

Médicaments et vaccins : à quoi servent leurs nanoparticules ?

Compte rendu du forum NanoRESP du 20 mai 2019 à la Maison de la Chimie

Notes préliminaires

La séance, qui a réuni une cinquantaine de personnes, présentait trois exposés suivis chacun d'une discussion. Un tour de table final de tous les participants a duré près de 45 mn. Ce tour de table n'a pas été retranscrit, sauf le propos final de Romain Gherardi qui entrainait en résonance avec ses propos précédents.

Par principe, certaines prises de parole n'ont pas été reprises dans ce compte rendu dès lors qu'elles rapportaient des propos de personnes absentes et qu'elles ne pouvaient pas être vérifiées par ailleurs sans recherches approfondies.

Les références indiquées sont tirées des présentations des intervenants et d'ajouts réalisés à l'occasion de la rédaction du compte rendu.

Les nanotechnologies dans l'industrie pharmaceutique

Mostafa Nakach, ingénieur en génie pharmaceutique, chef de la formulation et du développement des procédés, Sanofi

Les nanotechnologies

Les nanotechnologies comprennent tous les procédés qui manipulent délibérément la matière à une échelle de 1 à 100 nanomètres (nm) pour lui apporter de nouvelles fonctionnalités. Dans le cas des produits pharmaceutiques, ces fonctionnalités visent à augmenter leur valeur thérapeutique.

La nanoéchelle a pour conséquence de modifier les propriétés des objets par rapport à la microéchelle. Pour commencer, la réduction de la taille d'un objet permet d'en augmenter considérablement la surface d'échanges : une particule sphérique de 100 microns (μm) a une surface de 31 400 micromètres carrés (μm^2) ; si on la divise en 1 000 sphères de 10 microns, la surface totale atteint de 314 000 μm^2 . En fractionnant ces dernières en sphères de 200 nm (soit 0,2 μm), on en obtient 125 millions représentant 15,7 $10^6 \mu\text{m}^2$, une surface d'échanges augmentée de 500 fois par rapport à la particule initiale !

En second lieu, les nanoparticules ont des propriétés spécifiques. Leur point de fusion, la fluorescence, la conductivité, la perméabilité, la réactivité du produit, etc., diffèrent des propriétés de la microéchelle. Par exemple, des nanoparticules d'or apparaissent rouges ou pourpres. En effet, le mouvement des électrons est alors confiné, si bien que la lumière interfère différemment avec les atomes d'or. C'est vraiment en dessous de 100 nm que ces propriétés nanospécifiques apparaissent, d'où l'origine de cette limite dans la définition des nanomatériaux.

Pourquoi utiliser les nanotechnologies dans l'industrie pharmaceutique ?

Les recherches pharmaceutiques fournissent des principes actifs généralement insolubles dans l'eau (hydrophobes). Ils sont en conséquence très faiblement biodisponibles. Des systèmes d'apport (« délivrance » ou « adressage ») de nano-médicaments (*Nano-drug delivery systems*), qui renferment la matière active ou qui en sont eux-mêmes formés, permettent de s'affranchir de cette limite. En fonction de la matrice moléculaire qui les compose, on distingue les nanocristaux, les nanoparticules lipidiques telles que les liposomes, les nanoparticules polymériques, les nanoparticules conjuguées (associant un nanomatériau et une ou plusieurs molécules) et les nanoparticules inorganiques (nanotubes, or, silice, phosphate de calcium...).

Certains de ces nanomatériaux sont injectables en quantité plus importante que la formulation classique. Ils permettent aussi de conserver le principe actif plus longtemps dans la circulation sanguine en le protégeant du métabolisme, d'atteindre un tissu particulier en greffant à la surface des nanoparticules des molécules reconnaissant des molécules cibles, de le diffuser de façon contrôlée au niveau de la cible cellulaire, et de réduire les effets toxiques secondaires, notamment ceux de la chimiothérapie anticancéreuse.

Les nanotechnologies pour améliorer la valeur pharmaceutique des médicaments

La classification biopharmaceutique distingue quatre classes de médicaments selon leur solubilité dans l'eau (quantité d'eau nécessaire pour dissoudre 1 gramme de soluté) et leur perméabilité (leur absorption par des cellules). Une substance médicamenteuse est considérée comme « très soluble » lorsque la plus forte dose est soluble dans au plus 250 ml d'eau (à pH de 1 à 7,5 et à 37 ° C). Elle est considérée comme « hautement perméable » lorsque l'absorption par des cellules humaines est supérieure à 90 % de la dose administrée.

L'industrie vise à obtenir des produits très solubles et très perméables (de classe 1). Si le produit brut est de classe 2 (faible solubilité, haute perméabilité), elle essaie de le ramener en classe 1 en changeant la formulation, par exemple en préparant par broyage des nanocristaux de principe actif qui vont se dissoudre assez facilement. S'il est de classe 3 (forte solubilité, faible perméabilité), on ajoute dans la formulation une substance qui augmente l'absorption cellulaire de la matière active. S'il est de classe 4 (faibles solubilité et perméabilité), on associe les deux procédés précédents pour adapter la formulation.

Exemple des nanocristaux

Les nanocristaux sont des particules de 100 à 500 nm constituées de molécules de principe actif entourées d'une fine couche (5 nm) d'un excipient stabilisant¹. En comparaison de formulations standards, dont la dose injectable est limitée par la quantité d'excipients tolérée par l'organisme, on peut en injecter par voie parentérale (autre que digestive) une quantité plus importante. C'est une forte valeur ajoutée pour augmenter l'efficacité thérapeutique. Un très grand nombre de nanocristaux vont interagir avec la même zone cellulaire qu'un seul microcristal de 10 microns.

Lors d'une administration orale, on cherche à augmenter la vitesse de dissolution de la particule dans l'estomac, qui est proportionnelle à sa surface spécifique (selon l'équation de Noyes-Whitney). Les nanocristaux sont là aussi intéressants.

1 R.H. Müller, S. Gohla, C.M. Keck, State of the art of nanocrystals – Special features, production, nanotoxicology aspects and intracellular delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2011, 78, 1–9.

Exemple des nanoparticules polymériques

Pour que les nanoparticules aient le temps d'atteindre leur tissu cible, il est nécessaire d'accroître leur durée de vie dans la circulation, notamment en évitant leur capture par les macrophages au niveau du foie et de la rate. Pour cela, la surface des nanoparticules est recouverte de poly(éthylène glycol) (PEG). Ces nanoparticules « PEGylées », ont alors un caractère « furtif » car elles ne sont plus reconnues par les macrophages. De plus, ces particules peuvent être fonctionnalisées en vue de cibler un type de cellules et d'y libérer le principe actif (« libération contrôlée »).

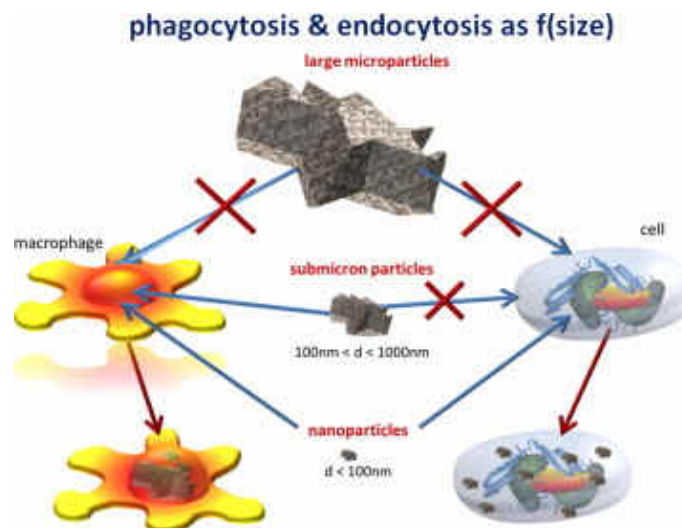
La fabrication des nano-systèmes de délivrance de médicaments

Deux procédés de fabrication sont utilisés. Dans la méthode *bottom-up*, on prépare une solution organique dans laquelle on solubilise le principe actif ; on ajoute des surfactants, des polymères, et on précipite le produit. On enlève enfin le solvant par séchage.

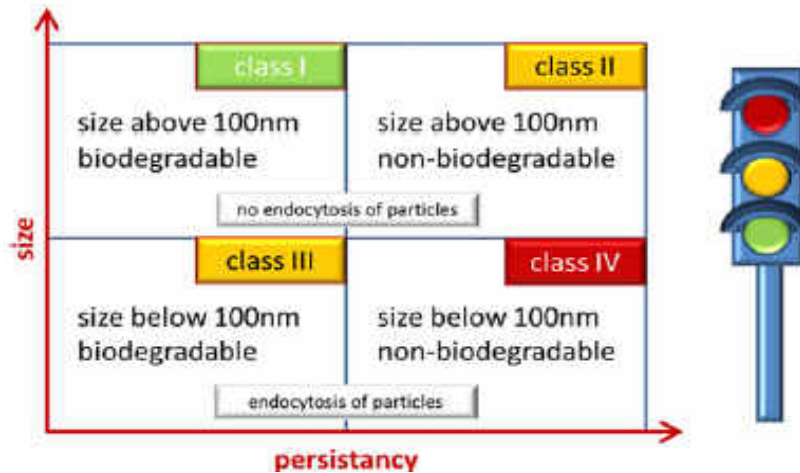
Dans la méthode *top-down*, de loin la plus utilisée, des microparticules sont réduites par broyage à l'aide d'énergie, puis on ajoute un dispersant et on sèche. La combinaison des deux méthodes permet d'affiner la distribution de tailles des particules souhaitées.

La toxicité des nanomédicaments dépend de leur taille et de leur persistance dans les cellules

Des chercheurs allemands ont proposé un « système de classification nanotoxicologique » fondé sur la taille des particules, leurs interactions avec les cellules humaines et leur biodégradabilité. Selon ce système, les particules de plus de 100 nm, qu'elles soient ou non biodégradables, ne sont pas captées par les macrophages et par les cellules ; elles sont vite excrétées ou éliminées. Celles dont la taille est entre 100 nm et un micron sont captées par les macrophages (dans le foie, la rate et les poumons) mais pas par les cellules, et leur toxicité potentielle est limitée.



Nanotoxicological Classification System (NCS)



Source: Rainer H. Müller *et al.*, 2011, note 1.

Si les particules sont de taille inférieure à 100 nm, elles sont captées à la fois par les macrophages et par les cellules par le processus d'endocytose. Elles peuvent ainsi persister dans l'organisme. Leur toxicité dépend alors de leur biodégradabilité. On tendra ainsi à préférer les nanoparticules polymériques biodégradables et les nanocristaux biodégradables.

Discussion

Romain Gherardi

Les nanoparticules ont tendance naturellement à s'agglomérer. Comment suivez-vous l'état des particules pharmaceutiques injectées de façon à évaluer si elles restent dans leur état initial ou pas ?

Mostafa Nakach

C'est une très bonne question. Nous souhaitons évidemment que nos particules restent dans leur état initial pendant leur stockage ou après leur administration. Si elles venaient à s'agglomérer, elles perdraient en efficacité. Des excipients de type tensioactifs et polymères reconnus sans danger par les autorités de santé protègent chaque nanoparticule et inhibent leur attraction mutuelle. Des tests de formulation sont réalisés pour démontrer que les particules ne s'agglomèrent pas pendant le stockage du produit ou une fois administrées.

Romain Gherardi

Vous avez indiqué que les particules pharmaceutiques étaient souvent insolubles. La sécurité de leur emploi passe par la compréhension de ce qu'elles deviennent sur le long terme. Quelles sont les mesures de sécurité pour cela ?

Mostafa Nakach

Je n'ai pas été clair. L'objectif est de rendre plus solubles les particules organiques insolubles, notamment grâce aux nanotechnologies. Par exemple, si on réduit la taille des particules, elles deviennent solubles. La plupart des principes actifs sont organiques et ils finissent par se solubiliser en quelques heures. En revanche, les particules inorganiques sont plus difficiles à solubiliser.

Frédéric Baud (professeur, université de Paris)

Je reviens sur la très faible solubilité des médicaments. Le « LogP » est une mesure du rapport des concentrations d'une substance dans l'octanol et dans l'eau. S'il est très élevé, la substance est bien plus soluble dans l'octanol que dans l'eau, elle est donc lipophile et hydrophobe ; inversement, un LogP négatif indique que la substance est soluble dans l'eau (hydrophile). Or on sait en galénique que les médicaments à logP très élevés, qui sont donc lipophiles, vont être séquestrés dans la graisse ou les membranes cellulaires et perdre leur effet thérapeutique. Quelle est la tendance générale pour gérer les nanomédicaments selon ce critère ?

Mostafa Nakach

Un produit hydrophobe n'a pas nécessairement un logP très élevé, et inversement. Pour rendre le produit administrable, nous utilisons un arbre de décision qui prend en compte les différents paramètres en jeu pour aller soit vers les nanocristaux, soit vers les liposomes, soit vers les émulsions, soit vers les nanomatériaux polymériques, etc.

Arnaud Pallotta (EA 3452 CITHEFOR, Nancy)

Comment faites-vous techniquement pour suivre le devenir des particules dans l'organisme alors qu'elles ont une demi-vie de quelques heures et qu'elles sont captées par les macrophages et les cellules ?

Mostafa Nakach

Il n'y a pas vraiment besoin d'assurer un suivi des nanoparticules submicroniques d'origine organique car elles finissent par se solubiliser. On s'assure en laboratoire qu'elles ont des caractéristiques qui les rendent biocompatibles. Et des essais précliniques puis des tests cliniques sont menés, sans compter la pharmacovigilance.

Armand Masion (CNRS-Cerege)

Je reviens sur la taille limite de 100 nm. De mon point de vue, c'est une taille « magique » : même si elle correspond à la réglementation, à R-Nano par exemple, elle ne correspond pas d'un point de physicochimie à des modifications structurales. Celles-ci interviennent plutôt en dessous de 30 nm. De même, la solubilité de nanoparticules organiques est très difficile à prévoir dès lors que vous modifiez la structure de leur surface. Il y a alors des marges d'erreur énormes de la cinétique de dissolution.

Mostafa Nakach

Il est bien établi que les particules changent de propriétés physiques en dessous de 100 nm. Et, selon la littérature, il y a bien une corrélation entre la définition des nanomatériaux et leur toxicité. Concernant la solubilité, je ne parle pas de la solubilité à l'équilibre mais de la vitesse de dissolution. Les données existent dans la littérature. Les sociétés qui ont commercialisé

des produits sur le marché ont dû fournir des données de vitesse de dissolution fiables, revues par les autorités de santé en Europe ou aux États-Unis.

Pouvez-vous revenir sur les excipients utilisés ? Le fait d'utiliser des nanoparticules réduit-il la quantité d'excipient ?

Mostafa Nakach

Notre boîte à outils fait appel à des excipients standards à l'état moléculaire, hydrophiles et solubles, et reconnus comme « safe » (lactose, cellulose,...). Leur couche est très fine et leur quantité limitée au maximum.

Marie-Laure Parisot (Agir pour l'environnement)

Il y a quand même la question du dioxyde de titane qui est posée.

Mostafa Nakach

Je ne peux pas vous répondre car le dioxyde de titane ne relève pas de mon domaine de compétences. En effet, je n'ai travaillé que sur des nanoparticules submicroniques à usage thérapeutique.

Fabienne Maleysson, Que choisir

C'est un sujet important. L'UFC Que Choisir a reçu énormément de courrier de lecteurs inquiets ou interrogatifs sur le dioxyde de titane. Quand on souffre d'une maladie chronique, la dose ingérée peut être importante. Or on constate un silence troublant de l'industrie pharmaceutique alors que plus de 4 000 médicaments contiennent du dioxyde de titane comme colorant.

Les nanoparticules, des matières premières pharmaceutiques comme les autres ?

Igor Clarot, Ariane BOUDIER, Arnaud PALLOTTA, unité CITHEFOR (Cibles Thérapeutiques Formulation), Faculté de pharmacie de Nancy

Les nanoparticules constituent un outil très puissant pour réaliser des avancées médicales. Par exemple, des nanoparticules d'or sont testées en phases cliniques pour détecter des biomarqueurs (test de grossesse, maladies cardiovasculaires, cancers), des agents infectieux (*Escherichia coli*, *Salmonella*, virus d'Ebola...), ou pour la photothérapie anticancéreuse. Des nanodispositifs médicaux (implants, cathéters, organes artificiels) utilisant des nanoparticules inorganiques ou des surfaces nanostructurées peuvent être conçus pour obtenir des propriétés mécaniques, biomimétiques, des matériaux bioabsorbables ou pour libérer des molécules actives². Et la vectorisation vers des cibles thérapeutiques par des nanoparticules est bien en marche.

Le problème, c'est que le contrôle de qualité des nanoparticules utilisées reste trop peu développé pour que l'on sache ce qu'elles deviennent une fois dans l'organisme et si elles ne pourraient pas porter des risques cachés.

2 A. Pallotta *et al.*, Nanotechnologies for Medical Devices: Potentialities and Risks. *ACS Applied Bio Materials*, 2019, 2, 1-13.

Nous avons conçu un projet de start-up, nommée NanoControl, pour porter cette idée, mais il reste trop peu soutenu pour voir le jour pour l'instant. Il s'agit d'obtenir des nanoparticules de haute qualité, soit par nous-mêmes, soit en contrôlant la qualité de nanoparticules fournies par d'autres intervenants sur le marché. Pour cela, nous proposons de séparer les différentes impuretés de façon à conférer une pureté aux nanoparticules.

Comment la qualité des nanoparticules pharmaceutiques est-elle contrôlée ?

La qualité des nanoparticules est actuellement contrôlée selon les connaissances et les normes de 9 caractéristiques physico-chimiques du domaine des matériaux : taille et distribution de tailles, composition chimique, structure cristalline, forme, charge de surface, surface spécifique, état d'agrégation/agglomération, chimie de surface, solubilité. Ces paramètres sont analysés selon différentes méthodes plus ou moins bien définies et efficaces.

Nous proposons d'y ajouter la caractérisation des impuretés des échantillons de nanoparticules. Il s'agit de tout ce qui se trouve dans l'échantillon testé, en dehors des nanoparticules elles-mêmes. Ces impuretés sont soit des intermédiaires de synthèse qui n'ont pas réagi, soit des résultats de réactions parasites de la synthèse, soit des produits de dégradation.

Le contrôle des médicaments

Selon la Pharmacopée européenne³, un ouvrage réglementaire obligatoire pour le contrôle des matières premières servant aux médicaments, toute matière doit avoir sa propre monographie : numéro d'élément chimique, pureté, caractères (forme, solubilité, couleur, stabilité...), identification (paramètres physico-chimiques), dosage (teneur utile de la matière première). La Conférence internationale sur l'harmonisation des critères d'homologation des produits pharmaceutiques à l'usage de l'homme (ICH) permet d'utiliser un vocabulaire similaire à l'échelle internationale et une réglementation unique concernant le contrôle de qualité de ces matières premières. Il existe ainsi un dossier technique commun (*CTD, Common Technical Document*), un dossier d'Autorisation de mise sur le marché répondant à un format international unique.

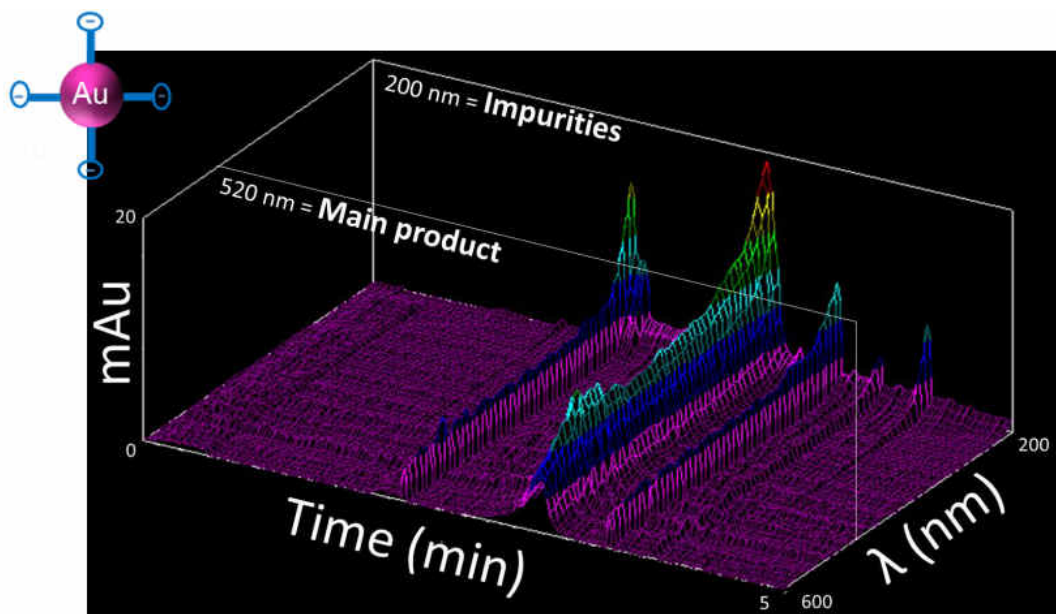
La partie 3 du dossier est celle qui nous intéresse. Elle définit le contrôle de qualité des matières premières pharmaceutiques, d'une nanoparticule par exemple, c'est-à-dire leur caractérisation et l'étude de leur stabilité au cours du temps. Cela paraît simple, mais ce contrôle de qualité est en réalité très difficile : il est ainsi très compliqué d'examiner la stabilité d'une nanoparticule puisqu'elle est capable de passer n'importe quelle barrière et d'être internalisée par n'importe quelle cellule une fois dans l'organisme.

De plus, à l'heure actuelle, même dans le cadre d'essais cliniques utilisant des nanoparticules, celles-ci ne sont pas décrites comme des matières premières pharmaceutiques, et les impuretés qui leur sont associées ne sont pas prises en compte. Pour cela, il faut une méthode capable de séparer les différents éléments de l'échantillon.

³ ANSM, Pharmacopée, [https://www.ansm.sante.fr/Activites/Pharmacopee/Qu-est-ce-que-la-Pharmacopee/\(offset\)/0](https://www.ansm.sante.fr/Activites/Pharmacopee/Qu-est-ce-que-la-Pharmacopee/(offset)/0)

Comment séparer les impuretés ?

Nous proposons d'utiliser la méthode d'électrophorèse capillaire pour séparer les différentes populations de nanoparticules en termes de charge et de masse. Par exemple, avec des nanoparticules d'or, on peut observer autour de 500 nm les nanoparticules présentes dans l'échantillon, alors que vers 200 nm, le signal est également dépendant des impuretés organiques en présence. Par centrifugation, on peut éliminer la plus grande partie des impuretés, ce qui serait potentiellement utile pour s'assurer de la conformité de lots de matières premières si la réglementation l'exigeait. Cette technique s'est révélée plus discriminante que les techniques classiques de séparation. Elle permet d'analyser également la stabilité des lots.



Quels résultats sur des lots commerciaux de nanoparticules ?

Actuellement les fournisseurs de matières premières pharmaceutiques affirment qu'elles ont une stabilité d'un an. Or nous avons montré que la stabilité change au bout de 3 semaines sur nos propres lots. Qu'en est-il des lots commerciaux de nanoparticules ? Les bulletins analytiques fournis avec les lots commerciaux ne contiennent pas d'informations sur les impuretés organiques et leur teneur. Or, sur quatre lots commerciaux de nanoparticules testés, nous avons observé que certains lots présentaient jusqu'à 60 % d'impuretés (nanoparticulaires et organiques) donc ne correspondant pas à la matière première attendue. En sachant que chaque type d'impureté peut avoir sa propre activité ou toxicité, cela pose un réel problème.

Nous sommes donc en position de lanceurs d'alerte. Les méthodes classiques actuelles ne suffisent pas à caractériser la qualité des nanoparticules pharmaceutiques alors que la diversité de ces dernières va continuer à augmenter. L'électrophorèse capillaire associée à la spectrométrie de masse (pour l'identification) sera pertinente pour répondre à cette importante problématique. Les nanoparticules ne sont donc pas encore des matières pharmaceutiques comme les autres. Mais à l'évidence, elles devraient l'être !

Discussion

Les impuretés sont-elles observées avec les nanoparticules organiques ou avec les particules inorganiques ?

Igor Clarot

Il y a toujours des impuretés, quelle que soit la synthèse. On en trouve donc avec toutes les nanoparticules.

André Picot

Aux États-Unis, certains chercheurs travaillent sur de la bouillie bordelaise nanométrique. Connait-on la toxicité du nanocouvre ?

Igor Clarot

On ne connaît pas de façon complète la toxicité des nanoparticules, quelles qu'elles soient. Je n'ai pas d'information sur la « nano-bouillie » bordelaise. En revanche, notre équipe travaille sur une maladie génétique orpheline de déficit en cuivre, la maladie de Menkès, due à la mutation d'un gène intervenant dans le transport du cuivre. Les nanoparticules de cuivre passent bien les membranes cellulaires et pourraient être une solution thérapeutique. Il en est de même pour la maladie de Wilson, caractérisée par l'accumulation de cuivre dans le foie et le cerveau, mais cette fois dans l'autre sens, en utilisant des nanoparticules recouvertes d'un « piègeur » du métal à éliminer⁴.

Serge Rader, pharmacien

Les normes ICH Q3A-Q3D fixent les seuils d'impuretés dans les médicaments. Mais à quoi riment les normes et les dosages puisqu'il y a des « nanos » partout ?

Igor Clarot

La norme 3A concerne les impuretés « généralistes » : qu'est-ce qu'une impureté, que faut-il aller chercher dans un échantillon, etc. Elle n'est pas spécifique des nanoparticules. Notre point de vue est de souligner qu'il n'y a rien justement concernant les nanoparticules dans les pharmacopées et dans les normes ICH !

Serge Rader, pharmacien

Il existe pas mal d'ouvrages, dont de scientifiques italiens spécialistes des « nanopathologies » qui montrent que plus les nanoparticules sont petites plus elles sont toxiques car pénétrantes.

Igor Clarot

En fait, on ne sait pas : si un médicament classique est assez simple à suivre dans un organisme, ce n'est pas le cas des nanoparticules.

Frédéric Baud

Une question à Mostafa Nakach pour poursuivre sur la présentation d'Igor Clarot : quelles sont les garanties de la stabilité et de qualité des produits que vous fournissez ?

4 Voir par exemple MexBrain <http://mexbrain.com/>

Mostafa Nakach

Bien entendu, la stabilité des nanomédicaments est étudiée ainsi que toutes les caractéristiques indispensables pour l'AMM. Nos données montrent que la stabilité d'un nanomédicament atteint 24 mois.

Igor Clarot

Nous montrons quant à nous qu'il est difficile de l'affirmer dans le cas des nanoparticules. La stabilité d'une particule peut être évaluée à un instant T d'après la libération du principe actif qu'elle contient, par exemple. Mais rien ne dit qu'il n'y aura pas, par la suite, d'interactions non spécifiques avec des protéines qui vont la déstabiliser. L'objet « nanoparticule pharmaceutique » étant mal défini, sa stabilité ne peut être elle-même qu'être mal définie. Nous sommes sans doute dans un état transitoire, un peu comme ce que l'on a connu relativement aux matières premières végétales.

Quelle proportion du marché les nanoparticules pharmaceutiques représentent-elles ?

Igor Clarot

En masse, elles ne représentent presque rien et restent marginales, mais leur proportion devrait augmenter à l'avenir.

Caroline Petigny (BASF France)

En pharmacie, les réglementations et les contrôles sont quand même très exigeants. Qui dit nanoparticule ne dit pas impossibilité d'évaluer et n'est pas synonyme de problème. Le niveau de maturité des produits peut être très variable.

Igor Clarot

Oui, mais ce que nous soulignons, c'est que quel que soit le type de nanoparticules, la réglementation actuelle n'est pas suffisamment contraignante pour les utiliser au même titre que les autres matières premières pharmaceutiques.

Peut-on déduire du fait que les impuretés sont des artefacts des synthèses que certaines synthèses conduiraient à des impuretés plus dangereuses que d'autres ?

Igor Clarot

Oui, c'est une potentialité. D'ailleurs la Pharmacopée européenne oblige à indiquer une liste de transparence contenant toutes les molécules potentiellement détectables dans l'échantillon.

En élargissant le cadre, les impuretés inorganiques de taille nanométrique des médicaments sont-elles surveillées dans la fabrication pharmaceutique ?

Igor Clarot

Non, comme on ne sait pas le faire sur les matières premières, ce n'est pas davantage réalisé sur les produits finis.

André Picot

Lorsque le nanoargent se transforme en cations monovalents ou lorsque l'atmosphère est polluée en sulfures d'argent, est-ce des impuretés ?

Igor Clarot

Oui, ce sont bien des impuretés associées aux nanoparticules d'argent.

Serge Rader

Une commission d'enquête italienne a prouvé l'existence d'impuretés CMR due à la pollution atmosphérique avec une cytotoxicité et une génotoxicité qui se terminent par des cancers et des naissances anormales.

Frédéric Baud

En tant que médecin, j'ai des doutes sur ce que vous affirmez là !...

La courte discussion qui suivait a été supprimée, car sans rapport avec le sujet, et en l'absence de références scientifiques.

Les adjuvants à base d'aluminium : le point sur leurs rôles, leurs limites et leur innocuité.

Romain GHERARDI, professeur au Centre d'expertise des maladies neuromusculaires à l'Hôpital Henri Mondor (Créteil), et chercheur dans l'équipe Biologie du système neuromusculaire, U955 Inserm, Institut Mondor de Recherche Biomédicale

Je vais détailler des informations sur la biopersistance des adjuvants aluminiques des vaccins, colligées dans deux articles récents : un article clinique sur le syndrome de fatigue chronique et les myalgies chez les vaccinés, et une analyse critique de l'absence de substratum théorique et expérimental sur la toxicocinétique de ces adjuvants⁵.

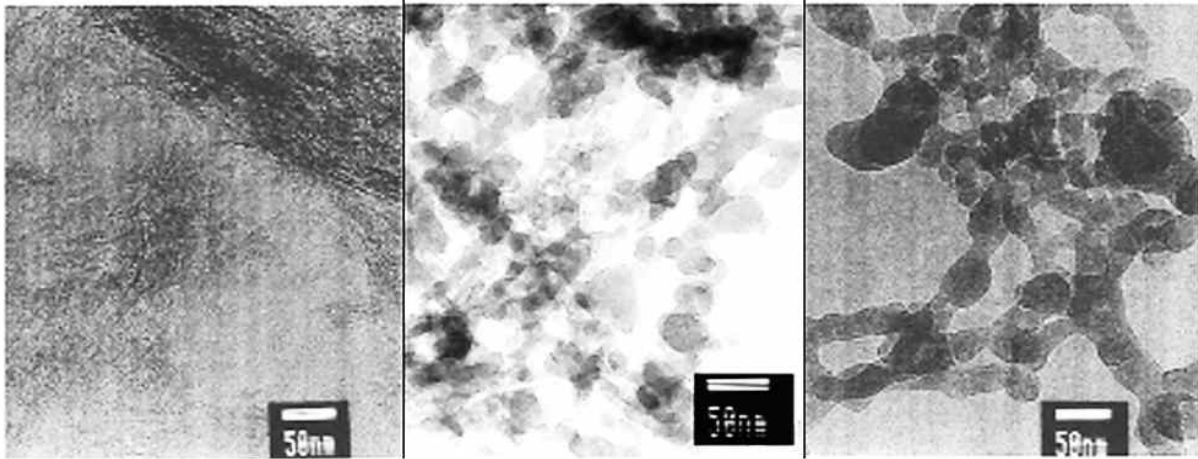
Que sont les adjuvants d'aluminium ?

Les adjuvants aluminiques ont été introduits en 1926 par le Britannique Alexander Glenny et utilisés depuis de façon continue. Il en existe deux grandes familles : la première est celle des hydroxydes d'aluminium (AlOOH), nanoparticules allongées de 2 x 5 x 10 nm qui spontanément forment des agrégats de taille submicronique à micronique (taille d'une bactérie) avec un aspect fibreux. Leur capacité de fixation (d'adsorption) des antigènes est importante. Leurs particules sont insolubles en milieu aqueux à pH Neutre. Ces particules sont avalées

⁵ R.K. Gherardi, G. Crépeaux, F.J. Authier, Myalgia and chronic fatigue syndrome following immunization: macrophagic myofasciitis and animal studies support linkage to aluminum adjuvant persistency and diffusion in the immune system. *Autoimmun Rev.* 2019 Jul;18(7):691-705. J.D. Masson, G. Crépeaux, F.J. Authier, C. Exley, R.K. Gherardi, Critical analysis of reference studies on the toxicokinetics of aluminum-based adjuvants. *J Inorg Biochem.* 2018 Apr;181:87-95.

(phagocytées) par les macrophages du système immunitaire mais sont modérément toxiques pour ces phagocytes.

La deuxième catégorie comprend deux types : le phosphate d'aluminium et l'hydroxyphosphate sulfate d'aluminium (adjuvant de nouvelle génération, propriété de Merck). Ici pas d'aspect fibreux ou nanocristallin, mais un aspect amorphe, et une capacité variable d'adsorption des antigènes. Ces adjuvants peuvent se solubiliser lentement en milieu aqueux à pH neutre, ils sont moyennement phagocytés et très toxiques sur les cellules qui les capturent.



De g à d, aspect fibreux de l'hydroxyde d'aluminium, nanoparticules agrégées d'hydroxyphosphate sulfate d'aluminium, et nanoparticules agrégées de phosphate d'aluminium.

Une découverte fortuite

Dans le cadre de nos activités hospitalières, de 1993 à 2019, 700 patients nous ont raconté la même histoire : après avoir reçu une moyenne de 5 à 6 vaccins, ils ont développé progressivement, après la dernière injection, une fatigue chronique inexplicée, des douleurs musculaires et articulaires diffuses et des troubles cognitifs (de l'attention, de la mémoire), des troubles du sommeil bien caractérisés et corrélés à des modifications de la perfusion sanguine de certaines zones cérébrales par des techniques d'imagerie fonctionnelle telles que la tomographie par émission monophotonique (TEMP ou SPECT, *Single photon emission computed tomography*) et la tomographie par émission de positrons (PET, *Positron Emission Tomography*)⁶.

Ces patients, après une très longue errance médicale, ont fini par consulter notre laboratoire. Nous leur avons fait une biopsie du muscle deltoïde, qui a révélé une lésion nommée myofasciite à macrophages (MFM ou MMF, *macrophagic myofasciitis*). Cette lésion est un « granulome », une réaction inflammatoire d'aspect granuleux constituée de grandes cellules, les macrophages, qui envahissent le tissu conjonctif du muscle. Ces cellules renferment des agrégats nanofibreux d'hydroxyde d'aluminium visibles en microscopie électronique. La MFM n'est pas en soi une maladie, mais un biomarqueur d'une persistance anormalement prolongée de l'adjuvant au site d'une vaccination antérieure.

6 A. Van Der Gucht *et al.*, Brain 18F-FDG PET Metabolic Abnormalities in Patients with Long-Lasting Macrophagic Myofasciitis. *J Nucl Med.* 2017 Mar;58(3):492-498.

Au plan clinique, ce trouble est très homogène d'un patient à l'autre avec notamment un hypométabolisme cérébral du glucose dans les aires postérieures du cerveau, qui est prédictif de la détection d'une MFM persistante et d'une vaccination antérieure⁷. Cette vaccination peut avoir eu lieu de nombreuses années avant la biopsie, jusqu'à 17 ans.

Le Syndrome de la Guerre du Golfe

Ce n'est pas la première fois qu'il y a un doute sur l'existence d'une relation entre un syndrome de fatigue chronique et l'administration de vaccins : elle a été mentionnée pour la première fois au sujet du Syndrome de la Guerre du Golfe (*Gulf War Illness, GWI*), pour lequel au moins trois études ont montré une association significative avec une multivaccination⁸. La clinique de ce syndrome est parfaitement superposable à celle de nos patients. De plus un syndrome identique a été observé chez des militaires qui n'avaient pas été déployés lors de la guerre du Golfe et chez lesquels le seul facteur d'association statistiquement significatif était la multivaccination.

Dès 1999, l'OMS a émis l'hypothèse que la myofasciite à macrophages était observée chez un très petit nombre de vaccinés⁹. Seulement 0,1 % des biopsies musculaires deltoïdiennes réalisées aux États-Unis sont le siège d'une myofasciite à macrophage alors que cette population est très largement multivaccinée. Quelle peut être alors la cause d'une difficulté individuelle à se débarrasser de l'hydroxyde d'aluminium injecté ?

Nous avons fini par comprendre que ces particules sont gérées par les macrophages de la même façon que les bactéries d'une taille comparable. Une mécanique cellulaire, l'autophagie, enrobe la particule étrangère dans une poche à double membrane hermétique puis fait fusionner cette poche avec un lysosome dont le pH très acide corrode le minéral et le fait passer à un état soluble¹⁰. Cette machinerie est gérée par 34 gènes que nous avons analysés avec un partenaire niçois chez 345 patients puis comparés aux bases de données internationales. Nous avons observé que les patients ont au moins un variant (un « polymorphisme nucléotidique », SNP) parmi 6 gènes (et souvent 3, 4 ou 5 variants cumulés) alors que les personnes contrôles n'ont aucun de ces variants. Une demande de brevet a été déposée en 2018 couvrant une invention chargée de prédire dans la population générale qui peut être à risque de faire une MFM¹¹.

7 A. Van Der Gucht *et al.*, Neuropsychological correlates of brain perfusion SPECT in patients with macrophagic myofasciitis. *PLoS One* 2015;10:e0128353. doi: 10.1371/journal.pone.0128353. A. Van Der Gucht *et al.*, Predictive value of brain 18F-FDG PET/CT in macrophagic myofasciitis?: A case report, *Medicine (Baltimore)* 2017 Sep;96(39):e8134.

8 L. Steele, 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.

9 WHO Vaccine Safety Advisory Committee, *Wkly Epidemiol Rec* 1999, 74: 338-40.

10 V. Cohignac, M.J. Landry, J. Boczkowski, S. Lanone, Autophagy as a Possible Underlying Mechanism of Nanomaterial Toxicity. *Nanomaterials (Basel)* 2014 Jul 8;4(3):548-582. doi: 10.3390/nano4030548.

11 METHOD FOR DETERMINING INDIVIDUAL SUSCEPTIBILITY TO DEVELOPING PERSISTENT MACROPHAGIC MYOFASCIITIS

[https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?](https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?II=0&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=20190522&CC=EP&NR=3486333A1&KC=A1#)

[II=0&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=20190522&CC=EP&NR=3486333A1&KC=A1#](https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?II=0&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=20190522&CC=EP&NR=3486333A1&KC=A1#)

Un « burnout » immunitaire ?

Aucune étude n'a permis de montrer que tous les cas de syndrome de fatigue chronique seraient liés à une seule cause. Les autorités de santé américaines (CDC) admettent aujourd'hui qu'il s'agit d'une maladie multicausale : des causes initiales différentes produisent une même expression clinique. Les pseudo-particules microbiennes que forment les particules d'adjuvant aluminique recouvertes d'antigènes vaccinaux provoquent, chez les patients qui ont du mal à détruire ces particules de même qu'ils ont du mal à éliminer les bactéries ou les virus, un syndrome de fatigue chronique semblable au syndrome post-infectieux. Il y a deux phases de progression de la maladie : durant les trois premières années, la stimulation immuno-inflammatoire est maximale, puis tous les marqueurs inflammatoires s'effondrent brutalement, témoignant d'un « burnout » immunitaire qui s'accompagnerait d'altérations variées du métabolisme, avec diminution notable de la capacité de produire de l'ATP, du système neurovégétatif et de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien.

Sur quelle base repose le recours aux adjuvants aluminiques ?

Pourquoi s'intéresser plus avant à l'hydroxyde d'aluminium puisque le syndrome observé ne touche peut-être pas plus d'un patient sur 1000 ou 5 000 personnes multivaccinées ? Jusqu'à la fin des années 1980 un seul vaccin contenait cet adjuvant, le DTP (diphtérie, tétanos, poliomyélite). Mais dans les années 1990 de nombreux nouveaux vaccins aluminiques sont apparus en sus du DTP (VHB, VHA, Pneumocoque, méningites, Hib, VPH, etc.). Plus de 270 nouveaux vaccins sont en préparation, dont une majorité sont adjuvantés avec de l'aluminium.

Selon nous, il était donc primordial de réexaminer les bases sur lesquelles s'étaient appuyées les agences, les industriels et les chercheurs académiques pour décréter que les adjuvants à base d'aluminium ne posent aucun problème.

Or, à notre grande surprise, nous avons découvert qu'il n'existe qu'une seule étude expérimentale de la pharmacocinétique des adjuvants aluminiques, réalisée en 1997 par des chercheurs de l'Université Purdue, dans l'Indiana¹² ! Elle a utilisé un aluminium 26 non naturel à la place de l'aluminium 27 pour en faire un adjuvant hydroxyde ou phosphate et analyser ce qu'il devenait chez l'animal une fois injecté. Cette étude préliminaire n'a jamais été confirmée par une autre étude. Elle portait seulement sur deux lapins par adjuvant sur une période de seulement 28 jours !

Cette étude comprenait plusieurs erreurs méthodologiques :

- Les chimistes qui ont réalisé ce travail sont partis de l'idée qu'un adjuvant plongé dans un liquide interstitiel fond comme un sucre dans du café. Ils n'ont pas pensé qu'il pouvait être constitué de particules « ingérables » par les cellules immunitaires. Ils avaient pourtant observé dans un modèle *in vitro* d'un liquide reproduisant le liquide interstitiel que l'hydroxyde d'aluminium n'était absolument pas dissous (0 %) au bout de 12 heures (le phosphate est quant à lui dissous à 55 %).
- L'hydroxyde d'aluminium utilisé était précipité, ce qui n'est pas le cas de l'adjuvant vaccinal officiel.

12 R.E. Flarend *et al.*, *In vivo* absorption of aluminium-containing vaccine adjuvants using 26Al. *Vaccine* 1997 Aug-Sep;15(12-13):1314-8.

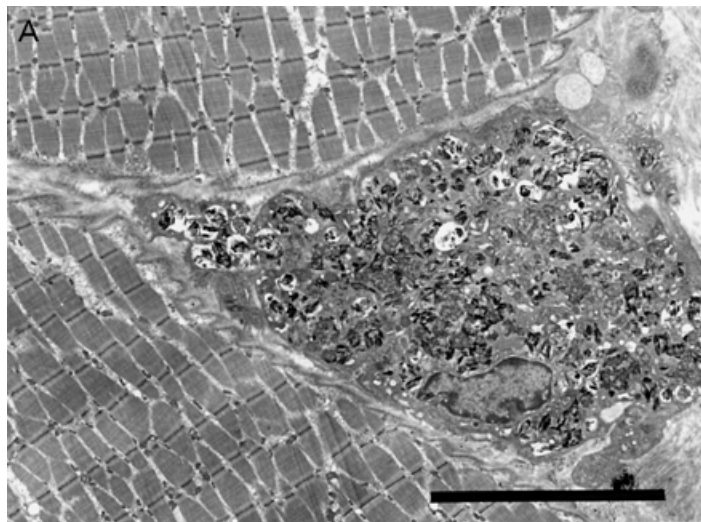
- Des tissus cibles n'ont pas fait l'objet de prélèvements ou ont été détruits (muscles, os, un cerveau sur quatre).

Le premier résultat observé a été un pic initial d'adsorption de l'aluminium. Or les auteurs ne se sont pas demandé si cela pouvait être une diffusion de l'adjuvant particulaire dans la circulation. Ils prétendaient que l'aluminium continuerait à être éliminé activement après les 28 jours de l'étude, ce qui a ensuite été mis en doute par les CDC dont le calcul d'élimination de 5,5 mois est lui-même trop optimiste. Les auteurs concluaient que l'aluminium injecté était rapidement éliminé alors qu'à 28 jours, 95 % de l'adjuvant sous forme d'hydroxyde n'avait pas été excrété. Cette fausse affirmation a été reprise par toutes les agences !

De surprise en surprise

Nos études expérimentales ont révélé d'autres faits contredisant les affirmations officielles¹³.

L'adjuvant n'est jamais observé en position extracellulaire, mais toujours sous forme d'agglomérat intracellulaire. En microscopie électronique les cristaux d'aluminium sont bien visibles dans les cellules. Cette internalisation rend impossible une élimination urinaire rapide¹⁴.



En microscopie électronique, inclusions intracellulaires dans un macrophage d'une biopsie musculaire réalisée chez un patient atteint de MFM. Source: R.K. Gherardi *et al.*, *Brain* 2001, note 12.

Toute la vaccinologie a pensé que tout se passe au site d'injection. C'est la « théorie du dépôt » selon laquelle si l'on injecte un vaccin dans un muscle, la dissolution locale lente de l'adjuvant va relarguer progressivement les antigènes de façon à créer une « imprégnation antigénique » et une bonne réponse immunologique. C'est totalement faux. Il a été démontré que si l'on enlève le muscle injecté chez le rat, deux heures après l'injection, l'effet adjuvant observé 15 jours après

13 *Les adjuvants vaccinaux, quelle actualité en 2012 ?*, Rapport de l'Académie nationale de médecine, juin 2012. <http://www.academie-medecine.fr/wp-content/uploads/2013/10/adjuvants-vaccinaux-rapport-ANM1.pdf>

InVS, Myofasciite à macrophages : rapport d'investigation exploratoire, 2001. <https://www.santepubliquefrance.fr/content/download/150111/2146238>

14 R.K. Gherardi *et al.*, Macrophagic myofasciitis lesions assess long-term persistence of vaccine-derived aluminium hydroxide in muscle. *Brain* 2001 Sep;124(Pt 9):1821-31.

est déjà acquis. Que la zone injectée reste ou pas en place, la réponse au vaccin sera donc la même. Il n'y a nul besoin d'une persistance locale de plus de 2 heures de l'adjuvant. Nous avons montré chez la souris que celui-ci migre à distance par la circulation lymphatique puis sanguine dans d'autres organes, dont le cerveau, où il persiste¹⁵. La persistance de l'adjuvant dans ces sites distants est aussi longue que celle qui est observée dans le site injecté. Par exemple, il est encore présent 9 mois après dans les ganglions lymphatiques de drainage.

L'idée que la myofasciite à macrophages est un simple « tatouage vaccinal » est donc une faute contre l'esprit. C'est au contraire une fenêtre sur le fait que des individus peuvent ne pas se débarrasser de l'adjuvant, où qu'il se trouve dans leur organisme.

Troisième surprise : depuis Paracelse, c'est la dose qui fait le poison. Or ce dogme ne marche pas pour l'hydroxyde d'aluminium. Chez la souris, seules les faibles doses s'accompagnent d'une augmentation de l'aluminium cérébral et de l'altération du comportement¹⁶. Pourquoi ? Nous avons examiné la taille des agglomérats d'adjuvants dans les suspensions colloïdes en fonction de la concentration d'adjuvant. Plus on augmente la concentration de la suspension, plus les agrégats sont gros. C'est seulement pour la faible concentration (200 microgrammes par kg) que les agrégats avaient la taille micronique qu'aiment « manger » les macrophages. C'est à peu près celle que l'on a dans un vaccin. Quand la concentration augmente, les agrégats ont des tailles trop importantes pour être rapidement capturés par les macrophages et migrer vers des sites distants « sensibles » (organes lymphoïdes, cerveau).

Des cas analogues chez le mouton ?

Des collègues vétérinaires de Saragosse ont observé un phénomène post-vaccinal comparable chez le mouton¹⁷. Contrairement aux autres pays, il existe trois sérotypes de la maladie de la langue bleue en Espagne, et donc trois vaccins. Cette catastrophe post-vaccinale a décimé entre 50 et 100 % de certains cheptels espagnols. La maladie est elle aussi biphasique : une phase de méningo-encéphalite avec inflammation documentée des méninges et du parenchyme cérébral ; puis, si le mouton ne meurt pas, une phase secondaire de maladie neurodégénérative se développe, touchant la moelle épinière et associée à l'augmentation de la concentration d'aluminium dans le système nerveux central. Les animaux présentent des granulomes chroniques au site d'injection et dans les ganglions lymphatiques de drainage : l'adjuvant ne reste donc pas au site d'injection mais a une activité biologique et immunologique à distance.

Conclusion

La myofasciite à macrophages touche en France des centaines de patients génétiquement prédisposés dont les macrophages éliminent mal les particules aluminiques. Convoyées par ces cellules, celles-ci se déposent alors, à distance du site d'injection vaccinal, dans divers organes, dont le cerveau. L'arrivée prochaine sur le marché de nouveaux vaccins contenant des dérivés d'aluminium impose la prudence. Naturellement il faut défendre avec force la vaccination tout en

15 Z. Khan *et al.*, Slow CCL2-dependent translocation of biopersistent particles from muscle to brain. *BMC Med* 2013 Apr 4;11:99.

16 G. Crépeaux *et al.*, Non-linear dose-response of aluminium hydroxide adjuvant particles: Selective low dose neurotoxicity. *Toxicology* 2017 Jan 15;375:48-57.

17 L. Luján *et al.*, Autoimmune/autoinflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA syndrome) in commercial sheep. *Immunol Res* 2013 Jul;56(2-3):317-24. J. Asín *et al.*, From the bluetongue vaccination campaigns in sheep to overimmunization and ovine ASIA syndrome. *Immunol Res* 2018 Dec;66(6):777-782.

maintenant la tension nécessaire pour que les travaux qui n'ont pas été menés sur les adjuvants aluminiques le soient enfin¹⁸.

Discussion

Nicolas Feltin, LNE

Vous avez expliqué que les macrophages sont capables de « manger » des particules aluminiques micrométriques. Il n'y a donc pas de nanospécificité dans les adjuvants aluminiques.

Romain Gherardi

Oui, les particules aluminiques s'agglomèrent et forment des particules submicroniques qui sont captées par les macrophages. Seul le filament de base est nanoparticulaire. On ne peut donc pas dire, à ce stade, que la MFM soit une maladie nanoparticulaire. Néanmoins, l'adjuvant aluminique est un produit particulaire non biodégradable qui ne pourrait plus être mis aujourd'hui sur le marché. L'industrie a profité du fait qu'il y avait soi-disant un recul historique très long sur cet adjuvant, sachant qu'il y avait un seul vaccin aluminique jusqu'à la fin des années 1980 et aucune étude de long terme. Les problèmes sont apparus quand le nombre de vaccins a augmenté et que la myofasciite à macrophages a pointé la biopersistance de l'adjuvant. Il faut donc reprendre le problème à la base.

René Labatut, Vice-président, directeur de la stratégie d'innovation technologique, Sanofi

Ne pensez-vous pas que le fait que les particules migrent dans le système lymphatique soit l'effet réel et que la particule aluminique soit vraiment nécessaire à l'effet vaccinal. Dans ce cas, pour les patients prédisposés, quelle serait la solution alternative ? Parmi les adjuvants en vaccination humaine, il n'existe pas beaucoup d'alternatives, essentiellement des émulsions, au moins deux, qui ont été peu diffusées.

Romain Gherardi

L'effet vaccinal de la migration lymphatique des particules aluminiques est probable. La solution, c'est d'abord de décider enfin de comprendre ce que l'on fait avec ces adjuvants que l'on administre à des milliards d'humains et d'animaux. Il faut simplement demander aux politiques et aux industriels de prendre en charge le problème. Deuxièmement, il existe bien des adjuvants alternatifs. Si l'on regarde les brevets déposés en vaccinologie dans le monde, il sont très nombreux sur les adjuvants mais ils sont alors exclusivement industriels¹⁹. La solution est donc chez les industriels. Par exemple, l'ASO1 de GSK, un adjuvant à base de liposomes, est biodégradable, efficace, semble bien toléré²⁰. D'autres équipes proposent d'utiliser la tyrosine microcristalline (MCT), formée de particules micrométriques elles aussi biodégradables²¹.

18 R. Gherardi, *Toxic Story. Deux ou trois vérités embarrassantes sur les adjuvants des vaccins*, Actes Sud, 2016.

19 G. Del Giudice, R. Rappuoli, A.M. Didierlaurent, Correlates of adjuvanticity: A review on adjuvants in licensed vaccines. *Semin Immunol* 2018 Oct;39:14-21. doi.org/10.1016/j.smim.2018.05.001

20 G. Leroux-Roels *et al.*, Vaccine Adjuvant Systems containing monophosphoryl lipid A and QS-21 induce strong humoral and cellular immune responses against hepatitis B surface antigen which persist for at least 4 years after vaccination. *Vaccine* 2015 Feb 18;33(8):1084-91. doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.10.078

21 P. Baldrick, D. Richardson, A.W. Wheeler, Review of L-tyrosine confirming its safe human use as an adjuvant, *J Appl Toxicol* 2002;22:333-344. M.D. Heath *et al.*, Comparison of a novel microcrystalline tyrosine adjuvant with aluminium hydroxide for enhancing vaccination against seasonal influenza, *BMC Infect Dis* 2017 Mar 27;17(1):232.

René Labatut

Il y a eu cependant quelques épisodes tendus sur la narcolepsie avec certains adjuvants de vaccins antigrippaux.

Romain Gherardi

En réalité, on a besoin d'un adjuvant puissant pour la primovaccination mais pas forcément pour les rappels. Cela a été énoncé par la FDA pour le DTP notamment²². Même si cela embarrasse les industriels d'avoir plusieurs lignes de production, l'une pour les primovaccins, d'autres pour les rappels, ce serait une voie pour diminuer la quantité d'adjuvants administrés.

René Labatut

Je ne pense pas que la multiplicité des spécialités embarrasse forcément les industriels. Il suffit d'avoir le bon produit pour le bon usage et des objectifs clairs. Aujourd'hui, il faut trouver des solutions aux préoccupations de la population. Une autre alternative est de changer de voie d'injection. Par exemple, pour la poliomyélite, le mode sous-cutané est plus efficace qu'une injection intramusculaire²³. Mais c'est moins pratique sur le terrain, pour les campagnes de MSF par exemple.

Est-on sûr qu'il y a un lien entre la quantité d'adjuvant administré et les syndromes observés ?

Romain Gherardi

C'est ce que suggère l'étude doses-réponses que nous avons faite. Pour une même masse d'aluminium, il est plus toxique de la segmenter en myriades de petites doses plutôt que de l'administrer en une fois. En une seule forte concentration, elle va rester au même endroit sans se dissoudre, un peu comme une prothèse.

Serge Rader

Des études américaines confirment en effet que le rappel n'a pas besoin d'aluminium. On a vacciné pendant 47 ans avec un DTP sans aluminium, le DTP Mérieux. D'autre part, Sanofi a vendu à Boehringer Ingelheim sa gamme vétérinaire Merial de 9 vaccins Purevax. Ces vaccins marchent bien. Je les ai fait analyser : il ne contiennent aucune nanoparticule d'aluminium. Enfin, à titre d'information, je vous conseille de regarder le film « L'aluminium total », qui est très bien documenté²⁴.

Le choix de l'aluminium ne découle-t-il pas de sa puissance immunitaire ?

Romain Gherardi

Oui, il est puissant mais on ne sait toujours pas complètement pourquoi. On peut, grâce à cela, diminuer la quantité d'antigènes, ce qui permet de réduire le coût de production. Mais en contrepartie, on ne peut pas considérer que quelques milliers de patients atteints de MFM ou

22 N.A. Baylor, W. Egan, P. Richman, Aluminum salts in vaccines – US perspective. Vaccine, 20 (S3) (2002), pp. S18-S23

23 https://www.who.int/immunization/diseases/poliomyelitis/endgame_objective2/inactivated_polio_vaccine/fractional_dose/en/

24 <https://www.youtube.com/watch?v=tGdkUB8HTM8>

de syndromes analogues soient un risque acceptable pour assurer une bonne couverture vaccinale de la population, car on est dans une phase d'augmentation exponentielle de la vaccination qui appelle à la prudence.

Peut-on dire un mot d'autres syndromes neurologiques liés aux vaccins ?

Romain Gherardi

Entre 10 et 20 % de nos patients ont une maladie auto-immune, notamment la sclérose en plaques associée au vaccin de l'hépatite B. Officiellement, il n'y a aucune démonstration d'un lien avec le vaccin de l'hépatite B. Mais quand on regarde les études épidémiologiques, il y en a deux qui montrent une association avec une augmentation de la sclérose en plaques trois ans après l'injection²⁵. Il y a un effet retard dans l'apparition de cette maladie qui passe sous les radars des études épidémiologiques réalisées sur des temps trop courts après la vaccination. Compte tenu de la montée de la défiance à l'égard de la vaccination, notamment en France, il faut mettre d'urgence de l'argent dans le système de santé pour garantir la sécurité des vaccins et ne pas tuer la vaccination. C'est le moment pour les grandes entreprises de se mettre au boulot !

André Picot

Y a-t-il eu des études sérieuses comparant l'efficacité du phosphate de calcium et de l'hydroxyde d'aluminium ?

Romain Gherardi

Le monde du vaccin reste assez empirique. Dans les années 1960, les Pasteuriens n'ont pas voulu utiliser l'aluminium car ils avaient déjà des doutes sur sa neurotoxicité. Ils ont donc utilisé le phosphate de calcium comme adjuvant à partir des années 1960 dans des vaccins anti-diphtérique, coqueluche, tétanique et polio avant de l'abandonner à la fin des années 1980. Mais ils n'ont jamais fait les études de sécurité nécessaires. On peut seulement penser que le phosphate de calcium, dont nos os sont remplis, est plus biocompatible qu'un métal qui nous est totalement étranger. Des données montrent en outre qu'il est suffisamment efficace²⁶.

René Labatut

De mémoire, l'efficacité du phosphate de calcium est bien moindre que celle de l'hydroxyde d'aluminium²⁷.

25 M.A. Hernán, S.S. Jick, M.J. Olek, H. Jick, Recombinant hepatitis B vaccine and the risk of multiple sclerosis: a prospective study. *Neurology*. 2004 Sep 14;63(5):838-42. Y. Mikaeloff, G. Caridade, S. Suissa, M. Tardieu, Hepatitis B vaccine and the risk of CNS inflammatory demyelination in childhood. *Neurology*. 2009 Mar 10;72(10):873-80.

26 J.D. Masson, M. Thibaudon, L. Bélec, G. Crépeaux, Calcium phosphate: a substitute for aluminum adjuvants?, *Expert Rev Vaccines* 2017 Mar;16(3):289-299. doi: 10.1080/14760584.2017.1244484.

27 H. Aggerbeck, I. Héron, Adjuvant activity of aluminum hydroxide and calcium phosphate in diphtheria-tetanus vaccines I. *Vaccine*. 1995; 13: 1360-5. N. Goto, H. Kato *et al.*, Local tissue irritating effects and adjuvant activities of calcium phosphate and aluminum hydroxide with different physical properties. *Vaccine*. 1997; 15: 1364-71.

Quelle est la population de neurones impactée ?

Romain Gherardi

Elle est peu nombreuse mais une fois que les particules sont intégrées dans un neurone, elles y restent. Le mécanisme d'intégration neuronal est inconnu mais pourrait être le suivant : le blocage de la détoxification par autophagie dans les macrophages, chez certaines personnes prédisposées, s'accompagnerait de deux phénomènes : outre que la particule ne serait pas digérée, il augmenterait la réaction inflammatoire et faciliterait la dispersion des particules à d'autres cellules par des « tunnels » intercellulaires : en quelque sorte, quand une cellule n'arrive pas à se détoxifier de la particule, elle la « refile aux copines » pour faire le travail. Ce pourrait être une modalité de dispersion des particules aluminiques depuis les cellules microgliales, les cellules immunitaires du cerveau, vers les neurones.

Peut-on établir clairement des liens avec les symptômes cognitifs chez l'animal ?

Romain Gherardi

Oui, les animaux chez lesquels l'aluminium intracérébral augmente sont ceux qui ont des altérations du comportement et ont une activation modérée des cellules microgliales. Si vous provoquez expérimentalement une inflammation périphérique chez un animal, ses cellules microgliales s'activent et produisent un chimio-attractant pour les cellules de la famille des monocytes macrophages. Les macrophages chargés de particules vont donc entrer dans le cerveau et les particules n'en ressortiront pas. L'adjuvant va continuer localement à activer les cellules microgliales. Cette biopersistance est une clé possible de compréhension des syndromes observés chez nos patients.

Pascal Marie, Quotidien du pharmacien

Vous avez dit qu'il était important de traiter la question des adjuvants car les gens se détournent des vaccins. Or il y a une baisse notoire de la couverture vaccinale dans le monde. Considérez-vous que c'est parce que les gens ont peur des adjuvants ?

Romain Gherardi

Pas seulement. Les gens ont perdu globalement confiance dans le système sanitaire de régulation. Dans une société de marché, ils se détournent des produits en lesquels ils n'ont pas confiance. Je ne pense pas que l'obligation vaccinale soit la seule réponse à apporter pour garantir une bonne couverture vaccinale, même si elle peut être utilisée de façon temporaire. Il faut surtout recréer un lien de confiance de la population vis-à-vis de l'industrie et les agences sanitaires.

Cette séance permet de reprendre, sous l'angle « nano », certaines questions posées par les produits pharmaceutiques. Comment progresser collectivement ? Résoudre les zones d'ombre ? Améliorer la confiance ?

René Labatut

Notre objectif commun doit être de donner le meilleur service en soignant le mieux possible et en évitant les effets secondaires, que ce soit pour la grande masse des patients ou, comme vient

de l'exposer le Pr Gherardi, pour une sous-population qui semble avoir une prédisposition particulière aux effets indésirables des adjuvants aluminiques.

Il faut éviter les généralisations sur les nanoparticules, car elles recouvrent diverses fonctions. Qu'elles soient organiques ou minérales, elles restent une voie d'exploration de nouvelles spécialités thérapeutiques et pour augmenter la cinétique de biodisponibilité des molécules. Par exemple, une voie dont on n'a pas parlé est celle des « *virus-like particles* » pour améliorer l'immunité cellulaire, dans les nouvelles générations de vaccins anti-coqueluche notamment.

Concernant les matières premières, qu'elles soient ou non nanoparticulaires, la règle reste la même : il faut se donner les moyens de contrôler leur qualité. Collectivement, les laboratoires de contrôle et les académiques ont tous un rôle à jouer pour prendre en compte les différentes perceptions et données afin de trouver ensemble des solutions. Le sujet est complexe mais il faut l'aborder dans tous ses aspects.

Sur la question des impuretés liées aux nanoparticules, est-ce que ce champ émergent vous intéresse chez Sanofi ?

René Labatut

Je l'ai dit, quelle que soit la matière première utilisée il faut savoir la contrôler. Toute nouvelle méthode nous intéresse si elle ouvre la voie pour analyser correctement les matières premières. C'est une obligation réglementaire et éthique.

Dorothée Browaeys

Comment recevez-vous la remarque du Pr Gherardi concernant l'opportunité de prendre au sérieux l'évolution des mentalités sur la vaccination pour la sauver ?

René Labatut

Globalement, je crois que Sanofi ne peut être taxé d'avoir oublié de prendre au sérieux les différentes perceptions de la vaccination, au travers notamment de la combinaison de certains vaccins, qui diminue mécaniquement le nombre d'injections, et de la recherche de solutions alternatives. Nous réfléchissons aussi à substituer le dioxyde de titane de nos médicaments, sachant que toute alternative passe par une modification de licences qui n'est pas instantanée.

Dorothée Browaeys

Quand quelque chose devient un point de cristallisation dans l'espace public il est très difficile de faire machine arrière : le mot aluminium est devenu un problème. Existe-t-il un groupe de discussion pluraliste pour prendre à bras le corps le sujet nano ? Pensez-vous que cela peut être utile ?

René Labatut

Il est toujours utile de réfléchir et de partager. Cela dit, le sujet n'est pas « nanos et vaccination » mais « aluminium particulière et vaccination ». La question à se poser est : quelle est la bonne solution alternative pour répondre aux besoins de couverture vaccinale de la population mondiale ? Aujourd'hui personne n'a la solution.

Romain Gherardi

Puisqu'il existe actuellement, semble-t-il, une prédisposition génétique aux effets indésirables des adjuvants aluminiques, pourquoi ne travaillons-nous pas tous ensemble avec les agences, le ministère et les industriels à essayer de faire retomber la tension en proposant un test de dépistage. On pourrait commencer au moins à y réfléchir !

René Labatut

Tout à fait d'accord avec vous. Il faudrait alors ajouter un autre élément : c'est bien de dépister ceux qu'on ne peut pas vacciner, mais il faudra leur proposer une autre solution, contre le tétanos notamment.

Romain Gherardi

C'est possible. Pendant longtemps des vaccins sans adjuvants étaient proposés pour les groupes à risques, et ça doit rester une option pour les individus à haut risque d'effets indésirables des vaccins aluminiques.

La balle est dans votre camp. A vous de prendre les initiatives pour voir comment sortir de la défiance actuelle vis-à-vis des vaccins. Je forme ici publiquement le vœu que vous mettiez en place une réflexion stratégique profonde à cette fin.
