



Review

Myalgies et syndrome de fatigue chronique après vaccination : la myofasciite à macrophages et les études animales les relient à la persistance et la diffusion des adjuvants aluminiques dans le système immunitaire.

RK Gherardi^{a,b}, G Crépeaux^{a,c}, FJ Authier^{a,b}

^a Inserm U955 E10 (Biology of the neuromuscular system), Paris Est Créteil University, 94010 Créteil, France

^b Neuromuscular Pathology Expert Centre, Henri Mondor University hospital, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, 94010 Créteil, France

^c Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France

Corresponding author : Romain K. Gherardi, Neuromuscular Pathology Expert Centre, Henri Mondor University hospital, 94010 Créteil, France, +33 1 49812746, romain.gherardi@aphp.fr

<https://doi.org/10.1016/j.autrev.2019.05.006>

Key words: fibromyalgie, syndrome de fatigue chronique, myofasciite à macrophages, effets secondaires vaccinaux, adjuvant, aluminium

Abbreviations:

AEFIs : Adverse Effects Following Immunization – Effets indésirables après vaccination

Al : Aluminium

ASIA : Autoimmune/inflammatory Syndrome Induced by Adjuvants

BCG : Bacille Calmette-Guérin

CCC : Canadian Consensus Criteria

CRPS : Complex Regional Pain Syndrome

FDG-PET : FluoroDeoxyGlucose-Positron Emission Tomography

SGG : Syndrome de la Guerre du Golfe

VHA : Virus Hépatite A

VHB : Virus Hépatite B

HPV : Human Papilloma Virus

SII : Syndrome de l'Intestin Irritable

CIM : Classification Internationale des Maladies

i.m. : intramusculaire

LPS : LipoPolySaccharide

EM/SFC : Encéphalomyélite Myalgique/Syndrome de Fatigue Chronique

MFM : MyoFasciite à Macrophages

MRL : Minimal Risk Level

SEP : Multiple Sclerosis

POTS : Postural Orthostatic Tachycardia Syndrome
s.c. : sous-cutané
SEID : Systemic Exertion Intolerance Disease
SPECT : Single-Photon Emission Computerized Tomography
Th2 : T helper 2
TT : Tetanus Toxoid

Résumé

L'Encéphalomyélite Myalgique / Syndrome de Fatigue Chronique (EM/SFC) est une maladie invalidante multifactorielle et mal comprise. Nous présentons des preuves épidémiologiques, cliniques et expérimentales comme quoi l'EM/SFC constitue un type majeur d'effet indésirable des vaccins, en particulier ceux contenant des adjuvants aluminiques particuliers peu dégradables. Les preuves sont apparues très lentement en raison de la multiplicité, du manque de spécificité, de l'apparition tardive et de la sous-estimation fréquente des symptômes d'EM/SFC. Le fait fut confirmé par une étude épidémiologique comparant les militaires vaccinés et non vaccinés qui n'étaient pas déployés pendant la seconde guerre du golfe. Les patients concernés souffrent d'un dysfonctionnement cognitif affectant l'attention, la mémoire et les connexions interhémisphériques, bien corrélé à des anomalies de la perfusion cérébrale et associé à un tableau stéréotypé et caractéristique d'hypométabolisme cérébral du glucose. La biopsie du muscle deltoïde réalisée en raison des myalgies montre typiquement une myofasciite à macrophages (MFM), un biomarqueur histologique révélant la persistance à long terme d'agglomérats d'aluminium dans les cellules de l'immunité innée au site d'une précédente vaccination. La MFM semble être liée à la détoxification altérée des particules minérales par les mécanismes de xéno/autophagie. Comparer la toxicologie de différentes formes d'aluminium et de différents types d'exposition est trompeur et inadéquat, et des expériences sur des animaux de petite taille ont bouleversé les anciens dogmes. Au lieu d'être rapidement solubilisées dans l'espace extracellulaire, les particules d'aluminium injectées sont rapidement capturées par les cellules immunitaires et transportées vers des organes distants et le cerveau où elles provoquent une réponse inflammatoire et exercent une neurotoxicité à faible dose sur le long terme. Les observations cliniques et les expériences chez le mouton, un grand animal comme l'humain, ont confirmé à la fois la diffusion systémique et les effets neurotoxiques des adjuvants à l'aluminium. L'EM/SFC post-vaccinale représente la manifestation centrale du « syndrome auto-immunitaire / inflammatoire induit par les adjuvants » (ASIA).

1. Introduction

Les vaccins et l'eau potable ont joué un rôle majeur dans la lutte contre les maladies infectieuses mortelles. Au cours du siècle dernier, la vaccination a permis l'éradication de la variole, la quasi-éradication de la poliomyélite et le recul considérable de la rougeole et des oreillons [1]. Il a été démontré qu'une large couverture vaccinale évitait la résurgence de plusieurs maladies infectieuses en réduisant le nombre de personnes pouvant transmettre les agents pathogènes [1]. Les vaccins représentent la méthode la plus rentable de lutte contre les maladies infectieuses et semblent être globalement bien tolérées. Cependant, le risque d'effets indésirables inhérents à tout produit pharmaceutique efficace existe pour les vaccins. Malgré les faibles taux de signalisation, les effets indésirables après vaccination (AEFI) méritent une attention particulière car (i) contrairement aux médicaments conventionnels, les vaccins sont administrés à des sujets en bonne santé; (ii) un

accroissement sans précédent des programmes de vaccination est annoncé les firme pharmaceutiques américaines, avec plus de 260 nouveaux vaccins en cours de développement [2]; et iii) parce que les AEFI pourraient probablement en grande partie être évités en optimisant à la fois les composants des vaccins et les pratiques en se fondant sur la compréhension des mécanismes physiopathologiques des effets indésirables et des facteurs de risque [3]. Une préoccupation majeure au sujet de la sécurité des vaccins concerne les adjuvants utilisés dans la plupart des vaccins pour induire une immunisation forte et durable [4,5]. Une attention particulière a été accordée aux sels d'aluminium introduits dans les vaccins de manière empirique par Alexander Glenny en 1926, qui constituent la principale classe d'adjuvants autorisés pour l'homme et l'animal dans le monde [6,7].

Deux principaux sels d'aluminium (Al) sont utilisés comme adjuvants de vaccins. L'oxy-hydroxyde d'aluminium (AlOOH, Alhydrogel®), communément appelé hydroxyde d'aluminium, est composé de nanoparticules d'environ 2,2 nm x 4,5 nm x 10 nm qui forment spontanément des agrégats de la taille de l'ordre du micron ayant un aspect de nano fibre au microscope électronique; tandis que l'hydroxyphosphate d'Aluminium (AlOHPO₄, Adju-Phos®), communément appelé phosphate d'aluminium, est amorphe [8]. Les deux adjuvants potentialisent fortement la production d'anticorps avec très peu de production de lymphocytes T cytotoxiques. Les mécanismes sous-jacents à leur effet adjuvant ont été intensément explorés seulement ces dernières années mais demeurent mal compris [9]. L'hydroxyde d'aluminium est un gel hydraté stable présentant une charge de surface positive et des capacités d'adsorption d'antigène élevées, induites par les interactions hydrostatiques et les échanges de groupes hydroxyles avec le phosphate du ligand. Le phosphate d'aluminium a une charge négative, moins de groupes hydroxyles et des capacités d'adsorption plus faibles. La cinétique de biodisposition des deux adjuvants est également très différente: l'hydroxyde d'aluminium est solubilisé à une vitesse beaucoup plus lente, il est plus rapidement capturé et moins toxique pour les cellules phagocytaires que le phosphate d'aluminium [8].

La présente revue portera sur l'implication possible des vaccins contenant un adjuvant aluminique dans le syndrome d'encéphalomyélite myalgique / syndrome de fatigue chronique (EM/SFC). Notre propre expérience sur le terrain provient du phénotypage clinique d'une vaste cohorte de patients chez lesquels une persistance inhabituellement longue d'hydroxyde d'aluminium est détectée dans les cellules immunitaires au site de la vaccination précédente, formant une lésion spécifique appelée myofasciite à macrophages [10-14]. En 2011, Yehuda Shoenfeld a utilisé ce syndrome MFM comme l'un des paradigmes de la maladie qu'il a nommée « syndrome auto-immun / inflammatoire induit par des adjuvants » (ASIA) [5].

2. Définitions de l'EM/SFC

L'EM/SFC est une affection courante, souvent très invalidante, coûteuse et mal comprise [15]. Aux États-Unis, entre 836 000 et 2,5 millions de personnes sont atteintes d'un EM/SFC pour un coût estimé entre 17 et 24 milliards de dollars par an [15,16]. L'EM/SFC se classe comme « très médiocre » en termes de qualité de vie liée à la santé [17]. L'évolution de l'EM/SFC se fait sur des années, avec des rechutes et des rémissions. Les patients subissent une perte substantielle de capacité fonctionnelle physique et mentale et peuvent devenir dépendants d'un fauteuil roulant, confinés à la maison ou au lit. L'EM/SFC est associée à un risque accru de développer un lymphome non hodgkinien à cellules B [18].

Une variété de noms et de définitions ont été proposés pour désigner et caractériser une même

constellation de symptômes de cause inconnue affectant tous les principaux systèmes et organes du corps [19].

Le terme « encéphalomyélite myalgique » a été introduit pour la première fois par l'OMS dans sa Classification Internationale des Maladies (CIM) en 1969 et l'EM est toujours répertoriée comme maladie neurologique par la CIM sous le code G93.3. Outre les douleurs musculaires et l'intolérance à l'exercice, les patients atteints d'EM présentent souvent un dysfonctionnement neurologique [20], reconnu par les critères d'Oxford en 1991 et qui mettait l'accent sur la fatigue mentale et le fond neurologique de la maladie [21]. Le SFC a été soumis à une définition révisée du CDC en 1994 [22], incluant une fatigue invalidante profonde de cause inconnue durant plus de 6 mois avec au moins quatre symptômes concomitants, notamment des myalgies, des arthralgies, des maux de tête, des troubles de la mémoire ou de la concentration, un sommeil non réparateur, des malaises à l'effort et des ganglions lymphatiques gonflés et sensibles (Tableau 1) [22].

Table 1. La définition du syndrome de fatigue chronique – CDC 1994

CDC 1994 critères de définition (Fukuda)

1. Profonde fatigue depuis 6 mois consécutifs au moins qui n'est pas due à un effort continu ou à d'autres pathologies médicales associées à la fatigue
2. La fatigue interfère profondément avec le fonctionnement quotidien et le travail.
3. La personne présente simultanément au moins quatre des symptômes suivants :
 - Malaise post-exercice de plus de 24 h
 - Sommeil non réparateur
 - Troubles importants de la mémoire à court terme ou de la concentration
 - Douleurs musculaires
 - Douleur dans les articulations sans enflure ni rougeur
 - Céphalée d'un nouveau type ou d'une nouvelle sévérité
 - Ganglion lymphatique douloureux dans le cou ou l'aisselle

Les critères CDC de 1994 (Fukuda) sont encore largement utilisés, mais ils mettent exclusivement l'accent sur le terme de « fatigue », anodin en apparence, qui s'est révélé préjudiciable aux patients considérés comme souffrant d'une maladie psychiatrique ou psychologique. Pour remédier à cette situation, les Critères du Consensus Canadien (CCC) de 2003 utilisaient indifféremment les termes «EM » et « SFC », la maladie étant appelée « EM/SFC » [23]. Dans ce document, la fatigue, mais aussi l'intolérance à l'effort, les troubles du sommeil et les myalgies / arthralgies ont été inclus comme critères principaux. Les symptômes d'une durée supérieure à 6 mois devaient être associés à au moins deux manifestations cognitives / neurologiques et à au moins un symptôme appartenant à deux des catégories suivantes: (1) manifestations dysautonomiques, (2) manifestations neuro-endocriniennes, ou (3) manifestations dysimmunitaires [23]. En 2011, une nouvelle classification dérivée de la CCC et déclarée comme critère de consensus International sur l'EM (EM-ICC) a abandonné le terme SFC [24] et cette maladie a été reconnue comme un problème de santé majeur chez les enfants [25]. En 2015, l'Institute of Medicine [15] a également suggéré de remplacer le nom déroutant de SFC par maladie d'intolérance systémique à l'effort (SEID en anglais) et a proposé une définition de cas incluant les 4 symptômes suivants: (1) réduction substantielle ou altération de la capacité à s'engager dans des activités au niveau antérieur à la maladie; (2) malaise à l'effort, (3) sommeil non réparateur; (4) déficience cognitive et / ou intolérance orthostatique. Dans l'ensemble, les critères de diagnostic SEID sont moins spécifiques que les critères CDC 94, CCC et EM-ICC [26], car ils n'excluent pas les troubles

psychiatriques « sauf dans le cas peu probable où tous les symptômes puissent être expliqués par eux » [15].

En résumé, la diversité des définitions proposées et leurs divergences apparentes peuvent indiquer qu'aucun consensus ferme sur la nomenclature ou la classification n'a encore été trouvé entre différents pays et chercheurs pour désigner et caractériser cette affection neuro-immune complexe et hétérogène avec dysrégulation multisystémique.

3. L'EM/SFC recoupe d'autres pathologies

L'EM/SFC recoupe fréquemment d'autres syndromes d'étiologie inconnue, notamment la fibromyalgie, le syndrome de l'intestin irritable (SII), le syndrome de tachycardie orthostatique posturale (POTS) et d'autres syndromes [27].

La fibromyalgie partage de nombreuses manifestations cliniques avec l'EM/SFC, notamment la myalgie, la fatigue, des maux de tête, des troubles de la mémoire, une baisse de la concentration et des troubles du sommeil. Ce vaste chevauchement clinique a alimenté un débat sur le point de savoir si l'EM/SFC et la fibromyalgie étaient des entités distinctes ou représentaient simplement des variations phénotypiques d'une seule maladie, comprenant une fatigue plus grave d'un côté du spectre (EM/SFC) et plus de myalgie de l'autre (fibromyalgie). À ce jour, la question reste non résolue [27]. Jusqu'à ce qu'un consensus mondial soit atteint et l'OMS classant officiellement la fibromyalgie parmi les troubles musculo-squelettiques (OMS CIM10 M79.7) et non parmi les maladies neurologiques comme l'EM/SFC, nous distinguons toujours les deux affections en utilisant les critères de l'ACR de 1990 pour la fibromyalgie, basés sur la sensibilité à la pression (points sensibles) dans au moins 11 des 18 sites spécifiés et la présence d'une douleur généralisée [28]. Ainsi, en utilisant à la fois les critères CDC de 1994 pour l'EM/SFC (Fukuda) et les critères ACR de 1990 pour la fibromyalgie [28], les patients atteints d'EM/SFC peuvent présenter ou non une comorbidité liée à la fibromyalgie (voir ci-dessous). Cependant, de nouveaux critères pour la fibromyalgie ont été proposés avec le soutien de Lilly Research Laboratories en 2010, révisés en 2011 et 2016 [29], abandonnant les tests de points sensibles et devenant ainsi beaucoup plus inclusifs [30]. Les critères de 2016 incluent (1) la douleur généralisée, définie comme une douleur dans au moins 4 régions sur 5; (2) des symptômes présents à un niveau similaire pendant plus de 3 mois; (3) une douleur généralisée et d'autres symptômes de gravité suffisante (selon un indice de douleur généralisé et un score d'échelle de gravité); (4) le diagnostic de la fibromyalgie étant valable indépendamment des autres diagnostics, c'est-à-dire que le diagnostic de la fibromyalgie n'exclut pas la présence d'autres maladies importantes sur le plan clinique.

Le SII [syndrome de l'intestin irritable] est l'un des troubles intestinaux fonctionnels les plus courants. Il se caractérise par une gêne abdominale et des dysfonctionnements intestinaux. La moitié environ des patients atteints du SII présentent une co-morbidité: 14% des patients atteints de SII ont une EM/SFC et 35-90% des patients atteints d'EM/SFC ont un SII [31,32].

Le POTS se caractérise par une augmentation excessive de la fréquence cardiaque (> 30 / min) lors d'un changement de position allongée à la position debout. Il est lié au dysfonctionnement du système nerveux autonome. Le POTS est souvent associé à l'EM/SFC, en particulier chez les patients jeunes [33]. Environ 40% des patients atteints d'EM/SFC peuvent souffrir de POTS [34] et 64% des patients atteints d'un POTS remplissent les critères de l'EM/SFC [35].

Le syndrome douloureux régional complexe (SDRC) est un syndrome douloureux chronique associé à une dysautonomie. Le SDRC touche les bras, les mains, les jambes ou les pieds et se manifeste par une douleur brûlante intense accompagnée d'hyperalgie et par de profonds changements dans la température, la couleur ou la texture de la peau, qui ne peuvent pas être expliqués par un événement nocif déclencheur [36]. Le SDRC peut être associé à des troubles de la perception corporelle et des mouvements anormaux.

4. EM/SFC et vaccins

L'EM/SFC idiopathique présente des similitudes avec les syndromes de fatigue post-infectieux [37], mais aucun agent pathogène n'a été démontré chez tous les patients affectés [38], ce qui suggère que de tels symptômes pourraient être déclenchés par une variété d'agents pathogènes et de composés toxiques différents [38–42]. Parmi les facteurs déclenchants possibles, on soupçonne depuis longtemps que les vaccins et leurs multiples composants jouent un rôle [43,44].

4.1 Premier signal fort: le vaccin contre le VHB

À la suite de la première campagne de vaccination contre le virus de l'hépatite B (VHB) au Canada, une infirmière a déclaré en 1992 à la télévision canadienne qu'elle avait acquis l'EM/SFC après avoir reçu le vaccin. Les téléspectateurs ont été invités à signaler toute expérience similaire. Le nom de 69 de ces personnes a été transmis au ministère de la Santé nationale et du Bien-être social qui a chargé un groupe de travail ad hoc d'examiner la question. Le comité a confirmé les associations temporelles existant entre la vaccination contre le VHB et l'apparition de l'EM/SFC, mais a recommandé de ne pas allouer de fonds pour la recherche sur un lien de causalité possible sur la base d'arguments tels que: (1) l'absence de délai court entre la vaccination et le début des symptômes; (2) la faible proportion de l'ensemble des patients canadiens atteints d'EM/SFC vaccinés contre le VHB dans les « 3 mois » précédant l'apparition des symptômes; et (3) le manque de plausibilité biologique [45]. Depuis lors, de nombreux patients présentant des antécédents d'EM/SFC survenus à divers moments après l'immunisation contre le VHB ont été rapportés dans la littérature [11,46,47], et l'adjuvant hydroxyde d'aluminium utilisé dans les vaccins contre le VHB s'est avéré peu dégradable causant sa persistance et sa dissémination dans le système immunitaire bien plus qu'on ne le pensait auparavant [7,48]. Rétrospectivement, ces nouvelles données et celles recueillies pour d'autres vaccins contenant de l'aluminium (voir ci-dessous) jettent un doute sur la validité des arguments temporels et de vraisemblance biologique utilisés par le comité ad hoc canadien.

4.2 Limites des études épidémiologiques dans l'évaluation de l'EM/SFC en tant que AEFI

En 2012, l'Institute of Medicine (IOM) [49] a indiqué que « les preuves étaient insuffisantes pour accepter ou rejeter un lien de causalité pour la grande majorité des effets indésirables de vaccin examinés », en raison du nombre limité d'études épidémiologiques satisfaisantes. Certes, reconnaître l'EM/SFC en tant qu'effet indésirable (AEFI) et évaluer le rôle causal de multiples vaccinations dans l'EM/SFC sont des tâches difficiles, car toutes les limites identifiées des études épidémiologiques sur les AEFI sont en jeu dans ce contexte. Selon l'IOM [50], ces limitations (en italiques) incluent:

- *L'absence d'études de suivi à long terme, ce qui empêche la détection des effets retardés;*
- *La taille réduite des échantillons, ce qui empêche la détection d'occurrences rares;*
- *Le manque d'évaluation globale des vaccinations multiples;*
- *L'absence de symptômes spécifiques à la vaccination;*

- *Plusieurs symptômes apparaissant en association*, il existe un risque fort qu'ils soient banalisés et non reconnus comme formant une entité, comme indiqué dans la grande presse pour les symptômes de l'EM/SFC dans un essai de sécurité du vaccin anti-VPH avant l'obtention de l'autorisation de mise sur le marché [51];
- *La sous-déclaration inhérente aux systèmes de surveillance passive*, les symptômes d'EM/SFC n'étant souvent pas jugés suffisamment dramatiques pour mériter d'être signalés; le temps écoulé depuis l'exposition, très variable et souvent très long, ce qui brouille le tableau; l'EM/SFC considérée comme ne pouvant être potentiellement lié au vaccin [51]; et le manque de diligence dans la déclaration, qui est la règle générale [52];
- *Les taux de vaccination élevés et les administrations multiples de vaccins* excluent toute comparaison avec les groupes de contrôle n'ayant pas reçu les vaccins;
- *La population sélectionnée participant aux essais de vaccins*, ce qui produit des résultats qui pourraient ne pas être généralisables à la population en général (par exemple, essais impliquant des enfants ou des personnes sans facteurs de risque);
- *Les changements apportés à la technologie vaccinale* empêchant d'inférer de l'innocuité de vaccins antérieurs une généralisation à de nouveaux vaccins de composition différente (voir les nouveaux adjuvants aluminium, ci-dessous).

4.3 Enseignements du syndrome de la guerre du Golfe chez les anciens combattants déployés et non déployés

Heureusement, des études épidémiologiques privilégiées liées au syndrome de la guerre du Golfe (SGG) ont comparé des individus vaccinés à des individus non vaccinés, soulignant un lien entre l'administration de vaccins multiples et l'EM/SFC [53]. Au moins un quart des vétérans de la guerre du Golfe revenant de la guerre du golfe Persique en février 1991 ont signalé une variété de symptômes chroniques qui varient quelque peu entre les individus, mais partagent des similitudes frappantes avec l'EM/SFC [53,54]. Selon la définition du CDC, les cas de SGG multi-symptomatiques doivent présenter des symptômes chroniques appartenant à au moins deux des trois groupes suivants: (1) fatigue; (2) humeur/cognition (dépression, problèmes de mémoire, difficulté à de concentrer, difficulté à trouver les mots, troubles du sommeil); et (3) musculo-squelettique (douleurs articulaires, douleurs musculaires) [55]. En raison des biais qui ont régulièrement été observés au cours des enquêtes, des incertitudes subsistent quant aux facteurs de causalité exacts du SGG, mais parmi d'autres facteurs, des vaccinations multiples administrées sur une courte période ont été suspectées à plusieurs reprises [56].

Une étude transversale réalisée au Royaume-Uni a montré une forte association entre le SGG défini par le CDC et les vaccinations multiples administrées pendant le déploiement (odds ratio OR 5.0; intervalle de confiance à 95% de 2,5 à 9,8) [57]. De plus, des « relations cohérentes, spécifiques et crédibles » ont été établies entre le nombre de vaccinations et les indicateurs de santé chez les vétérans de la guerre du Golfe au Royaume-Uni [58]. La vaccination contre des agents de guerre biologiques (anthrax et peste avec coqueluche comme adjuvant pour renforcer les réponses immunitaires) et la vaccination multiple systématique étaient associées au syndrome multi-symptomatique du CDC dans la cohorte anglaise de la guerre du Golfe [59]. Au Canada, une association significative a été rapportée entre les « vaccinations non habituelles » et la survenue de symptômes spécifiques chez les anciens combattants de la guerre du Golfe [60]. Aux États-Unis, le déclin perçu de la santé à long terme des anciens combattants de la guerre du Golfe était associé à l'administration

d'un vaccin contre l'anthrax, et les anciens combattants ayant signalé des réactions plus graves aux vaccins étaient plus susceptibles de faire état d'une dégradation perçue de leur santé [61]. Le vaccin contre l'anthrax agréé sous licence américaine (AVA; Biothrax®) est adsorbé sur hydroxyde d'aluminium et peut induire une MFM [62]. En outre, on a soupçonné que le vaccin administré puisse avoir contenu du squalène en raison de la détection d'anticorps anti-squalène chez les anciens combattants affectés [63]. Le ministère de la Défense n'a établi aucune relation entre les anticorps anti-squalène et les symptômes chroniques [64]. Par conséquent, le rôle des vaccins dans le SGG reste incertain, l'accent étant mis sur le rôle des expositions chimiques en temps de guerre, telles que le bromure de pyridostigmine utilisé en prophylaxie contre les attaques chimiques ou l'utilisation de pesticides personnels [54]. Les expositions à des substances toxiques spécifiques à la guerre du golfe, cependant, pourraient difficilement être incriminées chez les anciens combattants qui n'étaient pas déployés ou qui avaient servi ailleurs que dans le golfe Persique et qui développaient, à un taux moindre, des symptômes chroniques similaires à ceux de la guerre du golfe. Lea Steele [53] a spécifiquement étudié les effets possibles des vaccins chez les anciens combattants du Kansas n'ayant pas servi dans la Guerre du Golfe (anciens combattants non-GG): comparés aux anciens combattants non vaccinés, les anciens combattants déclarant avoir reçu le vaccin avaient beaucoup plus de problèmes de fatigue/sommeil, de symptômes douloureux, de symptômes neurologiques / cognitifs / de l'humeur et de symptômes gastro-intestinaux. Les anciens combattants non-GG vaccinés (n = 208) comparés aux non-vaccinés (n = 187) présentaient une prévalence significativement plus élevée du SGG, telle que définie par les critères à la fois du Kansas (symptômes chroniques apparaissant dans au moins trois domaines: 11,5% contre 3,7%, OR 3,78 [1.50-9.54]) et du CDC (OR 2.04 [1.15–3.60]). Contrairement aux vétérans de la guerre du golfe chez qui le SGG était peut-être dû à « un ensemble de causes » et à des « effets cumulatifs », aucune autre cause que la vaccination n'a été trouvée chez les anciens combattants n'ayant pas participé à la guerre du golfe [53].

5. L'EM/SFC associée à la myofasciite à macrophages induite par l'aluminium vaccinal

La précision de l'autodéclaration de vaccination est généralement discutable [53], mais ce n'est pas le cas lorsque les carnets de vaccination sont disponibles et qu'un marqueur histologique très spécifique peut évaluer sans ambiguïté une immunisation antérieure, comme c'est le cas chez les patients atteints de MFM [10].

5.1 La myofasciite à macrophages : un biomarqueur de la biopersistance de l'adjuvant aluminium

5.1.1 Caractérisation chez l'homme

La myofasciite macrophagique (MFM), décrite pour la première fois en 1998 [65], est un granulome spécifique induit par l'hydroxyde d'aluminium détecté au site de la précédente injection de vaccin [10]. La lésion est caractérisée par des amas de gros macrophages enfermant constamment dans leur cytoplasme des agglomérats de nanocristaux d'aluminium de taille submicronique à micronique, mêlés à des infiltrats lymphocytaires [10]. Cette lésion immunologiquement active n'est pas associée à la formation de cellules géantes [66].

Les 75 premiers patients examinés en 2003 [67] avaient principalement reçu de l'hydroxyde d'aluminium via le VHB (84%), des vaccins contenant l'anatoxine tétanique (58%) ou des vaccins contre le virus de l'hépatite A (VHA 19%), généralement administrés en association. La proportion de types de vaccins a nettement changé avec le temps: nos 70 derniers patients, accueillis de janvier 2013 à juin 2018, dont 56 avaient un dossier de vaccination complet, avaient principalement reçu, lors de leur

dernière vaccination ou dans les 10 ans précédant la biopsie, un vaccin contenant l'anatoxine antitétanique (86%, 48/56), suivis du VHB (27%, 15/56), du VHA (11%, 6/56), du HPV (11%, 6/56) et de la méningite C (<1%, 1 / 56). Les vaccins contenant l'anatoxine antitétanique (principalement diphtérie-tétanos-poliomyélite, diphtérie-tétanos-coqueluche acellulaire et diphtérie-tétanos-coqueluche acellulaire-poliomyélite), administrés seuls ou en association avec des vaccins ne contenant pas l'anatoxine antitétanique ont été les vaccins les plus récemment administrés dans 64% des cas. Ces données indiquent clairement que la MFM n'est pas spécifiquement associée au vaccin contre le VHB.

La MFM est rarement détectée malgré le grand nombre d'individus vaccinés, mais peu de temps après sa description initiale, tous les centres spécialisés français ont noté une augmentation spectaculaire du taux de détection de MFM [10,68–70]. La détection importante de MFM en France à partir de 1993 était probablement due à: (1) un remplacement recommandé au début de la décennie de la voie sous-cutanée (s.c.) par la voie intramusculaire (i.m); (2) la vaste campagne de vaccination contre l'hépatite B menée en France, avec 90 millions de doses vendues en dix ans, dont les deux tiers ont été administrées à des adultes; et (3) le choix habituel du muscle deltoïde pour la biopsie chez l'adulte en France alors que ce muscle n'est pas choisi préférentiellement dans les autres pays [10]. Par exemple, seulement 10% des biopsies musculaires chez l'adulte ont été réalisées dans le muscle deltoïde dans un centre américain, la MFM étant détectée dans 1% de ces biopsies [14]. En dépit du choix habituel d'un site de biopsie excluant la détection de la plupart des cas de MFM, la lésion a été occasionnellement documentée en Australie [71], Brésil [72], Allemagne [73–76], Inde [77], Irlande [78], Israël [79], Italie [80,81], Portugal [13,82,83], Arabie saoudite [84], Espagne [85], Royaume-Uni [86,87], États-Unis [13,62,88,89], et plusieurs autres pays (communications personnelles à RK Gherardi), indiquant ainsi que la MFM n'est pas spécifique à la France.

5.1.2 Clairance de la lésion dans les modèles animaux

La lésion a été reproduite expérimentalement chez la souris, le rat, le singe et le mouton [10,90–92]. En opposition à l'élimination rapide de l'aluminium soluble injecté par voie intraveineuse [93], l'injection intramusculaire d'hydroxyde d'aluminium isotopique est associée à une élimination beaucoup plus lente de l'aluminium par l'urine, représentant 6% de la dose injectée 28 jours après l'injection chez le lapin [94]. Sur la base des données de cette étude toxicocinétique expérimentale unique, la durée de translocation complète des ions aluminium solubilisés du site d'injection vers le sang a été calculée à 5,5 mois pour l'hydroxyde d'aluminium [95]. La MFM expérimentale diminue d'ailleurs invariablement avec le temps [91]. Chez le singe, la MFM induite par l'injection du vaccin DTP - correspondant à 14 à 21 fois la dose de DTP équivalente chez l'homme - a été entièrement éliminée du muscle avant 6 mois [phosphate d'aluminium : 100% ; hydroxyde d'aluminium : 25%) et entre 6 mois et 12 mois (hydroxyde d'aluminium : 25%) après la vaccination [90]. De manière similaire à ces modèles animaux, la grande majorité des humains semble éliminer l'adjuvant du muscle injecté en quelques mois, mais chez une faible proportion d'entre eux, la MFM peut être observée jusqu'à plus de 15 ans après la vaccination (voir ci-dessous).

Ainsi, la MFM persistante doit être considérée comme le biomarqueur de la difficulté de certains individus à éliminer l'adjuvant de leur organisme [96]. Pour cette raison, nous recommandons d'effectuer une biopsie à la recherche de MFM au moins 18 mois après la dernière vaccination afin de pouvoir affirmer le caractère inhabituellement persistant de la lésion.

5.1.3 Facteurs de susceptibilité génétique

Il est généralement admis qu'il existe des sous-populations humaines plus sensibles à certaines expositions aux produits chimiques ou aux particules que la population moyenne. Les facteurs de susceptibilité individuelle reflétant généralement des interactions spécifiques « gènes x environnement » expliquent probablement pourquoi seule une faible proportion des vaccinés développent des effets indésirables. Le motif exact de cette susceptibilité individuelle peut inclure: (1) une altération génétiquement déterminée des défenses cellulaires contre les effets prooxydants de l'aluminium [70]; (2) l'existence de sous-groupes HLA, tels que HLA-DRB1*0, connus pour favoriser les réponses auto-immunes [98]; (3) des différences entre individus, liées à l'âge et/ou génétiques, dans la production du chimioattractant MCP1/CCL2 nécessaire à la dissémination de cellules immunitaires chargées de particules d'adjuvant aluminium [99, 100, 101]; (4) une difficulté individuelle à éliminer l'adjuvant aluminium des cellules immunitaires [48]. La taille des lésions expérimentales de MFM chez le rat diffère nettement selon le fond génétique [91] et chez l'homme, il existe une forte variabilité entre les sujets pour l'élimination de l'aluminium [97].

Un mécanisme intracellulaire appelé xéno/autophagie est déterminant pour la solubilisation et la biodisposition de particules minérales internalisées [102], ainsi que pour la toxicité des métaux [103] et pour de nombreuses fonctions cruciales du système immunitaire et du système nerveux central. Des données préliminaires prometteuses ont été obtenues par criblage de 34 gènes directement impliqués dans le mécanisme de xéno-autophagie (en collaboration avec Baharia Mograbi, IRCAN, Université de Nice, France), suggérant que la MFM pourrait refléter l'incapacité génétiquement déterminée de certains individus à se débarrasser efficacement des adjuvants d'aluminium injectés (brevet déposé), ouvrant la voie à la mise au point de tests génétiques prédisant un risque accru d'intolérance lié à la rétention de l'adjuvant.

5.2 Syndrome de myofasciite à macrophage : une EM/SFC post-vaccinale

5.2.1 Caractérisation clinique

Entre 1994 et 2012, nous avons vu 583 patients adultes atteints de MFM à l'Hôpital Henri Mondor - Université Paris Est Créteil, France [104], dont des patients enregistrés dans la base de données cliniques de l'hôpital Henri Mondor (350 inscrits de 1994 à 2018) et des patients supplémentaires suivis par d'autres centres mais qui nous ont été adressés ponctuellement pour des tests, une biopsie, une biobanque, la délivrance d'un certificat ou une expertise judiciaire. Il n'existe pas de registre national pour la MFM, mais un nombre total de 445 cas avaient été officiellement notifiés au système national de pharmacovigilance en France à la date du 31 octobre 2015. À l'exception des données sur les dysfonctionnements cognitifs qui ont été spécifiquement collectées dans notre centre mais non enregistrées au niveau national, des sources locales et nationales ont montré des caractéristiques similaires chez les patients atteints de MFM, comme le confirment également les séries du Portugal [13] et des États-Unis [14].

La base de données MFM 1994-2018 de l'hôpital Henri Mondor indique les caractéristiques suivantes des patients : âge moyen de 52,5 ans, prédominance féminine (71%), moyenne de 5 (de 1 à 12) injections vaccinales contenant de l'aluminium dans les 10 années précédant la biopsie (fichiers disponibles dans 236/350), durée moyenne de persistance de l'adjuvant aluminium de 71 mois (9–237 mois, attestée par histologie et coloration de Morin pour aluminium), délai moyen de 67 mois entre le début de la phase clinique et la biopsie, symptômes principaux incluant myalgies/arthralgies (92 %, 309/335), fatigue (86%, 298/347) et troubles cognitifs (82%, 154/187). Les autres symptômes incluent des maux de tête (49%), une dyspnée (51%), des douleurs abdominales (30%), des symptômes

oculaires (34%), des douleurs thoraciques (32%), des symptômes urinaires (21%) et de la fièvre (23%) [67].

Les patients avaient reçu une administration intramusculaire de vaccin contenant de l'aluminium avant l'apparition des symptômes musculaires [13,67]. Le délai avant l'apparition des premiers symptômes peut varier considérablement, allant de 0 à 72 mois dans notre série initiale. Le délai médian entre la dernière vaccination et la première myalgie était de 11 mois, 30% des patients se plaignant de myalgies dans les 3 mois, 31% de 3 à 12 mois, 19% de 12 à 24 mois et 20% à 24 mois [67].

Dans notre centre, un tiers des patients myalgiques ayant reçu des vaccins contenant de l'hydroxyde d'aluminium au cours des 10 dernières années avaient une MFM à la biopsie du muscle deltoïde [105]. Le début de la myalgie survient généralement après un exercice d'intensité inhabituelle, souvent au niveau des membres inférieurs avec une extension progressive vers le haut du corps, devenant diffuse au moment de la biopsie. Un électromyogramme myopathique et une élévation sanguine de la CK sont retrouvés chez moins de la moitié des patients [67].

La fatigue a généralement un impact profond sur la vie quotidienne et la plupart des patients affectés ont rapidement quitté leur travail au bout de quelques mois. Les altérations cognitives étaient stéréotypées lors de tests systématiques, impactant l'attention, la mémoire de travail et visuelle, et les connexions interhémisphériques, et n'étaient imputables ni à la douleur chronique ni à la dépression [106-108]. L'IRM cérébrale standard était généralement normale, mais des altérations de neuro-imagerie fonctionnelle sont présentes, notamment: (1) des anomalies de perfusion cérébrale focale évaluées par SPECT (tomographie d'émission monophotonique), bien corrélées aux altérations de l'attention / de la mémoire et à la dysconnexion inter-hémisphérique [109]; (2) un patron caractéristique d'hypométabolisme du glucose cérébral postérieur évalué par tomographie au FDG-PET (tomographie par émission de positons au fluoro-déoxyglucose), touchant le cortex occipital, l'hippocampe et le cervelet, et prédictif de la détection de MFM à la biopsie musculaire [110-114].

Les principaux symptômes des patients atteints de MFM, à savoir une arthromyalgie, une fatigue et des troubles cognitifs, peuvent parfois apparaître isolément pendant un certain temps. Cependant, une grande majorité de patients présentent des symptômes multiples, les critères internationaux pour l'EM/SFC étant remplis dans au moins 50% des cas [11,13]. La pathologie répond également aux critères CDC du SGG multi-symptômes [5].

5.2.2 Analyse de cohérence

Il est très peu probable que l'association entre myalgies / arthralgies, fatigue chronique et altérations cognitives chez les patients atteints de MFM persistante soit une association fortuite. Elle forme plutôt un syndrome cohérent sur les bases suivantes :

- (1) apparition des symptômes après la vaccination;
- (2) structure similaire des symptômes observés dans les séries indépendantes de MFM françaises et étrangères [10,13,14,70];
- (3) association significative entre « myalgies » et « MFM » chez des patients ayant subi une biopsie du muscle deltoïde dans des centres français de myopathologie avant la publication de l'origine de la MFM [10];
- (4) différences cliniques significatives en fonction de la présence/absence de MFM dans la biopsie du muscle deltoïde chez les vaccinés myalgiques: à la différence des patients myalgiques non-MFM, seule une minorité de patients atteints de MFM présentaient une fibromyalgie selon les critères de l'ACR 1990 (> 11 points fibromyalgiques sensibles) (55,5 vs 16,6%, $p < 0,04$), et les

patients atteints de MFM avaient une atteinte beaucoup plus fréquente du système nerveux central, évaluée par le retard des potentiels évoqués (38,5 vs 5,7%, $p < 0,01$). Ces données indiquent que les patients atteints de MFM et les patients non-MFM diffèrent par plus que la simple détection d'une MFM [105];

- (5) association significative entre « fatigue chronique » et « MFM » dans une étude cas-témoin commandée par l'agence française du médicament : la fatigue était à la fois « plus fréquente et plus sévère chez les patients ayant une MFM dans le muscle deltoïde que ceux n'en ayant pas » [115]; contrairement aux témoins malades, les patients ayant une MFM avaient étonnamment peu d'antécédents médicaux, indiquant là encore les cas différaient des contrôles par plus que la simple détection d'une MFM [115];
- (6) modifications très cohérentes en neuro-imagerie fonctionnelle (SPECT et FDG-PET scanners) chez des patients atteints de MFM, non imputables à une douleur chronique ou à une dépression, indiquant que la MFM est détectée dans un sous-groupe homogène de patients présentant une affection stéréotypée [109-114];
- (7) une similitude parfaite du syndrome de MFM avec le SGG multi-symptômes [116], défini par le CDC [55], qui fut associé de manière exclusive aux vaccins chez des militaires non déployés dans le golfe [53].

En résumé, la MFM est généralement détectée chez des patients adultes présentant un sous-ensemble homogène d'EM/SFC d'apparition post-vaccinale.

6. EM/SFC et affections apparentées à la suite de l'administration de vaccins HPV

6.1 Débats actuels

En l'absence de biopsie du muscle deltoïde permettant de déterminer la présence ou non de MFM de longue durée, de nombreux articles ont fait état d'associations entre myalgies, arthralgies, fatigue chronique, dysfonctionnement cognitif, sommeil non réparateur et altérations neurovégétatives (répondant aux critères internationaux de l'EM/SFC, fibromyalgie, POTS, CRPS, ou décrites comme manifestations somatoformes) associées temporellement à l'administration de multiples injections de vaccins contenant un adjuvant aluminium, en Australie [117], au Canada [118], au Danemark [119,120], en Italie [121] en Israël [47,122], au Japon [123-125], au Mexique [126] et aux États-Unis [127]. Le fait que de telles associations temporelles puissent indiquer un possible lien de causalité a toujours fait l'objet de controverses.

La controverse a commencé pour la première fois après la campagne de vaccination contre le VHB, avec la survenue parallèle d'EM/SFC [47] et de scléroses en plaques (SEP) [128–130], lesquelles étaient parfois associés [131] après la vaccination. La plupart des études épidémiologiques n'ont pas permis de démontrer l'augmentation inédite du nombre de cas de SEP après vaccination VHB [129,130], mais ces études à court terme ont négligé le facteur « t ». Hernán a souligné la possibilité d'une apparition tardive des symptômes cliniques après vaccination contre le VHB [128] : dans une étude cas-témoin unique menée sur le long terme dans la population britannique, il a révélé un risque accru de SEP (OR 3.1; CI 1,5–6,3) dans les 3 ans suivant la vaccination contre l'hépatite B. Fait intéressant, il n'y a pas eu d'augmentation du risque lors de la première année suivant la vaccination (OR 1,8; IC 0,5–6,3), comme indiqué dans les études précédentes à court terme, mais le risque accru de développer une SEP est devenu évident 2 et 3 ans après la vaccination (OR 4,1; IC 1,3-13,6). Ce résultat est cohérent avec

l'augmentation de l'incidence globale de la sclérose en plaques signalée en France à la suite de la campagne de vaccination contre le VHB [129].

Ensuite, la controverse a culminé avec le débat sur la sécurité des vaccins anti-VPH [132]. De la même manière que le vaccin contre le VHB était associé à un taux de signalisation des AEFI disproportionnellement élevé par rapport aux autres vaccins, par ex. 5 fois plus pour la SEP [130], les programmes de vaccination contre le VPH dans différentes régions du monde étaient associés à une incidence 10 fois plus élevée de signalisation des AEFI en comparaison avec les autres vaccins [125, 133]. Les AEFI post-HPV concernaient environ 1 vaccination sur 1000 en Espagne [132] et 1 vacciné sur 1000 au Canada [134]. Cependant, la sécurité des vaccins anti-VPH a été retenue par les agences de santé réglementaires internationales [135,136] (EMA, OMS) et la collaboration Cochrane [137]. Néanmoins, des critiques ont été formulées, soulignant les conflits d'intérêts avec l'industrie et révélant de nombreuses failles méthodologiques dans les 2 études d'innocuité du vaccin contre le VPH et dans les revues systématiques qui fondent les affirmations rassurantes des institutions [138-142].

6.2 Limites des études épidémiologiques sur l'EM/SFC chez les personnes vaccinées contre le VPH

Pour la présente revue, nous avons examiné en détail les deux études indiquant l'absence de preuve comme quoi l'occurrence du SFC chez les jeunes filles vaccinées contre le VPH serait différente de celle attendue dans les mêmes groupes d'âge [144, 145].

Donegan et al. [144] ont analysé la présence d'EM/SFC chez des jeunes filles britanniques immunisées par le vaccin bivalent HPV (Cervarix®) contenant de l'hydroxyde d'aluminium mélangé à du 3-O-désacyl-4'-monophosphoryl lipide A.

Dans la première partie de leur étude, « analyse observée par rapport à l'analyse attendue », Donegan et al. [144] ont estimé que les niveaux de sous-déclaration pouvaient aller de 0% à 90%. Toutefois, la sous-déclaration des effets indésirables des médicaments est plus élevée, avec un taux médian de 94% dans 37 études faisant l'objet d'une revue systématique, y compris un taux maximal de 98% au Royaume-Uni [146], des niveaux de sous-déclaration similaires s'appliquant également aux vaccins [147]. En outre, l'hypothèse de sous-déclaration la plus élevée (90%) testée par Donegan et al. [144] était associée à un signal d'EM/SFC fortement supérieur chez les personnes vaccinées par Cervarix® comparés aux non vaccinés. Les auteurs n'ont pas retenu ce résultat et ont préféré se concentrer sur des niveaux de sous-déclaration inférieurs (<75%) non associés à une augmentation du signal. Ce choix est très discutable étant donné l'échec documenté dans l'évaluation des symptômes de l'EM/SFC chez les receveurs du vaccin anti-VPH [51], l'EM/SFC et les dommages causés par le vaccin étant des concepts auxquels le corps médical reste généralement hostile.

Dans la deuxième partie de leur étude, c'est-à-dire les « séries de cas auto-contrôlés », Donegan et al. [144] a estimé le risque d'EM/SFC l'année suivant la première injection de Cervarix® (la première des trois administrées en 6 mois) et n'a prêté aucune attention aux autres vaccins contenant de l'aluminium. De plus, le délai signalé pour la survenue d'effet indésirable après la première dose de vaccin contre le VPH a été de 1 jour à 51 mois (moyenne de 10,7 + 11,6 mois) dans une série de 72 filles japonaises [125] et de 1 jour à 43 mois (moyenne de 14,0 + 11,6 mois) dans une autre série de 35 filles [148]. De la même manière, le délai médian d'apparition du premier symptôme a été de « 11 à 12 mois après la dernière administration du vaccin contenant de l'hydroxyde d'aluminium » dans nos cas d'EM/SFC [105], ce qui rend probable le fait qu'un nombre important de cas d'EM/SFC liés à l'injection de Cervarix® contenant de l'hydroxyde d'aluminium n'a pas été pris en compte dans l'étude Donegan, même lorsque la fenêtre de risque a été étendue à 18 mois (soit environ 12 mois après la

dernière injection, temps après lequel près de 40% de nos patients atteints de MFM ont développé leurs premiers symptômes). Enfin, les auteurs ont estimé qu'il n'y avait « aucune raison de penser que les filles atteintes d'un syndrome de fatigue seraient moins susceptibles de recevoir le vaccin contre le VPH », écartant ainsi « un biais du vacciné sain ». Cela ne respecte pas les bonnes pratiques dans le domaine de la science pour la sécurité vaccinale. Il est bien établi que l'existence d'affections sous-jacentes médicales que l'on soupçonne être des effets indésirables du vaccin sont associées à une acceptation moindre du vaccin [149]. Par exemple, l'administration du vaccin anti- VPH passait de 82,3% à 39,4% lorsque les filles norvégiennes avaient un diagnostic d'EM/SFC avant la vaccination [145]. Il s'agit d'un biais important, souligné par les experts du Japan Institute of Pharmaco-vigilance [138], et ceux des CDC qui ont déclaré que « les études qui ne contrôlent pas correctement [le biais du vacciné sain] auront tendance à sous-estimer les risques réels liés à la vaccination » [149].

Feiring et al. [145] ont étudié le vaccin quadrivalent (Gardasil®) qui est adjuvanté sur sulfate d'hydroxyphosphate amorphe d'aluminium (AAHS, dont Merck est propriétaire), qui diffère significativement de l'hydroxyde d'aluminium [150]. L'étude a révélé que les personnes les plus à risque de développer l'EM/SFC avaient tendance à éviter le vaccin. En dépit de ce biais du vacciné sain, les auteurs sont restés confiants dans la fiabilité de leur constatation qu'il n'y avait pas d'augmentation de l'EM/SFC chez les filles vaccinées par rapport aux filles non vaccinées (après ajustement pour l'âge), parce qu'il y avait une augmentation similaire de l'EM/SFC chez les filles et les garçons alors que seules les filles avaient reçu le vaccin anti- VPH. Cette augmentation similaire des EM/SFC constatée chez les filles et les garçons au cours des années étudiées est restée inexplicée. L'implication possible d'autres vaccins administrés aux deux sexes n'a apparemment pas été évaluée.

Un autre point critique était la difficulté à distinguer les comorbidités de l'EM/SFC. Les effets indésirables signalés du Gardasil® ont été fragmentés en plusieurs sous-catégories, telles que POTS, SDRC, syndrome somatoforme, syndrome dysautonomique, EM/SFC, fibromyalgie, syndrome du vaccin anti-HPV et syndrome neuro-immunopathique associé à la vaccination anti- VPH. Il peut donc être trompeur de comparer l'EM/SFC idiopathique au syndrome du vaccin anti- VPH, car ses symptômes ne sont que partiellement comorbides avec l'EM/SFC. La variété et la désignation imprécise des événements indésirables liés au vaccin contre le VPH ont été considérées comme un obstacle majeur à la notification [143, 151].

Il est à noter que le syndrome de MFM, qui est causé par un adjuvant sensiblement différent de l'AAHS, est beaucoup moins polymorphe que le syndrome du vaccin anti- VPH, les POTS et CRPS n'étant presque jamais documentés dans le contexte de la MFM. Dans le cadre du vaccin contre le VPH, l'approche épidémiologique observationnelle classique se heurte à l'absence de définition de cas pour les multiples symptômes qui constituent le signal, rendant de nouvelles approches épidémiologiques hautement souhaitables [151].

Par exemple, le centre de surveillance d'Uppsala a mis au point une nouvelle analyse des données par « clusters » à partir des rapports d'AEFI pour les vaccins contre le VPH dans Vigibase®, la base de données internationale de l'OMS. Cette approche a permis d'identifier les regroupements naturels sur la base des termes utilisés pour signaler les AEFI. L'analyse a révélé des clusters d'AEFI graves plus fréquemment signalés dans les AEFI du vaccin anti- VPH que dans les AEFI des vaccins non- VPH (même sexe, même groupe d'âge). Ils incluaient maux de tête, étourdissements, fatigue et syncope avec parfois des diagnostics de POTS, CRPS et SFC, mais le plus souvent dépourvus de diagnostics explicites, soulignant la sous-estimation importante du signal par l'évaluation traditionnelle de la sécurité post-commercialisation [151].

Au Japon, Osawa a analysé la temporalité des AEFI au niveau de la population et a montré que le pic du syndrome post-vaccinal suivait la période de pointe de la vaccination contre le VPH et que de nouveaux cas n'apparaissaient plus 14 mois après le retrait de la recommandation du gouvernement concernant la vaccination contre le VPH [125].

Une autre approche a été fondée sur une analyse minutieuse des essais randomisés du vaccin anti-VPH par Martinez-Lavin[140], qui, parmi plusieurs résultats inquiétants, a souligné le fait choquant que les essais randomisés pré-autorisation étaient presque toujours effectués contre des comparateurs contenant des adjuvants aluminium – et non des placebos inertes. Le seul essai en double aveugle pour un vaccin quadrivalent contre le VPH utilisant un placebo salin inerte a montré 0,4 % (5/1165) des effets indésirables graves chez les sujets vaccinés contre le HPV par rapport à aucun (0/584) dans le groupe placebo inerte [140]. Aucun de ces effets n'a été considéré comme lié au vaccin, mais un rôle potentiel des adjuvants aluminiques a été suggéré dans une vaste étude Gardasil® dans laquelle la vaccination à 9 valences, avec 500 µg d'adjuvant aluminium AAHS, était associée à des taux significativement plus élevés d'effets locaux et systémiques comparativement au vaccin quadrivalent qui contient seulement 225 µg d'aluminium AAHS [140]. Un tel déséquilibre de sécurité entre les deux vaccins Gardasil® suggérant un effet de dose a été récemment confirmé par un rapport de la FDA montrant des taux plus élevés de réactions au point d'injection, de scléroses en plaques et d'avortements spontanés avec le vaccin à 9 valences (152).

7. Les études expérimentales

Outre les limites des approches épidémiologiques, une compréhension insuffisante des mécanismes biologiques sous-jacents aux effets indésirables des vaccins est un facteur majeur entravant l'évaluation de la causalité [49]. Ceci a conduit l'Institut de médecine à déclarer que « la valeur du dialogue entre les approches épidémiologiques et mécanistiques ne peut être surestimée. Ces conversations entre différents types de recherche peuvent être difficiles, mais les résultats en valent la peine » [49].

En effet, l'histoire des vaccins s'est largement construite sur une base empirique au cours du siècle dernier. C'est précisément le cas des adjuvants aluminiques introduits pour la première fois dans les vaccins en 1926 mais qui n'ont été administrés qu'à un faible pourcentage de la population générale jusqu'en 1985, date à laquelle ils ont commencé à être injectés massivement avec l'introduction de nombreux vaccins adjuvantés sur aluminium (DTP, HiB, VHB, VHA, pneumococcique, méningococcique, VPH et autres vaccins) [153]. Cela a été fait sans une connaissance claire du sort de l'adjuvant aluminium injecté et, depuis lors, très peu d'efforts ont été déployés pour clarifier la question [7].

C'est pourquoi les hypothèses classiques sur le devenir de l'adjuvant aluminium injecté ont été testées dans des modèles de souris dans notre laboratoire.

7.1 Les vieux dogmes renversés

On croyait classiquement qu'une fois injectés dans le tissu, les adjuvants aluminiques et les antigènes de vaccin adsorbés à leur surface formaient un dépôt extracellulaire au site d'injection, puis que la solubilisation progressive de l'adjuvant particulaire se réalisait par l'intermédiaire des acides chélateurs de l'aluminium présents dans le liquide interstitiel, ce qui provoquait la désorption progressive de l'antigène vaccinal et l'effet adjuvant observé [94]. Dans ce cadre théorique, il était

avancé que l'innocuité de l'adjuvant aluminique pouvait être déduite de la faible quantité d'aluminium injectée et de l'élimination rapide de l'aluminium libéré sous forme soluble dans les urines [94]. Aucune de ces hypothèses ne s'est avérée correcte lors de tests expérimentaux dans notre laboratoire.

Nous avons d'abord montré que, contrairement aux idées reçues, les particules d'hydroxyde d'aluminium injectées dans le muscle ne sont pas solubilisées dans le liquide interstitiel et que l'aluminium dérivé du vaccin n'est pas rapidement éliminé dans l'urine : ce composé particulaire presque insoluble est rapidement capturé par les cellules de la lignée monocytes/macrophages [99] et persiste dans ces cellules de nombreux mois après l'injection chez les animaux [91] et jusqu'à plus de 15 ans chez certains êtres humains avec MFM. Comme indiqué ci-dessus (Section 5.1.2) et ci-dessous (Section 7.2.2.), les résultats de la seule étude expérimentale sur la toxicocinétique des adjuvants aluminiques [94] sont incompatibles avec une biodisposition et une élimination rénale rapide de l'aluminium dérivé du vaccin [7]. De plus, les modèles théoriques basés sur les préconceptions et les résultats à court terme de Flarend sont erronés [7]. Par exemple, Mitkus et al. [95] ont proposé un modèle pour évaluer le risque des vaccins aluminiques chez les nourrissons, en se référant à un niveau de risque minimal (MRL) par voie orale extrapolé à partir d'études sur des animaux. Ils ont seulement considéré l'aluminium solubilisé, avec des calculs erronés sur la durée d'absorption. La diffusion systémique des particules d'aluminium et les effets neuro-inflammatoires ont été omis. La MRL qu'ils ont utilisé était à la fois inappropriée (lactate d'aluminium oral comparé à l'adjuvant aluminique injecté) et trop élevée par rapport à de récentes études chez l'animal indiquant que la MRL devait être réduite d'au moins 7 fois [7]. En résumé, une analyse systématique des études de « référence » disponibles a révélé un échec total à soutenir les affirmations rassurantes, rendant indispensables la réalisation de nouvelles études expérimentales de la toxicocinétique des adjuvants aluminiques menées sur le long terme et sur un nombre suffisant d'animaux, sous l'égide des agences sanitaires [7].

Nous avons également montré que, contrairement à l'hypothèse classique sur la formation de dépôts, les particules d'aluminium ne restent pas entièrement localisées dans le tissu injecté chez la souris, mais peuvent au contraire se disséminer au sein de cellules immunitaires vers les ganglions lymphatiques régionaux puis vers le cerveau [99,154] où ils persistent aussi longtemps que dans le muscle injecté [155]. Les organes distants présentant des accumulations de cellules chargées de particules d'aluminium incluent les ganglions lymphatiques régionaux, la rate et le foie, ainsi que le cerveau dans lequel ils entrent, utilisant un mécanisme de cheval de Troie dépendant du CCL2 et à partir duquel ils ne recirculent plus [99]. En cohérence avec nos études, il a été démontré chez le rat que l'ablation en bloc du site d'injection vaccinal 2 heures après l'injection n'avait aucun effet appréciable sur la réponse immunologique, indiquant que l'adjuvant exerce son effet à distance du site d'injection et invalidant la théorie du dépôt [156]. Ceci est un point important car il semble exister un délicat équilibre entre l'efficacité des adjuvants aluminiques et leur toxicité potentielle, les deux pouvant fondamentalement constituer un seul et même effet [157]. Évidemment, la toxicité potentielle des adjuvants aluminiques dépend soit du fait que le nanomatériau bioactif reste localisé aux points d'injection soit plutôt qu'il se disperse et s'accumule dans des organes et des tissus distants [99,154]. Ce dernier aspect semble primer depuis que la diffusion systémique d'adjuvants aluminiques a été rapportée chez la souris [99,154,155] et aussi chez des ovins ayant développé des granulomes persistants induits par l'aluminium aux sites d'injection associés à de grands infiltrats de macrophages avec des niveaux accrus d'aluminium dans les ganglions lymphatiques de drainage [92].

Nous avons finalement montré que, contrairement à l'idée reçue que la faible quantité d'Al₃ + injectée avec des vaccins permet d'établir l'innocuité des adjuvants aluminiques (le paradigme de « la dose fait

le poison », les effets neurotoxiques des particules d'hydroxyde d'aluminium (Alhydrogel®) répondent à une courbe dose-réponse non linéaire avec une toxicité sélective de la plus faible dose testée [158]. Contrairement aux concentrations élevées, associées à la formation spontanée d'agrégats de grande taille étonnamment non toxiques, la concentration la plus faible d'Alhydrogel® provoquait l'accumulation d'aluminium dans le cerveau, une activation des cellules microgliales du cerveau et une neurotoxicité à long terme chez la souris. Fait intéressant, la faible concentration du produit injecté était associée à la formation de petits agglomérats de « taille bactérienne » probablement plus faciles à capturer par les macrophages et à transporter vers des sites distants [158]. Il est donc probable que la toxicité des adjuvants particulaires absorbés par les cellules immunitaires obéisse aux règles spécifiques de la toxicologie des petites particules plutôt qu'à toute relation dose-réponse simpliste.

En résumé, nos résultats expérimentaux suggèrent que la capture et la biopersistance à long terme de l'hydroxyde d'aluminium dans les cellules phagocytaires sont une condition préalable à sa neuromigration et à sa neurotoxicité chez la souris.

7.2 Comparer la toxicologie de différentes formes d'aluminium et de différents types d'exposition est incorrecte

Il est souvent dit que l'apport d'aluminium oral est supérieur à la quantité d'aluminium injectée avec les vaccins, celle-ci ne pourrait donc causer aucun dommage. Cette affirmation superficielle ignore les différences notables du devenir de l'aluminium dans les deux situations.

7.2.1 Aluminium Oral (valeur initiale 100%)

En cas de barrière intestinale saine, 99,7% de l'aluminium oral est éliminé dans les selles et seulement 0,3% peut traverser la barrière, sous forme atomique, et se lier aux transporteurs sanguins comme la transferrine, l'albumine et le citrate. Puis >0,2% est rapidement éliminé dans l'urine [93,159] et le reste (<0,1%) est distribué à l'ensemble du corps. Il est à noter que les espaces corporels comprennent 41 % des cellules (35 billions de cellules) et 59 % des espaces extracellulaires [160]. Le dépôt préférentiel d'aluminium se produit dans la matrice extracellulaire osseuse, mais d'autres organes peuvent présenter des dépôts, principalement des dépôts extracellulaires [161]. L'intoxication peut survenir à long terme, en particulier en cas de combinaison d'un apport élevé avec une altération de la barrière intestinale et/ou une insuffisance rénale.

7.2.2 L'hydroxyde d'aluminium injecté (valeur initiale 100%)

Contrairement à l'aluminium oral, 100% de la dose initiale d'adjuvant traverse la barrière naturelle avec l'aiguille et atteint le milieu interne. Dans le cas de l'hydroxyde d'aluminium, l'aluminium se présente sous une forme particulaire peu soluble [8] et pas plus de 6% de l'aluminium injecté est rapidement éliminé dans l'urine [94], les 94% restants étant capturés avec avidité par les macrophages et transportés vers des organes distants où les particules d'aluminium restent principalement intracellulaires [99]. Ainsi, contrairement à l'aluminium oral, très peu d'aluminium injecté se diffuse dans les espaces extracellulaires, l'essentiel étant sélectivement et fortement concentré dans une petite fraction des cellules phagocytaires (l'un des 200 types de cellules du corps), représentant environ 3% du poids corporel [162]. Cette incorporation dans les cellules phagocytaires limite la solubilisation extracellulaire des particules et induit une survie cellulaire à long terme [163]. Le taux de solubilisation très lent des particules d'adjuvant aluminique, en particulier d'hydroxyde d'aluminium [7] rend la détermination des taux sanguins d'aluminium presque inutile pour évaluer la toxicité de l'adjuvant aluminium. Lorsqu'une dose unique d'adjuvant correspondant à 0,85 mg d'Al est administrée en i.m. chez un être humain adulte, on s'attend à une augmentation de la concentration

plasmatique en aluminium de 0,8%, qui serait confondu avec le bruit de fond en aluminium si un adjuvant isotopique marqué à l'aluminium 26 n'était pas utilisé [94]. Pour la même raison, l'excrétion urinaire cumulative spontanée d'aluminium est quasi nulle pour l'hydroxyde d'aluminium quelques jours après l'injection [7]. Ainsi, les adjuvants aluminiques ne provoquent généralement pas d'intoxication massive par de l'aluminium soluble, contrairement à ce qui avait été documenté précédemment chez les patients insuffisants rénaux sous dialyse avec de l'eau contenant de l'aluminium. Au lieu de cela, les adjuvants particuliers aluminiques se concentrent exclusivement dans les cellules immunitaires, une très petite partie du corps humain, dans laquelle ils exercent de manière chronique leurs effets adjuvants immunostimulateurs [164, 165], jusqu'à leur éventuelle dégradation. Si on estime que l'espace de diffusion d'un adjuvant injecté localement en i.m. peut à peine dépasser 1% de l'espace corporel avant la solubilisation de la particule, un calcul sommaire indique qu'une dose orale d'aluminium devrait être environ 1 million de fois plus élevée que la dose vaccinale pour induire le même niveau d'aluminium dans les cellules phagocytaires présentatrices d'antigène.

Les toxicologues spécialisés savent maintenant que la comparaison des propriétés toxicologiques de différentes formes d'aluminium (solubles ou particulières) administrées par différentes voies (orale ou i.m.) est incorrecte et, par conséquent, inadmissible [166]. Ceci constitue une autre raison de rejeter la règle « la dose fait le poison » pour traiter de la toxicité des particules d'adjuvant d'hydroxyde d'aluminium.

7.3 De la toxicité de l'aluminium à la stimulation immunitaire chronique

Plusieurs études expérimentales dans la littérature ont documenté la neurotoxicité potentielle des adjuvants aluminiques. Dans l'étude initiale, l'adjuvant Alhydrogel®, injecté par voie sous-cutanée à des souris à des doses correspondant à la dose reçue par les anciens combattants américains atteints de SGG, a induit des déficits moteurs et des altérations cognitives associés à la mort des motoneurons et à une augmentation significative du nombre d'astrocytes réactifs révélatrice d'un processus inflammatoire [167]. Par la suite, des effets toxiques sur le cerveau de souris adultes ou en développement induits par l'adjuvant aluminique ou par des vaccins contenant de l'aluminium ont été rapportés au Canada [168–170], en Israël [171–172] et en France [158]. Il est à noter que les études sur les petits animaux montrant les effets toxiques des adjuvants aluminiques sont souvent suspectées d'être sans rapport avec la situation humaine, mais ce n'est pas le cas des grands modèles animaux. Par conséquent, il convient de souligner que des vétérinaires espagnols ont signalé que l'administration multiple de vaccins aluminiques chez des ovins peut induire une maladie neurologique biphasique, notamment une méningo-encéphalomyélite initiale avec modifications du comportement suivie de changements neurodégénératifs progressifs de la moelle épinière, offrant ainsi un modèle précieux pour la compréhension de l'ASIA humaine. [173-174]. De plus, des injections multiples de l'adjuvant seul (hydroxyde d'aluminium), par rapport au placebo salin, étaient suffisantes pour induire à la fois la diffusion d'aluminium et de granulomes dans les ganglions lymphatiques de drainage [92], ainsi que les changements comportementaux observés chez les ovins, notamment agitation, agressivité, stéréotypies, dissociation du groupe et états léthargiques (Asin J & Llujan L, communication personnelle). Les injections de vaccin à base d'aluminium ont eu des effets immunologiques encore plus prononcés que l'adjuvant à base d'aluminium seul [92,175]. Les groupes recevant l'adjuvant aluminique seul ou les vaccins entiers ont tous deux présenté une augmentation des marqueurs biologiques de la maladie, tels que des taux circulants élevés de cortisol, l'hormone du stress, en hiver.

La physiopathologie de l'EM/SFC reste mal comprise, mais l'hypothèse classique selon laquelle les patients atteints d'EM/SFC pourrait souffrir d'une élimination inappropriée des agents pathogènes ou

des composés toxiques ayant des effets immunostimulants [41] provoquant une « stimulation immunitaire prolongée qui ne réussit pas à se désactiver » [176] et conduisant à un éventuel « épuisement » du système immunitaire correspond bien aux preuves récentes selon lesquelles les patients atteints d'EM/SFC ont un niveau élevé de cytokines les trois premières années environ, puis le système immunitaire s'épuise et les niveaux de cytokines chutent [177]. De même que les patients atteints d'EM/SFC étudiés par Hornig et al. [177], les patients atteints de MFM présentent généralement un « épuisement » du système immunitaire évalué par une chute importante des IL1b, IL1ra, IL4, IL10, IL12, IL17 et FGFb sanguins, à l'exception notable du CCL2, principal chimioattractant des monocytes, qui est augmenté de manière sélective [101].

Il a été démontré que, même en l'absence d'inflammation initiale du SNC, la microglie cérébrale répond à l'inflammation périphérique en augmentant sa production de MCP-1 / CCL2 qui attire les monocytes circulants exprimant le récepteur CCR2 [178]. Cet afflux de monocytes entraîne le « comportement de maladie » associé aux états inflammatoires périphériques, se manifestant par de la fatigue, des troubles de l'humeur, un dysfonctionnement cognitif et des troubles du sommeil [179]. Dans le contexte de la vaccination, l'expression de MCP1 / CCL2 est stimulée par l'hydroxyde d'aluminium [180], ce qui polarise probablement la réponse du vaccin vers des réponses immunitaires de type T-helper 2 (Th2) [181], et favorise l'incorporation au cerveau de cellules chargées d'adjuvant aluminique [99]. Les particules d'hydroxyde d'aluminium provoquent une inflammation en activant l'inflammasome NALP3 [182] et l'activation de l'inflammasome NALP3 induit chez la souris une fatigue liée à une neuroinflammation [183]. La principale caractéristique de cette activation est la libération de IL1beta, qui a été détectée à la fois dans les cellules immunitaires du cerveau et dans les neurones chargés de particules d'hydroxyde d'aluminium dans nos expériences sur les souris [99]. De la même façon, les syndromes douloureux chroniques résultent d'une hypersensibilisation de la corne dorsale de la moelle épinière : l'activation de la microglie par l'adjuvant CFA administré à la périphérie, initie une hypersensibilisation de la corne postérieure via la libération d'IL1b et d'autres cytokines inflammatoires [184]. Ainsi, les adjuvants aluminiques qui pénètrent dans le système nerveux central peuvent amplifier l'activation des cellules microgliales déclenchée par une inflammation périphérique connue pour provoquer la fatigue et la douleur. Le système immunitaire joue également un rôle central dans la modulation de l'apprentissage et de la mémoire, et la plasticité synaptique de l'hippocampe est particulièrement sensible à la neuroinflammation [185]. Il a été démontré de manière constante que l'administration néonatale de vaccin HBV contenant de l'hydroxyde d'aluminium induisait une réponse immunitaire Th2 à la périphérie, tout en augmentant les taux de IL-1 β , IL-6 et TNF- α dans l'hippocampe et entravant la plasticité synaptique à ce niveau, alors que la vaccination néonatale par le Bacille Calmette-Guérin (BCG) induit des effets opposés [186]. Il est à noter que l'hydroxyde d'aluminium et le phosphate d'aluminium sont des adjuvants Th2 puissants qui peuvent probablement agir en synergie avec d'autres facteurs orientant les réponses adaptatives du type Th1 vers Th2, comme le stress mental, l'excès de stimulation sympathique, l'excès de glucocorticoïdes, les taux élevés d'hormones féminines, l'immunosuppression, l'infection chronique ou une charge microbienne massive [187–189]. On a longtemps soupçonné l'orientation durable des réponses vers le type Th2 comme sous-tendant les manifestations cliniques du SGG [190]. De façon cohérente, l'activation immunitaire de type Th2 a été documentée dans le liquide céphalo-rachidien de patients atteints d'EM/SFC [191].

7.4 Orientations futures de la recherche : mémoire immunitaire innée et microbiome

7.4.1 *Mémoire immunitaire innée*

Chez presque tous les patients atteints de MFM, l'EM/SFC se manifeste après plusieurs vaccinations. L'impact des vaccinations multiples sur le système immunitaire a rarement été étudié, mais constitue une question critique [3]. Une attention croissante est actuellement portée aux caractéristiques de la mémoire des cellules immunitaires innées, comprenant les monocytes / macrophages périphériques et la microglie du cerveau, parfois appelée entraînement de l'immunité innée [192]. On a longtemps pensé que, contrairement aux cellules du système immunitaire adaptatif, les monocytes et les macrophages ne possédaient pas de mémoire immunologique, générant une réponse naïve identique chaque fois qu'ils étaient stimulés. Des études récentes ont démontré qu'en fait, le système immunitaire inné peut adopter un phénotype activé à long terme lors de rencontres antérieures avec divers stimuli microbiens ou vaccinaux. Ainsi, lors d'une infection ou d'une vaccination, les monocytes / macrophages peuvent être reprogrammés de manière fonctionnelle afin d'afficher une réponse améliorée contre les infections [193]. Par exemple, comme décrit également ci-dessus [186], la vaccination par le BCG prévient la tuberculose mais induit également des effets bénéfiques non spécifiques, contre certaines formes de malignité et des agents pathogènes étrangers et l'autophagie joue un rôle clé dans ces effets non spécifiques [194]. Cependant, outre les effets bénéfiques de la mémoire innée entraînée, des effets délétères peuvent également résulter de stimuli immunitaires séquentiels provoquant un amorçage microglial favorisant une neurodégénérescence [195] ou l'induction ou le maintien de maladies auto-immunes et auto-inflammatoires en cas d'activation inappropriée ou de susceptibilité individuelle [196]. À notre connaissance, cette question n'a pas encore été examinée dans le cadre de l'EM/SFC et d'ASIA.

7.4.2 *Dysbiose du microbiome*

L'immunosuppression généralement associée à l'EM/SFC de longue durée, comme le confirment les patients atteints de MFM (voir section 7.3), permet le développement opportuniste d'agents pathogènes non encore identifiés ou, plus vraisemblablement, une dysrégulation du microbiote pouvant contribuer à ou perpétuer l'EM/SFC [197]. Comme indiqué ci-dessus (section 5.1.3), les MFM de longue durée reflètent la limitation de la dégradation cellulaire des particules par les mécanismes d'auto/xénophagie [48]. La limitation individuelle du traitement auto/xénophagie, liée à des caractères génétiques ou au vieillissement [198], peut empêcher la clairance des particules adjuvantes et augmenter la réponse inflammatoire, mais elle peut également affecter la clairance et la réponse immunitaire aux microbes intracellulaires, comme documenté précédemment dans les cellules épithéliales intestinales de patients atteints de la maladie de Crohn et d'autres MICI liées à une dysbiose du microbiome [199-201]. Dans cette optique, les patients atteints de MFM souffrent souvent de malaises abdominaux et de MICI et leurs symptômes généraux peuvent parfois s'améliorer après une antibiothérapie [202]. L'administration « compassionnelle » de L-carnitine utilisée pour stimuler la fonction mitochondriale et les mesures diététiques avec prise de probiotiques semblent induire des améliorations dans de nombreux cas. Le fait que les symptômes cliniques se manifestent généralement après vaccination chez l'homme et le mouton suggère que les vaccins et leurs adjuvants, de la même manière que les différents agents pathogènes précédemment impliqués dans l'origine des cas d'EM/SFC, peuvent interagir avec divers agents de stress pour déclencher des événements en cascade compromettant l'immunité et les fonctions métaboliques, neuroendocrines et neuro-végétatives et poussent le corps vers un état pathologique (voir Fig. 1). Une implication possible de la dysbiose du microbiome dans ces événements est suggérée par des épipharyngites documentées chez des jeunes filles japonaises atteintes d'EM/SFC induite par le vaccin VPH [124], ainsi que des preuves

épidémiologiques montrant que les filles françaises immunisées contre le VPH ont un risque modérément mais significativement accru de développer une MICI [203]. Il est à noter que l'aluminium en soi [204-205] et le stress mental [206] sont des facteurs établis d'inflammation intestinale chronique. De plus, il a été clairement démontré chez des souris que des souches microbiennes données sont des fournisseurs importants d'adjuvants naturels nécessaires au déclenchement d'une réponse immunitaire au vaccin antigrippal [207]. Par conséquent, il n'est pas exclu que des espèces de microbiome persistantes puissent induire les altérations immunologiques précédemment rapportées chez les patients atteints d'EM/SFC [197], et la recherche d'un déséquilibre des communautés du microbiome chez les patients d'ASIA avec ou sans MFM prouvée par biopsie pourrait se révéler contributif [208].

Figure 1

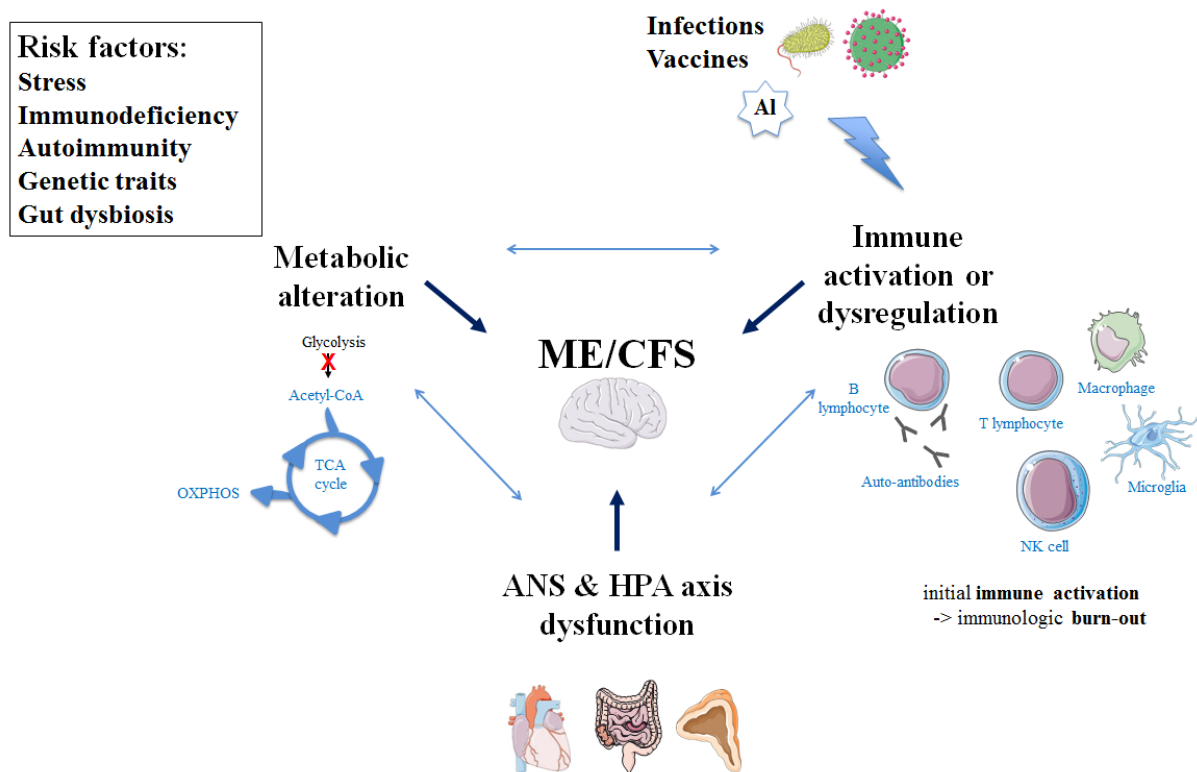


Fig. 1. Représentation schématique de la pathophysiologie de l'EM/SFC à la suite d'une problème dû à une infection ou des particules de vaccin adjuvantés (redrawn from Sotzny *et al.*, 2018 [207]). Les vaccins aluminiques, tout comme les agents pathogènes naturels persistants, peuvent induire une dysrégulation du système immunitaire et des perturbations métaboliques, neuroendocriniennes et du système nerveux autonome à l'origine des symptômes d'EM/SFC. La contribution de divers facteurs de risque est probable.

Abréviations: Acetyl-CoA: acetyl coenzyme A, ANS: autonomic nervous system, ME/CFS: Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome, NK: natural killer, OXPPOS: oxidative phosphorylation, TCA: tricarboxylic acid.

Drawings by Servier medical art® <https://smart.servier.com/>

8. L'EM/SFC après vaccination, une manifestation essentielle de l'ASIA

Yehuda Shoenfeld a eu le grand mérite de proposer le concept ASIA en 2011 [5]. Des similitudes cliniques frappantes entre SGG, syndrome de MFM et EM/SFC avaient déjà été rapportées [4], mais Yehuda Shoenfeld a étendu le concept aux effets délétères de chaque composé ayant des propriétés adjuvantes, y compris les agents pathogènes et les particules adjuvantes non vaccinales. Les adjuvants microbiens naturellement présents dans les agents pathogènes ont été parmi les premiers adjuvants vaccinaux, y compris les parois mycobactériennes utilisées dans l'adjuvant complet de Freund, dont les molécules immunostimulantes sont le muramyl dipeptide et le tréhalose dimycolate, ainsi que les bactéries gram négatives dont l'endotoxine est appelée lipopolysaccharide (LPS) et son dérivé adjuvant, le Monophosphoryl lipide A. Les particules de silicone représentent les principales particules minérales non vaccinales dotées de propriétés adjuvantes [209]. Les patientes ayant des implants mammaires en silicone présentant des fuites développent une siliconose ? Cette affection liée à une libération des particules de silicone qui, comme les particules microbiennes ou les adjuvants de vaccins, sont capturées par les macrophages et transportées vers des organes lymphoïdes, se manifeste par des symptômes similaires à l'EM/SFC [40,210,211].

Yehuda Shoenfeld a admis que la plupart des patients ASIA avaient une EM/SFC [19]. Cependant, on a eu tendance à étendre le concept ASIA aux maladies immunitaires au-delà de l'EM/SFC, afin d'inclure les maladies auto-immunes apparues après la vaccination, telles que le syndrome de Sjogren [212], la narcolepsie [213], le syndrome des antiphospholipides [214], et l'insuffisance ovarienne primaire [215], ainsi que le lymphome [216]. Il est vrai que l'EM/SFC idiopathique (jusqu'à environ 60%) peut être associée à des signes d'auto-immunité [217,218] et que ASIA partage des similitudes avec une connectivité indifférenciée [219]. Il est également vrai que l'EM/SFC est associé à un risque accru de lymphome [18] et que le taux spectaculaire de troubles immunitaires observés dans les forces armées italiennes, notamment les lymphomes, les leucémies et les maladies auto-immunes, a été associé à des pratiques vaccinales à risque comme le fait d'injecter 5 vaccins simultanément [3]. Dans ce contexte, la commission du Sénat italien a calculé que la quantité cumulée de composés de vaccins non antigéniques reçus par les forces armées italiennes - incluant les adjuvants aluminiques (7,65 mg correspondant à 2,57 mg Al), 44 excipients et 47 contaminants - était toujours supérieure au seuil de sécurité officielle [3]. Cependant, une trop grande extension du champ d'application d'ASIA risque fortement de brouiller l'image principale. La définition d'ASIA initialement proposée est probablement trop vague et, par conséquent, reste débattue malgré l'utilité pratique extrême de reconnaître que des présentations cliniques similaires peuvent être observées chez des patients exposés à divers composés immunostimulants.

La possibilité que l'EM/SFC post-vaccinale représente une authentique maladie auto-immune, comme pourrait le suggérer le terme ASIA, est un point encore non réglé. D'une part, un certain nombre d'autoanticorps ont été rapportés chez des patients atteints de POTS idiopathique et d'EM/SFC [218]. Dans un sous-groupe de ces patients, les auto-anticorps peuvent être spécifiquement dirigés contre les récepteurs de neurotransmetteurs présents dans le système nerveux sympathique, y compris les récepteurs β_2 adrénergiques et les récepteurs d'acétylcholine muscariniques 3 et 4, et pourraient probablement jouer un rôle dans les manifestations cliniques [220]. De même, une déplétion prolongée des lymphocytes B associée au rituximab anti-CD20 a été associée à des réponses cliniques prolongées chez un sous-groupe de patients atteints d'EM/SFC idiopathique [221]. D'autre part, nous n'avons trouvé aucune mention dans la littérature de la détection d'auto-anticorps spécifiques anti-neurocepteurs dans l'EM/SFC post-vaccinal et très peu dans le POTS post-vaccinal [222]. Nos patients atteints de MFM ont présenté de manière irrégulière des titres faibles d'autoanticorps circulants

courants, principalement des anticorps antinucléaires détectés chez environ 30% des patients, indiquant une auto-immunité de bas grade. En outre, une minorité de patients atteints de MFM (10 à 20%) présentaient une maladie auto-immune concomitante bien définie (SEP, thyroïdite, dermatomyosite, etc.) [67]. Nous ne nous souvenons pas d'avoir vu des cas de MFM évoluer d'une EM/SFC initiale pure vers une maladie auto-immune spécifique à part entière.

Il n'est donc pas exclu que l'auto-immunité spécifique ne se produise que chez un sous-groupe de patients atteints d'EM/SFC post-vaccinal, probablement en raison soit de la susceptibilité individuelle à développer une maladie auto-immune, soit d'un conflit antigénique spécifique, d'origine éventuellement opportuniste. Par exemple, il a été suggéré que des microbes pathogènes persistants pourraient induire des altérations immunologiques précédemment rapportées chez des patients atteints d'EM/SFC idiopathiques, notamment une altération des fonctions des cellules NK, des cellules T clonales et des autoanticorps [197]. Cependant, le rôle des auto-anticorps spécifiques contre les récepteurs des neurotransmetteurs, bien qu'il représente un nouveau questionnement fascinant dans l'EM/SFC, reste incertain dans l'EM/SFC post-vaccinale.

Le concept d'ASIA a gagné en popularité croissante dans la communauté médicale, avec plus de 4000 cas rapportés dans la littérature [223], soulignant qu'il a répondu à un besoin critique dans la pratique courante de la médecine humaine et vétérinaire [173,223].

9. Modèle expérimental physiopathologique

La fatigue post-infectieuse touche environ une personne sur dix infectée par le virus d'Epstein-Barr ou *Coxiella burnetii*, l'agent responsable de la fièvre Q, et chez un certain nombre de patients infectés par des entérovirus, *Borrelia burgdorferi* et d'autres agents infectieux. Il a été démontré à maintes reprises que la persistance à long terme de l'agent infectieux provoquait une activation immunitaire prolongée et un syndrome de type EM/SFC [224–227]. La MFM chez l'homme [10] et les modèles animaux appropriés petits et grands [92,99,154,155,173] indiquent qu'il en va de même pour l'EM/SFC après l'administration d'adjuvants aluminiques qui persistent anormalement dans les cellules immunitaires de l'ensemble du système immunitaire.

L'EM/SFC a une physiopathologie extrêmement complexe affectant plusieurs systèmes. Le lecteur est invité à se référer à d'excellents articles détaillés sur chacun des systèmes impactés [228-231] et leurs interactions [232]. L'EM/SFC est essentiellement associée à: (1) des anomalies du système immunitaire, notamment une altération de la fonction des cellules tueuses naturelles et/ou des cellules T, une augmentation, puis une diminution de la production de cytokines inflammatoires [177] et une augmentation occasionnelle de certains autoanticorps [218]; (2) des anomalies du métabolisme cellulaire avec une capacité altérée à produire de l'énergie à partir d'oxygène, de glucose, d'acides gras et d'acides aminés, associées à un dysfonctionnement mitochondrial et à un métabolisme oxydatif réduit; ces changements entraînent une intolérance à l'exercice et miment un état d'hibernation [233]; (3) des troubles neuroendocriniens et neuro-végétatifs, y compris une dysrégulation de l'axe hypothalamo - hypophysaire - surrénalien (axe HHS), et, en particulier chez l'adolescent, une intolérance orthostatique avec anomalies de la régulation de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle. La Fig. 1, inspirée de Sotzny et al. 2018 [218], résume les différents changements induits par une dysrégulation immunitaire pouvant être causée par un vaccin ou des adjuvants naturels chez les individus sensibles et constituant probablement la pathophysiologie de base d'ASIA (Fig. 1).

10. Conclusion

La sécurité des adjuvants est un « domaine important et négligé » [234], souffrant à la fois d'une idée fautive de la toxicocinétique de l'adjuvant aluminium [7] et de l'absence d'études populationnelles évaluant les associations entre l'exposition aux adjuvants aluminiques et les manifestations cliniques [235].

L'EM/SFC est une pathologie multifactorielle d'importance majeure pour la santé publique et la prise en charge clinique. Les preuves que l'EM/SFC puisse représenter une catégorie importante d'AEFI sont apparues très lentement en raison de la multiplicité, du manque apparent de spécificité, de l'apparition tardive et de la sous-estimation fréquente des symptômes par la médecine, toutes ces caractéristiques intervenant comme principales explications aux « limitations méthodologiques inhérentes aux études épidémiologiques » dans le domaine de la sécurité vaccinale (voir supra section 4.2.). Cependant, une étude épidémiologique bien menée comparant des individus vaccinés et non vaccinés a fourni de solides preuves d'une EM/SFC post-vaccinale [53]. Une analyse clinique approfondie de patients atteints d'une EM/SFC post-vaccinale a révélé des altérations hautement cohérentes de la neuroimagerie cognitive et fonctionnelle. La plausibilité biologique d'une association entre l'adjuvant particulaire et l'EM/SFC est corroborée par la persistance à long terme de l'adjuvant aluminique dans les cellules immunitaires des individus affectés (évaluée par la détection d'une MFM lors d'une biopsie musculaire), et par le transport de l'adjuvant aluminique vers des organes distants documenté sur des modèles animaux de petite et grande taille, avec des effets neurotoxiques à faible dose et immunostimulants de longue durée. Ces données, qui correspondent au concept ASIA, ont déjà fondé le droit à une indemnisation pour dommages et intérêts aux États-Unis et en France, où la plus haute juridiction administrative a statué sur l'indemnisation de 8 de nos patients qui avaient reçu une vaccination obligatoire pour des raisons professionnelles. Nous espérons qu'elles déclencheront de nouvelles études épidémiologiques et fondamentales solides sur le devenir et la toxicité à long terme des adjuvants aluminiques, des facteurs de susceptibilité individuelle et des alternatives satisfaisantes aux adjuvants aluminiques. Plusieurs adjuvants efficaces et biodégradables dépourvus de métaux nocifs ont déjà été identifiés [236–238].

Déclaration de conflits d'intérêts

Ce document de synthèse rassemble les résultats des travaux précédents de notre groupe INSERM obtenus avec l'aide de sources de financement publiques (Région Ile-de-France, Agence de sécurité du médicament) et d'associations de patients et d'organisations caritatives, notamment l'Association Française contre les Myopathies (AFM), l'association Entraide aux maladies de macrophages (E3M) et le Children's Medical Safety Research Institute (CMSRI / Fondation Dwoskin). Ni l'AFM, ni E3M, ni le CMSRI n'ont joué un rôle dans la conception, l'analyse des données, l'interprétation des résultats et la rédaction de ce document ou de tout autre document de notre groupe. Aucun des auteurs n'a reçu de paiement de ces organisations à but non lucratif. Romain Gherardi et François-Jérôme Authier ont parfois fait des témoignages d'experts et ont déposé un brevet relatif au domaine de la sécurité vaccinale.

Références

1. Launay O. Dossier vaccins et vaccination, <http://www.inserm.fr/thematiques/immunologie-inflammation-infectiologie-et-microbiologie/dossiers-d'information/vaccins-et-vaccination/>, (2015).
2. America's biopharmaceutical research companies (PhRMA). Medicines in development for vaccines 2017 update. <https://www.phrma.org/report/medicines-in-development-vaccines-2017-update>

3. Scanu GP. "Parliamentary commission of inquiry into cases of death and severe illnesses affecting military personnels..." Final report, February 7, 2018 Acts of Parliament, XVII legislature, Chamber of deputies, Doc XVII-bis N23, https://lifebiomedguru.files.wordpress.com/2018/03/2018feb7_commissione_uranio_impoverito_relazione_finale_inglese_1.pdf Accessed date: 29 may 2018.
4. Gherardi RK. [Lessons from macrophagic myofasciitis: towards definition of a vaccine adjuvant-related syndrome]. *Rev Neurol (Paris)*. 2003 Feb;159(2):162-4. [French]
5. Shoenfeld Y, Agmon-Levin N. 'ASIA' - autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants. *J Autoimmun*. 2011;36:4-8
6. Tomljenovic L, Shaw CA. Aluminum vaccine adjuvants: are they safe? *Curr Med Chem*. 2011;18(17):2630-7. PubMed PMID: 21568886.
7. Masson JD, Crépeaux G, Authier FJ, Exley C, Gherardi RK. Critical analysis of reference studies on the toxicokinetics of aluminum-based adjuvants. *J Inorg Biochem* 2018; 181:87–95.
8. Mold M, Shardlow E, Exley C. Insight into the cellular fate and toxicity of aluminium adjuvants used in clinically approved human vaccinations, *Sci. Rep.* 6 (2016) 31578. <http://dx.doi.org/10.1038/srep31578>.
9. Marrack P. A.S. McKee, M.W. Munks, Towards an understanding of the adjuvant action of aluminium, *Nat. Rev. Immunol.* 9 (2009) 287–293, <http://dx.doi.org/10.1038/nri2510>.
10. Gherardi RK, Coquet M, Cherin P, Belec L, Moretto P, Dreyfus PA, et al. Macrophagic myofasciitis lesions assess long-term persistence of vaccine-derived aluminum hydroxide in muscle. *Brain* 2001; 124: 1821-31
11. Authier, F.J., Sauvat, S., Champey, J., Drogou, I., Coquet, M., Gherardi, R. Chronic fatigue syndrome in patients with macrophagic myofasciitis. *Arthritis Rheum* 2003 ; 48: 569-70.
12. Rigolet M, Aouizerate J, Couette M, Ragunathan-Thangarajah N, Aoun-Sebaiti M, Gherardi RK, et al. Clinical features in patients with long-lasting macrophagic myofasciitis. *Front Neurol* 2014; 5: 230.
13. Santiago T, Rebelo O, Negrão L, Matos A. Macrophagic myofasciitis and vaccination: consequence or coincidence? *Rheumatol Int.* 2015 Jan;35(1):189-92.
14. Chkheidze S R, Burns DK, White CL, Castro D, Fuller J, Cai C. Morin Stain Detects Aluminum-Containing Macrophages in Macrophagic Myofasciitis and Vaccination Granuloma With High Sensitivity and Specificity. *J Neuropathol ExpNeurol*. 2017; 76:323-31.h
15. Institute of Medicine (US) Committee on the Diagnostic Criteria for Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome, Board on the Health of Select Populations, Institute of Medicine. *Beyond Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome: Redefining an Illness*. Washington (DC): National Academies Press (US); 2015 Feb 10.
16. Jason LA, Benton MC, Valentine L, Johnson A, Torres-Harding S. The economic impact of ME/CFS: individual and societal costs. *Dyn Med*. 2008;7:6.
17. Falk Hvidberg M, Brinth LS, Olesen AV, Petersen KD, Ehlers L. The health-related quality of life for patients with Myalgic Encephalomyelitis / Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS). *PLoS One*. 2015 Jul 6;10(7):e0132421. doi:10.1371/journal.pone.0132421.
18. Chang CM, Warren JL, Engels EA. Chronic fatigue syndrome and subsequent risk of cancer among elderly US adults. *Cancer* 2012; 118:5929-36.
19. Sharif K, Watad A, Bragazzi NL, Lichtbroun M, Martini M, Perricone C, et al. On chronic fatigue syndrome and nosological categories. *Clin Rheumatol*. 2018 May;37(5):1161-1170.
20. Dowsett EG, Ramsay AM, McCartney RA, Bell EJ. Myalgic encephalomyelitis—a persistent enteroviral infection? *Postgrad Med J*. 1990;66(777):526-30.
21. Sharpe MC, Archard LC, Banatvala JE, Borysiewicz LK, Clare AW, David A, et al. A report-chronic fatigue syndrome: guidelines for research. *J R Soc Med* 1991;84(2):118-12.
22. Fukuda K, Straus SE, Hickie I, Sharpe MC, Dobbins JG, Komaroff A. The chronic fatigue syndrome: a comprehensive approach to its definition and study. International Chronic Fatigue Syndrome Study Group. *Ann Intern Med* 1994;121(12):953-9.
23. Carruthers BM, Jain AK, De Meirleir KL, Peterson DL, Klimas NG, Lerner AM, et al. Myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome. *J Chron Fatigue Syndr* 2003; 11(1):7-115.
24. Carruthers BM, van de Sande MI, De Meirleir KL, Klimas NG, Broderick G, Mitchell T, et al. Myalgic encephalomyelitis: International Consensus Criteria. *J Intern Med* 2011; 270: 327-38.
25. Committee on the Diagnostic Criteria for Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome, Board on the Health of Select Populations, Institute of Medicine. *Beyond Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome: Redefining an Illness*. Washington (DC): National Academies Press (US); 2015 Feb 10.
26. Jason LA, McManimen S, Sunnquist M, Newton JL, Strand EB. Examining those Meeting IOM Criteria Versus IOM Plus Fibromyalgia. *Neurology (ECronicon)*. 2017;5(1):19-28.
27. Aaron LA, Buchwald D. A review of the evidence for overlap among unexplained clinical conditions. *Ann Intern Med*. 2001;134(9):868-81.

28. Wolfe F, Smythe HA, Yunus MB, Bennett RM, Bombardier C, Goldenberg DL, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of fibromyalgia. Report of the multicenter criteria committee. *Arthritis Rheum* 1990; 33(2):160–72..
29. Wolfe F, Clauw DJ, Fitzcharles MA, Goldenberg DL, Häuser W, Katz RL, et al. 2016 Revisions to the 2010/2011 fibromyalgia diagnostic criteria. *Semin Arthritis Rheum* 2016;46(3):319–29.
30. Jones GT, Atzeni F, Beasley M, Flüß E, Sarzi-Puttini P, Macfarlane GJ. The prevalence of fibromyalgia in the general population: a comparison of the American College of Rheumatology 1990, 2010, and modified 2010 classification criteria. *Arthritis Rheumatol* 2015;67(2):568–75.
31. Hausteiner-Wiehle C, Henningsen P. Irritable bowel syndrome: relations with functional, mental, and somatoform disorders. *World J Gastroenterol*. 2014;20(20):6024–30.
32. Kim SE, Chang L. Overlap between functional GI disorders and other functional syndromes: what are the underlying mechanisms? *Neurogastroenterol Motil* 2012;24(10):895–913.
33. Stewart JM, Gewitz MH, Weldon A, Arlievsky N, Li K, Munoz J. Orthostatic intolerance in adolescent chronic fatigue syndrome. *Pediatrics*. 1999; 103(1):116–21.
34. Schondorf, R, Benoit, J, Wein, T, Phaneuf, D. Orthostatic intolerance in the chronic fatigue syndrome. *J Auton Nerv Syst* 1999; 75: 192–201.
35. Okamoto LE, Raj SR, Peltier A, Gamboa A, Shibao C, Diedrich A, et al. Neurohumoral and haemodynamic profile in postural tachycardia and chronic fatigue syndromes. *Clin Sci (Lond)*. 2012;122(4):183–92.
36. Shenker N, Goebel A, Rockett M, Batchelor J, Jones GT, Parker R, et al. Establishing the characteristics for patients with chronic Complex Regional Pain Syndrome: the value of the CRPS-UK Registry. *Br J Pain*. 2015;9(2):122–8.
37. Morris G, Berk M, Walder K, Maes M. The putative role of viruses, bacteria, and chronic fungal biotoxin exposure in the genesis of intractable fatigue accompanied by cognitive and physical disability. *Mol Neurobiol* 2016;:53:2550–71.
38. Navaneetharaja N, Griffiths V, Wileman T, Carding SR. A Role for the intestinal microbiota and virome in Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS)? *J Clin Med*. 2016;5(6): E55.
39. Treib J, Grauer MT, Haass A, Langenbach J, Holzer G, Woessner R. Chronic fatigue syndrome in patients with Lyme borreliosis. *Eur Neurol*. 2000;43(2):107–9.
40. Vermeulen RC, Scholte HR. Rupture of silicone gel breast implants and symptoms of pain and fatigue. *J Rheumatol*. 2003;30(10):2263–7.
41. Rosenblum H, Shoenfeld Y, Amital H. The common immunogenic etiology of chronic fatigue syndrome: from infections to vaccines via adjuvants to the ASIA syndrome. *Infect Dis Clin North Am* 2011; 25(4): 851–63.
42. Stejskal V. Metals as a common trigger of inflammation resulting in non-specific symptoms: diagnosis and treatment. *Isr Med Assoc J* 2014; 16: 753–8
43. Hyde B, Goldstein J, Levine P. The clinical and scientific basis of myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome. Nightingale Research Foundation, Ottawa, Canada (1992)
44. Shepherd CB. Is CFS linked to vaccinations? *The CFS Research Review* 2001; 2: 6 - 8. Available at: <http://www.cfids.org/archives/2001rr/2001-rr1-article03.asp>
45. Working group on the possible relationship between hepatitis B vaccination and the chronic fatigue syndrome. Report. *Canad Med Assoc J*. 1993; 149: 314–9.
46. Agmon-Levin N, Shoenfeld Y. Chronic fatigue syndrome with autoantibodies—the result of an augmented adjuvant effect of hepatitis-B vaccine and silicone implant. *Autoimmun Rev*. 2008 Oct;8(1):52–5. doi: 10.1016/j.autrev.2008.07.026.
47. Agmon-Levin N, Zafirir Y, Kivity S, Balofsky A, Amital H, Shoenfeld Y. Chronic fatigue syndrome and fibromyalgia following immunization with the hepatitis B vaccine: another angle of the 'autoimmune (auto-inflammatory) syndrome induced by adjuvants' (ASIA). *Immunol Res*. 2014; 60: 376–83.
48. Gherardi RK, Eidi H, Crépeaux G, Authier FJ, Cadusseau J. Biopersistence and brain translocation of aluminum adjuvants of vaccines. *Front Neurol* 2015;6:4.
49. Institute of Medicine. Adverse effects of vaccines: evidence and causality. Washington, DC: The National Academies Press, 2012.
50. Institute of Medicine. Vaccine Safety Forum: Summaries of Two Workshops. Washington, DC: National Academies Press, 1997.
51. Joelving F. What the Gardasil testing may have missed. *Slate* dec 17 2017. <https://slate.com/health-and-science/2017/12/flaws-in-the-clinical-trials-for-gardasil-made-it-harder-to-properly-assess-safety.html>
52. Fletcher AP. Spontaneous adverse drug reaction reporting vs event monitoring: a comparison. *J R Soc Med*. 1991;84(6):341–4.
53. Steele L. Prevalence and patterns of Gulf War Illness in Kansas veterans: association of symptoms with characteristics of person, place, and time of military service. *Am J Epidemiol* 2000; 152: 992–1002.

54. Steele L, Sastre A, Gerkovich MM, Cook MR. Complex factors in the etiology of Gulf War illness: wartime exposures and risk factors in veteran subgroups. *Environ Health Perspect* 2012;120(1):112-8.
55. Fukuda K, Nisenbaum R, Stewart G, Thompson WW, Robin L, Washko RM, et al. Chronic multisymptom illness affecting Air Force veterans of the Gulf War. *JAMA* 1998;280:981-8.
56. Soetekouw PMMB, de Vries M, van Bergen L, Galama JMD, Keyser A, Bleijenberg G, et al. Somatic hypotheses of war syndromes. *Eur J Clin Invest* 2000; 30 : 630-41.
57. Hotopf M, David A, Hull L, Ismail K, Unwin C, Wessely S. Role of vaccinations as risk factors for ill health in veterans of the Gulf war: cross sectional study. *BMJ*. 2000;320(7246):1363-7.
58. Cherry N, Creed F, Silman A, Dunn G, Baxter D, Smedley J, et al. Health and exposures of United Kingdom Gulf war veterans. Part II: The relation of health to exposure. *Occup Environ Med*. 2001;58(5):299-306.
59. Unwin C, Blatchley N, Coker W, Ferry S, Hotopf M, Hull L, et al. Health of UK servicemen who served in Persian Gulf War. *Lancet*. 1999;353(9148):169-78.
60. Gilroy G, Inc. (1998) Health study of Canadian forces personnel involved in the 1991 conflict in the Persian Gulf. Vol. 1. (Prepared for the Gulf War Illness Advisory Committee, Department of National Defence) Ottawa, Ontario: Department of National Defense.
61. Schumm WR, Reppert EJ, Jurich AP, Bollman SR, Webb FJ, Castelo CS, et al. Self-reported changes in subjective health and anthrax vaccination as reported by over 900 Persian Gulf War era veterans. *Psychol Rep*. 2002;90(2):639-53.
62. Theeler BJ, Simper NB, Ney JP. Polyglandular autoimmunity with macrophagic myofasciitis 1. *Clin Rheumatol* 2008;27(5):667-9.
63. Asa PB, Wilson RB, Garry RF. Antibodies to squalene in recipients of anthrax vaccine. *Exp Mol Pathol*. 2002;73(1):19-27.
64. Phillips CJ, Matyas GR, Hansen CJ, Alving CR, Smith TC, Ryan MA. Antibodies to squalene in US Navy Persian Gulf War veterans with chronic multisymptom illness. *Vaccine*. 2009;27(29):3921-6.
65. Gherardi RK, Coquet M, Cherin P, Authier FJ, Laforet P, Belec L, et al. Macrophagic myofasciitis: an emerging entity. *Lancet* 1998;352(9125):347-52.
66. Preusse C, Goebel HH, Pehl D, Rinnenthal JL, Kley RA, Allenbach Y, Heppner FL, Vorgerd M, Authier FJ, Gherardi R, Stenzel W. Th2-M2 immunity in lesions of muscular sarcoidosis and macrophagic myofasciitis. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2015 Dec;41(7):952-63. doi: 10.1111/nan.12231.
67. Gherardi RK, Authier FJ. Aluminum inclusion macrophagic myofasciitis: a recently identified condition. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2003;23(4):699-712.
68. Amoura Z, Costedoat N, Maisonnobe T, Godeau P, Piette JC. Familial macrophagic myofasciitis. *Ann Rheum Dis*. 2000 Nov;59(11):927-8.
69. Guis S, Mattei JP, Nicoli F, Pellissier JF, Kaplanski G, Figarella-Branger D, et al. Identical twins with macrophagic myofasciitis: genetic susceptibility and triggering by aluminic vaccine adjuvants? *Arthritis Rheum*. 2002a Oct 15;47(5):543-5.
70. Bonnefont-Rousselot D., C. Chantalat-Augier, A. Teixeira, M.-C. Jaudon, S. Pelletier, P. Cherin, Blood oxidative stress status in patients with macrophagic myofasciitis, *Biomed Pharmacother* 58 (2004) 516-519.
71. Shingde M, Hughes J, Boadle R, Wills EJ, Pamphlett R. Macrophagic myofasciitis associated with vaccine-derived aluminium. *Med J Aust* 2005;183(3):145-6.
72. Kalil RK, Monteiro Jr A, Lima MI, Silveira EB, Foltran FS, Martins CE, et al. Macrophagic myofasciitis in childhood: the role of scanning electron microscopy/energy-dispersive spectroscopy for diagnosis. *Ultrastruct Pathol* 2007;31(1):45-50.
73. Bornemann A, Bohl J, Schneider HM, Goebel HH, Schmidt PF, Gherardi RK. July 2003: 62-year-old female with progressive muscular weakness. *Brain Pathol* 2004;14(1):109-10.
74. Sharma MC, Prentice A, Schmidt PF, Sharma N, Goebel HH. Macrophagic myofasciitis in a 3-month-old child. *Journal of Pediatric Neurology*, Vol. 2, No. 4, Oct-Dec, 2004, pp. 225-229
75. Muller HD, Landeghem FK, Schmidt PF, Sommer C, Goebel HH. Macrophagic myofasciitis plus (distinct types of muscular dystrophy). *Neuropediatrics* 2009;40(4):174-8.
76. Stenzel W, Heppner FL, Goebel HH, Alten RH. Macrophagic Myofasciitis. *Dtsch Arztebl Int*. 2009;106(14):248.
77. Kakkar A, Rajeshwari M, Nalwa A, Suri V, Sarkar C, Chakrabarty B, Gulati S, Sharma MC. Childhood macrophagic myofasciitis: A series from the Indian subcontinent. *Muscle Nerve*. 2017;56(1):71-7.
78. Ryan AM, Bermingham N, Harrington HJ, Keohane C. Atypical presentation of macrophagic myofasciitis 10 years post vaccination. *Neuromuscul Disord* 2006;16(12):867-9.
79. Nevo Y, Kutai M, Jossiphov J, Livne A, Neeman Z, Arad T, et al. Childhood macrophagic myofasciitis-consanguinity and clinicopathological features. *Neuromuscul Disord* 2004;14(4): 246-52.
80. Di Muzio A, Capasso M, Verrotti A, Trotta D, Lupo S, Pappalepore N, et al. Macrophagic myofasciitis: an infantile Italian case. *Neuromuscul Disord* 2004;14(2):175-7.

81. Russo GE, De Bono V, Grynshyn D, Gnerre Musto T, Testorio M, Crespini C, Martinez A, Molfino A, Lai S. A young man with persistent myalgia and fatigue: an off-label therapeutic approach. *Intern Emerg Med*. 2015 Feb;10(1):51-3. doi: 10.1007/s11739-014-1138-8.
82. Polido Pereira J, Barroso C, Evangelista T, Fonseca JE, Pereira da Silva JA. Macrophagic myofasciitis: a case report of autoimmune/ inflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA). *Acta Reumatol Port* 2011;36(1):75-6.
83. Soares Santos D, Santos A, Rebelo O, Santos RM. Macrophagic myofasciitis: a challenging diagnosis. *BMJ Case Rep*. 2018 Jul 3;2018. pii: bcr-2018-224602. doi: 10.1136/bcr-2018-224602.
84. Lach B, Cupler EJ. Macrophagic myofasciitis in children is a localized reaction to vaccination. *J Child Neurol* 2008;23(6):614-9.
85. Rivas E, Gomez-Arnaiz M, Ricoy JR, Mateos F, Simon R, Garcia- Penas JJ, et al. Macrophagic myofasciitis in childhood: a controversial entity. *Pediatr Neurol* 2005;33(5):350-6.
86. Exley C, Swarbrick L, Gherardi RK, Authier FJ. A role for the body burden of aluminium in vaccine-associated macrophagic myofasciitis and chronic fatigue syndrome 1. *Med Hypotheses* 2009;72(2):135-9.
87. Shivane A, Hilton DA, Moate RM, Bond PR, Endean A. Macrophagic myofasciitis: a report of second case from UK. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2012;38(7):734-6.
88. Lacson AG, D'Cruz CA, 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 Mar-Apr;5(2):151-8.
89. Gruis KL, Teener JW, Blaivas M. Pediatric macrophagic myofasciitis associated with motor delay. *Clin Neuropathol* 2006;25(4):172–9.
90. Verdier F, Burnett R, Michelet-Habchi C, Moretto P, Fievet-Groyne F, Sauzeat E. Aluminium assay and evaluation of the local reaction at several time points after intramuscular administration of aluminium containing vaccines in the cynomolgus monkey. *Vaccine* 2005; 23: 1359–67.
91. Authier FJ, Sauvat S, Christov C, Chariot P, Raisbeck G, Poron M.F, et al.. AIOH3-adjuvanted vaccine-induced macrophagic myofasciitis in rats is influenced by the genetic background, *Neuromuscul. Disord*. 2006; 16: 347–52,
92. Asín J, Molín J, Pérez M, Pincowski P, Gimeno M, Navascués N, Muniesa A, de Blas I, Lacasta D, Fernández A, de Pablo L, Mold M, Exley C, de Andrés D, Reina R, Luján L. Granulomas Following Subcutaneous Injection With Aluminum Adjuvant-Containing Products in Sheep. *Vet Pathol*. 2018a Oct 31:300985818809142. doi: 10.1177/0300985818809142.
93. Priest ND, Newton D, Day JP, Talbot RJ, Warner AJ, Human metabolism of aluminium-26 and gallium-67 injected as citrates. *Hum. Exp. Toxicol*. 1995; 14: 287–93.
94. Flarend RE, Hem SL, White JL, Elmore D, Suckow M, Rudy AC, et al. In vivo absorption of aluminium containing vaccine adjuvants using 26 Al Vaccine 1997; 15: 1314-8.
95. Mitkus RJ, King DB, Hess MA, Forshee RA, Walderhaug MO. Updated aluminum pharmacokinetics following infant exposures through diet and vaccination, *Vaccine* 2011; 29:9538–43.
96. World Health Organization Vaccine Safety Advisory Committee. Macrophagic myofasciitis and aluminum-containing vaccines. *Wkly Epidemiol Rec* 1999; 74:338-40.
97. Talbot RJ, Newton D, Priest ND, Austin JG, Day JP. Inter-subject variability in the metabolism of aluminium following intravenous injection as citrate. *Hum Exp Toxicol*. 1995 Jul;14(7):595-9.
98. Guis S, Pellissier JF, Nicoli F, et al. HLA-DRB1*01 and macrophagic myofasciitis. *Arthritis Rheum*. 2002b;46(9):2535-7
99. Khan Z, Combadiere C, Authier FJ, Itier 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; 11:99
100. Cadusseau J, Ragunathan-Thangarajah N, Surenaud M, Hue S, Authier FJ, Gherardi RK. Selective elevation of circulating CCL2/MCP1 levels in patients with longstanding post-vaccinal macrophagic myofasciitis and ASIA. *Curr Med Chem*.2014;21(4):511-7.
101. Gherardi RK, Cadusseau J, Authier FJ. [Biopersistence and systemic distribution of intramuscularly injected particles: what impact on long-term tolerability of alum adjuvants?]. *Bull Acad Natl Med*. 2014;198(1):37-48 (in French)
102. Sabella S, Carney RP, Brunetti V et al. A general mechanism for intracellular toxicity of metal-containing nanoparticles, *Nanoscale* 6 (2014): 7052–7061
103. Chatterjee S, Sarkar S, Bhattacharya S. Toxic Metals and Autophagy. *Chem. Res. Toxicol.*, 2014, 27 (11), pp 1887–1900
104. Gherardi RK, Authier FJ. Aluminum inclusion macrophagic myofasciitis: a recently identified condition. *Immunol Allergy Clin North Am* 2003;23(4):699-712.
105. Ragunathan-Thangarajah N, Le Beller C, Boutouyrie P, Bassez G, Gherardi RK, et al. Distinctive clinical features in arthromyalgic patients with and without aluminum hydroxyde-induced macrophagic myofasciitis: an exploratory study. *J Inorg Biochem*. 2013;128:262-6.
106. Couette M, Boisse MF, Maison P, Brugieres P, Cesaro P, Chevalier X, et al. Long-term persistence of vaccine-derived aluminum hydroxide is associated with chronic cognitive dysfunction. *J Inorg Biochem*. 2009;103(11):1571-8.

107. Passeri E, Villa C, Couette M, Itti E, Brugieres P, Cesaro P, et al. Long-term follow-up of cognitive dysfunction in patients with aluminum hydroxide-induced macrophagic myofasciitis (MMF). *J Inorg Biochem.* 2011;105(11):1457-63.
108. Aoun Sebaiti M, Kauv P, Charles-Nelson A, Van Der Gucht A, Blanc-Durand P, Itti E, et al. Cognitive dysfunction associated with aluminum hydroxide-induced macrophagic myofasciitis: A reappraisal of neuropsychological profile. *J Inorg Biochem.* 2018;181:132-8.
109. Van Der Gucht A, Aoun Sebaiti M, Itti E, Aouizerate J, Evangelista E, Chalaye J, Gherardi RK, Ragunathan-Thangarajah N, Bachoud-Levi AC, Authier FJ. Neuropsychological Correlates of Brain Perfusion SPECT in Patients with Macrophagic Myofasciitis. *PLoS One.* 2015;10(6):e0128353
110. Van Der Gucht A, Aoun-Sebaiti M, Kauv P, Guedj E, Aouizerate J, Verger A, et al. FDG-PET/CT Brain Findings in a Patient With Macrophagic Myofasciitis. *Nucl Med Mol Imaging.* 2016;50(1):80-4.
111. Van Der Gucht A, Aoun Sebaiti M, Guedj E, Aouizerate J, Yara S, Gherardi RK, et al. Brain (18)F-FDG PET Metabolic Abnormalities in Patients with Long-Lasting Macrophagic Myofasciitis. *J Nucl Med.* 2017a;58(3):492-8.
112. Van Der Gucht A, Abulizi M, Blanc-Durand P, Aoun-Sebaiti M, Emsen B, Gherardi RK, et al. Predictive value of brain 18F-FDG PET/CT in macrophagic myofasciitis?: A case report. *Medicine (Baltimore).* 2017b;96(39):e8134.
113. Blanc-Durand P, Van Der Gucht A, Guedj E, Abulizi M, Aoun-Sebaiti M, Lerman L, et al. Cerebral 18F-FDG PET in macrophagic myofasciitis: An individual SVM-based approach. *PLoS One.* 2017a;12(7):e0181152.
114. Blanc-Durand P, Van Der Gucht A, Sebaiti MA, Abulizi M, Authier FJ, Itti E. Brain (18)F-FDG PET Metabolic Abnormalities in Macrophagic Myofasciitis: Are They Stable? *J Nucl Med.* 2017b;58(9):1532-1533.
115. Agence Nationale de Sécurité du Médicament. Etude épidémiologique exploratoire de la myofasciite à macrophages. Rapport d'étude octobre 2013. https://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/030593fa4e393af7cec8ff7092832215.pdf. Accessed on February 22, 2019
116. Cazeneuve B, Rivasi M, Lanfranca C. « Mission d'information sur les conditions d'engagement des militaires français ayant pu les exposer, au cours de la guerre du Golfe et des opérations conduites ultérieurement dans les Balkans, à des risques sanitaires spécifiques » Rapport d'information n°3055, Commission de la Défense Nationale, 2001 <http://www.assemblee-nationale.fr/rap-info/i3055.asp>, Accessed date: 29 may 2018.
117. Richards S, Chalkiadis G, Lakshman R, Buttery JP, Crawford NW. Complex regional pain syndrome following immunisation. *Arch Dis Child.* 2012;97[10]:913-5.
118. Jastaniah WA, Dobson S, Lugsdin JG, Petty RE. Complex regional pain syndrome after hepatitis B vaccine. *J Pediatr.* 2003;143(6):802-4.
119. Brinth L, Pors K, Hoppe AAG, Badreldin I, Mehlsen J. Is Chronic fatigue syndrome/Myalgic encephalomyelitis a relevant diagnosis in patients with suspected side effects to Human papilloma virus vaccine?. *Int J Vaccines Vaccin* 2015; 1: 3
120. Brinth LS, Pors K, Theibel AC, Mehlsen J. Orthostatic intolerance and postural tachycardia syndrome as suspected adverse effects of vaccination against human papilloma virus. *Vaccine.* 2015;33(22):2602-5.
121. Palmieri B, Poddighe D, Vadalà M, Laurino C, Carnovale C, Clementi E. Severe somatoform and dysautonomic syndromes after HPV vaccination: case series and review of literature. *Immunol Res.* 2017; 65(1):106-16
122. Tomljenovic L, Colafrancesco S, Perricone C, Shoenfeld Y. Postural Orthostatic Tachycardia With Chronic Fatigue After HPV Vaccination as Part of the "Autoimmune/Auto-inflammatory Syndrome Induced by Adjuvants": Case Report and Literature Review. *J Investig Med High Impact Case Rep.* 2014;2(1):2324709614527812.
123. Kinoshita T, Abe RT, Hineno A, Tsunekawa K, Nakane S, Ikeda S. Peripheral sympathetic nerve dysfunction in adolescent Japanese girls following immunization with the human papillomavirus vaccine. *Intern Med* 2014; 53: 2185-200.
124. Hotta O, Tanaka A, Torigoe A, Imai K, Ieiri N. Japanese Focal Inflammation Research Group.. Involvement of chronic epipharyngitis in autoimmune (auto-inflammatory) syndrome induced by adjuvants (ASIA). *Immunol Res.* 2017;65(1):66-71.
125. Ozawa K, Hineno A, Kinoshita T, Ishihara S, Ikeda S. Suspected adverse effects after Human Papillomavirus vaccination: a temporal relationship between vaccine administration and the appearance of symptoms in Japan. *Drug Saf* 2017; 40:1219-29.
126. Martínez-Lavín M, Martínez-Martínez LA, Reyes-Loyola P. HPV vaccination syndrome. A questionnaire-based study. *Clin Rheumatol,* 2015; 34: 1981-3.
127. Blitshteyn S. Postural tachycardia syndrome following human papillomavirus vaccination. *Eur J Neurol.* 2014; 21: 135-9.
128. Hernán MA, Jick SS, Olek MJ, Jick H. Recombinant hepatitis B vaccine and the risk of multiple sclerosis: a prospective study. *Neurology.* 2004;63(5):838-42.
129. Le Houézec D. Evolution of multiple sclerosis in France since the beginning of hepatitis B vaccination. *Immunol Res.* 2014 Dec;60(2-3):219-25. doi: 10.1007/s12026-014-8574-4.
130. Mouchet J, Bégaud B. Central Demyelinating Diseases after Vaccination Against Hepatitis B Virus: A Disproportionality Analysis within the VAERS Database. *Drug Saf.* 2018 Mar 20. doi: 10.1007/s40264-018-0652-4.

131. Authier FJ, Cherin P, Creange A, Bonnotte B, Ferrer X, Abdelmoumni A, et al. Central nervous system disease in patients with macrophagic myofasciitis. *Brain* (2001) 124(5):974–83. doi:10.1093/brain/124.5.974
132. Phillips A, Patel C, Pillsbury A, Brotherton J, Macartney K. Safety of Human Papillomavirus Vaccines: An Updated Review. *Drug Saf.* 2018;41(4):329-46.
133. Rodríguez-Galán MA, Pérez-Vilar S, Díez-Domingo J, Tuells J, Gomar-Fayos J, Morales-Olivas F, Pastor-Villalba E (2014) Adverse reactions to human papillomavirus vaccine in the Valencian Community (2007-2011). *An Pediatr (Barc)* 81:303–309
134. Liu XC, Bell CA, Simmonds KA, Svenson LW, Russell ML (2016) Adverse events following HPV vaccination, Alberta 2006-2014. *Vaccine* 34:1800–1805
135. WHO. Human papillomavirus vaccines: WHO position paper, May 2017-Recommendations. *Vaccine*. 2017 Oct 13;35(43):5753-5755. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.05.069. Epub 2017 Jun 5.
136. European Medicines Agency. HPV vaccines: EMA confirms evidence does not support that they cause CRPS or POTS Reports after HPV vaccination consistent with what would be expected in this age group 12 January 2016 EMA/788882/2015. Available at https://www.ema.europa.eu/documents/referral/hpv-vaccines-article-20-procedure-ema-confirms-evidence-does-not-support-they-cause-crps-pots_en.pdf
137. Arbyn M, Xu L, Simoens C, et al. Prophylactic vaccination against human papillomaviruses to prevent cervical cancer and its precursors. *Cochrane Database Syst Rev* 2018;5:CD009069.
138. Hama R. Cochrane review on HPV vaccine should be revised due to missing trials, adjuvant toxicity, mortality and healthy user bias in observational studies. *Med Check-TIP* 2018;4:41-49 available at : <https://www.npojip.org/english/MedCheck/Med%20Check-TIP%2012-12-18.pdf>
139. Gøtzsche PC, Jefferson T, Brinth LS, et al. Complaint to the European ombudsman over maladministration at the European Medicines Agency (EMA) in relation to the safety of the HPV vaccines. 2016 <http://nordic.cochrane.org/sites/nordic.cochrane.org/files/public/uploads/ResearchHighlights/Complaint-to-ombudsman-over-EMA.pdf> (accessed May 2018).
140. Martínez-Lavín M, Amezcua-Guerra L. Serious adverse events after HPV vaccination: a critical review of randomized trials and post-marketing case series. *Clin Rheumatol.* 2017 Oct;36(10):2169-78.
141. Chandler RE, Edwards IR, Lindquist M. Comment on "Safety of Human Papillomavirus Vaccines: An Updated Review". *Drug Saf.* 2018;41(5):537-8.
142. Jefferson T, Jorgensen L. Human papillomavirus vaccines, complex regional pain syndrome, postural orthostatic tachycardia syndrome, and autonomic dysfunction – a review of the regulatory evidence from the European medicines agency. *Indian J Med Ethics* 2017:006.
143. Jørgensen L, Gøtzsche PC, Jefferson T. The Cochrane HPV vaccine review was incomplete and ignored important evidence of bias. *BMJ Evid Based Med* 2018 Oct;23(5):165-168. doi: 10.1136/bmjebm-2018-111012
144. Donegan K, Beau-Lejdstrom R, King B, Seabroke S, Thomson A, Bryan P. Bivalent human papillomavirus vaccine and the risk of fatigue syndromes in girls in the UK. *Vaccine.* 2013 Oct 9;31(43):4961-7.
145. Feiring B, Laake I, Bakken IJ, Greve-Isdahl M, Wyller VB, Håberg SE, et al. HPV vaccination and risk of chronic fatigue syndrome/myalgic encephalomyelitis: A nationwide register-based study from Norway. *Vaccine.* 2017;35(33):4203-12.
146. Hazell L, Shakir SA. Under-reporting of adverse drug reactions : a systematic review. *Drug Saf.* 2006;29(5):385-96.
147. Autret-Leca E, Bensouda-Grimaldi L, Jonville-Béra AP, Beau-Salinas F. Pharmacovigilance of vaccines. *Arch Pediatr.* 2006;13(2):175-80. (in French)
148. Hirai T, Kuroiwa Y, Hayashi T, Uchiyama M, Nakamura I, Yokota S, Nakajima T, Nishioka K, Iguchi Y. Adverse effects of human papilloma virus vaccination on central nervous system. *Auton Nerv Syst* 2016;53:49-64.
149. Fine PEM., Chen RT. Confounding in studies of adverse reactions to vaccines . *Am J Epidemiol* 1992; 136:121-35.
150. Caulfield MJ, Shi L, Wang S, Wang B, Tobery TW, Mach H, et al. Effect of alternative aluminum adjuvants on the absorption and immunogenicity of HPV16 L1 VLPs in mice. *Hum Vaccin.* 2007; 3(4):139-45.
151. Chandler RE. Safety Concerns with HPV vaccines continue to linger: are current vaccine pharmacovigilance practices sufficient? *Drug Saf.* 2017;40(12):1167-1170.
152. Yang S. Gardasil 9-FDA. STN:125508/0 <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/UCM429166.pdf> (accessed on november 8, 2018)
153. College of physicians of Philadelphia. 2013. The history of vaccines. <https://www.historyofvaccines.org/content/history-immunization-schedule>
154. Eidi H, David MO, Crépeaux G, Henry L, Joshi V, Berger MH, et al. Fluorescent nanodiamonds as a relevant tag for the assessment of alum adjuvant particle biodisposition. *BMC Med* 2015;13(144).
155. Crépeaux G, Eidi H, David MO, Tzavara E, Giros B, Exley C, et al. Highly delayed systemic translocation of aluminum-based adjuvant in CD1 mice following intramuscular injections. *J Inorg Biochem* 2015;152:199–205

156. Hutchison, S., Benson, R. A., Gibson, V. B., Pollock, A. H., Garside, P., Brewer, J. M. Antigen depot is not required for alum adjuvanticity. *FASEB J*, 2012,26, 1272-1279
157. Exley C, Siesjö P, Eriksson H: The immunobiology of aluminium adjuvants: how do they really work? *Trends Immunol* 2010, 31:103-109
158. Crépeaux G, Eidi H, David MO, Baba-Amer Y, Tzavara E, Giros B, et al. Non-linear dose-response of aluminium hydroxide adjuvant particles: selective low dose neurotoxicity. *Toxicology* 2017;375:48-57
159. Fatemi SJA, Kadir FHA, Moore GR. Aluminium transport in blood serum. Binding of aluminium by human transferrin in the presence of human albumin and citrate. *Biochem. J*; 1991,. 280: 527-532
160. Freitas RA Jr. *Nanomedicine, Volume I: Basic Capabilities*, Landes Bioscience, Georgetown, TX, 1999
161. Mirza A, King A, Troakes C, Exley C. The identification of aluminum in human brain tissue using Lumogallion and fluorescence microscopy. *J Alzheimers Dis*. 2016 Oct 18;54(4):1333-1338
162. Lee GR, Bithell TC, Foerster J, Athens JW, Lukens JN, eds., *Wintrobe's Clinical Hematology*, Ninth Edition, Lea & Febiger, Philadelphia PA, 1993
163. Hamilton JA, Byrne R, Whitty G: Particulate adjuvants can induce macrophage survival, DNA synthesis, and a synergistic, proliferative response to GM-CSF and CSF-1. *J Leukoc Biol* 2000, 67:226–232.
164. Morefield GL, Sokolovska A, Jiang D, HogenEsch H, Robinson JP, Hem SL. Role of aluminum-containing adjuvants in antigen internalization by dendritic cells in vitro. *Vaccine* 2005, 23:1588–1595
165. Wang XY, Yao X, Wan YM, Wang B, Xu JQ, Wen YM. Responses to multiple injections with alum alone compared to injections with alum adsorbed to proteins in mice. *Immunol Lett* 2012, 149:88-92
166. Willhite CC, Karyakina NA, Yokel RA, Yenugadhathi N, Wisniewski TM, Arnold IM, Momoli F, Krewski D. Systematic review of potential health risks posed by pharmaceutical, occupational and consumer exposures to metallic and nanoscale aluminum, aluminum oxides, aluminum hydroxide and its soluble salts. *Crit Rev Toxicol*. 2014 Oct;44 Suppl 4:1-80. doi: 10.3109/10408444.2014.934439.
167. Petrik MS, Wong MC, Tabata RC, Garry RF, Shaw CA. Aluminum adjuvant linked to Gulf War illness induces motor neuron death in mice. *Neuromolecular Med* 2007; 9: 83-100.
168. Shaw CA, Petrik MS. Aluminum hydroxide injections lead to motor deficits and motor neuron degeneration. *J. Inorg. Biochem* 2009; 103: 1555-62.
169. Shaw CA, Li Y, Tomljenovic L. Administration of aluminium to neonatal mice in vaccine-relevant amounts is associated with adverse long term neurological outcomes. *J Inorg Biochem*. 2013 Nov;128:237-44. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2013.07.022. Epub 2013 Jul 19.
170. Sheth SKS, Li Y, Shaw CA. Is exposure to aluminium adjuvants associated with social impairments in mice? A pilot study. *J Inorg Biochem*. 2018; 181: 96-103.
171. Inbar R, Weiss R, Tomljenovic L, Arango MT, Deri Y, Shaw CA, et al. Behavioral abnormalities in female mice following administration of aluminum adjuvants and the human papillomavirus (HPV) vaccine Gardasil. *Immunol Res* 2017; 65(1): 136-49.
172. Kivity S, Arango MT, Molano-Gonzalez N, Blank M, Shoenfeld Y. Phospholipid supplementation can attenuate vaccine-induced depressive-like behavior in mice. *Immunol Res* 2017;65(1):99-105.
173. Lujan L, Perez M, Salazar E, Alvarez N, Gimeno M, Pinczowski P, et al. Autoimmune/autoinflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA syndrome) in commercial sheep. *Immunol Res* 2013;56(2-3):317-24.
174. González JM, Figueras L, Ortega ME, Lozano M, de Arcaute MR, Royo R, Cebrián LM, Ferrer LM, Fariñas F, de Jalón JA, De las Heras M. Possible adverse reactions in sheep after vaccination with inactivated BTV vaccines. *Vet Rec*. 2010 Jun 12;166(24):757-8. doi: 10.1136/vr.b4849.
175. Asín J, Pascual-Alonso M, Pinczowski P, Gimeno M, Pérez M, Muniesa A, de Pablo L, de Blas I, Lacasta D, Fernández A, de Andrés D, María G, Reina R, Luján L. Cognition and behavior in sheep repetitively inoculated with aluminum adjuvant-containing vaccines or aluminum adjuvant only. *Pharmacol Res*. 2018b Nov 2. pii: S1043-6618(18)31373-2. doi: 10.1016/j.phrs.2018.10.019.
176. Landay AL, Jessop C, Lennette ET, Levy JA. Chronic fatigue syndrome: clinical condition associated with immune activation. *Lancet*. 1991;338(8769):707-12
177. Hornig M, Montoya JG, Klimas NG, et al. Distinct plasma immune signatures in ME/CFS are present early in the course of illness. *Sci Adv*. 2015 Feb;1(1). pii: e1400121
178. D'Mello C, Le T, Swain MG. Cerebral microglia recruit monocytes into the brain in response to tumor necrosis Factor alpha signaling during peripheral organ inflammation. *J Neurosci*. 2009 Feb 18;29(7):2089-102. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3567-08.2009.
179. D'Mello C, Swain MG. Liver-brain interactions in inflammatory liver diseases: implications for fatigue and mood disorders. *Brain Behav Immun*. 2014 Jan;35:9-20. doi: 10.1016/j.bbi.2013.10.009.

180. Seubert A, Monaci E, Pizza M, O'Hagan DT, Wack A. The adjuvants aluminum hydroxide and MF59 induce monocyte and granulocyte chemoattractants and enhance monocyte differentiation toward dendritic cells. *J Immunol.* 2008 Apr 15;180(8):5402-12.
181. Gu L, Tseng S, Horner RM, Tam C, Loda M, Rollins BJ. Control of TH2 polarization by the chemokine monocyte chemoattractant protein-1. *Nature.* 2000 Mar 23;404(6776):407-11.
182. Hornung V, Bauernfeind F, Halle A, Samstad EO, Kono H, Rock KL, Fitzgerald KA, Latz E. Silica crystals and aluminum salts activate the NALP3 inflammasome through phagosomal destabilization. *Nat Immunol* 2008, 9:847–856
183. Zhang Z, Ma X, Xia Z, Chen J, Liu Y, Chen Y, Zhu J, Li J, Yu H, Zong Y, Lu G. NLRP3 inflammasome activation mediates fatigue-like behaviors in mice via neuroinflammation. *Neuroscience.* 2017 Sep 1;358:115-123. doi: 10.1016/j.neuroscience.2017.06.048.
184. Raghavendra V, Tanga FY, DeLeo JA. Complete Freund's adjuvant-induced peripheral inflammation evokes glial activation and proinflammatory cytokine expression in the CNS. *Eur J Neurosci.* 2004 Jul;20(2):467-73.
185. Min SS, Quan HY, Ma J, Han JS, Jeon BH, Seol GH. Chronic brain inflammation impairs two forms of long-term potentiation in the rat hippocampal CA1 area *Neurosci Lett*, 456 (2009), pp. 20-24,
186. Li Q, Qi F, Yang J, Zhang L, Gu H, Zou J, Yuan Q, Yao Z. Neonatal vaccination with bacillus Calmette–Guérin and hepatitis B vaccines modulates hippocampal synaptic plasticity in rats. *Journal of Neuroimmunology* Volume 288, 15 November 2015, Pages 1-12
187. Kanda N, Tamaki K. Estrogen enhances immunoglobulin production by human PBMCs. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103:282–8.
188. Spellberg B, Edwards JE. Type 1/Type 2 Immunity in Infectious Diseases. *Clinical Infectious Diseases* 2001; 32:76–102
189. Assaf AM, Al-Abbassi R, Al-Binni M. Academic stress-induced changes in Th1- and Th2-cytokine response *Saudi Pharmaceutical Journal* 25 (2017) 1237–1247
190. Rook GAW, Zumla A. Gulf War syndrome: is it due to a systemic shift in cytokine balance towards a Th2 profile? *Lancet* 1997;349:1831–3.
191. Hornig M, Gottschalk G, Peterson DL, Knox KK, Schultz AF, Eddy ML, Che X, Lipkin WI. Cytokine network analysis of cerebrospinal fluid in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome. *Mol Psychiatry.* 2016 Feb;21(2):261-9.
192. Wendeln AC, Degenhardt K, Kaurani L, Gertig M, Ulas T, Jain G, Wagner J, Häsler LM, Wild K, Skodras A, Blank T, Staszewski O, Datta M, Centeno TP, Capece V, Islam MR, Kerimoglu C, Staufenbiel M, Schultze JL, Beyer M, Prinz M, Jucker M, Fischer A, Neher JJ. Innate immune memory in the brain shapes neurological disease hallmarks. *Nature.* 2018 Apr;556(7701):332-338. doi:10.1038/s41586-018-0023-4.
193. Blok BA, Arts RJ, van Crevel R, Benn CS, Netea MG. Trained innate immunity as underlying mechanism for the long-term, nonspecific effects of vaccines. *J Leukoc Biol.* 2015 Sep;98(3):347-56. doi: 10.1189/jlb.5RI0315-096R.
194. Buffen K, Oosting M, Quintin J, Ng A, Kleinnijenhuis J, Kumar V, van de Vosse E, Wijmenga C, van Crevel R, Oosterwijk E, Grotenhuis AJ, Vermeulen SH, Kiemeneij LA, van de Veerdonk FL, Chamilos G, Xavier RJ, van der Meer JW, Netea MG, Joosten LA (). Autophagy controls BCG-induced trained immunity and the response to intravesical BCG therapy for bladder cancer. *PLoS pathogens* 2014; 10(10), e1004485. doi:10.1371/journal.ppat.1004485
195. Cunningham C (2013) Microglia and neurodegeneration: the role of systemic inflammation. *Glia* 61:71–90
196. Arts RJW, Joosten LAB, Netea MG. The potential role of trained immunity in autoimmune and autoinflammatory disorders. *Front Immunol.* 2018 Feb 20;9:298. doi: 10.3389/fimmu.2018.00298.
197. Proal A, Marshall T. Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome in the era of the human microbiome: persistent pathogens drive chronic symptoms by interfering with host metabolism, gene expression, and immunity. *Front Pediatr.* 2018 Dec 4;6:373. doi: 10.3389/fped.2018.00373.
198. Cuervo AM, Macian F. Autophagy and the immune function in aging. *Curr. Opin. Immunol.* 2014; 29:97-104.
199. Lapaquette P, Glasser AL, Huett A, Xavier RJ, Darfeuille-Michaud A. Crohn's disease-associated adherent-invasive E. coli are selectively favoured by impaired autophagy to replicate intracellularly. *Cell Microbiol.* (2010) 12:99–113. doi: 10.1111/j.1462-5822.2009.01381.x
200. Brest P, Lapaquette P, Souidi M, Lebrigand K, Cesaro A, Vouret-Craviari V, Mari B, Barbry P, Mosnier JF, Hébuterne X, Harel-Bellan A, Mograbi B, Darfeuille-Michaud A, Hofman P. A synonymous variant in IRGM alters a binding site for miR-196 and causes deregulation of IRGM-dependent xenophagy in Crohn's disease. *Nat Genet.* 2011 Mar;43(3):242-5. doi: 10.1038/ng.762.
201. Patel KK, Stappenbeck TS. Autophagy and intestinal homeostasis. *Annu Rev Physiol.* (2013) 75:241–62. doi: 10.1146/annurev-physiol-030212-183658
202. Chérin P, Gherardi RK, Pennaforte JL. Macrophagic myofasciitis: improvement with antibiotic therapy. *J Rheumatol.* 1999 Oct;26(10):2286-7.
203. ANSM. Vaccins anti-HPV et risque de maladies autoimmunes: étude pharmacoépidémiologique Rapport final 2015. https://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/ea5e12b9c18ae41c2b8163ae5d7cb6f3.pdf

204. Lerner A. Aluminum as an adjuvant in Crohn's disease induction. *Lupus*. 2012 Feb;21(2):231-8. doi: 10.1177/0961203311430090.
205. Esquerre N, Basso L, Dubuquoy C, Djouina M, Chappard D, Blanpied C, Desreumaux P, Vergnolle N, Vignal C, Body-Malapel M. Aluminum ingestion promotes colorectal hypersensitivity in rodents. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2018 Sep 20;7(1):185-196. doi: 10.1016/j.jcmgh.2018.09.012.
206. Gao X, Cao Q, Cheng Y, Zhao D, Wang Z, Yang H, Wu Q, You L, Wang Y, Lin Y, Li X, Wang Y, Bian JS, Sun D, Kong L, Birnbaumer L, Yang Y. Chronic stress promotes colitis by disturbing the gut microbiota and triggering immune system response. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018 Mar 27;115(13):E2960-E2969. doi:10.1073/pnas.1720696115.
207. Oh JZ, Ravindran R, Chassaing B, Carvalho FA, Maddur MS, Bower M, Hakimpour P, Gill KP, Nakaya HI, Yarovinsky F, Sartor RB, Gewirtz AT, Pulendran B. TLR5-mediated sensing of gut microbiota is necessary for antibody responses to seasonal influenza vaccination. *Immunity*. 2014 Sep 18;41(3):478-492.
208. Yuan L, Tsai PCC, Bell K. Do gut microbiota mediate adverse vaccine reaction? *Ann Clin Trials Vaccines Res*. 2018;2(2):11-12.
209. Miyoshi K, Miyamura T, Kobayashi Y, Itakura T, Nishijo K. Hypergammaglobulinemia by prolonged adjuvanticity in man disorders developed after augmentation mammoplasty. *Jpn Med J (1964)* 2122:9-14.
210. Hajdu SD, Agmon-Levin N, Shoenfeld Y. Silicone and autoimmunity. *Eur J Clin Invest*. 2011 Feb;41(2):203-11. doi: 10.1111/j.1365-2362.2010.02389.x.
211. Colaris MJL, de Boer M, van der Hulst RR, Cohen Tervaert JW. Two hundreds cases of ASIA syndrome following silicone implants: a comparative study of 30 years and a review of current literature. *Immunol Res*. 2017 Feb;65(1):120-128. doi: 10.1007/s12026-016-8821-y.
212. Colafrancesco S, Perricone C, Priori R, Valesini G, Shoenfeld Y. Sjögren's syndrome: another facet of the autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA). *J Autoimmun*. 2014 Jun;51:10-6. doi: 10.1016/j.jaut.2014.03.003.
213. Arango MT, Kivity S, Shoenfeld Y. Is narcolepsy a classical autoimmune disease? *Pharmacol Res*. 2015 Feb;92:6-12. doi: 10.1016/j.phrs.2014.10.005.
214. Watad A, Quresma M, Brown S, Cohen Tervaert JW, Rodríguez-Pint I, Cervera R, Perricone C, Shoenfeld Y. Autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants (Shoenfeld's syndrome) - An update. *Lupus*. 2017 Jun;26(7):675-681. doi: 10.1177/0961203316686406.
215. Colafrancesco S, Perricone C, Tomljenovic L, Shoenfeld Y. Human papilloma virus vaccine and primary ovarian failure: another facet of the autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants. *Am J Reprod Immunol*. 2013 Oct;70(4):309-16. doi: 10.1111/aji.12151.
216. Butnaru D, Shoenfeld Y. Adjuvants and lymphoma risk as part of the ASIA spectrum. *Immunol Res*. 2015 Feb;61(1-2):79-89. doi: 10.1007/s12026-014-8622-0.
217. Morris G, Maes M. Mitochondrial dysfunctions in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome explained by activated immuno-inflammatory, oxidative and nitrosative stress pathways. *Metab Brain Dis*. 2014; 29:19-36
218. Sotzny F, Blanco J, Capelli E, Castro-Marrero J, Steiner S, Murovska M, Scheibenbogen C; European Network on ME/CFS (EUROMENE). Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome - Evidence for an autoimmune disease. *Autoimmun Rev*. 2018 Jun;17(6):601-609. doi: 10.1016/j.autrev.2018.01.009.
219. Scanzi F, Andreoli L, Martinelli M, Taraborelli M, Cavazzana I, Carabellese N, Ottaviani R, Allegri F, Franceschini F, Agmon-Levin N, Shoenfeld Y, Tincani A. Are the autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA) and the undifferentiated connective tissue disease (UCTD) related to each other? A case-control study of environmental exposures. *Immunol Res*. 2017 Feb;65(1):150-156. doi: 10.1007/s12026-017-8912-4.
220. Scheibenbogen C, Loebel M, Freitag H, Krueger A, Bauer S, Antelmann M, Doehner W, Scherbakov N, Heidecke H, Reinke P, Volk HD, Grabowski P. Immunoabsorption to remove β 2 adrenergic receptor antibodies in Chronic Fatigue Syndrome CFS/ME. *PLoS One*. 2018 Mar 15;13(3):e0193672. doi: 10.1371/journal.pone.0193672.
221. Fluge Ø, Risa K, Lunde S, Alme K, Rekeland IG, Sapkota D, Kristoffersen EK, Sørland K, Bruland O, Dahl O, Mella O. B-Lymphocyte Depletion in Myalgic Encephalopathy/ Chronic Fatigue Syndrome. An Open-Label Phase II Study with Rituximab Maintenance Treatment. *PLoS One*. 2015 Jul 1;10(7):e0129898. doi: 10.1371/journal.pone.0129898.
222. Blitshteyn S, Brook J. Postural tachycardia syndrome (POTS) with anti-NMDA receptor antibodies after human papillomavirus vaccination. *Immunol Res*. 2017 Feb;65(1):282-284. doi: 10.1007/s12026-016-8855-1.
223. Jara LJ, García-Collinot G, Medina G, Cruz-Dominguez MDP, Vera-Lastra O, Carranza-Muleiro RA, Saavedra MA. Severe manifestations of autoimmune syndrome induced by adjuvants (Shoenfeld's syndrome). *Immunol Res*. 2017 Feb;65(1):8-16. doi: 10.1007/s12026-016-8811-0.
224. Lerner AM, Beqaj SH, Deeter RG, Fitzgerald JT. Valacyclovir treatment in Epstein-Barr virus subset chronic fatigue syndrome: thirty-six months follow-up. *In Vivo*. 2007;21(5):707-13.

225. Sukocheva OA, Marmion BP, Storm PA, Lockhart M, Turra M, Graves S. Long-term persistence after acute Q fever of non-infective *Coxiella burnetii* cell components, including antigens. *QJM*. 2010;103(11):847-63.
226. Chia J, Chia A, Voeller M, Lee T, Chang R. Acute enterovirus infection followed by myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome (ME/CFS) and viral persistence. *J Clin Pathol*. 2010 Feb;63(2):165-8.
227. Middelveen MJ, Sapi E, Burke J, Filush KR, Franco A, Fesler MC, Stricker RB. Persistent *Borrelia* Infection in Patients with Ongoing Symptoms of Lyme Disease. *Healthcare (Basel)*. 2018 Apr 14;6(2). pii: E33. doi: 10.3390/healthcare6020033.
228. Lorusso L, Mikhaylova SV, Capelli E, Ferrari D, Ngonga GK, Ricevuti G. Immunological aspects of chronic fatigue syndrome. *Autoimmun Rev*. 2009 Feb;8(4):287-91. doi: 10.1016/j.autrev.2008.08.003
229. Papadopoulos A. S., Cleare A. J. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysfunction in chronic fatigue syndrome. *Nature Reviews Endocrinology*. 2012;8(1):22–32. doi: 10.1038/nrendo.2011.153.
230. Wyller VB, Helland IB Relationship between autonomic cardiovascular control, case definition, clinical symptoms, and functional disability in adolescent chronic fatigue syndrome: an exploratory study. *Biopsychosoc Med*. 2013 Feb 7; 7(1):5.
231. Fluge Ø, Mella O, Bruland O, Risa K, Dyrstad SE, Alme K, Rekeland IG, Sapkota D, Røslund GV, Fosså A, Ktoridou-Valen I, Lunde S, Sørland K, Lien K, Herder I, Thürmer H, Gotaas ME, Baranowska KA, Bohnen LM, Schäfer C, McCann A, Sommerfelt K, Helgeland L, Ueland PM, Dahl O, Tronstad KJ. Metabolic profiling indicates impaired pyruvate dehydrogenase function in myalgic encephalopathy/chronic fatigue syndrome. *JCI Insight*. 2016 Dec 22;1(21):e89376. doi: 10.1172/jci.insight.89376. PMC5161229.
232. Morris G, Anderson G, Maes M. Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Hypofunction in Myalgic Encephalomyelitis (ME)/Chronic Fatigue Syndrome (CFS) as a Consequence of Activated Immune-Inflammatory and Oxidative and Nitrosative Pathways. *Mol Neurobiol*. 2017 Nov;54(9):6806-6819. doi: 10.1007/s12035-016-0170-2.
233. Naviaux RK, Naviaux JC, Li K, Bright AT, Alaynick WA, Wang L, Baxter A, Nathan N, Anderson W, Gordon E. Metabolic features of chronic fatigue syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 Sep 13;113(37):E5472-80. doi: 10.1073/pnas.1607571113.
234. WHO, Weekly Epidemiological Record, 79(29) Global Advisory Committee on Vaccine Safety, 2004, p. 269.
235. Glanz JM, Newcomer SR, Daley MF, McClure DL, Baxter RP, Jackson ML, et al. Cumulative and episodic vaccine aluminum exposure in a population-based cohort of young children. *Vaccine* 2015;33(48):6736-44.
236. Masson JD, Thibaudon M, Bélec L, Crépeaux G. Calcium phosphate: a substitute for aluminum adjuvants? *Expert Rev Vaccines*. 2017 Mar;16(3):289-299. doi: 10.1080/14760584.2017.1244484.
237. Didierlaurent AM, Laupèze B, Di Pasquale A, Hergli N, Collignon C, Garçon N. Adjuvant system AS01: helping to overcome the challenges of modern vaccines. *Expert Rev Vaccines*. 2017 Jan;16(1):55-63.
238. Leuthard DS, Kündig TM, Johansen P. Microcrystalline Tyrosine: an appropriate alternative to aluminium as adjuvant in vaccines and allergen immunotherapy. *EMJ Allergy Immunol*. 2018;3[1]:74-75.