaccination contre l'hépatite B alors que la population exposée aux vaccins contre le tétanos est plus importante que celle exposée à la vaccination contre l'hépatite B. Il est également à noter que les premières publications (à la période auto-immunitaire) faisaient état de succès intéressants des traitements par corticoïdes (associés ou non à des antibiotiques). Cette notion n'apparaît plus dans les dernières publications ;
    - la description des troubles cognitifs associés à la MFM est certainement entachée de biais importants déjà soulignés.

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

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

## 2. 5 - Synthèse et discussion

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

- Il est actuellement le plus souvent admis que cette lésion ne représente qu'un « tatouage vaccinal » [51] lié à la persistance de l'aluminium dans le muscle où a été injecté le vaccin [52]. Ceci a amené les spécialistes de neuropathologie à déconseiller l'utilisation du deltoïde pour les biopsies musculaires, dans la mesure où, ce muscle étant utilisé pour l'injection des vaccins chez l'adulte, la probabilité est forte de rencontrer des stigmates des injections antérieures.
- Il faut souligner que des inconnues persistent à ce sujet :
  - quelle est la durée normale de persistance de ces lésions et après quel délai l'aluminium du muscle se résorbe-t-il ?
  - la persistance de ces lésions au-delà d'un certain délai présente-t-elle un caractère pathologique ? Une étude expérimentale chez 24 singes a permis de reproduire les lésions histologiques de MFM [52] (sans manifestations cliniques), encore présentes 12 mois après l'injection ;

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

➤ Enfin, deux faits d'importance capitale ne reçoivent à ce jour aucune explication :

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

#### En conclusion

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

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

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

➤ Le point fort et très médiatisé de la physiopathologie concerne la migration de l'aluminium à partir du point d'injection. Il a été clairement démontré que l'aluminium injecté par voie IM était pour l'essentiel éliminé rapidement et qu'une faible partie se fixait dans les organes [20], essentiellement l'os, alors que le cerveau était l'organe le moins concerné. La toxicité de l'aluminium pour le cerveau n'est pas contestable mais survient dans le cadre d'intoxications aiguës ou d'expositions importantes et prolongées [19]. A noter que des chercheurs proches de l'équipe de Créteil ont également développé un argumentaire pour incriminer l'aluminium dans la responsabilité de la maladie d'Alzheimer, ce qui n'est en rien démontré actuellement [19]. L'équipe de Créteil avance l'hypothèse du « cheval de Troie » par la pénétration à travers la barrière hémato-encéphalique de monocytes/macrophages chargés d'aluminium en s'appuyant sur des études expérimentales récemment publiées, menées chez la souris avec des particules recouvertes d'aluminium différentes des préparations d'aluminium présentes dans les adjuvants [23]. Cette étude réalisée dans un contexte expérimental non transposable à l'homme et à la situation vaccinale permet d'éclaircir un mécanisme (déjà connu) de transport de particules internalisées dans les macrophages vers le cerveau. Elle ne prouve pas que ceci s'applique à l'aluminium des vaccins ni que ce transport puisse avoir de conséquence en matière de pathologie induite.

➤ Finalement, l'équipe de Créteil a décrit d'abord une lésion histologique puis des manifestations cliniques observées chez les personnes qui présentaient cette lésion histologique à la biopsie du deltoïde et, remontant aux antécédents vaccinaux, attribuent à la vaccination la présence d'aluminium dans le muscle et la lésion de MFM (ce qui n'est pas contesté). Mais ils attribuent aussi à cette même vaccination et à l'aluminium la responsabilité des manifestations cliniques présentées par ces malades. Ce fait n'est en rien démontré. Etant donné, ce que personne ne conteste, que la lésion de MFM est localisée autour du point d'injection, la biopsie peut parfaitement passer à côté de la lésion.

➤ On ne connaît donc pas, dans la population de personnes vaccinées avec des vaccins contenant de l'aluminium (c'est-à-dire à peu près tout le monde), la proportion de personnes qui ont gardé effectivement de l'aluminium dans leur muscle, ni la proportion de sujets développant des lésions de MFM parmi celles-ci. En outre, étant donné que la création d'un « granulome à aluminium » représente un fait quasiment physiologique après l'administration d'un vaccin en contenant, pour démontrer le lien entre MFM et une symptomatologie clinique, il conviendrait de prouver que les personnes présentant des signes cliniques ont significativement plus de chances de présenter des lésions de MFM que ceux qui n'en ont pas. Ce type de démonstration se heurte à l'impossibilité éthique à pratiquer des biopsies musculaires chez des personnes asymptomatiques (encore que des biopsies pourraient être pratiquées lors d'interventions orthopédiques) et à l'absence de moyens non invasifs de diagnostic de la lésion de MFM. Les recherches en la matière ont d'ailleurs été très limitées [54].



[22] Khan Z, Tillement O, Cadusseau J, et al. Nanoparticle neurodelivery depends on MCP-1 driven Trojan horse mechanism. Communication to the American Academy of Neurology, Hawaii, april 2011.

[23] Khan Z, et al. Slow CCL2-dependent translocation of biopersistent particles from muscle to brain. *BMC Med.* 2013 Apr 4;11:93. doi: 10.1186/1741-7015-11-99.

[24] Couette M, Boisse MF, Maitson P, et al. Long-term persistence of vaccine-derived aluminum hydroxide is associated with chronic cognitive dysfunction. *Journal of Inorganic Biochemistry* 2009; 103: 1574-78.

[25] Passeri E, Villa C, Couette M, et al. Long-term follow up of cognitive dysfunction in patients with aluminum hydroxide-induced macrophagic myofasciitis. *Journal of Inorganic Biochemistry* 2011; 105: 1457- 63.

[26] Insitüt de veille sanitaire. Myofasciite à macrophages. Mars 2001. [www.invs.sant.fr](http://www.invs.sant.fr)

[27] Müller HD, Landeghem FK, Schmidt PF, et al. Macrophagic myofasciitis plus (distinct types of muscular dystrophy). *Neuropediatrics* 2009; 40: 174-78.

[28] Lach B, Cupler EJ. Macrophagic myofasciitis in children is a localized reaction to vaccination. *J Child Neurol* 2008; 23: 614-19.

[29] Kaill RK, Monteiro A Jr, Lima MI, et al. Macrophagic myofasciitis in childhood : the role of scanning electron microscopy/energy-dispersive spectroscopy for diagnosis ; Ultrastruct Pathol 2007; 31: 45-50.

[30] Guis KL, Teener JW, Blaivas M. pediatric macrophagic myofasciitis associated with motor delay. *Clin Neuropathol* 2006; 25: 172-79.

[31] Rivas E, Gomez-Armaiz M, Ribey JR, et al. Macrophagic myofasciitis in childhood: a controversial entity. *Pediatr Neurol* 2005; 33: 350-56.

[32] Di Muzio A, Capasso M, Verrotti A, et al. Macrophagic myofasciitis: an infantile italian case. *Neuromuscular Disorders* 2004; 14: 175-77.

[33] Nevo Y, Kutaj M, Jossiphov J, et al. Childhood macrophagic myofasciitis- consanguinity and clinicopathological features. *Neuromuscular Disorders* 2004; 14: 246-52.

[34] Lacson AG, D'Cruz CA, Gilbert-Barnes E, et al. Aluminium phagocytosis in quadriceps muscle following vaccination in children: relationship to macrophagic myofasciitis. *Pediatr Develop Pathol* 200 ; 5: 151-58.

[35] Piyasirisilp S, Hemmachudha T. Neurological adverse events associated with vaccination. *Curr Opin Neurol* 2002; 15: 333-38.

[36] Appel S, Chapman J, Shoenfeld Y. Infection and vaccination in chronic fatigue syndrome: myth or reality. *Autoimmunity* 2007; 40: 48-53.

[37] Agmon-Levin N, Shoenfeld Y. Chronic fatigue syndrome with autoantibodies- The result of an augmented adjuvant effect of hepatitis-B vaccine and silicone implants. *Autoimmunity Rev* 2008; 8: 52-5.

[38] Stübgen JP. Neuromuscular complications of hepatitis A virus infection and vaccine. *J Neurol Sci* 2011; 300: 2-8.

[39] Orbach H, Agmon-Levin N, Zandman-Goddard G. Vaccines and autoimmune diseases of the adult. *Discov Med* 2010; 9: 90-7.

[40] Schneeweiss B, Pfeleiderer M, Keller- Stanislawski B. Vaccination safety update. *Dtsch Arzteb Int* 2009; 106: 248-49.

[41] Stimpson DA. Systemic histiocytosis presenting as macrophagic myofasciitis. *J Clin Neuromuscul Dis* 2002; 4: 19-22.

[42] Theeler BJ, Simper NB, Ney JP. Polyglanular autoimmunity with macrophagic myofasciitis. *Clin Rheumatol* 2008; 27: 667-69.

[43] Park JH, Park YW, Paik SS, et al. Macrophagic myofasciitis unrelated to vaccination. *Scand J Rheumatol* 2005; 34: 65-7.

## Références

[1] Gherardi RK, Authier FJ. Macrophagic myofasciitis: characterisation and pathophysiology. *Lupus* 2012; 21: 184-89.

[2] Gherardi RK, Coquet M, Chérin P, et al. Macrophagic myofasciitis: an emerging entity. *Lancet* 1998; 352: 347-52.

[3] Mrak RE. Muscle granulomas following intramuscular injection. *Muscle Nerve* 1982; 5: 637-39.

[4] Chérin P, Laforet P, Gherardi RK, et al. La myofasciite à macrophages: description, hypothèses étiopathogéniques. *Rev Med Interne* 1999; 20: 483-89.

[5] Chérin P, Gherardi RK. Macrophagic myofasciitis. *Curr Rheumatol Rep* 2000; 2: 196-200.

[6] Chérin P, Laforet P, Gherardi RK, et al. Myofasciite à macrophages. Groupe d'Etude de Recherche sur les Maladies Musculaires Acquises et Dysimmunitaires (GERMMAD). *Presse Med* 2000; 29: 203-8.

[7] Chérin P, Menard D, Mouton P, et al. Macrophagic myofasciitis associated with inclusion myositis : a report of three cases. *Neuromuscular Disorders* 2001; 11: 452-57.

[8] Authier FJ, Chérin P, Creange A, et al. Central nervous system disease in patients with macrophagic myofasciitis. *Brain* 2001; 124: 974-83.

[9] Pöllmann W, Feinberg W. Current management of pain associated with multiple sclerosis. *CNS Drugs* 2008; 22: 291-324.

[10] Gherardi RK, Coquet M, Chérin P, et al. Macrophagic myofasciitis lesions assess long-term persistence of vaccine-derived aluminium hydroxide in muscle. *Brain* 2001; 124: 1821-31.

[11] Authier FJ, Sauvat S, Champey J, et al. Chronic fatigue syndrome in patients with macrophagic myofasciitis. *Arthritis & Rheumatism* 2003; 48: 569-72.

[12] Israeli E, Levin A, Blank M, et al. Macrophagic myofasciitis a vaccine (alun) autoimmune-related disease. *Clin Rev Allerg Immunol* 2011; 41: 163-68.

[13] Shoenfeld Y, Agmon-Levin N. ASIA- Autoimmune/Inflammatory syndrome induced by adjuvants. *J Autoimmunity* 2011; 36: 4-8.

[14] Amoura Z, Costedoat N, Maissonobe T, et al. Familial macrophagic myofasciitis. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 927-28.

[15] Guis S, Mattei JP, Nicoli F, et al. Identical twins with macrophagic myofasciitis: genetic susceptibility and triggering by aluminitic vaccine adjuvants? *Arthritis Rheum* 2002; 47: 543-45.

[16] Guis S, Pellissier JF, Nicoli F, et al. HLA-DRB1\*01 and macrophagic myofasciitis. *Arthritis and Rheumatism* 2002; 46: 2535-37.

[17] Authier FJ, Sauvat S, Christov C, et al. A(OH)3- adjuvanted vaccine –induced macrophagic myofasciitis in rats is influenced by genetic background. *Neuromuscular Disorders* 2006; 16: 347-52.

[18] Exley C, Swarbrick L, Gherardi RK, et al. A role of body burden of aluminium in vaccine-associated myofasciitis and chronic fatigue syndrome. *Medical Hypotheses* 2009; 72: 135-39.

[19] Bégue P, Girard M, Bazin H, Bach JF. Les adjuvants vaccinaux: quelle actualité en 2012. *Académie Nationale de Médecine* 2012.

[20] Flarend RE, Hem SL, White JL, et al. In vivo absorption of aluminium-containing vaccine adjuvants using 26Al. *Vaccine* 1997; 15: 1314-18.

[21] Khan Z, Christov C, Lux F, et al. Bio-distribution of nanozided aluminic particles after im injection in the mouse. Communication to the Nanotoxicologie Meeting. Edinburgh UK, 2010.

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

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

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

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

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

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

Sur le total des 486 observations colligées, 311 patients sont inscrits à une association de malades. Au final, 417 dossiers avec diagnostic de MMF ont été inclus dans l'analyse statistique descriptive.

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

- [144] Fischer D, Reimann J, Schröder R. Macrophagic myofasciitis: inflammatory, vaccination-associated muscular disease. *Dtsch Med Wochenschr* 2003; 128: 2305-8.
- [145] Bornemann A, Bohl J, Goebel HH, *et al.* July 2003: 62-year-old female with progressive muscular weakness. *Brain Pathol* 2004; 109-10: 115.
- [146] Shingde M, Hugues J, Boadle R, *et al.* Macrophagic myofasciitis associated with vaccine-derived aluminium MJA 2005; 183: 145-46.
- [147] Ryan AM, Bermingham N, Harrington HJ, *et al.* Atypical presentation of macrophagic myofasciitis 10 years post vaccination. *Neuromuscular Disorders* 2006; 16: 867-9.
- [148] Polido Pereira J, Barroso, C, Evangelista T, *et al.* Macrophagic myofasciitis: a case report of autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA). *Acta Rheumatol Port* 2011; 36: 75-6.
- [149] Shivane A, Hilton DA; Moate RM; *et al.* Macrophagic myofasciitis: a report of a second case from UK. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2012 DOI: 10.1111/j.1365-2990.2012.01293.x.
- [150] Crooks D, Bajalan AAA. Macrophagic myofasciitis in Britain. *Neuropathol App Neurobiol* 2001; 27: 158.
- [151] Siegrist CA. Les adjuvants vaccinaux et le myofasciite à macrophages. *Arch Pediatr* 2005; 12: 96-100.
- [152] Papo T. Macrophagic myofasciitis: local or systemic ? *Joint Bone Spine* 2003; 70: 242-45.
- [153] 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* 2006; 23: 1359-56.
- [154] OMS. Sécurité des vaccins. Comité consultatif pour la sécurité des vaccins. 15 octobre 1999. <http://www.who.int/wer>
- [155] Guis S, Mattei JP, Pélissier F, *et al.* Magnetic resonance imaging and 31P magnetic resonance spectroscopy investigations of muscle function disclose no abnormality in macrophagic myofasciitis. *J Rheumatol* 2004; 31: 2313-15.

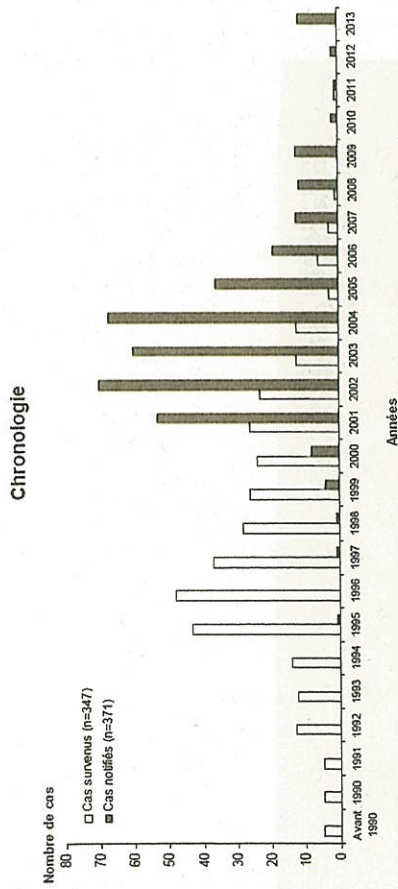


Fig. 2 – Chronologie du début des signes cliniques et de la date des cas notifiés au réseau des CRPV et aux laboratoires

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

### Age au dernier vaccin aluminique avant les premiers signes cliniques

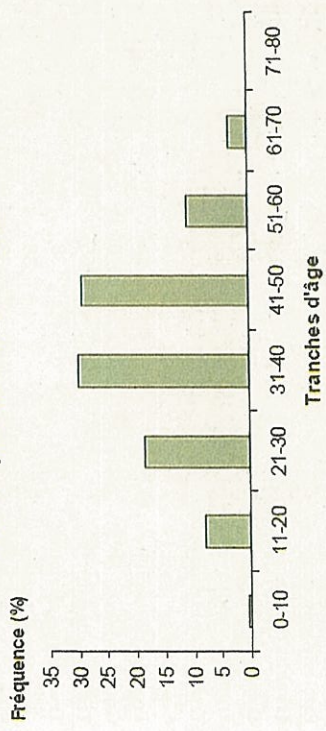


Fig. 3 – Distribution des patients en fonction de l'âge lors de la dernière vaccination aluminique précédant les premiers signes cliniques (n=310)

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

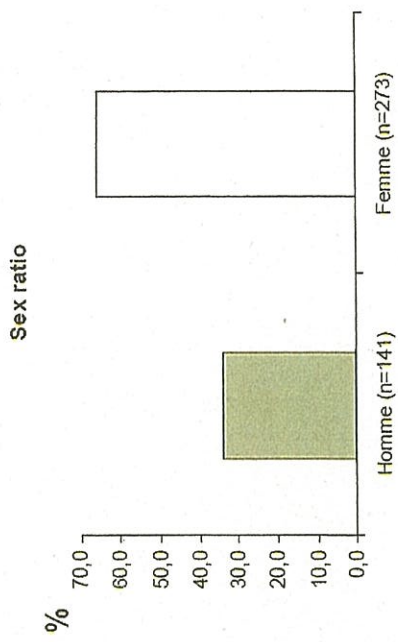


Fig. 1 – Répartition des patients en fonction du sexe (n=414)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

#### Références

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

Remerciements au CRPV du CHU de Lorraine.

#### 4 - Adjuvants - Aspects immunologiques

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

##### 4.1 - Objectifs et mécanismes d'action des adjuvants

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

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

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

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

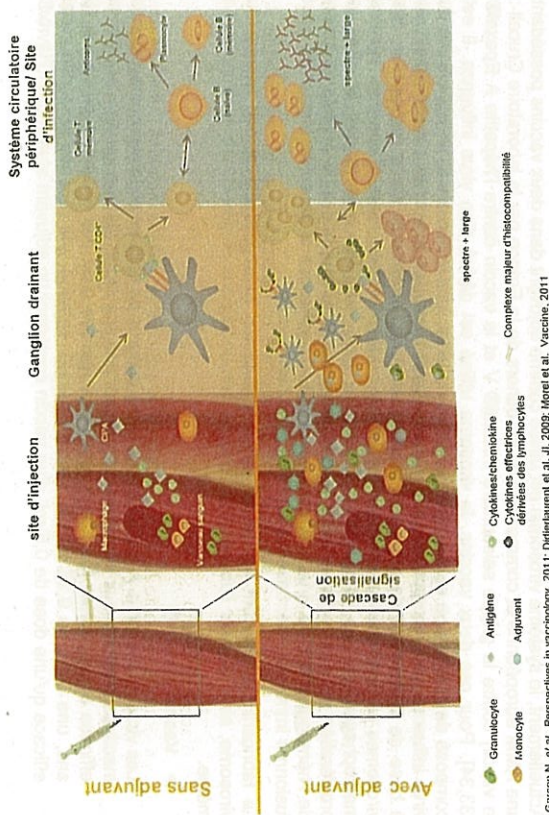


Fig. 4 – Adjuvants : general mode of action based on current evidence<sup>1</sup>

##### 4.2 - Adjuvants à base de sels d'aluminium

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

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

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

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

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

#### 4.3.3 - Virusomes

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

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

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

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

#### ➤ Vaccin Epaxal®

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

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

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

##### 4.3.1 - Adjuvants phospholipidiques

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

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

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

##### 4.3.2 - Adjuvants phosphate de calcium

Une alternative aux adjuvants à base d'aluminium a été proposée sous forme de phosphate de calcium, au cours des années 70, à la recherche de solutions alternatives aux allergies éventuelles à l'aluminium. La firme Pasteur-Production a développé les adjuvants à base de phosphate de calcium pour la gamme DTP-Polio-Coq. La figure a montré qu'en présence de l'Ag ils n'induisaient pas d'augmentation des IgE spécifiques et induisent moins de réactions allergiques que l'aluminium [26]. Ces adjuvants Ca<sup>2+</sup> ont de plus une grande rapidité de préparation avec une haute capacité d'absorption permettant un relargage lent et une stimulation immunologique plus longue et ainsi des taux d'anticorps augmentés. De plus, l'expérience française aurait montré des taux d'anticorps plus élevés post-vaccination et une tolérance locale et systémique meilleure qu'après iIM avec l'aluminium (sauf pour Pertussis). Cette expérience de l'Institut Pasteur semblait particulièrement intéressante chez les sujets allergiques [27]. Néanmoins cette stratégie des vaccins de l'Institut Pasteur n'a pas été reprise par les autres firmes et dans les années 1995 des articles ont rapporté des données contradictoires montrant que ces adjuvants induiraient des taux d'anticorps égaux ou plus faibles, exceptés en rappel que les adjuvants à base de sels d'aluminium [28-30]. De plus, leur capacité d'absorption serait 50 % inférieure à celle de l'aluminium. Leur adjuvantité chez la souris dépendrait de l'antigène : pour le tétanos elle serait supérieure ou égale à celle de l'aluminium en primo vaccination. Pour la diphtérie, elle serait inférieure à celle de l'aluminium. Leur adjuvantité chez le cobaye serait supérieure à celle de l'aluminium.

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

➤ [Vaccin Inflexal® V](mailto:Vaccin_Inflexal@V)

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

#### Références

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

[15] Eisenbarth SC, Colegio OR, O'Connor W, Suttnerwala FS, Flavell RA. Crucial role for the Nalp3 inflammasome in the immunostimulatory properties of aluminum adjuvants. Nature 2008; 453: 1122-26.

[16] Li H, Nookala S, Re F. Aluminum hydroxide adjuvants activate caspase-1 and induce IL-1<sub>α</sub> and IL-18 release. J. Immunol. 2007; 178: 5271-76.

[17] Marrack P, McKee AS, Munks MW. Towards an understanding of the adjuvant action of aluminum. Nat. Rev. Immunol. 2009; 9: 287-93.

[18] Global Advisory Committee on Vaccine Safety. report of meeting held 6-7 June 2012 WHO Weekly Epidemiological Record 2012, 30, 87, 277-88

[19] Qureshi N, Takayama K, Ribi E. Purification and structural determination of nontoxic lipid A obtained from the lipopolysaccharide of *Salmonella typhimurium*. J. Biol. Chem. 1982; 257: 11808-815.

[20] Didierlaurent AM, Morel S, Lockman L, Giannini SL, Bisteau M, Carlsen H, et al. AS04, an aluminum salt- and TLR4 agonist-based adjuvant system, induces a transient localized innate immune response leading to enhanced adaptive immunity. J Immunol. 2009;183(10): 6186-97.

[21] Baldrige JR, McGowan P, Evans JT, Cluff C, Moşşman S, Johnson D, Persing D. Taking a Toll on human disease: Toll-like receptor 4 agonists as vaccine adjuvants and monotherapeutic agents. Expert Opin. Biol. Ther. 2004; 4: 1129-38.

[22] Casella CR, Mitchell TC. Putting endotoxin to work for us: monophosphoryl lipid A as a safe and effective vaccine adjuvant. Cell Mol. Life Sci. 2008; 69: 3231-40.

[23] Giannini SL, Hanon E, Moris P, Van Mechelen M, Morel S, Dessy F, et al. Enhanced humoral and memory B cellular immunity using HPV16/18 L1 VLP vaccine formulated with the MPL/Aluminum salt combination (AS04) compared to aluminum salt only. Vaccine 2006; 24: 5937-49.

[24] Montomoli E, Picirella S, Khadang B, Mennitto E, Camerini R, De Rosa A. Current adjuvants and new perspectives in vaccine formulation. Expert Rev Vaccines. 2011; 10(7):1053-61.

[25] Global Advisory Committee on Vaccine Safety, report of meeting held December 2010. Weekly Epidemiological Record 2011; 5, 86, 37-44.

[26] Relyveld EH, Ickovic MR, Hénoocq E, Garcelon M. calcium phosphate adjuvanted allergens. Ann. Allergy 1985; 54(6): 521-29.

[27] Gupta RK, Relyveld EH, Lindblad EB, Bizzini B, Ben-Efraim S, Gupta CK. Adjuvants--a balance between toxicity and adjuvant activity. Vaccine. 1993;11(3):293-306.

[28] Gupta RK, Siber GR. Adjuvants for human vaccines--current status, problems and future prospects. Vaccine. 1995 Oct;13(14):1263-76. Review.

[29] Khan Z, Combadère C, Authier FJ, Ilfer V, Lux F, Exley C, Mahrouf-Yorgov M, Decrouy X, Moretto P, Tillement O, Gherardi RK, Cadusseau J. Slow CCL2-dependent translocation of biopersistent particles from muscle to brain. BMC Med. 2013 Apr 4;11:99. doi: 10.1186/1741-7015-11-99.

[30] Cox JC, Coulter AR. Adjuvants--a classification and review of their modes of action. Vaccine. 1997 Feb;15(3):248-56. Review.

[31] Goto N, Kato H, Maeyama J, Shibano M, Saito T, Yamaguchi J, Yoshihara S. Local tissue irritating effects and adjuvant activities of calcium phosphate and aluminum hydroxide with different physical properties. Vaccine. 1997 Aug-Sep;15(12-13):1364-71.

## 5 - Toxicité de l'aluminium

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

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

#### 5.1.1 - Propriétés physico-chimique des adjuvants

Les méthodes physico-chimiques permettent de déterminer la structure des adjuvants ainsi que leur comportement en relation avec le pH de l'environnement. Comme énoncé précédemment, les adjuvants aluminiques utilisés sont l'hydroxyde d'aluminium :  $Al(OH)_3$ ,  $AlOOH$  et l'hydroxyphosphate d'aluminium :  $Al(OH)_2(PO_4)_x$ .

La caractérisation physico-chimique de  $AlOOH$  repose sur :

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

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

$Al(OH)_2(PO_4)_x$ , utilisé comme adjuvant, a une structure amorphe. La surface est composée à la fois de groupes hydroxyles et de groupes phosphates. La charge globale surfacique à  $pH=7,4$  est négative. Le point de charge zéro de l'adjuvant dépend du rapport AUP mais s'établit généralement sur une plage de pH comprise entre 4,6-5,6. La capacité de liaison à des protéines est supérieure à 0,6 mg BSA/mg d' $Al(OH)_2(PO_4)_x$ . Les particules primaires ont un diamètre de 50 nm et les agrégats formés par ces particules ont un diamètre pouvant aller de 1-10  $\mu m$ . Le diamètre des agrégats dépend de la composition élémentaire.

#### 5.1.2 - Exemples d'adjuvants utilisés en France

- **Adjuvants utilisés par Sanofi Pasteur MSD**  
Il s'agit de sulfate d'hydroxyphosphate d'aluminium amorphe qui est utilisé comme adjuvant dans la composition des vaccins HBVAXDNA® et Gardasil®. Sans adsorption d'antigène à leur surface, les particules d'aluminium sont sous forme d'agglomérats d'une taille 4-13  $\mu m$  et sont composées de particules primaires d'un diamètre de 20-30 nm. Il faut noter que la taille des particules après injection et leur évolution au cours du temps est inconnue.
- **Adjuvants utilisés par Sanofi Pasteur**  
Il s'agit de gels d'hydroxyde d'aluminium : gel Superfos et gel Reheis. La distribution de la taille des particules est > 100 nm et les particules « unitaires » forment des agrégats de 500 nm à 100  $\mu m$ .

[32] Aggerbeck H, Heron I. Adjuvanticity of aluminium hydroxide and calcium phosphate in diphtheria-tetanus vaccines—I. Vaccine. 1995 Oct;13(14):1360-5.

[33] Moser C, Meicallie JC, Viret JF. Virosomal adjuvanted antigen delivery systems. Expert Rev Vaccines 2003; 2:189-96.

[34] Moser C, Amacker M, Kammer AR, Rasi S, Westerfeld N, Zúrbruggen R. Influenza virosomes as a combined vaccine carrier and adjuvant system for prophylactic and therapeutic immunizations. Expert Rev Vaccines 2007; 6:711-21.

[35] RCP Epaxal (reperitoire des médicaments, Ansm).

[36] Bovier PA. Epaxal: a virosomal vaccine to prevent hepatitis A infection. Expert Review Vaccines 2008; 7:1141-50.

[37] Van Der Wielen M, Vertruyen A, Froesner G, Ibáñez R, Hunt M, Herzog C, Van Damme P. Immunogenicity and safety of a pediatric dose of a virosome-adjuvanted hepatitis A vaccine: a controlled trial in children aged 1-16 years. Pediatr Infect Dis J. 2007 Aug; 26(8): 705-1.

[38] Clarke PD, Adams P, Ibáñez R, Herzog C. Rate, intensity, and duration of local reactions to a virosome-adjuvanted vs. an aluminium-adsorbed hepatitis A vaccine in UK travellers. Travel Med Infect Dis. 2006 Dec;4(6):313-8. Epub 2006 Apr 18.

[39] Herzog C, Hartmann K, Künzi V, Kürsteiner O, Mischler R, Lazar H, Glück R. Eleven years of Inflixal V - a virosomal adjuvanted influenza vaccine. Vaccine. 2009 Jul 16;27(33):4381-7. doi: 10.1016/j.vaccine.2009.05.029. Epub 2009 May 29.



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

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

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

- une différence de liaison à la transferrine : les ions Fe<sup>3+</sup> et Al<sup>3+</sup> sont structurellement similaires et se lient à la transferrine. Cependant, la transferrine saturée par des ions Al<sup>3+</sup> ou en présence d'une charge équimolaire d'ions Fe<sup>3+</sup> et Al<sup>3+</sup> n'interagit pas de façon optimale avec son récepteur TfR [4] ;
- l'entrée rapide d'aluminium dans le cerveau suite à l'injection IV de citrate d'aluminium, ce qui ne peut s'expliquer par le TfR-ME en supposant i) la saturation de la transferrine par l'aluminium ii) des valeurs de constantes d'influx (Kin) comparables pour le fer et l'aluminium par TfR-ME et iii) le confinement initial de l'aluminium dans le liquide extracellulaire cérébral [8] ;
- la capacité de l'aluminium non lié à la transferrine de pénétrer dans le cerveau par un mécanisme plus rapide que le TfR-ME. L'existence d'un transport autre que le TfR-ME est supportée par l'absence de différence significative de passage cérébral de l'aluminium chez des souris hypotransferrinémiques et témoins, et après pré-traitement par anticorps dirigés contre le récepteur de la transferrine (R17 208) chez des souris traitées par du citrate d'aluminium [9].

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

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

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

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

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

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

### 5.1.3 - Adsorption sur les adjuvants aluminiques

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

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

## 5.2 - Pharmacocinétique

### 5.2.1 - Aluminium non vaccinal

#### ➤ Absorption

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

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

#### ➤ Distribution

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

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

#### ▪ **Mécanismes impliqués dans le passage cérébral de l'aluminium**

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

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

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

Les principaux résultats sont les suivants :

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

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

Les principaux résultats sont les suivants :

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

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

#### ➤ *Elimination*

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

#### 5.2.2 - *Adjuvants aluminiques*

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

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

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

Tableau 3 - Pharmacokinetic parameters after i.m. injection of <sup>26</sup>Al-containing aluminium hydroxide and aluminium phosphate adjuvants

Adjuvant	AUC for 0-28 days (mg h g <sup>-1</sup> )	% Absorbed in 28 days	Cumulative aluminium in urine after 28 days (%)
<b>Aluminium hydroxide</b>			
Rabbit 1	2.0 × 10 <sup>-4</sup>	13	5.0
Rabbit 2	3.5 × 10 <sup>-4</sup>	22	6.2
Average	2.7 × 10 <sup>-4</sup>	17	5.6
<b>Aluminium phosphate</b>			
Rabbit 3	2.7 × 10 <sup>-4</sup>	47	10
Rabbit 4	6.7 × 10 <sup>-4</sup>	55	33
Average	8.1 × 10 <sup>-4</sup>	51	22

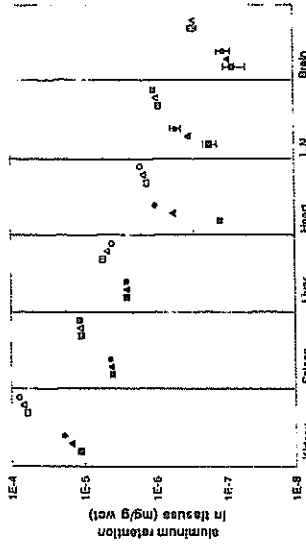


Figure 3 Aluminium tissue concentration 28 days after administration of <sup>26</sup>Al-labelled aluminium hydroxide adjuvant: a, rabbit 1; e, rabbit 2; b, rabbit 3; f, rabbit 4; mean L.N., lymph nodes. Error bars of <math>\pm 5\%</math> are not shown

Fig. 5 - Aluminium tissue concentration 28 days after administration of <sup>26</sup>Al-labelled aluminium hydroxide adjuvant

Conclusions et remarques : *in vitro*, il a été démontré que l'aluminium peut être solubilisé à partir d'un adjuvant aluminique (AH ou AP) par un acide organique à concentration physiologique. La vitesse de solubilisation dépend de la composition chimique, celle-ci s'est révélée plus élevée pour la forme AP que AH. Ceci a été confirmé *in vivo* chez le lapin après injection intramusculaire des deux adjuvants où l'évolution des concentrations sanguines d'aluminium marqué fut suivie sur une période de 28 jours. L'aluminium ainsi solubilisé est alors absorbé au niveau systémique et se distribue dans tous les organes étudiés, dont le cerveau qui présentait néanmoins les concentrations tissulaires les plus faibles ( $10^{-3}$ - $10^{-7}$  mg/g). La biodisponibilité de la forme AP était par ailleurs plus élevée que celle de la forme AH, ce qui est cohérent avec les études de dissolution *in vitro*.

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

Parmi les forces de cette étude, il faut noter :

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

### 5.3 - Toxicodynamie

#### 5.3.1 - Résumé des effets toxiques de l'aluminium

##### > Chez l'animal

###### • Système nerveux central

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

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

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

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

#### ➤ Chez l'Homme

##### ▪ **Système nerveux central**

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

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

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

##### ▪ **Effets osseux**

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

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

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

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

##### ▪ **Effets osseux**

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

##### ▪ **Effets respiratoires**

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

##### ▪ **Effets hématopoiétiques**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- L'injection intramusculaire de vaccin (0, 10 ou  $36 \mu\text{L}$ ) chez la souris entraîne la présence d'aluminium en quantité significativement supérieure au contrôle dans le cerveau des animaux. La concentration moyenne d'aluminium allait jusqu'à  $8 \mu\text{g/mg}$  de tissu cérébral (aluminium sous forme physico-chimique indéterminée). Il fut noté par le groupe de travail préclinique que la teneur cérébrale en aluminium rapportée chez les souris traitées ( $8 \mu\text{g/mg}$ ) correspond, sur la base d'un poids de cerveau murin de  $400 \text{ mg}$ , à une dose d'aluminium de  $3,2 \text{ mg}$ , ce qui est supérieur à la quantité maximale administrable. A titre de comparaison, d'après une revue publiée en 2007, la concentration courante en aluminium dans le cerveau humain serait de  $2 \mu\text{g/g}$  de tissu, contre  $23 \mu\text{g/g}$  chez les personnes ayant présenté une encéphalopathie liée à la dialyse [30]. Pour information, cela correspondrait à des quantités de  $2,6$  et  $30 \text{ mg}$  d'aluminium, respectivement, pour un poids moyen de cerveau de  $1,3 \text{ kg}$ . Au-delà de ces chiffres se pose la question de l'homogénéité de distribution de l'aluminium dans le cerveau et de la forme, soluble ou particulaire.

- Afin d'étudier la distribution de l'aluminium vaccinal, des billes de latex fluorescentes de  $500 \text{ nm}$  de diamètre ont été utilisées comme traceur. Ces billes ont été mélangées au préalable au vaccin, puis l'ensemble a été injecté par voie intramusculaire chez le rongeur. Le choix de billes comme traceur est justifié par R. Gherardi par le fait que l'aluminium à tracer se présente sous forme particulaire, qu'il suit donc *a priori* un

#### ▪ Effets respiratoires

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

#### ▪ Effets hématopoïétiques

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

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

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

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

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

#### 5.3.2 - Valeurs toxicologiques de référence

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Dans un modèle murin permettant de tracer les monocytes-macrophages provenant de la moelle osseuse<sup>2</sup>, il a pu être visualisé d'une part la migration de monocytes-macrophages issus de la moelle osseuse vers le cerveau (après passage de la BHE), et d'autre part l'inclusion de billes de latex administrées par voie intramusculaire dans les macrophages issus de la moelle osseuse. Sur la base de ces résultats, le Pr Gherardi émet l'hypothèse du transfert de particules par les macrophages, depuis le point d'injection vers le cerveau.

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

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

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

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

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

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

## 6 - Liste des vaccins du calendrier vaccinal

Cette liste figure en Annexe 1.

## Références

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

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

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

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

## 7 - Recommandations

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

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

Ainsi, le Haut Conseil de la santé publique

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



PV	Primo-vaccination	
ROR	Rougeole-oreillons-rubéole	
SC	Sous-cutanée	Ac Anticorps
SEP	Sclérose en plaques	Ag Antigène
SG-HCSP	Secrétariat général du Haut Conseil de la santé publique	Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (devenue ANSM)
SNC	Système nerveux central	Afssaps Association française contre les myopathies
SSA	Service de santé des Armées	AFM Autorisation de mise sur le marché
VHA	Virus de l'hépatite A	AMM Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
VHB	Virus de l'hépatite B	ANSM Agence régionale de santé
		ARS Agence régionale de santé
		ASIA <i>Autoimmune/Inflammatory Syndrome Induced by Adjuvants</i>
		BHE Barrière hémato-encéphalique
		CCSV Comité consultatif pour la sécurité des vaccins
		CDC <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
		Cepidc Centre épidémiologique des causes médicales de décès
		CNR Centre national de référence
		CPK Créatine phosphokinase
		CRPV Centre régional de pharmacovigilance
		CTV Comité technique des vaccinations
		DGS Direction générale de la santé
		EMG Electromyogramme
		Germmad Groupe de recherche sur les maladies musculaires acquises et dysimmunitaires
		HCSP Haut Conseil de la santé publique
		HLA <i>Human Leucocyte Antigen</i>
		IM Intramusculaire
		INPES Institut national de prévention et d'éducation pour la santé
		Inserm Institut national de la santé et de la recherche médicale
		InVS Institut de veille sanitaire
		IP Intrapatentérai
		IRM Imagerie par résonance magnétique
		IV Intraveineux
		LCR Liquide céphalo-rachidien
		LED Lupus érythémateux disséminé
		MFIM Myofasciite à macrophages
		OMS Organisation mondiale de la santé
		PCR <i>Polymerase chain reaction</i>
		PMI Protection maternelle et infantile

Annexe – Liste des vaccins du calendrier vaccinal

Vaccins sans adjuvant commercialisés en France (juin 2013)	
Nom du vaccin	Laboratoire (titulaire AMM)
<b>VACCINS BACTERIENS</b>	
Vaccin Haemophilus influenzae type b conjugué	Sanofi Pasteur
Vaccin méningococcique	Novartis Vaccines and diagnostics
Vaccin méningococcique A+C	GSK
Vaccin méningococcique ACWY135 non conjugué : Menovax	Novartis Vaccines and diagnostics
Vaccin méningococcique conjugué	GSK
Meningeo	Novartis Vaccines and diagnostics
Nimennix	GSK
Vaccin pneumocoque non conjugué : Pneumo 23	Novartis Vaccines and diagnostics
Vaccin pneumocoque conjugué	Novartis Vaccines and diagnostics
Vaccin typhoïdique	Sanofi Pasteur
Typheax	GSK
Vaccin bactérien vivant atténué	Statens Serum Institut
Vaccin contre la tuberculose : BCG SSI	Statens Serum Institut
Vaccin dit choléra (administration par voie orale): DUCORAL	CRUCCELL
<b>VACCINS VIRAUX</b>	
<b>VACCINS A VIRUS TUES OU INACTIVES</b>	
Vaccins arboviraux	Novartis Vaccines and diagnostics
Arripal	GSK
Fluarix	Pierre Fabre Médicament
Immuqrip	Abbott
Influvac	Sanofi Pasteur
Vaxigrip	Sanofi Pasteur
Vaccin rabique	Novartis Vaccines and diagnostics
Vaccin rabique Pasteur	Novartis Vaccines and diagnostics
Pabiour	Novartis Vaccines and diagnostics
<b>VACCINS A VIRUS VIVANTS ATTENUÉS</b>	
Vaccin contre la fièvre jaune : Stamanil	Sanofi Pasteur
Vaccin rougeole : Rubovax	Sanofi Pasteur
Vaccin varicelle	GSK
Vamirix	Sanofi Pasteur MSD
Vavivax	Sanofi Pasteur MSD
Vaccin Zona : Zostavax	Novartis Vaccines and diagnostics
Vaccins contre le rotavirus (administration par voie orale)	Novartis Vaccines and diagnostics
Rotarix	Novartis Vaccines and diagnostics
Rotarivac	Novartis Vaccines and diagnostics
Rebivax	GSK
<b>VACCINS A VIRUS VIVANTS ATTENUÉS COMBINÉS</b>	
Vaccin rougeole, oreillons, rubéole	Novartis Vaccines and diagnostics
M-M-RVAXPRO	Novartis Vaccines and diagnostics
Vaccin rougeole, oreillons, rubéole, varicelle	Novartis Vaccines and diagnostics
Proquad	Novartis Vaccines and diagnostics
Vaccin rougeole, oreillons, rubéole, varicelle	Novartis Vaccines and diagnostics
Proquad	Novartis Vaccines and diagnostics

Vaccins et adjuvants\_juin 2013 sans adjuvant

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

Nom du vaccin	Laboratoire (titulaire AMM)	Aluminium (valeur cible)	Autres adjuvants
<b>VACCINS BACTERIENS ET VIRAUX ASSOCIES</b>			
<i>Vaccin diphtérie, tétanos, coqueluche acellulaire, poliomyélite, contre les infections à Haemophilus influenzae type b conjugué et hépatite B</i>			
InfanrixHexa	GSK	Phosphate : 0.3 mg/dose Hydroxyde : 0.5 mg/dose (0.5 ml)	
<i>Vaccin diphtérie, tétanos, coqueluche acellulaire, poliomyélite, contre les infections à Haemophilus influenzae type b conjugué</i>			
InfanrixQuinta	GSK	Hydroxyde : 0.5 mg/dose (0.5 ml)	
Pentavac	Sanofi Pasteur MSD	Hydroxyde : 0.3 mg/dose (0.5 ml)	
<i>Vaccin diphtérie, tétanos, coqueluche acellulaire, poliomyélite</i>			
DTCaPolio			
InfanrixTetra	GSK	Hydroxyde 0.5 mg/dose (0.5 ml)	
Tetravac acellulaire	Sanofi Pasteur MSD	Hydroxyde : 0.3 mg/dose (0.5 ml)	
dTcaPolio			
BoostrixTetra	GSK	Hydroxyde 0.3mg/dose + phosphate 0.2 mg/dose (0,5 ml)	
Repevax	Sanofi Pasteur MSD	Phosphate : 0.33 mg /dose (0,5 ml)	
<i>Vaccin diphtérie, tétanos, poliomyélite</i>			
Revaxis	Sanofi Pasteur MSD	Hydroxyde : 0.35 mg/dose (0,5 ml)	
<b>VACCINS BACTERIENS</b>			
<i>Vaccin méningocoque</i>			
<i>Vaccins méningocoque C conjugués</i>			
Meningitec	Pfizer Holding France	Phosphate : 0.125 mg/dose (0.5 ml)	
Menjugatekit	Novartis Vaccines and diagnostics	Hydroxyde : 0.3 à 0.4 mg/dose (0.5 ml)	
Neisvac	Baxter	Hydroxyde : 0.5 mg/dose (0.5 ml)	
<i>Vaccin méningocoque B</i>			
Bexsero	Novartis Vaccines and diagnostics	Hydroxyde : 0.5 mg/dose (0.5 ml)	
<i>Vaccin pneumocoque conjugué</i>			
Prevenar 13	Pfizer Holding France	Phosphate : 0.125 mg/dose (0.5 ml)	
vaccin tétanique Pasteur	Sanofi Pasteur MSD	Hydroxyde : 0.6 mg/dose (0,5 ml)	

Vaccins et adjuvants\_juin 2013 avec adjuvant

**TABLE DES MATIERES**

**SOMMAIRE**

**GROUPE DE TRAVAIL**

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

**GLOSSAIRE**

**ANNEXE**

**TABLE DES MATIERES**

Nom du vaccin	Laboratoire (titulaire AMM)	Aluminium (valeur cible)	Autres adjuvants
<b>VACCINS VIRAUX</b>			
<b>VACCINS A VIRUS TUES OU INACTIVES</b>			
<b>Vaccin Hépatite B</b>			
Engerix 10 µg/0,5 ml	GSK	Hydroxyde:0,25 mg/dose (0,5 ml)	
Engerix 20 µg/1 ml	GSK	Hydroxyde :0,5 mg/dose (1 ml)	
HBVAXPRO 5µg/0,5 ml	Sanofi Pasteur MSD	Sulfate d'hydroxyphosphate:0,25 mg/dose (0,5 ml)	
HBVAXPRO 10µg/1 ml	Sanofi Pasteur MSD	Sulfate d'hydroxyphosphate:0,5 mg/dose (1 ml)	
HBVAXPRO 40µg/1 ml	Sanofi Pasteur MSD	Sulfate d'hydroxyphosphate:0,5 mg/dose (1 ml)	
GenHevac B Pasteur	Sanofi Pasteur	Hydroxyde . ≤1,25 mg/dose (1 ml)	
<b>Vaccins grippaux</b>			
Gripquad	Novartis Vaccines and diagnostics	0	MF59
<b>Vaccin hépatite A</b>			
Avaxim adultes	Sanofi Pasteur	Hydroxyde : 0,3 mg/dose (0,5 ml)	
Havrix 1440 U/1 ml Adultes	GSK	Hydroxyde : 0,5mg/dose (1 ml)	
Havrix 720 U/0,5 ml Nourissons et	GSK	Hydroxyde :0,25mg/dose (0,5 ml)	
<b>Vaccin contre l'encéphalite à tiques</b>			
Ticovac 0,5 ml adultes	Baxter	Hydroxyde :0,35 mg/dose (0,5 ml)	
Ticovac 0,25 ml enfants	Baxter	Hydroxyde :0,17 mg/dose (0,25 ml)	
Encepur	Novartis Vaccines and diagnostics	0,3-0,4mg/dose (0,5 ml)	
<b>Vaccin contre l'encéphalite japonaise</b>			
Ixiaro		Hydroxyde :0,25 mg/dose (0,5 ml)	
<b>Vaccin contre les infections à papillomavirus humains</b>			
Cervarix	GSK	Hydroxyde : 0,5 mg/dose (0,5 ml)	3-O-(desnacyl-4'- monophosphoryl lipide A (50 µg)
Gardasil	Sanofi Pasteur MSD	Sulfate d'hydroxyphosphate: 225 µg/dose (0,5 ml)	
<b>VACCINS A VIRUS TUES OU INACTIVES+ANATOXINES+VACCINS POLYOSIDIQUES</b>			
<b>Vaccin combiné hépatite A et B</b>			
Twinrix adulte	GSK	Hydroxyde 0,05mg/dose + phosphate 0,4mg/dose (1 ml)	
Twinrix enfant	GSK	Hydroxyde 0,025 mg/dose + phosphate 0,2mg/dose (0,5 ml)	

3 4 5 8 8 8 16 18 19 26 31 31 32 33 33 33 34 38 38 38 38 39 39 39 41 44 44 47 48 52 53 55 57 60

## TABLEAUX &amp; FIGURES

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



HomeVaccines, Blood & BiologicsVaccinesApproved Products

## Vaccines, Blood & Biologics

### FDA Information on Gardasil – Presence of DNA Fragments Expected, No Safety Risk

October 21, 2011

The FDA has recently received inquiries regarding the presence of human papillomavirus (HPV) DNA fragments in Gardasil and is aware that information related to this issue is on the internet. A concern that the presence of these fragments could represent contamination of the vaccine arises from an unpublished report that recombinant HPV L1-specific DNA sequences were present in 13 vials of Gardasil from different lots.

The presence of DNA fragments is expected in Gardasil and not evidence of contamination. Based on the scientific information available to FDA, Gardasil continues to be safe and effective, and its benefits continue to outweigh its risks.

#### Key Facts:

- Gardasil does contain recombinant HPV L1-specific DNA fragments, but these are not contaminants. DNA encoding the HPV L1 gene is used in the vaccine manufacturing process to produce the virus-like particles that make up the vaccine. The presence of these DNA fragment is expected, is not a risk to vaccine recipients, and is not a safety factor. DNA is the "blueprint" for the majority of living organisms and carries the genetic instructions for how cells function and grow.
- The vaccine manufacturing process is highly regulated under FDA's current good manufacturing practice requirements, including inspections conducted by FDA of the manufacturing processes and facilities.
- Since the early development of Gardasil, FDA and the manufacturer (Merck and Co., Inc.) have known that after purification of the vaccine, small quantities of residual recombinant HPV L1-specific DNA fragments remain in the vaccine. Gardasil does not contain DNA from other HPV genes or any full-length infectious HPV genomes.
- As it does with all vaccines, FDA continues to monitor the safety of Gardasil. For example, FDA recently evaluated the results of a postmarketing study, which included 189,629 females ages 9 to 26 years, 51% of whom were 9 to 15 years of age to assess the risk for onset of new autoimmune diseases after vaccination with Gardasil. Examples of these types of diseases include juvenile rheumatoid arthritis, lupus, multiple sclerosis, etc. The results of this study showed that there is no elevated risk for onset of new autoimmune disease associated with the use of Gardasil.
- FDA also continually reviews all reports of the Vaccine Adverse Event Reporting System after vaccination with Gardasil, and there is no evidence of unusual clinical patterns or high reporting rates of adverse events, including autoimmune diseases.

One of FDA's highest priorities is the protection of public health through safe and effective vaccines. As it does with all vaccines, FDA will continue to monitor the safety of Gardasil.

Page Last Updated: 10/21/2011

Note: If you need help accessing information in different file formats, see Instructions for Downloading Viewers and Players.



Accessibility Contact FDACareersFDA BasicsFOIANo Fear ActSite MapTransparencyWebsite Policies

U.S. Food and Drug Administration  
10903 New Hampshire Avenue  
Silver Spring, MD 20993  
Ph. 1-888-INFO-FDA (1-888-463-6332)  
Email FDA



For Government For Press

Combination Products Advisory Committees Science & Research Regulatory  
Information Safety Emergency Preparedness International Programs News & Events Training and  
Continuing Education Inspections/Compliance State & Local Officials Consumers Industry Health  
Professionals FDA Archive



U.S. Department of Health & Human Services

Links on this page:

Key facts

- Gardasil does not contain recombinant HPV L1-specific DNA fragments, but these are not contaminants. DNA encoding the HPV L1 gene is used in the vaccine manufacturing process to produce the virus-like particles that make up the vaccine. The presence of these DNA fragments is not a risk to vaccine recipients, and is not a safety factor. DNA is the "blueprint" for the majority of living organisms and carries the genetic instructions for how cells function and grow.
- The vaccine manufacturing process is highly regulated under FDA's current good manufacturing practice requirements, including inspections conducted by FDA in the manufacturing processes and facilities.
- Since the early development of Gardasil, FDA and the manufacturer (Merck and Co., Inc.) have known that after purification of the vaccine, small quantities of residual recombinant HPV L1-specific DNA remain in the vaccine. Gardasil does not contain DNA from other HPV types or any other infectious agents.
- As it does with all vaccines, FDA continues to monitor the safety of Gardasil. For example, FDA recently analyzed the results of a large clinical study with Gardasil in 13-year-old girls. The study included 10,000 girls who were vaccinated with Gardasil. Examples of types of diseases that include juvenile dermatomyositis, lupus, multiple sclerosis, etc. The results of this study shows that there is no elevated risk for onset of new autoimmune diseases associated with the use of Gardasil.
- FDA also continually reviews all reports of the Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS) associated with Gardasil, and there is no evidence of unusual clinical patterns or high reporting rates of adverse events, including autoimmune diseases.

One of FDA's highest priorities is the protection of public health through safe and effective vaccines. As it does with all vaccines, FDA will continue to monitor the safety of Gardasil.

Page last updated: 10/21/2011  
Note: If you need help accessing information in different file formats, see Instructions for Downloading Viewers and Players.



EUROPEAN MEDICINES AGENCY  
SCIENCE MEDICINES HEALTH

Freda Birrell  
Sane Vax Inc.

22 September 2011  
EMA/771987/2011

**Subject: Sane Vax Inc. letter concerning Gardasil**

Dear Ms Birrell,

Thank you for sharing your information concerning the Gardasil vaccine with the Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP).

The CHMP takes very seriously any potential contamination issue and has considered all the available evidence in relation to the statements you have made about Gardasil in relation to HPV DNA. Following your letter, information concerning the risk was immediately requested from the EU marketing authorisation holder (Sanofi Pasteur MSD, SNC). The issue was then discussed in detail by the Biologics Working Party (BWP) at its meeting of 12-14 September and by the CHMP at its meeting of 19-22 September.

The CHMP came to the following conclusions regarding the Gardasil vaccine.

The Committee noted that the presence of recombinant DNA fragments does not represent a case of contamination and is not considered to be a risk to vaccine recipients. All medicinal products manufactured using recombinant technology may contain small fragments of residual DNA.

In Gardasil, residual DNA originates from the recombinant expression system used in the production of the vaccine (yeast cells or plasmids). It is highly fragmented, with no ability to replicate and therefore no infectious capacity. Furthermore, the amount of these residual substances is minimised by robust manufacturing processes.

The information brought to the attention of the CHMP by Sane Vax Inc. is not considered to provide new information about the quality of the vaccine.

Concerning the highlighted case of Juvenile Rheumatoid Arthritis observed in association with a third dose of Gardasil, the information is very limited. In view of the total number of doses of Gardasil distributed since launch in 2006, i.e. more than 79 million doses worldwide, this case might well be within the expected number of Juvenile Rheumatoid Arthritis cases in the vaccinated population but coinciding with vaccination.

In summary, the current benefit-risk balance of Gardasil is not considered to be affected by the information reported by Sane Vax Inc. and Gardasil is considered to remain safe and effective.

Yours sincerely,

Dr Eric Abadie, Chairman of the CHMP  
On behalf of the CHMP









---

## Vaccine Safety

---

---

### Clinical Immunization Safety Assessment (CISA) Network Publications and Technical Reports

---

- Technical Reports

#### Technical Reports

##### Review of a published report of cerebral vasculitis after vaccination with the Human Papillomavirus (HPV) Vaccine

NOVEMBER 9, 2012

Recently there was discussion on a federally-sponsored vaccine safety listserv of a report in the literature of cerebral vasculitis after vaccination with the Human Papillomavirus Vaccine (HPV) (*Tomljenovic L, Shaw CA. Death after Quadrivalent Human Papillomavirus (HPV) Vaccination: Causal or Coincidental? Pharmaceutical Regulatory Affairs: Open Access 2012,S12:001*). To address questions about the findings and conclusions reported in this manuscript, CDC convened a CDC-Clinical Immunization Safety Assessment (CISA) working group. Researchers from Vanderbilt Medical Center, Johns Hopkins University, Columbia University, Duke Clinical Research Institute (Duke University), CDC and FDA participated in the call. Participants have expertise in vaccine safety, infectious diseases, clinical medicine, pathology, and laboratory science.

In the *Tomljenovic* manuscript, the authors present two cases of young women who died in presumed association with the human papillomavirus (HPV) vaccine. The first case was a 19-year-old woman who died in her sleep 6 months after receiving the 3rd dose of quadrivalent human papillomavirus vaccine (HPV4) vaccine. Autopsy revealed no abnormalities. The second case was a 14-year-old girl who developed migraines, weakness, and confusion two weeks following the 1st dose of HPV4 vaccine. She recovered, but was found unconscious 15 days after the 2nd dose of HPV4 vaccine, having suffered a cardiac arrest. An autopsy was performed that demonstrated hypoxic-ischemic encephalopathy secondary to cardiac arrest.

The authors report immunohistochemical (IHC) results on formalin-fixed, paraffin-embedded, autopsy brain tissue from these two cases. They interpret the results as demonstrating an autoimmune cerebral vasculitis with HPV-16L1 vaccine particles within the cerebral vasculature. Based on this interpretation, the authors conclude that these cases represent HPV-16L1 vaccine particle-induced cerebral vasculitis. They further suggest that many adverse events reported through the Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS) may actually be a result of previously undiagnosed cerebral vasculitis.

On review, the CDC-CISA working group identified scientific concerns with the article, primarily, interpretation of histopathology and immunopathology methods. These concerns negate the authors' conclusions and significantly limit any interpretation of the results shown in the paper. Below we describe key limitations in this publication:

1. **Lack of validity for the diagnosis of vasculitis:** The histologic diagnosis of vasculitis requires demonstration of an inflammatory infiltrate within the vessel wall that is associated with destructive changes (Ref: Practical Neurology 2002, 2, 80-93). These changes would be visible with standard hematoxylin and eosin (H&E) stain. None of the illustrated H&E or immunohistochemical images demonstrate an inflammatory infiltrate or vascular damage. The only finding illustrated is the presence of hemorrhage, commonly seen in autopsy specimens. Hence, there is insufficient evidence presented in this publication to support the diagnosis of vasculitis in the two fatal case reports.
2. **Questionable immunohistochemical methods:** Many details of the immunohistochemical staining are not provided, including the characterization of the antibody clones, the isotypes of the antibody, and the specific details of the blocking procedures. Appropriate negative controls were lacking from the IHC methodology; these should include a negative antibody control (omission of primary antibody or non-immune serum) and use of negative tissue samples. Specificity of the primary antibodies in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues is not demonstrated and cannot be assumed. The specificity of the staining methods the authors used has not been established, and there are many examples of cross-reactive immunostaining methods that result in false positive tests. Having a clear measurement of the specificity of the IHC tests noted in the article is critical to interpretation of results.
3. **Flawed interpretation of immunohistochemical results:** The publication describes the presence of HPV-16L1 particles within the cerebral vasculature with some HPV-16L1 particles within the blood vessel walls. Viral particles, including HPV particles, are so small that they cannot be visualized by light microscopy; rather, electron microscopy (EM) would be required to identify viral particles. The authors do not report methods or data suggesting that EM was performed on any of the specimens. The authors only describe findings from IHC staining for the two case-patient autopsy specimens. No IHC staining results are described for control specimens. Without appropriate controls the clinical importance of finding positive IHC results cannot be determined.
4. **Lack of information about potential alternative causes of death:** There are insufficient clinical and autopsy data provided in the article to assess potential alternative causes of death in each case.

The working group also reviewed information from the Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS) database, available medical records, and the medical literature. A single VAERS death report of cerebral vasculitis was found in a 37-year-old female with immunodeficiency and multiple medical problems who had received HPV4 vaccine 45 days earlier.

A review of published medical literature revealed a single report of two cases of vasculitis after HPV vaccine; however, both were associated with Henoch-Schonlein Purpura and neither had cerebral vasculitis (*Rheumatology (Oxford)*).  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22879461> & <http://www.cdc.gov/Other/disclaimer.html>  
 2012 Aug 9. "Vasculitis following HPV immunization". Melo Gomes S  
[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Melo%20Gomes%20S%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor\\_uid=22879461](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Melo%20Gomes%20S%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=22879461) & <http://www.cdc.gov/Other/disclaimer.html>,  
Glover M ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Glover%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor\\_uid=22879461](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Glover%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=22879461)) & <http://www.cdc.gov/Other/disclaimer.html>,  
Malone M ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Malone%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor\\_uid=22879461](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Malone%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=22879461)) & <http://www.cdc.gov/Other/disclaimer.html>,  
Brogan P ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Brogan%20P%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor\\_uid=22879461](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Brogan%20P%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=22879461)) & <http://www.cdc.gov/Other/disclaimer.html>).  
 Review of post-licensure VAERS surveillance data, as reported by Slade et al, revealed no concerning signals for HPV vaccine-associated vasculitis (Slade BA, Leidel L, Vellozzi C et al. Postlicensure safety surveillance for the quadrivalent human papillomavirus recombinant vaccine. *JAMA* 2009;302:750).

**Assessment:** After thorough review and discussion of the *Tomljenovic* article, the CDC-CISA working group identified substantial methodological concerns and lack of evidence to support the authors' conclusions that the two patients had vasculitis, that HPV4 vaccine particles were in the brain tissue, or that HPV vaccine was causally associated with death from cerebral vasculitis.

**Disclaimer:** *The information and conclusions in this report are those of the work group participants addressing this issue and do not necessarily represent the official position of CDC.*

---

Page last reviewed: September 25, 2013

Page last updated: September 25, 2013

Content source: Centers for Disease Control and Prevention

National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID)

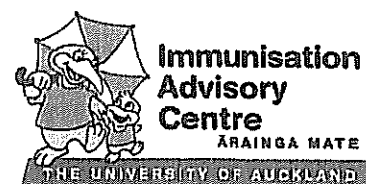
Division of Healthcare Quality Promotion (DHQP)

---

Centers for Disease Control and Prevention 1600 Clifton Rd. Atlanta, GA  
30333, USA  
800-CDC-INFO (800-232-4636) TTY: (888) 232-6348 - Contact CDC-  
INFO







## Commentary on coronial inquiry expert witness testimony

### Background

Jasmine Renata died in her sleep in September 2009, aged 18 years. Her family believe her death was caused by the three doses of quadrivalent human papillomavirus vaccine (Gardasil®); she received between one year and six months earlier, as part of the National Immunisation Programme. Autopsy was unable to determine a cause of death and her case was referred to the Coroner.

Jasmine's family requested that evidence be given by two international professionals. Dr Christopher Shaw, a neuroscientist from Canada and Dr Sin Hang Lee, a pathologist from Connecticut, USA. Scientists at the Immunisation Advisory Centre at The University of Auckland have serious concerns about the scientific validity of information provided by Drs Shaw and Lee at the coronial hearing into the death of Jasmine Renata.

The Immunisation Advisory Centre has prepared this commentary, addressing the claims presented by Drs Chris Shaw and Sin Hang Lee. Most of the claims are centred on the purported role of aluminium in the vaccine at being able to cause brain disease. There is also the claim that the vaccine was contaminated and that this also played a role in Jasmine's death. The claims and assumptions are listed below followed by the facts and a brief précis of the scientific validity of the claim.

### 1. The role of aluminium

**Claim:** In a review of the literature on the safety of aluminium adjuvants in vaccines (1) the authors Lucija Tomljenović and Christopher Shaw conclude that vaccine benefits may have been overrated and risk for adverse effects underestimated and that this matter has not been rigorously evaluated in the medical and scientific community.

**Fact:** Other reviews on the safety of aluminium adjuvants and vaccines in general (of which there are many) consistently support the safety of aluminium adjuvanted vaccines (2, 3). Tomljenovic and Shaw appear to have cherry picked the research to fit with their theory and omitted work by prominent experts in the field of aluminium adjuvants, most notably Professor Stanley Hem. There is no description of how the papers were selected for review or criteria for inclusion or exclusion. This is a serious flaw in any literature review and an unscientific approach to testing a theory. The paper also includes a range of erroneous assumptions. The World Health Organization considers the paper seriously flawed ([http://www.who.int/vaccine\\_safety/reports/Jun\\_2012/en/index.html](http://www.who.int/vaccine_safety/reports/Jun_2012/en/index.html)).

A few errors of fact and logic are listed on the following pages.

**Claim:** Aluminium is a neurotoxin

**Fact:** Aluminium is everywhere in the environment and the most abundant metal on the planet. Aluminium can be found in most body tissues from birth and exposure occurs throughout life without causing any health problems. Most aluminium (>95%) in the blood is cleared via the kidneys, following injection of aluminium directly into the blood around 0.001 – 0.01% finds its way to the brain via receptor mediated transport (vaccines are not injected into the blood). As with anything large amounts can be dangerous. People at particular risk of accumulating toxic levels of this metal are patients with renal problems receiving long term nutritional supplements directly into their blood (parenteral nutrition) (4).

**Assumption:** Vaccines contain large amounts of aluminium.

**Fact:** Vaccines do not contain large amounts of aluminium. Relative to daily intakes, vaccines contribute very little, even in babies who receive aluminium from both breast milk and formula. The amount of elemental aluminium in a dose of Gardasil vaccine is around 225 micrograms. We consume around 7,000-9,000 micrograms per day and around 0.1% is absorbed into the blood (or around 7-9 micrograms) (2, 4).

**Assumption:** Vaccines given to infants exceed FDA recommendations for maximum daily intakes.

**Fact:** The FDA guidelines pertain to parenteral nutrition given to premature infants and children with impaired renal function every day (hence the 'daily' limits). Vaccines are given as one offs, not every day (5).

**Assumption:** Aluminium accumulates in the body and reaches toxic levels.

**Fact:** Aluminium is excreted via the kidneys and urine; there is little build-up over a lifetime of exposure. Problems generally only arise in cases of regular high daily intakes coupled with renal failure (2, 4).

**Assumption:** Vaccine derived aluminium has a greater potential to induce neurological damage than that in diet because it is adsorbed to vaccine antigen and too large to be excreted via the kidneys.

**Fact:** The fate of most adsorbed aluminium in vaccines is 1) rapid disassociation following injection; 2) excreted via kidneys. Remaining aluminium is involved in the immune response and endures for longer. Aluminium adjuvants have been used in vaccines for over 80 years and there is a significant body of literature on their use. There are many studies now available that compare outcomes in people exposed and unexposed to aluminium adjuvants. They consistently support the safety profile of these adjuvants (3).

**Claim:** Dr Lee claims that more women suffer adverse events from the HPV vaccine than die from cervical cancer. He quotes incidence and mortality rates for cervical cancer per 100,000 women. He cites a paper by Tomljenovic and Shaw that uses raw data (total number of adverse event reports) from passive vaccine safety surveillance systems from several countries and compares it to mortality rates.

**Fact:** Passive safety surveillance systems receive reports of events that occur following a vaccine from a number of sources including health professionals and the public. These reports include any adverse event that occurs following receipt of a vaccine regardless of what caused the event. There is no denominator in these systems (how many people were vaccinated) and no causality (what caused the event). These events can range from minor injection site reactions to death. They serve as warning systems for unusual or

unexpected patterns. If a passive safety system raised a signal about a new, unexpected or more frequent event, then other methods are required to assess whether this is a real association or just a coincidence. Genuine vaccine-associated events are assessed using other methods that compare outcomes between vaccinated and unvaccinated people. Using only passive reporting data in the way that Tomljenovic, Shaw and Lee have done suggests they are either deliberately trying to mislead or have very limited understanding of basic epidemiology and vaccine safety surveillance. The World Health Organization (WHO) Global Advisory Committee on Vaccine Safety provides a scientific review of the same data on a regular basis and this is available on their website.

([http://www.who.int/vaccine\\_safety/reports/Jun\\_2012/en/](http://www.who.int/vaccine_safety/reports/Jun_2012/en/))

**Claim:** Dr Shaw claims that he tested post mortem samples of Jasmine Renata's tissues and found aluminium in all of them. He also claims he found human papillomavirus (HPV16) in her brain. Dr Lee, who was also sent samples, claims to have found "unnatural results".

**Fact:** As mentioned, aluminium is the most common metallic element and third most common element on earth. It is present in our food, water, breast milk and we are born with aluminium in our bodies. Aluminium in the brain would not be an unexpected find. There are reported values for the presence of aluminium in various human tissues including the brain.

## 2. The theories of linking vaccine to sudden death

The theories as to how the HPV vaccine could have caused Jasmine Renata's death are convoluted and contradictory. They are almost exclusively based on speculation and require that many unlikely biological events occur in order for harm to arise. Below we examine a few of them.

**Claim:** Dr Lee claims to have tested samples of Gardasil from nine countries each with a different lot number. He claims to have found HPV DNA in them using special techniques. <http://sanevax.org/gardasil-vaccine-found-to-be-contaminated/>

**Fact:** Fragments of vaccine virus DNA for the L1 gene are to be expected in the vaccine as this DNA is present during the manufacturing process, as with any vaccine. This genetic material is highly degraded and fragmented and would be expected to be present in miniscule amounts. These fragments are inactive, not contaminants and do not pose a risk to those vaccinated. Our bodies come into daily contact with DNA from external sources from both food and microbes. This is eaten, inhaled and, in the case of microbes, distributed throughout body.

### Theory one – HPV DNA is joined to the aluminium adjuvant

Dr Lee theorises that these fragments of DNA are bound to the aluminium adjuvant present in the vaccine.

**Fact:** There is no evidence to prove or disprove this theory. How was this tested? Given that the DNA and the adjuvant have opposite charges it seems theoretically possible that they may bind together but this has not been demonstrated. Normally within the vaccine formulation a proportion of the vaccine antigen (in this case the HPV viral-like proteins) are adsorbed to the adjuvant via electrostatic interactions. Once the vaccine has been administered there is a rapid disassociation of antigen and adjuvant into the extra cellular fluid at the injection site (6).

### **Theory two – HPV DNA remains joined to the aluminium adjuvant**

Dr Lee speculates that these hypothetically bound DNA fragments remain firmly adhered to the aluminium adjuvant.

**Fact:** There is no evidence to prove or disprove this theory. No one else has observed these complexes. There is no description of the methods used to arrive at these results.

### **Theory three – new complex with unknown effects**

Dr Lee claims that this DNA and adjuvant complex may constitute a new chemical compound with unknown effects.

**Fact:** There is no evidence to suggest such a new chemical compound.

### **Theory four – phagocytosis by macrophages and failure of intracellular degradation causing on going inflammatory response**

Dr Lee claims that these adjuvant-DNA complexes would be phagocytised (taken up) by tissue macrophages after injection and that these DNA fragments, protected from degradation within the cell, may behave as long acting stimulators to activate the production of inflammatory products such as tumour necrosis factor (TNF). He then goes on to point out that TNF is a known myocardial depressant capable of causing hypotension and lethal shock in animals and humans as well as the symptoms reported by girls who received Gardasil.

**Fact:** This is all speculation as no evidence has been provided to support any of these contentions. However it seems highly unlikely that such a very small quantity of DNA hypothetically bound to aluminium adjuvant could remain highly bonded and then induce such a massive inflammatory response. Both foreign DNA and aluminium are ubiquitous in our environment and exposure to both occurs daily from many sources.

## **Summary Statements**

What does the presence of aluminium in brain tissue mean?

- Any presence of aluminium in brain tissue samples simply tells us that like the rest of the population, there was aluminium in Jasmine's tissue.
- The presence of aluminium does not inform us about why Jasmine died.
- We do not know that the tests carried out by Lee and Shaw were appropriate or with proper controls, as they have not presented their methods for scrutiny and peer review.

What does the presence of HPV DNA in the brain mean?

- The claimed presence of human papillomavirus type 16 in the brain tissue is difficult to comment on. What methods were used to detect it? Is this the virus itself or do they mean fragmented DNA?
- The amount of residual fragmented DNA in the vaccine is miniscule. It is very hard to believe that such a tiny amount could find its way throughout the body and be present in a high enough quantity to be detected by even the most sensitive of methods.
- Another fundamental problem is that the theory about DNA binding to aluminium and the theory about this complex being found in the brain contradict each other. Dr Lee states that the proposed DNA-adjuvant complex is phagocytised by macrophage where it resides causing an inflammatory response. The blood-brain barrier restricts passage of blood-borne cells. It is debateable whether or



not peripheral macrophage can enter the brain in the first instance and if they do it is likely only to occur under disease states and probably limited. So how can this hypothetical complex enter the brain? This is an error in logic based on several assumptions, none of which have been demonstrated.

Given the tiny amount of DNA present in the vaccine and the fact most aluminium is excreted and the fact that this hypothetical DNA-aluminium complex is apparently residing inside macrophage and that peripheral macrophage do not usually access the brain then detecting this complex in the brain tissue seems extremely improbable.

## The 'Experts'

### Scientific credibility of Drs Shaw and Lee

Dr Shaw has published two pieces of rodent research on the role of aluminium in neurological damage and several reviews (funded by anti-immunisation lobby groups) on the safety of aluminium adjuvants in vaccines (1, 7-9). These review articles are not original research and simply cite a range of material that appears to support a pre-established position. This is not scientific. There are many articles published that use a systematic approach to evaluating the safety of vaccines and review articles meeting a strict set of criteria for quality that address a particular research or clinical question. This repeated failure to use the scientific method to assess the safety of vaccines and aluminium draws the scientific credibility of Dr Chris Shaw into serious question.

Dr Lee appears not to have been employed by the Milford Hospital in Connecticut since 2010 and he has filed a lawsuit against the hospital claiming wrongful termination (<http://sanevax.org/dr-sin-hang-lee-a-case-study-in-ethics-dont-pay/>). Despite this, his name is still being used in association with Milford hospital (<http://www.stuff.co.nz/dominion-post/news/7445193/Foreign-DNA-found-in-teenagers-blood>). Dr Lee has made some erroneous statements about the Gardasil vaccine and also has a major conflict of interest.

- Dr Lee claims that the Gardasil vaccine trials demonstrated an increased risk of cervical disease if women were already infected with the virus.
- Dr Lee therefore recommends a test prior to women receiving HPV vaccine. He offers a service on line (for a USD\$50 fee) to test them for evidence of existing HPV infection. <http://sanevax.org/pre-vac-hpv-testing-2/>  
<http://www.weeklyblitz.net/949/dr-sin-hang-lee-joins-forces-with-sane-vax-inc-in>

There are two serious issues here.

- Firstly, the trials did not demonstrate an increased risk of cervical disease in vaccinated women who had pre-existing infection. The fact is there was a cluster of women in a sub-study with pre-existing infection who appeared to have an increased risk after vaccination. However on careful examination of that small study and of all the other studies it was found that the vaccinated group had different baseline risk factors such as smoking which probably contributed to this anomaly. Apart from the small sub-group the rest of the trials did not find any increased risk.
- There is a conflict of interest when Dr Lee profits from the proceeds of the testing he recommends. He is the President and a shareholder in HiFi DNA Tech (<http://www.hifidna.com>) which provides the tests he recommends. Dr Lee's criteria for this HPV DNA testing and its use in clinical decision making have been highly criticised by other pathologists (10).

## References

1. Tomljenovic L, A. Shaw C. Aluminum vaccine adjuvants: Are they safe? *Current Medicinal Chemistry*. 2011;18(17):2630-7.
2. Mitkus RJ, King DB, Hess MA, Forshee RA, Walderhaug MO. Updated aluminum pharmacokinetics following infant exposures through diet and vaccination. *Vaccine*. 2011;29(51):9538-43.
3. Jefferson T, Rudin M, Di Pietrantonj C. Adverse events after immunisation with aluminium-containing DTP vaccines: Systematic review of the evidence. *The Lancet Infectious Diseases*. 2004;4(2):84-90.
4. Krewski D, Yokel R, Nieboer E, Borchelt D, Cohen J, Harry J, et al. Human health risk assessment for aluminium, aluminium oxide, and aluminium hydroxide. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part B: Critical Reviews*. 2007;10(Supplement 1):1-269.
5. Poole RL, Hintz SR, Mackenzie NI, Kerner JA. Aluminum exposure from pediatric parenteral nutrition: Meeting the new FDA regulation. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 2008;32(3):242-6.
6. Méndez IZR, Shia Y, HogenEsch H, Hem SL. Potentiation of the immune response to non-adsorbed antigens by aluminum-containing adjuvants. *Vaccine*. 2007;25(5):825-33.
7. Tomljenovic L. Aluminum and Alzheimer's Disease: After a century of controversy, is there a plausible link? *Journal of Alzheimer's Disease*. 2011;23(4):567-98.
8. Tomljenovic L, Shaw C. Mechanisms of aluminum adjuvant toxicity and autoimmunity in pediatric populations. *Lupus*. 2012;21(2):223-30.
9. Tomljenovic L, Shaw CA. Do aluminum vaccine adjuvants contribute to the rising prevalence of autism? *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2011;105(11):1489-99.
10. Castle PE, Stoler M, Kinney W. Patient safety and the next generation of HPV DNA tests - Authors reply. *American Journal of Clinical Pathology*. 2011;135(3):799-803.

## For further information

**Dr Helen Petousis-Harris**

Senior Lecturer, Department of General Practice and Primary Health Care

Director, Immunisation Research and Vaccinology

The Immunisation Advisory Centre

The University of Auckland

Contact: [h.petousis-harris@auckland.ac.nz](mailto:h.petousis-harris@auckland.ac.nz)