Les adjuvants vaccinaux et la myofasciite à macrophages
Vaccine adjuvants and macrophagic myofasciitis

Claire-Anne SIEGRIST*

*Membre de l'Académie Suisse des Sciences Médicales, Membre du Comité Consultatif Mondial de l'Organisation Mondiale de la Santé pour la Sécurité des Vaccins

RESUME

Les adjuvants à base de sels d'aluminium sont utilisés depuis 1926 à travers le monde et leur profil de sécurité vaccinale est tellement bon qu'ils ont longtemps été les seuls adjuvants autorisés. Depuis quelques années, leur sécurité a cependant été mise en question en France suite à la démonstration que l'aluminium pouvait persister de façon prolongée au site d'injection, dans des macrophages rassemblés autour des fibres musculaires en une lésion histologique microscopique nommée « myofasciite à macrophages (MMF) ». Cette image a été observée chez des patients ayant subi une biopsie musculaire deltoïdienne pour investigation diagnostique de symptômes incluant principalement myalgies et fatigue, en association avec un large éventail d'autres symptômes et entités nosologiques, en particulier de nature autoimmune. Les études des caractéristiques cliniques, biologiques et surtout épidémiologiques entreprises pour identifier une association éventuelle entre cette image histologique de MMF et une maladie systémique sont restées négatives. A ce jour, les éléments disponibles indiquent que bien que l'aluminium vaccinal puisse parfois persister au site d'injection pendant des années (« tatouage vaccinal »), ceci ne reflète pas l'existence d'une atteinte inflammatoire musculaire diffuse et n'est pas associé à une maladie systémique spécifique. L'existence de biais d'échantillonnage inhérents à la complexité des diagnostics cliniques et pathologiques reste l'hypothèse la plus probable.

MOTS-CLES : ADJUVANTS. ALUMINIUM. TOLERANCE VACCINALE. EFFETS SECONDAIRES.

SUMMARY

Aluminium-based adjuvants have been used throughout the world since 1926, and their safety profile is such that they have long been the sole adjuvants registered for clinical use. Their safety has nevertheless been questioned in France over the last few years following the demonstration that aluminium could persist for prolonged periods at the injection site, within macrophages gathered around the muscular fibers and forming a microscopic histological lesion called « macrophagic myofasciitis (MMF) ». This image has been observed in patients undergoing a deltoid muscular biopsy for diagnostic purposes of various symptoms essentially including muscular pain and fatigue, in association with a large panel of various symptoms and diseases, including those of an autoimmune nature. Studies of the clinical, biological and epidemiological characteristics undertaken to identify a possible association between the MMF histological image and a systemic disease have remained negative. As of today, available evidence indicates that although vaccine aluminium may persist at the site of injection for years (« vaccine tattoo »), this does not reflect the existence of a diffuse inflammatory muscular disease and is not associated with a specific clinical disease. The existence of sampling bias inherent to the complexity of the clinical and pathological diagnoses remains the most likely hypothesis.

KEY-WORDS : ADJUVANTS. ALUMINIUM. VACCINE SAFETY. ADVERSE EVENTS.

INTRODUCTION

La possibilité d'induire une protection vaccinale sans devoir inclure la totalité d'un pathogène, inactivé ou atténué, mais seulement les composants microbiens (toxines détoxifiées, antigènes recombinants ou purifiés) essentiels à l'induction de la protection permet la conception et la réalisation d'un grand nombre de vaccins efficaces contre des pathologies graves. Le plus souvent, ces vaccins sous-unitaires ne contiennent cependant plus les « signaux de danger » permettant au système immunitaire de déclencher les mécanismes de défense appropriés. Ils n'induisent donc que des réponses immunes insuffisantes à la protection, à moins d'être administrés avec des adjuvants capables de soutenir l'induction de cette immunité. De très nombreux adjuvants ont été développés au cours du temps, mais rares sont ceux qui ont dépassé le stade de l'expérimentation pour aboutir à leur utilisation en pratique vaccinale de routine. Les adjuvants à base de sels d'aluminium en font partie. Leur efficacité n'est plus à démontrer, et leur tolérance considérée comme excellente. Ils ont pourtant été récemment mis en accusation par un groupe de neurologues français ayant observé la persistance d'aluminium au site d'injection vaccinale chez des sujets présentant divers symptômes incluant myalgies et fatigue. Ce résumé a pour but de résumer les éléments actuellement disponibles concernant la corrélation éventuelle entre l'utilisation de vaccin contenant des sels d'aluminium et l'apparition d'une maladie clinique.

LES ADJUVANTS A BASE DE SELS D'ALUMINIUM

Les sels d'aluminium (AlOH et $Al(OH)_3PO4$) ont été utilisés comme adjuvants depuis plus de 70 ans (1926) chez des millions de sujets à travers le monde, avec de très nombreux antigènes différents. En fait, leur excellent profil de tolérance en a longtemps fait les seuls adjuvants approuvés pour utilisation clinique chez des sujets adultes ou enfants, âgés ou nourrissons, nés à terme ou même prématurément. Leurs mécanismes d'action ne sont que partiellement connus (pour revue, voir [1]). Ils incluent un effet dépôt, dont la durée est cependant plus courte qu'initialement supposé : bien que des études initiales aient identifié la persistance d'antigène au site d'injection pendant 6-7 semaines (13), d'autres ont démontré que l'excision du site d'injection 7 jours après injection n'interférait pas avec l'induction immunitaire (14). Plus récemment, la désorption rapide de l'antigène vaccinal du support de sels d'aluminium a été formellement confirmée, plus de 80% des antigènes protéiques (toxoide tétanique par exemple) étant relâchés dans les heures suivant l'injection (12).

La fonction essentielle des adjuvants est donc de fournir les signaux nécessaires à l'activation et à la maturation des cellules immunitaires (macrophages et cellules dendritiques) chargées de prendre en charge les antigènes vaccinaux et d'initier les réponses lymphocytaire T et B appropriées. Des travaux récents ont confirmé que les sels d'aluminium

induisent la différentiation des macrophages dans des cellules de type dendritiques produisant certaines cytokines (IL-4, IL-5, IL-13) caractéristiques d'une polarisation immune des réponses lymphocytaires de type Th2 (20) ; (Rimaniol A.C., manuscrit en préparation). En accord avec ces observations, les sels d'aluminium sont particulièrement efficaces pour l'induction de réponses anticorps et Th2 (3), mais peu efficaces à soutenir des réponses lymphocytaires de type Th1 ou cytotoxiques.

Le profil de sécurité des adjuvants à base d'aluminium est excellent. Ils permettent même de réduire la fréquence et la sévérité des réactions inflammatoires locales et systémiques induites par les antigènes en leur absence (19), probablement grâce à leur effet de relarguage progressif. Les effets indésirables démontrés sont essentiellement locaux : réactions inflammatoires transitoires ou induction de granulomes au site d'injection, surtout lorsque celle-ci est sous-cutanée. La mise en accusation de la sécurité des adjuvants à base d'aluminium par un groupe de neurologues français (le GERMMAD) a donc créé la surprise.

LA MYOFASCIITE A MACROPHAGES

Une lésion histologique caractéristique

En 1998, le GERMMAD décrit une lésion histologique nouvelle chez des patients investigués par biopsies musculaires deltoïdienne pour des raisons diverses incluant le plus souvent des myalgies diffuses (6, 10). Cette lésion est caractérisée par une infiltration cellulaire autour des fibres musculaires et des fascia comprenant essentiellement des macrophages, avec une sous-population de lymphocytes T de type $CD8^+$. De taille microscopique (2-4 mm), cette infiltration cellulaire n'est pas associée à une destruction des fibres musculaires, ne contient pas de cellules géantes caractéristiques des réactions à des corps étrangers et est suffisamment distincte des autres lésions myopathiques inflammatoires pour que lui soit attribuée une identité nosologique histologique, intitulée « myofasciite à macrophages (MMF) ». Actuellement, d'autres neurologues français questionnent cette stéréotypie, soulignant les variations dans la topographie (muscle, fascia ou les deux), l'intensité (petits nodules ou larges infiltrats), le phénotype cellulaire (macrophages purs ou associés à des lymphocytes), l'association à des microvasculites (10%) (17).

A la recherche d'une étiologie

L'hypothèse étiologique initiale est celle de l'exposition à une substance toxique (huile minérale ? médicament ?) ou infectieuse, les symptômes s'amendant ou disparaissant non rarement après traitement antibiotique (5), provoquant une myopathie inflammatoire diffuse identifiée « par hasard » par la biopsie du deltoïde. Cependant, les biopsies réalisées à distance de cette lésion microscopique, ou dans d'autres groupes musculaires, restent toutes négatives, infirmant l'hypothèse d'une inflammation musculaire diffuse. Par

ailleurs, les investigations ultérieures démontrent la présence dans les macrophages de la lésion histologique d'inclusions spiculaires composées d'hydroxyde d'aluminium (11). Les taux d'aluminium normaux dans le muscle autour de la lésion, dans les autres muscles, dans les autres tissus et dans le sang exclut l'hypothèse d'une intoxication par l'aluminium et démontrent que la lésion histologique de MMF représente une accumulation localisée de macrophages chargés d'aluminium au niveau du muscle deltoïde.

Cette observation évoque aux chercheurs, à juste titre, les réactions inflammatoires observées de façon physiologique au site d'immunisation dans des modèles expérimentaux (souris, rats). Ces études sont répétées, confirmant la persistance d'aluminium pendant plusieurs mois, y compris chez des singes (F. Verdier, Aventis-Pasteur, manuscrit en préparation), avec des images histologiques tout à fait semblables à celle décrite comme lésion de MMF. Ainsi, l'hypothèse d'une atteinte musculaire diffuse devient celle de la persistance possible, au site d'injection de vaccins contenant des adjuvants à base d'aluminium, d'un foyer inflammatoire microscopique. L'anamnèse d'une immunisation par un vaccin contenant des sels d'aluminium chez l'immense majorité des sujets avec biopsie positive permet de confirmer la quasi-certitude que cette lésion histologique focale est la conséquence de l'injection de sels d'aluminium (8). Le délai médian entre la dernière vaccination identifiée et une biopsie musculaire positive est de 36 mois dans le rapport d'investigation exploratoire de 2001, passant à 53 mois (extrême : 8 ans) dans les séries plus récentes (9), indiquant que cette signature vaccinale peut persister pendant des années.

Vient alors l'étape infiniment plus complexe réclamant de concilier la sécurité vaccinale démontrée des adjuvants à base d'aluminium avec la survenue de lésions très rares : dans leur publication princeps de 1998, les auteurs rapportent une quinzaine d'observations de MMF parmi 1200 biopsies réalisées entre 1993 et 1998 (10). En 2002, le nombre de cas dépend des sources et des critères de validation utilisés : plus de 300 cas selon le GERMMAD, une centaine validés selon l'AFFSSAPS. Quel qu'en soit le nombre exact, il reste très faible en regard des dizaines de millions de personnes vaccinées contre l'hépatite B en France entre 1993 et 1998, sans compter toutes celles ayant bénéficié d'un rappel anti-tétanique. Ce contraste implique la participation éventuelle de facteurs génétiques et conduit à l'hypothèse d'une dysfonction éventuelle des macrophages chargés de l'élimination de l'aluminium chez certains sujets. A ce jour, l'étude de l'influence de l'aluminium sur les macrophages de sujets avec une biopsie positive n'a cependant mis en évidence aucune anomalie fonctionnelle (Rimaniol A.C., manuscrit en préparation). L'hypothèse que la persistance de quantité microscopique d'aluminium au site d'injection pendant des années après une vaccination reflète la distribution normale de l'élimination de l'aluminium au sein d'une population reste donc favorite.

Caractéristiques épidémiologiques et cliniques

Les biopsies de MMF sont essentiellement (mais non exclusivement) rapportées en France, contrastant avec la distribution mondiale des vaccins à base de sels d'aluminium. Cette spécificité française n'est pas considérée comme reflétant une particularité génétique éventuelle mais i) la pratique des biopsies musculaires à visée diagnostique au niveau du deltoïde, les autres pays recommandant d'éviter ce muscle souvent exposé aux traumatismes, ii) la vaccination de millions d'adultes lors de la campagne contre l'hépatite B et iii) le changement de pratique vaccinale lié à cette même campagne, substituant l'injection intramusculaire à l'injection sous-cutanée, dont l'efficacité inférieure et la plus forte réactogénicité sont connues.

La majorité (67%) des sujets avec une biopsie de MMF validée ont plus de 40 ans (8), mais cette image a été observée au niveau du quadriceps (site d'injection vaccinale pédiatrique) chez 2 jeunes enfants (15). Le tableau clinique des sujets avec une biopsie positive varie selon les collectifs décrits. Pour les cas rassemblés par le GERMADD, la fatigue est au premier plan, affectant 90-93% des sujets, d'une façon souvent décrite comme invalidante. Les myalgies sont les symptômes inauguraux chez 66% et présentes chez 81-88% des patients à un moment ou un autre de leur histoire clinique. Curieusement, ces myalgies n'affectent pas le site d'injection deltoïdien où la lésion histologique est identifiée. Elles sont souvent diffuses (65%), mais parfois localisées voire absentes chez 10-20% des sujets. Un début aux membres inférieurs, souvent cité comme caractéristique, n'est mentionné que par 30-40%. Les arthralgies sont souvent relevées, mais sans aucune systématique. Une sclérose en plaques (SEP) est parfois (8%) associée, sans présenter de particularités cliniques ni biologiques faisant suspecter une entité nosologique distincte de la SEP classique (1, 11). Il en va de même pour les autres maladies autoimmunes associées globalement à 10-20% des descriptions, dans un éventail varié ne rassemblant jamais plus de quelques cas de chaque pathologie. En 2003, les neurologues du GERMMAD à l'origine de la description princeps considèrent les symptômes cliniques comme « suffisamment stéréotypés pour permettre de prédire la détection des lésions de MMF à la biopsie musculaire » (9) et évoquent pour la grande majorité de leurs patients (87%-93%) l'appartenance à un syndrome de fatigue chronique (2). Au contraire, d'autres médecins neurologues français soutiennent que le diagnostic de MMF a été établi de manière fortuite chez pratiquement tous leurs patients, plus de 50% d'entre eux n'ayant aucune douleur musculaire (18).

Les examens complémentaires sont également peu spécifiques et le plus souvent normaux, y compris les examens spécialisés comme l'électromyogramme ou l'imagerie par résonance magnétique nucléaire. L'utilité de la scintigraphie au gallium 57, montrant aux niveau des membres

inférieurs une captation isotopique linéaire suffisamment caractéristique pour permettre l'identification des patients (4) semble avoir été invalidée par la suite puisque cet examen n'est plus mentionné dans aucune des présentations du GERMMAD.

MMF et maladie systémique, une association non confirmée

Le Comité Consultatif Mondial de l'O.M.S. pour la Sécurité Vaccinale (GACVS) entreprend dès 1999, avec la collaboration des médecins du GERMMAD et de l'AFFSSAPS, une analyse détaillée des liens associant éventuellement les adjuvants à base d'aluminium à une biopsie de MMF et/ou à des symptômes cliniques spécifiques. Il rapporte en 1999 (21), et réitère en 2002 (22), ses conclusions: 1) de l'existence d'une association physiologique entre la présence d'une lésion histologique de MMF et l'administration intramusculaire de vaccins contenant de l'aluminium, 2) de la normalité d'une persistance prolongée de l'aluminium dans les modèles expérimentaux d'immunisation par des vaccins contenant de l'aluminium, 3) de l'absence d'élément suggérant une dysfonction des macrophages chez les patients avec biopsie positive, et 4) de la faiblesse des éléments épidémiologiques liant cette image histologique de MMF à un éventuel tableau clinique spécifique ou suggérant une quelconque plausabilité biologique.

La banalité des symptômes évoqués (myalgies et fatigue), l'extrême variation du délai d'apparition des symptômes après vaccination, l'absence de marqueurs cliniques ou biologiques spécifiques, la rareté des cas cliniques postulés contrastant avec l'apparente banalité de la persistance de macrophages chargés d'aluminium au site d'injection vaccinal - fragilisent effectivement considérablement l'hypothèse d'une plausabilité biologique. Aucun élément concret n'est venu soutenir les hypothèses successives du GERMMAD, qu'il s'agisse d'une infection, d'une intoxication à l'aluminium, ou plus récemment d'une « stimulation chronique à bas bruit d'un système immunitaire incapable de se désactiver ». Dix ans après la première observation, le contraste entre une lésion histologique asymptomatique du muscle deltoïde et des douleurs prédominant aux membres inférieurs, sans qu'aucune anomalie n'y soit pourtant identifiée, reste également sans hypothèse physiopathologique (16).

Afin de rechercher une corrélation éventuelle entre une lésion histologique de MMF et des symptômes clinique spécifiques, une étude cas-témoin a été souhaitée dès 1999 par le GACVS et finalement initiée en février 2002 par l'AFFSSAPS. Incluant quelques dizaines de sujets avec une biopsie positive datant d'avant 1999, de façon à limiter le biais de notoriété conduisant plus volontiers les sujets récemment vaccinés à accepter une biopsie musculaire, et les appariant à un maximum de 5 témoins, les auteurs de l'étude ont récemment présenté leurs premières données (7). Celles-ci confirment la

fréquence supérieure des vaccinations (95% versus 35%), des myalgies et de la fatigue chez les sujets avec une biopsie positive. Mais les auteurs soulignent que leur étude ne permet en aucun cas de conclure à une association entre la présence de l'aluminium au niveau des macrophages et la survenue d'une maladie. En effet, le groupe témoin pourrait inclure des sujets dont la biopsie est faussement négative, étant donné la difficulté à localiser précisément le site microscopique de l'injection vaccinale. Par ailleurs, la plus faible prévalence des vaccinations chez les sujets sans biopsie positive suggère un biais de classement et pourrait impliquer une surestimation des différences entre cas et témoins (7).

EN CONCLUSION

L'ensemble des éléments rassemblés entre 1993 et 2003 permet de conclure que l'aluminium contenu dans les vaccins peut persister pendant des années sous la forme d'une lésion inflammatoire microscopique au site d'injection (« tatouage vaccinal »), qui ne reflète pas une atteinte inflammatoire musculaire diffuse et qui n'est pas associée à une maladie spécifique. L'hypothèse de biais d'échantillonnage inhérents à la forte prévalence et à la faible spécificité des symptômes comme les myalgies et la fatigue au sein d'une population majoritairement vaccinée avec des adjuvants à base de sels d'aluminium reste l'hypothèse la plus probable.

REMERCIEMENTS

L'auteur remercie les Dr Anne-Cécile Rimaniol, François Verdier et Philipe Duclos pour les informations mises à sa disposition dans le cadre de la rédaction de ce résumé.

BIBLIOGRAPHIE

[1] AUTHIER F.J., CHERIN P., CREANGE A., BONNOTTE B., FERRER X., ABDELMOUMNI A. et coll. Central nervous system disease in patients with macrophagic myofasciitis. *Brain*, 2001, 124, 974-983.

[2] AUTHIER F.J., SAUVAT S., CHAMPEY J., DROGOU I., COQUET M., GHERARDI R.K. Chronic fatigue syndrome in patients with macrophagic myofasciitis. *Arthritis Rheum*, 2003, 48, 569-570.

[3] BREWER J.M., CONACHER M., SATOSKAR A., BLUETHMANN H., ALEXANDER J. In interleukin-4-deficient mice, alum not only generates T helper 1 responses equivalent to freund's complete adjuvant, but continues to induce T helper 2 cytokine production. *Eur J Immunol*, 1996, 26, 2062-2066.

[4] CHERIN P., AUTHIER F.J., GHERARDI R.K., ROMERO N., LAFORET P., EYMARD B. et coll. Gallium-67 scintigraphy in macrophagic myofasciitis. *Arthritis Rheum*, 2000, 43, 1520-1526.

[5] CHERIN P., GHERARDI R.K., PENNAFORTE J.L. Macrophagic myofasciitis: improvement with antibiotic therapy. *J Rheumatol*, 1999, 26, 2286-2287.

[6] CHERIN P., LAFORET P., GHERARDI R.K., AUTHIER F.J., COQUET M., MAISONOBE T. et coll. [Macrophagic myofasciitis: description and etiopathogenic hypotheses. Study and Research Group on Acquired and Dysimmunity-related Muscular Diseases (GERMMAD) of the French Association against Myopathies (AFM)]. *Rev Med Interne*, 1999, 20, 483-489.

[7] FOURNIER A., BEGAUD B. Conférence de Consensus de l'ANAES/INSERM sur la vaccination contre le virus de l'hépatite B. Paris, 2003.

[8] INSTITUT DE VEILLE SANITAIRE ET GERMADD. Myofasciite à macrophages. Rapport d'investigation exploratoire, Octobre 2001.

[9] GHERARDI R.K. Communication aux XVIe Journées Neuromusculaires. Marseille, 2003.

[10] GHERARDI R.K., COQUET M., CHERIN P., AUTHIER F.J., LAFORET P., BELEC L. et coll. Macrophagic myofasciitis: an emerging entity. Groupe d'Etudes et Recherche sur les Maladies Musculaires Acquises et Dysimmunitaires (GERMMAD) de l'Association Francaise contre les Myopathies (AFM). *Lancet*, 1998, 352, 347-352.

[11] GHERARDI R.K., COQUET M., CHERIN P., BELEC L., MORETTO P., DREYFUS P.A. et coll. Macrophagic myofasciitis lesions assess long-term persistence of vaccine-derived aluminium hydroxide in muscle. *Brain*, 2001, 124, 1821-1831.

[12] GUPTA R.K. Is the test for abnormal toxicity, general safety or innocuity necessary for vaccines? *Vaccine*, 1996, 14, 1718.

[13] HARRISON W.T. Some observations on the use of alum-precipitated diphtheria toxoid. *Am J Public Health*, 1935, 25, 298-300.

[14] HOLT L.B. Developments in diphtheria prophylaxis. London, Heinemann, 1950.

[15] LACSON A.G., D'CRUZ C.A., GILBERT-BARNESS E., SHARER L., JACINTO S., CUENCA R. Aluminum phagocytosis in quadriceps muscle following vaccination in children: relationship to macrophagic myofasciitis. *Pediatr Dev Pathol*, 2002, 5, 151-158.

[16] PAPO T. Myofasciite à macrophages : entité localisée ou maladie systémique? *Revue du Rhumatisme*, 2003, 70, 550-554.

[17] PELLISSIER J.F. Communication aux XVIe Journées Neuromusculaires. Marseille, 2003.

[18] PENISSON-BESNIER I. Communication aux XVIe Journées Neuromusculaires. Marseille, 2003.

[19] SHI Y., HOGENESCH H., REGNIER F.E., HEM S.L. Detoxification of endotoxin by aluminum hydroxide adjuvant. *Vaccine*, 2001, 19, 1747-1752.

[20] ULANOVA M., TARKOWSKI A., HAHN-ZORIC M., HANSON L.A. The Common vaccine adjuvant aluminum hydroxide up-regulates accessory properties of human monocytes via an interleukin-4-dependent mechanism. *Infect Immun*, 2001, 69, 1151-1159.

[21] WHO VACCINE SAFETY ADVISORY COMMITTEE . Macrophagic myofasciitis and aluminium containing vaccines. *Wkly Epidemiol Rec*, 1999, 74, 337-340.

[22] WHO VACCINE SAFETY ADVISORY COMMITTEE. Aluminium containing vaccines and macrophagic myofasciitis. *Wkly Epidemiol Rec*, 2002, 77, 389-394.