



HAL
open science

Confirmation de la présence d'ADN vaccinal dans le Vaccin Pfizer contre la COVID-19

Didier Raoult

► **Pour citer cette version :**

Didier Raoult. Confirmation de la présence d'ADN vaccinal dans le vaccin Pfizer anti-COVID-19. 2024.
◆hal-04778576◆

Identifiant HAL : hal-04778576

<https://hal.science/hal-04778576v1>

Pré-impression soumise le 12 novembre 2024

HAL est une archive pluridisciplinaire en accès libre destinée au dépôt et à la diffusion de documents de recherche scientifique, publiés ou non. Les documents peuvent provenir d'établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, ou de centres de recherche publics ou privés.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

1 **PAGE DE TITRE**

2

3 **Type d'article : Communication brève**

4

5 **Titre : Confirmation de la présence d'ADN vaccinal dans le vaccin anti-COVID-19 de Pfizer**

6

7 **Liste des auteurs : Didier RAOULT^{1,2*}**

8

9 **Affiliations:**¹IHU Méditerranée Infection, 19-21 boulevard Jean Moulin, 13005 Marseille,

10 France;²Univ. Aix-Marseille, Microbes Evolution Phylogénie et Infections (MEPHI), 27

11 boulevard Jean Moulin, 13005 Marseille, France

12

13 *** Auteur correspondant :**Didier Raoult. 19-21 boulevard Jean Moulin, 13005 Marseille,

14 France. Téléphone : +33413732401. Email : didier.raoult@gmail.com

15

16 **Mots clés:**SARS-CoV-2; Covid-19; vaccin; ARNm; ADN; impuretés

17

18

ABSTRAIT

19

20

21 La production rapide de vaccins à base d'ARN messenger (ARNm) a été choisie comme
22 stratégie la plus appropriée pour lutter contre la pandémie de COVID-19. Trois études ont signalé la présence
23 d'ADN en quantités significatives dans les vaccins à ARNm de Pfizer. Nous avons cherché à confirmer la présence
24 de cet ADN résiduel. Quantification de l'ADN plasmidique du vaccin à l'aide du fluorimètre Qubit sur un
25 le flacon de vaccin a montré qu'il était de 216 ng/dose en moyenne et environ 24 fois plus élevé,
26 atteignant 5 160 ng/dose en moyenne, après traitement au Triton-X-100. De plus, nous
27 obtenu par séquençage de nouvelle génération de la séquence complète de l'ADN plasmidique du vaccin
28 matrice (7 824 paires de bases) avec une couverture élevée (98,3 %) et des profondeurs de séquençage (moyenne, 4 181-
29 4 389 lectures), indiquant la présence de l'ADN plasmidique en nombre élevé de copies. Ces résultats
30 appelle à une évaluation du nombre de copies et de la nature de l'ADN dans les vaccins à ARNm à plus grande échelle
31 à grande échelle et en lots multiples, notamment en ce qui concerne le risque putatif d'intégration de l'ADN après
32 livraison dans les cellules.

33

34

TEXTE

35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58

La pandémie de SRAS-CoV-2 a conduit au développement très rapide (< 1 an) de vaccins (Krammer, 2020 ; Topol, 2021), et plus de 13 milliards de doses ont été administrées dans le monde (dont plus de 150 millions en France) (<https://coronavirus.jhu.edu/map.html>). Cela était conforme au cadre actuel de pense que les partisans de l'accélération du développement de vaccins pour contrer la propagation rapide d'une maladie infectieuse émergente (Cohen, 2016). Le vaccin à ARNm Pfizer-BioNTech contre la COVID-19 (ou vaccin BNT162-19) a été le plus utilisé. Il s'agit d'une suspension injectée par voie intramusculaire qui contient un ARNm monocaténaire optimisé par codon, coiffé en 5', codant pour une longueur totale, protéine de pointe modifiée du SARS-CoV-2 une fois libérée dans les cellules cibles (Jackson et al, 2020 ; Krammer, 2020 ; Polack et al, 2020). Pour permettre une production massive du vaccin BNT162-19 ARNm, fabrication comprenant la transfection dans *Escherichia coli* de la pointe modifiée séquence génétique utilisant un plasmide d'une taille finale de 7 824 paires de bases (pb) qui contient notamment une origine bactérienne active de réplication, un facteur d'initiation du virus SV40, et un gène de résistance à la kanamycine (Rapporteur Rolling Review, rapport d'évaluation critique, 2020). Après la lyse des bactéries, la matrice d'ADN plasmidique a été extraite et linéarisée avant sa transcription par une ARN polymérase T7 en présence de N-méthyl pseudoUridine puis sa hydrolyse. Le vaccin à ARNm de Pfizer contient en principe des quantités extrêmement minimales de ADN. Néanmoins, au moins trois études ont signalé la présence d'ADN dans l'ARNm de Pfizer doses de vaccin en quantités significatives (Speicher et al, 2023 ; McKernan et al, 2023 ; König et Kirchner, 2024 ; Hughes, 2024). Dans une situation comme celle-ci, nous avons estimé qu'il était nécessaire pour confirmer ou infirmer la présence d'ADN sans forcément vouloir tirer des conclusions à propos de sa présence.

59 Nous avons effectué la quantification de l'ADN à l'aide du fluoromètre Qubit (Invitrogen, Carlsbad,
60 CA, États-Unis) sur un flacon de vaccin (lot n° GJ7184) qui indiquait qu'il était de 216 ng/dose
61 moyenne. Cependant, après traitement avec Triton-X-100, la quantité d'ADN était d'environ 24
62 fois plus élevée, atteignant 5 160 ng/dose en moyenne. Comme la dose de vaccin contiendrait
63 30 µg d'ARN cela signifie qu'il contenait dans ce test 17% d'ADN.

64 De plus, un séquençage de nouvelle génération (NGS) a été réalisé comme décrit précédemment
65 (Colson et al, 2022) avec la technologie Illumina utilisant la stratégie d'extrémité appariée Nextera XT sur
66 Instruments MiSeq (Illumina Inc., San Diego, CA, États-Unis), suivant la
67 recommandations du fabricant. Les lectures NGS ont été cartographiées sur la séquence du plasmide du vaccin
68 déposé dans GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) (Sayers et al, 2023) avec le
69 Numéro d'accès OR134577.1. Les lectures ont été traitées à l'aide de bwa-mem2 v.2.2.1
70 (<https://github.com/bwa-mem2/bwa-mem2>) (Jung et al, 2022) et Samtools v.1.17
71 (<https://www.htslib.org/>) (Li et al, 2009). Lectures plus courtes que 200 nucléotides et couvrant
72 moins de 90 % du plasmide vaccinal a été éliminé à l'aide de Samtools v.1.17. Freebayes v1.3.6
73 (<https://github.com/freebayes/freebayes>) (Garrison et Marth, 2012) et Bcftools v.1.17
74 (<https://samtools.github.io/bcftools/bcftools.html>) ont été utilisés pour identifier les mutations et
75 générer un consensus. NGS en l'absence d'étape préalable de transcription inverse de deux vaccins
76 lots (FP8191 et FP9359), qui ont généré plus de 140 000 lectures supérieures à 200
77 bases, ont permis de récupérer les séquences complètes du plasmide ADN (GenBank
78 Numéro d'accès PP544445 et PP544446) utilisé pour produire l'ARN du vaccin, avec 7,824 bases
79 paires avec une profondeur de séquençage élevée (> 4000 lectures). Environ entre 63 % et 97 % des
80 L'ADN séquencé provenait du vaccin. De plus, nous avons observé que le traitement à la DNase
81 (Kit TURBO sans ADN, Invitrogen) des extraits d'acide nucléique ont empêché l'obtention de
82 Lectures NGS (seules 2 et 1 lectures, respectivement, ont été mappées sur la séquence de référence).

83 C'est pourquoi nous avons trouvé ici, par différentes approches et dans différents lots du vaccin Pfizer-
84 Le vaccin à ARNm COVID-19 de BioNTech présente une présence abondante d'ADN. Dans ces vaccins, l'
85 quantité résiduelle maximale d'ADN non dégradée lors de la purification du vaccin qui sont
86 autorisés par l'Agence européenne des médicaments et la Food and Drug Administration sont
87 330 ng d'ADN par mg d'ARN, ou 10 ng d'ADN par dose (Klinman et al, 2010 ; rapporteur
88 Rapport d'évaluation critique de Rolling Review, 2020). Nos conclusions sont conformes à celles d'autres
89 (non évaluées par des pairs) études qui ont signalé la présence d'ADN dans le vaccin COVID-19 de Pfizer-BioNTech
90 19 flacons de vaccin à ARNm par qPCR et obtention du plasmide vaccinal complet par NGS
91 (McKernan et al, 2023 ; Speicher et al, 2023). Dans l'étude de Speicher et al, l'ADN résiduel
92 des quantités comprises entre 1 896 et 3 720 ng par dose ont été estimées à l'aide d'un fluorimètre
93 mesures basées sur Qubit et pic de vaccin ciblant le seuil de cycle obtenu par qPCR
94 valeurs comprises entre 18,0 et 23,8 à une dilution de 1:10 et 16,9±0,5 sur des flacons non dilués
95 contenu (Speicher et al, 2023).

96 En fait, ces résultats d'énormes quantités de séquences d'ADN plasmidique par
97 La dose de vaccin soulève notamment des questions concernant un risque putatif de son intégration dans l'organisme humain
98 génome après son entrée dans les cellules en raison de leur conditionnement dans des lipides cationiques (Klinman et al,
99 2010). Dans la thérapie génique basée sur l'ADN, il a été rapporté qu'une proportion de 10 à 20 % des cellules sont
100 généralement transfectées et environ 1 à 10 % des cellules transfectées de manière transitoire sont devenues stables
101 transfecté à la suite d'une intégration ultérieure probablement par le biais d'événements de croisement au cours
102 reformation de la membrane de l'enveloppe nucléaire à la télophase (Haraguchi et al., 2002 ; Lim et al., 2023 ;
103 Devaux et Camoin-Jau, 2024). Bien que le risque potentiel que l'ADN trouvé dans les ARNm
104 les vaccins s'intègrent et induisent l'expression d'un oncogène ou arrêtent l'expression d'un
105 suppresseur de tumeur sont extrêmement faibles (Wang et al, 2004 ; Klinman et al, 2010), cela devrait
106 mériter des investigations supplémentaires.

107 Dans l'ensemble, ces travaux confirment qu'une quantité importante d'ADN vaccinal, qui est supérieure à
108 niveaux recommandés (rapport d'évaluation critique du Rapporteur Rolling Review, 2020 ; Klinman et al., 2019)
109 al, 2010), était présent dans les lots de vaccins testés. Les résultats antérieurs méritent d'être confirmés
110 à une échelle plus grande, ce qui est techniquement très facile à réaliser sur un large panel de flacons de vaccins
111 provenant de différents lots dans différents laboratoires à travers le monde. Il peut y avoir une variabilité d'un
112 lot à un autre, et cela nécessite des contrôles de qualité réguliers sur les différents lots à
113 conforme aux exigences des bonnes pratiques de laboratoire et pour libérer l'ADN des lipides
114 nanoparticules.

115

116

117 **Remerciements**

118 Je remercie le Dr Christian Devaux pour cette aide et ce soutien.

119 **Disponibilité des données**

120 Séquences des plasmides d'ADN récupérés à partir des lots de vaccins à ARNm Pfizer FP8191 et

121 Les FP9359 sont disponibles auprès de GenBank sous les numéros d'accès PP544445 et PP544446,

122 respectivement.

123 **Conflits d'intérêts**

124 DR déclare les subventions ou contrats et les redevances ou licences de Hitachi High-Technologies

125 Corporation, Tokyo, Japon. Il est membre du conseil scientifique de la société Eurofins et

126 fondateur et actionnaire d'une société de culture microbienne (Culture Top), et deux

127 des sociétés de biotechnologie (Techno-Jouvence, Gene et Green TK). Sources de financement

128 n'a joué aucun rôle dans la conception et la réalisation de l'étude, la collecte, la gestion,

129 l'analyse et l'interprétation des données, ou la préparation, l'examen et l'approbation des

130 manuscrit.

131 **Contributions des auteurs**

132 Conceptualisation, méthodologie, analyse formelle et interprétation, rédaction-ébauche originale
133 préparation, rédaction-révision et édition : DR.

134 **Sources de financement**

135 Cette étude a été soutenue par le gouvernement français dans le cadre des « Investissements d'Avenir »
136 programme géré par l'Agence nationale de la recherche (ANR) (Méditerranée-Infection 10-
137 (IAHU-03).

138 **Éthique**

139 Sans objet.

140

141

142 **Références**

143

144 Cohen J. Une nouvelle coalition vaccinale vise à prévenir les épidémies. Science. Disponible sur

145 www.sciencemag.org/news/2016/09/new-vaccine-coalition-aims-ward-epidemics

146 (2 septembre 2016); <https://cepi.net/>.

147 Colson P, Fournier PE, Chaudet H, Delerce J, Giraud-Gatineau A, Houhamdi L, Andrieu C,

148 Brechard L, Bedotto M, Prudent E, Gazin C, Beye M, Burel E, Dudouet P, Tissot-Dupont

149 H, P Gautret, JC Lagier, M Million, P Brouqui, P Parola, F Fenollar, M Drancourt, La

150 Scola B, Levasseur A, Raoult D. Analyse des variantes du SRAS-CoV-2 parmi 24 181

151 Les patients illustrent le rôle de la mondialisation et des zoonoses dans les pandémies.

152 Microbiol. 7 février 2022 ;12 :786233. doi : 10.3389/fmicb.2021.786233.

153 Devaux C, Camoin-Jau L. Libération sanguine transitoire de la protéine de pointe synthétique du SARS-Cov-2

154 après que la vaccination contre la COVID-19 à base d'ARNm contribue peut-être au dysfonctionnement de l'ACE2

155 conduisant à de rares cas de myocardite. Cardiol Cardiovascular Med 2024; 8(4307):307-29.

156 Garrison E et Marth G. Détection de variantes basée sur l'haplotype à partir d'un séquençage de lecture courte.

157 arXiv 2012. <https://doi.org/10.48550/arXiv.1207.3907>.

158 Haraguchi T, Koujin T, Shindo T, Bilir Ş, Osakada H, Nishimura K, Hirano Y, Asakawa H,
159 Mori C, Kobayashi S, Okada Y, Chikashige Y, Fukagawa T, Shibata S, Hiraoka Y.
160 L'ADN plasmidique transfecté est incorporé dans le noyau via l'enveloppe nucléaire
161 reformation à la télophase. Commun Biol. 2022 janv. 20;5(1):78. doi: 10.1038/s42003-022-
162 03021-8.

163 Hughes DA. Chapitre 6 : La tromperie militarisée. Dans « Covid-19 », Opérations psychologiques,
164 et la guerre pour la technocratie. Extrait de : Springer Professional "Wirtschaft+Technik",
165 Springer Professionnel "Wirtschaft". 2024. Éditeur : Springer International Publishing.
166 [https://www.springerprofessional.de/en/covid-19-psychological-operations-and-the-](https://www.springerprofessional.de/en/covid-19-psychological-operations-and-the-guerre-pour-la-technocratie/26991184)
167 [guerre-pour-la-technocratie/26991184.](https://www.springerprofessional.de/en/covid-19-psychological-operations-and-the-guerre-pour-la-technocratie/26991184)

168 Jackson LA, Anderson EJ, Roupheal NG, Roberts PC, Makhene M, Coler RN, McCullough
169 MP, Chappell JD, Denison MR, Stevens LJ, Pruijssers AJ, McDermott A, Flach B,
170 Doria-Rose NA, Corbett KS, Morabito KM, O'Dell S, Schmidt SD, Swanson PA 2nd,
171 Padilla M, Mascola JR, Neuzil KM, Bennett H, Sun W, Peters E, Makowski M, Albert J,
172 Cross K, Buchanan W, Pikaart-Tautges R, Ledgerwood JE, Graham BS, Beigel JH;
173 Groupe d'étude mRNA-1273. Un vaccin à ARNm contre le SARS-CoV-2 - Préliminaire
174 Rapport. N Engl J Med. 12 novembre 2020;383(20):1920-1931. doi: 10.1056/NEJMoa2022483.

175 Jung Y, Han D. BWA-MEME : BWA-MEM émulé avec une approche d'apprentissage automatique.
176 Bioinformatique. 28 avril 2022 ;38(9):2404-2413. doi : 10.1093/bioinformatics/btac137.

177 Klinman DM, Klaschik S, Tross D, Shirota H, Steinhagen F. Directives de la FDA sur les mesures prophylactiques
178 Vaccins à ADN : analyse et recommandations. Vaccine. 1er avril 2010 ;28(16):2801-5. doi :
179 10.1016/j.vaccin.2009.11.025.

180 König B, Kirchner JO. Considérations méthodologiques concernant la quantification de l'ADN
181 Impuretés dans le vaccin à ARNm Comirnaty® contre la COVID-19. Protocole de méthodes. 2024, 7, 41.
182 doi: 10.3390/mps7030041.

183 Krammer F. Vaccins contre le SARS-CoV-2 en développement. *Nature*. 2020 oct;586(7830):516-527.
184 est ce que je: 10.1038/s41586-020-2798-3.

185 Li H, Durbin R. Alignement de lecture courte rapide et précis avec la transformée de Burrows-Wheeler.
186 *Bioinformatique*. 15 juillet 2009 ; 25(14) : 1754-60. doi : 10.1093/bioinformatics/btp324.

187 Lim S, Yocum RR, Silver PA, Way JC. Taux d'intégration spontanée élevés des extrémités modifiées
188 ADN linéaires après transfection de cellules de mammifères. *Sci Rep*. 2023 26 avril ;13(1):6835. doi :
189 10.1038/s41598-023-33862-0.

190 McKernan K, Helbert Y, Kane LT, McLaughlin S. Séquençage des gènes bivalents Moderna et
191 Les vaccins à ARNm de Pfizer révèlent des quantités de vecteur d'expression allant du nanogramme au microgramme
192 ADNdb par dose. [https://pflegefueraufklaerung.de/wp-](https://pflegefueraufklaerung.de/wp-content/uploads/2023/05/Séquençage-de-bivalents_4-11-23.pdf)
193 [content/uploads/2023/05/Séquençage-de-bivalents_4-11-23.pdf](https://pflegefueraufklaerung.de/wp-content/uploads/2023/05/Séquençage-de-bivalents_4-11-23.pdf). Pré-impressions OSF 2023.
194 <https://osf.io/preprints/osf/b9t7m>.

195 Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N et al. Sécurité et efficacité de l'ARNm BNT162b2 Covid-
196 19 Vaccin. *N Engl J Med* 2020;383:2603-2615.

197 Rapport d'évaluation critique du rapport de révision continue - Vaccin à ARNm contre la COVID-19
198 BioNTech - ARNm modifié, codant pour la protéine de pointe complète du SARS-CoV-2. 2020.
199 [https://factreview.gr/wp-content/uploads/2023/07/Rolling-Review-Report-Quality-](https://factreview.gr/wp-content/uploads/2023/07/Rolling-Review-Report-Quality-COVID-19-Vaccin-ARNm-BioNTech.pdf)
200 [COVID-19-Vaccin-ARNm-BioNTech.pdf](https://factreview.gr/wp-content/uploads/2023/07/Rolling-Review-Report-Quality-COVID-19-Vaccin-ARNm-BioNTech.pdf).

201 Sayers EW, Cavanaugh M, Clark K, Pruitt KD, Sherry ST, Yankie L, Karsch-Mizrachi I.
202 Mise à jour GenBank 2023. *Nucleic Acids Res*. 6 janvier 2023 ; 51(D1) : D141-D144. doi :
203 10.1093/nar/gkac1012.

204 Speicher DJ, Gutsch JRLM, Wiseman DM, McKernan K. Fragments d'ADN détectés dans
205 vaccins monovalents et bivalents Pfizer/BioNTech et Moderna modRNA COVID-19
206 de l'Ontario, Canada : Relation dose-réponse exploratoire avec effets indésirables graves
207 événements. OSFPreprints 2023. <https://doi.org/10.31219/osf.io/mjc97>.

208 Topol EJ. Vaccins à ARN messenger contre le SARS-CoV-2. *Cellule*. 18 mars 2021 ;184(6):1401.
209 doi: 10.1016/j.cell.2020.12.039.

210 Wang Z, Troilo PJ, Wang X, Griffiths TG, Pacchione SJ, Barnum AB, Harper LB, Pauley CJ,
211 Niu Z, Denisova L, Follmer TT, Rizzuto G, Ciliberto G, Fattori E, Monica NL, Manam S,
212 Ledwith BJ. Détection de l'intégration de l'ADN plasmidique dans l'ADN génomique de l'hôte après
213 injection intramusculaire et électroporation. *Gene Ther*. 2004 avr;11(8):711-21. doi:
214 10.1038/sj.gt.3302213.

215

216