

Nová šetření kontroly kvality vakcín: mikro- a nanokontaminace

Abstrakt

Vakcíny jsou zkoumány z hlediska možných vedlejších účinků, které mohou způsobit. Za účelem získání nových informací byla při studiu vakcín použita metoda elektronové mikroskopie, jejímž cílem bylo ověřit přítomnost pevných kontaminantů pomocí environmentálního skenovacího elektronového mikroskopu vybaveného rentgenovou mikrosoudou. Výsledky tohoto nového šetření ukazují na přítomnost mikro- a nanočástic složených z anorganických prvků ve vzorcích vakcín, které nejsou deklarovány mezi složkami a jejichž neoprávněná přítomnost je prozatím nevysvětlitelná. Značná část těchto částicových kontaminantů již byla ověřena v jiných matricích a v literatuře je uváděna jako biologicky nerozložitelná a nebiokompatibilní. Shromážděné důkazy naznačují některé hypotézy související s nemocemi, které jsou zmíněny a stručně diskutovány.

Klíčová slova: vakcína, nemoc, kontaminace, proteinová korona, biokompatibilita, toxicita, nanočástice, imunogenita, cizí těleso, životní prostředí, průmyslový proces, kontrola kvality.

Ročník 4, číslo 1 - 2017

Antonietta M Gatti,^{1,2} **Stefano Montanari**³¹Národní rada pro výzkum Itálie, Ústav pro vědu a technologii keramiky, Itálie²International Clean Water Institute, USA³Nanodiagnosics srl, Itálie

Korespondence: Fermi, 1/L, 41057 San Vito (MO), Itálie, Tel 059798778,
E-mail gatti@nanodiagnosics.it

Přijato: listopadu 2016 | **Publikováno:** leden 2017

Úvod

Vakcíny jsou jedním z nejvýznamnějších vynálezů, které mají chránit lidi před infekčními chorobami. Variolokace je stará několik století a je zmiňována v čínských a indických dokumentech z doby kolem roku 1000 n. l. Postupem času byla variolokace nahrazena očkováním, vakcíny byly technologicky zdokonaleny a očkování je nyní standardizováno po celém světě.

Nežádoucí účinky byly hlášeny vždy, ale v posledních letech se zdá, že jejich počet a závažnost vzrostly, zejména u dětí, jak uvádí Americká pediatriká akademie.^{1,2} Například vakcína proti záškrtu, tetanu a černému kašli (DTaP) byla spojována s případy syndromu náhlého úmrtí kojenců (SIDS),³ vakcína proti spalničkám, příušnicím a zarděnkám s autismem;^{4,5} mnohočetné očkování s poruchami imunity;⁶ vakcíny proti hepatitidě B s roztroušenou sklerózou atd.

V oznámení o vakcíně Tripedia DTaP společnosti Sanofi Pasteur se uvádí: "Nežádoucí účinky hlášené během používání vakcíny Tripedia po jejím schválení zahrnují idiopatickou trombocytopenickou purpuru, SIDS, anafylaktickou reakci, celulitidu, autismus, křeče/velké křeče, encefalopatii, hypotonii, neuropatii, somnolenci a apnoe." Provedené epidemiologické studie tyto souvislosti jednoznačně neprokázaly, i když v roce 2011 Národní lékařská akademie (dříve IOM) připustila: "Vakcíny nejsou bez vedlejších nebo nežádoucích účinků".⁷

Specifické výzkumy složek vakcín, jako jsou adjuvans (ve většině případů hliníkové soli), již byly označeny za možnou příčinu neurologických příznaků⁸⁻¹⁰ a v některých případech testy in vivo a epidemiologické studie prokázaly možnou souvislost s neurologickými onemocněními.^{10,11} V literatuře jsou uváděna neurologická poškození vyvolaná u pacientů léčených hemodialýzou vodou obsahující hliník.¹²

Nedávno se v souvislosti s celosvětově rozšířenými vakcínami proti lidskému papilomaviru (HPV) znovu rozproudila debata kvůli některým nežádoucím účinkům, které hlásili někteří mladí lidé.

Specifické studie sdělily existenci příznaků souvisejících s k nikdy dříve nepopsaným syndromům, které se objevily po očkování.

byl podán. Například komplexní regionální bolestivý syndrom (CRPS), syndrom posturální ortostatické tachykardie (POTS) a chronický únavový syndrom (CFS).¹³ Nežádoucí účinky, které mohou vzniknout během relativně krátké doby, mohou být lokální nebo systémové.

Popisuje se bolest v místě vpichu, otok a nekontrolovatelný pohyb rukou (i když tento poslední příznak lze považovat za systémový). Ze systémových účinků jsou hlášeny horečka, bolest hlavy, podrážděnost, epileptické záchvaty, dočasná ztráta řeči, dyssestézie a paréza dolních končetin, návaly horka, poruchy spánku, reakce přecitlivělosti, svalové bolesti, opakované synkopy, neustálý hlad, výrazné poruchy chůze, neschopnost udržet ortostatickou polohu.¹⁴

Je faktem, že každý den jsou aplikovány miliony dávek vakcín a nic pozoruhodného se nestane, ale je také nezvratné, že bez ohledu na množství nežádoucích účinků, které nejsou zaznamenány a jejichž procento zůstává ve skutečnosti neznámé, se v omezeném počtu případů něco špatného stane. Žádné uspokojivé vysvětlení nebo v mnoha případech vůbec žádné vysvětlení nebylo podáno a zdá se, že k těmto nežádoucím účinkům dochází náhodně a stochasticky.

Tyto situace nás přiměly ověřit bezpečnost vakcín z hlediska, které nebylo nikdy předtím přijato: nikoliv biologický, ale fyzikální přístup. Vyvinuli jsme tedy novou metodu analýzy založenou na použití vyšetřování pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu s polní emisní pistolí, abychom zjistili možnou fyzikální kontaminaci těchto produktů.

Materiály a metody

Analyzováno bylo 44 typů vakcín pocházejících ze dvou zemí (Itálie a Francie). Tabulka 1 je seskupuje podle názvu, značky a účelu.

Některé vakcíny, kterých je ve skutečnosti menšina, jsou určeny proti jedné bakterii nebo viru, zatímco jiné jsou vícevalentní. Seznam analyzovaných vakcín může obsahovat opakující se názvy, protože jsme brali v úvahu různé šarže a roky výroby stejných vakcín: zejména těch proti chřipce.

T able 1 Seznam analyzovaných vakcín podle jejich účelu

N	Název	Název značky, země distribuce	Popis	Výrobní šarže, Datum vypršení platnosti
1	Vivotif Berna	Berna Biotech SA, Itálie	Vakcína proti tyfu (živá), skupina Ty21a	3000336 [2004]
2	Typhim Vi	Aventis Pasteur MSD, Itálie	Vakcína proti Salmonella typhi	U1510-2 [2004]
3	Typherix	GlaxoSmithKline S.p.a., Itálie	Vakcína proti typoidům (polysacharid Vi)	ATYPB061BB [2009]
4	Anatetall	Chiron (nyní Novartis) Itálie	Adsorbovaná vakcína proti tetanu	030106 [2004]
5	Anatetall	Novartis Vaccines and Diagnostics, Itálie	Adsorbovaná vakcína proti tetanu	060510 [2009]
6	Tetabulin	Baxter AG, Itálie	Adsorbovaná vakcína proti tetanu	VNG2G006A [2009]
7	Dif-Tet-All	Novartis Vaccines and Diagnostics, Itálie	Adsorbovaná vakcína proti tetanu a záškrtu	070501 [2009]
8	Infanrix	GlaxoSmithKline S.p.a., Itálie	Vakcína proti difterii, tetanu a černému kašli	AC14B071AJ [2009]
9	Infanrix hexa	GlaxoSmithKline Biologicals s, Itálie	Proti difterii, tetanu, černému kašli, hepatitidě B, poliomyelitidě a onemocnění způsobené Haemophilus influenzae typu b	A21CC512A [2017]
10	Infanrix hexa	GlaxoSmithKline Biologicals s. a. Francie	Proti difterii, tetanu, černému kašli, hepatitidě B, poliomyelitidě a onemocnění způsobené Haemophilus influenzae typu b	A21CC421A [2017]
11	M-M-R vaxPro	Sanofi Pasteur MSD, Itálie	Analýza vakcíny M-M-R vaxPro (spalničky, příušnice a zarděnky) v Cambridge	L012437 [2017]
12	Repevax	Sanofi Pasteur MSD, Francie	Vakcína proti difterii, tetanu, černému kašli a dětské obrně	L0362-1 [2017]
13	Repevax	Sanofi Pasteur MSD SNC Francie	Vakcína proti difterii, tetanu, černému kašli a dětské obrně	L0033-1 [2016]
14	Priorix	GlaxoSmithKline S.p.a., Itálie	Vakcína proti spalničkám, příušnicím a zarděnkám (MMR)	A69CB550A [2009]
15	Morupar	Chiron (nyní Novartis,), Itálie	Vakcína proti spalničkám, příušnicím a zarděnkám (MMR).	7601 [2004]
16	Varilrix	GlaxoSmithKline S.p.a., Itálie	Vakcína proti planým neštovicím (skupina OKA)	A70CA567A [2009]
17	Stamaril Pasteur	Sanofi Pasteur MSD, Itálie	vakcína proti žluté zimnici	A5329-6 [2009]
18	Allergoid-Adsorbat 6-Graser Starke B.	Allergopharma, Německo	Antialergická vakcína	Ch-B.:30005999-B [2006]
19	Engerix-B	GlaxoSmithKline S.p.a., Itálie	Adsorbovaná vakcína proti hepatitidě B	AHBVB468BD [2009]
20	Prenevar 13	Pfizer, Itálie	Vakcína proti pneumokokům	G79324 [2013]
21	Prevenar 13	Pfizer, Francie	Vakcína proti pneumokokům	N27430 [2018]
22	Mencevax Acwy	GlaxoSmithKline, Itálie	vakcína proti meningokokům skupiny A, C, W135 a Y.	N402A47B 12 [2004]
23	Meningitec	Pfizer, Itálie	(skupina C 10) (adsorbovaná na Al-fosfátu)	H92709 [2015]
24	Meningitec	Pfizer-Itálie	Vakcína proti meningokokům (skupina C 10) (adsorbovaná na Al-fosfátu)	H20500 [2014]
25	Meningitec	Pfizer-Itálie	Vakcína proti meningokokům zabavená společností Procura della Repubblica	G76673 [2014]
26	Meningitec	Pfizer-Itálie	Vakcína proti meningokokům zabavená společností Procura della Repubblica	H99459 [2015]
27	Meningitec	Pfizer-Itálie	Vakcína proti meningokokům zabavená společností Procura della Repubblica	H52269 [2015]
28	Menjugate	Vakcíny a diagnostika společnosti Novartis	Anti-meningokok skupiny C	YA0163AB [2010]
29	Menveo	Vakcíny a diagnostika společnosti Novartis	Antimeningokokové skupiny A, C,W135,Y	A15083 [2017]
30	Meningitec	Wyeth Pharmaceutical - Francie	Vakcína proti meningokokům skupiny C	E83920 [2011]
31	Inflexal V	Berna Biotech	Vakcína proti chřipce 2008/2009	3001463-01 [2009]
32	Vaxigrip	Sanofi Pasteur MSD	Vakcína proti chřipce 2008/2009	D9703-1 [2009]
33	Vaxigrip	Sanofi Pasteur	Vakcína proti chřipce 2012/2013	J8401-1 [2013]
34	Vaxigrip	Sanofi Pasteur, Itálie	Vakcína proti chřipce s inaktivovaným a rozděleným virem	M7319-1 [2016]
35	Focetria	Vakcíny a diagnostika společnosti Novartis	Vakcína proti pandemické chřipce H1N1	0902401 [2010]
36	Agrippal	Novartis	Vakcína proti chřipce 2012/2013	127002A [2013]
37	Agrippal	Vakcíny Novartis, Itálie	Vakcína proti chřipce s inaktivovaným a děleným virem 2015/2016 -	152803 [2016]
38	Agrippal S1	Vakcíny a diagnostika společnosti Novartis	Inaktivované/povrchové antigeny proti chřipce v - 2014/2015	147302A [2015]
39	Fluarix	GlaxoSmithKline - GSK	Vakcína proti chřipce 2013	AFLUA789AA [2014]
40	Fluad	Vakcíny a diagnostika společnosti Novartis	Inaktivovaná/povrchová antigenní vakcína proti chřipce - 2014/2015	142502 [2015]

Pokračování tabulky...

N	Název	Název značky, země distribuce	Popis	Výrobní šarže, Datum vypršení platnosti
41	Gardasil	Sanofi Pasteur MSD, Itálie	Vakcína proti HPV typu 6,11,16,18	NP01250 [2012]
42	Gardasil	Sanofi Pasteur MSD, Itálie	Vakcína proti HPV (typy 6,11,16,18)	K023804 [2016]
43	Cervarix	GlaxoSmithKline Biological, Itálie	Anti-HPV (typ 16,18)	AHPVA238AX [2017]
44	Feligen CRP	Virbac S.A. - Carros - Itálie	proti panleukopenii, infekční rinotracheitidě a infekcím způsobeným kalciivirem, veterinární vakcína pro kočky	3R4R [2013]

Table 2 Seznam očkovacích látek podle jejich výrobců s chemickým složením zbytků identifikovaných v jednotlivých vzorcích. Jsou zastoupeny

N	Společnost	Název	Hliník	Identifikované prvky
1	Allergopharma - Německo	Allergoid	ano	Al
2	Aventis Pasteur MSD Lyon - Francie	Typhim Vi	ne	BrKP, PbSi, FeCr, PbCISiTi
3	Baxter AG	Tetabulin	ne	SiMg, Fe, SiTiAl, SBa, Zn
4	Berna Biotech	Vivotif Berna	ne	FeAl, ZrAlHf, SrAl, BiAlCl
5	Berna Biotech	Inflexal V	ne	CuSnPbZn, Fe, CaSiAl, SiAl, NaPZn, ZnP, AlSiTi
6	Chiron	Anatetall	Al(OH)3	FeAl, SZnBaAl
7	Chiron	Morupar	ne	/
8	GlaxoSmithKline- Belgie	Mencevax ACWY	ne	FeCrNi, ZrAl, FeCrNiZrAlSi
9	GlaxoSmithKline	Infanrix	Al(OH)3	Al, AlTi, AlSi
10	GlaxoSmithKline Biologicals	Infanrix hexa	Al(OH)3	SBa, FeCu, SiAl, FeSi, CaMgSi, AlCaSi, Ti, Au, SCa, SiAlFeSnCuCrZn, CaAlSi
11	GlaxoSmithKline Biologicals	Infanrix hexa	Al(OH)3 , AlPO4. 2H2O	W, FeCrNi, Ti
12	GlaxoSmithKline	Typherix	ne	Ti, TiW, AlSiTiWCr, SBa, W, SiAl, AlSiTi
13	GlaxoSmithKline	Priorix	ne	WCa, WFeCu, SiAl, SiMg, PbFe, Ti, WNIFe
14	GlaxoSmithKline	Engerix-B	ne	Al (sraženiny)
15	GlaxoSmithKline	Varilrix	ne	FeZn, FeSi, AlSiFe, SiAlTiFe, MgSi, Ti, Zr, Bi
16	GlaxoSmithKline	Fluarix	ne	AlCu, Fe, AlBi, Si, SiZn, AlCuFe, SiMg, SBa, AlCuBi, FeCrNi, SPZn
17	GlaxoSmithKline Biologicals	Cervarix	Al(OH)3	AlSi, FeAl, SiMg, CaSiAl, CaZn, FeAlSi, FeCr, CuSnPb
18	Vakcíny a diagnostika společnosti Novartis	Anatetall	Al(OH)3	Al, FeCrNi, AlCr, AlFe, BaS, ZnAl
19	Vakcíny a diagnostika společnosti Novartis	Dif-Tet-All	Al(OH)3	Fe, SBa, SiSBa, AlZnCu, AlZnFeCr
20	Vakcíny a diagnostika společnosti Novartis	Menjugátová souprava	Al(OH)3	SiAl, Ti, FeZn, Fe, Sb, SiAlFeTi, W, Zr
21	Vakcíny a diagnostika společnosti Novartis	Focetria	ne	Fe, FeCrNiCu, FeCrNi, SiFeCrNi, Cr, SiAlFe, AlSiTiFe, AlSi, SiMgFe, Si, FeZn
22	Novartis	Agrippal S1	ne	Ca, Fe, SBa, SBAZn, Cr, Si, Pb, Bi, e FeSiAlCr, SiAlSBAFe, CaAlSi, Zn, CeFeTiNi, FeCrNi
23	Vakcíny a diagnostika společnosti Novartis	Agrippal S1	ne	SiAlK, Si, SiMgFe, CaSiAl, SBAZn
24	Vakcíny Novartis	Agrippal	ne	Cr, Ca, SiCaAl, ZrSi, SBA, CuZn, SCA
25	Novartis Vaccines and Diagnostics S	Fluad	ne	CaSiAl, FeSiTi, SiMgAlFe, SBA
26	Vakcíny a diagnostika společnosti Novartis	Menveo	ne	CaSiAl, SiAlFe, FeCrNi, Fe, Al, SBA
27	Pfizer	Prenevar 13	ne	FeCr
28	Pfizer	Prevenar 13	ne	W, CaAlSi, Al, CaSiAlFe, FeS, FeCr, FeCrNi, Fe, , CaP, FeTiMn, Ba, SiMgAlFe
29	Pfizer	Meningitec - ctrl	ne	Cr, Si
30	Pfizer	Meningitec - ctrl	ne	FeCrNi, W
31	Pfizer	Meningitec	ne	CaSiAl, CaSi, SiAlFeTi, FeCrNi, W, Fe, Pb
32	Pfizer	Meningitec	ne	Cr (precipitáty), Ca, AlSi
33	Pfizer	Meningitec	ne	W, SiCa, CaSi, Pb, FeCrNi, Cr
34	Wyeth Pharmaceutical - Velká Británie	Meningitec	ne	SiAlFe, SiAlTi, SiMgFe, W, Fe, Zr, Pb, Ca, Zn, FeCrNi
35	Sanofi Pasteur MSD-France	Vaxigrip	ne	Fe, FeCrNi, SiAlFe, AlSi, SiAlFeCr
36	Sanofi Pasteur MSD	Stamaril Pasteur	ne	CaSiAl, AlSi, Fe, SiMgFe, SiMgAlFe, CrSiFeCr, CrSiCuFe
37	Sanofi Pasteur MSD	Gardasil	AlPO4. 2H2O	AlCuFe, PbBi, Pb, Bi, Fe
38	Sanofi Pasteur MSD	Gardasil	AlPO4. 2H2O	CaAlSi, AlSi, SiMgFe, AlFe, AlCuFe, FeSiAl, BiBaS, Ti, TiAlSi
39	Sanofi Pasteur	Vaxigrip	ne	Ca, CrFe, FeCrNi, CaSZn, CaSiAlTiFe, Ag, Fe
40	Sanofi Pasteur	Vaxigrip	ne	SiMgFe, CaSiAl, AlSiFe, AlSi, FeCr, FeZn, Fe
41	Sanofi Pasteur MSD	Repevax	AlPO4 .2H2O	Bi, Fe, AlSiFe, SiMg, SBA, Ca

Nová šetření kontroly kvality vakcín: mikro- a nanokontaminace

42	Sanofi Pasteur MSD S	Repevax	AlPO ₄ .2H ₂ O	Ti, Br, AuCuZn, Ca, SiZn, SiAuAgCu, SiMgFe, FeCrNi. AlSiMgTiMnCrFe, SiFeCrNi, FeAl
43	Sanofi Pasteur MSD	M-M-R vaxPro	ne	Si, SiFeCrNi, FeCrNi, FeNi, Fe, SCa, AlSiCa, CaAlSiFeV, SBa, Pt, PtAgBiFeCr
44	Virbac S.A. - Carros - Francie	Feligen CRP	ne	Ca, SiAl

Table 3 Seznam počtu nečistot identifikovaných v každé vakcíně jako jednotlivé částice, shluky a agregáty. Charakterizace je provedena podle tvaru, rozsahu velikosti a variability počtu částic spočítaných v každém agregátu [v závorkách].

Název	Celková suť n.	Rozsah velikostí v mm	Shluk n.	Rozsah velikostí v mm	Agregát n. (rozsah částic)	Rozsah velikostí mm
Allergoid	Sraženiny NaCl	/	/	/	/	/
Typhim Vi	394	0,1-2,5			3[9-350]	Únor-35
Tetabulin	519	0,1-15			3[100-180]	25-60
Vivotif Berna	4	1,5-15				
Inflexal V	103	0,1-17	1	20	3[35-45]	25. října
Anatetall	2	3. ledna				
Morupar	/		/		/	
Mencevax ACWY	13	0,2-5				
Infanrix	3	5. ledna	1	25		
Infanrix hexa	1821	0,1-15			15[1820]	20-140
Infanrix hexa	162	0,3-7	12	60	2[7 odpadků]	3.5-44
Typherix	8	0,2-8	1	15		
Priorix	641	0,05-30	1	10	3[600]	20-70
Engerix-B	sráží			/		
Varilrix	2723	0,1-4			36 [120-2000]	15-40
Fluarix	1317	0,1-40			3[83]	30. července
Cervarix	1569	0,2-3	2	10. května	4[1400]	30. srpna
Anatetall	47	0,05-40				
Dif-Tet-All	111	0,2-3				
Menjugate	73	0,1-5				
Focetria	35	0,7-10				
Agrippal S1	430	0,2-6	13	0.2-80	5[410]	20
Agrippal S1	1029	0,1-12			9[1025]	35-80
Agrippal	480	0,1-6			11[460]	únor-80
Fluad	605	0,2-15	4	25-Dec	6[600]	70
Menveo	452	0,1-13			4[430]	30-110
Prenevar 13	srážky + 5 úlomků	7. ledna				
Prevenar 13	srážky + 81 úlomků	0,2-50	3	Květen-40	1 [60]	25
Meningitec	3	20. října				
Meningitec	24	Aug-60				
Meningitec	673	0,1-20	1	7	9[624]	5-110
Meningitec	srážky + 40	0,1-3,5			2[40]	25-70
Meningitec	177	0,2-10			3[165]	15-100
Meningitec	241	0,1-15	1	50	2[230]	50
Vaxigrip	86	0,1-7			2[50]	2-2,5
Stamaril Pasteur	152	0,1-7	2	7. května	3[145]	20. dubna
Gardasil	304	0,05-3			1[300]	15
Gardasil	454	0.1-30	2	20. července	9[445]	Květen-60
Vaxigrip	304	0,1-10	1	13	2[300]	35
Vaxigrip	674	0,3-25	2	12. února	10[660]	9-150
Repevax	137	0,1-20			2[130]	40-50
Repevax	214	0,1-10			6[150]	30. května
M-M-R vaxPro	93	0,1-15			2[50]	15. října
Feligen CRP	92	0,1-12	1	12	1 (40 trosek)	25

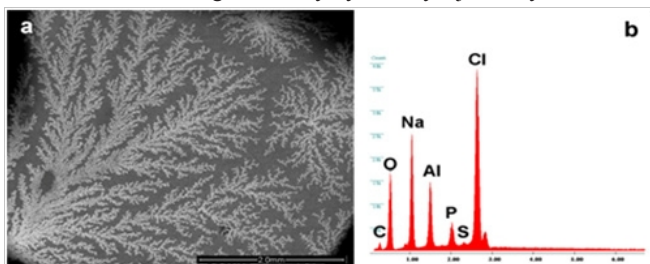
Cílem studie bylo ověřit možnou fyzikální kontaminaci. Za tímto účelem jsme provedli nový druh zkoumání založený na pozorování pod rastrovacím elektronovým mikroskopem s polní emisní pistolí (FEG-ESEM, Quanta 200, FEI, Nizozemsko) vybaveným rentgenovou mikroskopou energetického disperzního spektroskopu (EDS, EDAX, Mahwah, NJ, USA), abychom zjistili možnou přítomnost anorganických kontaminujících částic a určili jejich chemické složení.

Na celulósový filtr o průměru 25 mm (Millipore, USA) v průtokové skříně se z injekční stříkačky uvolní kapka vakcíny o objemu přibližně 20 mikrolitrů. Filtr se poté umístí na hliníkovou stopku.

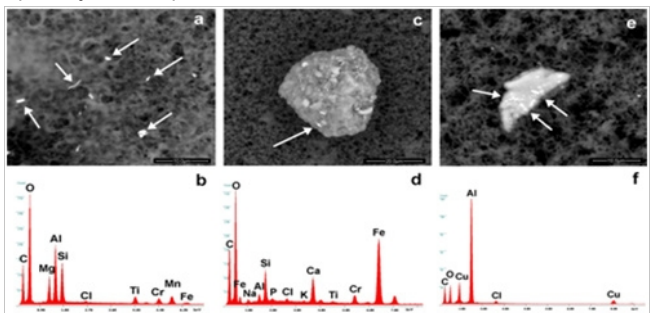
pokryté lepicím uhlíkovým kotoučem. Vzorek se ihned vloží do čisté krabičky, aby se zabránilo jakékoli kontaminaci, a krabička se znovu otevře pouze pro vložení vzorku do komory FEG-ESEM. Zvolili jsme tento konkrétní typ mikroskopu, protože umožňuje analyzovat vodnaté a olejnaté vzorky v nízkém vakuu (od 10 do 130 Pa) při vysoké citlivosti.

Když se voda a solný roztok, které vakcína obsahuje, odpaří, objeví se na filtru biologické/fyzikální složky, které je pak možné pozorovat. Tento typ mikroskopu (pozorování při nízkém vakuu) zabraňuje možné kontaminaci vzorku a vzniku artefaktů. Pozorování se provádí pomocí různých senzorů

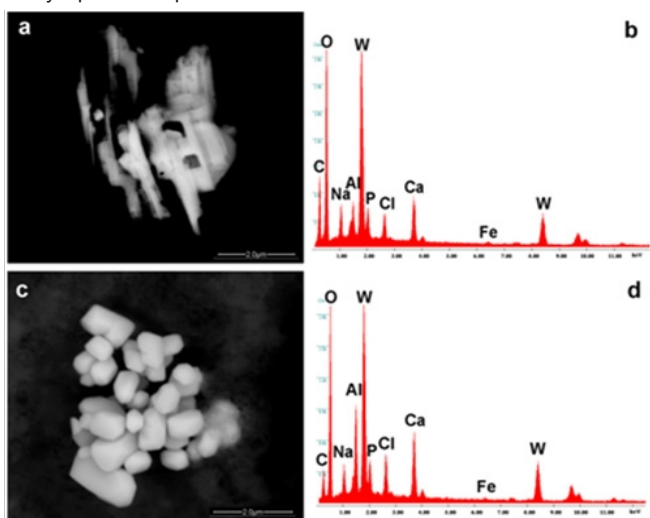
(SE: senzor sekundárních elektronů a BSE: senzor zpětně rozptýlených elektronů) a provádějí se při tlaku 8,9 e-1 mbar a energii v rozmezí 10 až 30 kV, aby se zjistila velikost částic, jejich morfologie a prvkové složení. Metoda jasně identifikuje anorganická tělesa s vyšší atomovou hustotou (vypadají bělejší) než biologický substrát. Organické entity jsou tedy viditelné a snadno odlišitelné od anorganických. Metoda nedokáže rozlišit bílkoviny a organické příměsi (např. skvalen, glutamát, bílkoviny atd.) nebo viry, bakterie, DNA bakterií, endo-toxiny a odpad bakterií, ale jejich relativně nízká atomová hustota nám umožňuje identifikovat tyto entity jako organické látky. V některých vakcínách obsahuje organická hmota bíle vypadající zbytky pojmenované agregáty, zatímco vysoká koncentrace nebo anorganické zbytky se nazývají shluky.



Obrázek 1 Krystaly solného roztoku a fosforečnanu hlinitého a odpovídající EDS spektra.



Obrázek 2 Obrázky jednotlivých částic, shluků mikročástic a nanočástic (<100 nm) a agregátů s jejich EDS spektry. Jsou složeny z (a,b) hliníku, křemíku, hořčíku, titanu, chromu, manganu, železa, (c,d) železa, křemíku, vápníku, titanu, chromu, (e,f) hliníku, mědi. Šipky ukazují body, kde byla pořízena spektra EDS.



Obrázek 3 Obrázky wolframových částic identifikovaných v kapkách přípravků Prevenar a Infarix. Jsou složeny z wolframu, hliníku a železa, ale v různých koncentracích. Šipky ukazují body, kde byla pořízena spektra EDS.

Jednotlivé anorganické částice nebo organicko-anorganické agregáty se identifikují, vyhodnotí a spočítají. Postup počítání je třikrát opakován třemi různými operátory s chybou nižší než 10 %. Při zjištění vrstvy solí (chlorid sodný nebo hlinitý) situaci zaznamenáme, ale neprovádíme počítání těles.

Výsledky

Šetřením bylo ověřeno fyzikálně-chemické složení uvažovaných vakcín podle anorganické složky deklarované výrobcem. Podrobně jsme ověřili přítomnost fyziologického roztoku a hlinitých solí, ale dále byla ve všech případech zjištěna přítomnost mikro-, submikro- a nanomikroskopických anorganických cizích těles (v rozmezí od 100 nm do přibližně deseti mikrometrů), jejichž přítomnost nebyla deklarována v příbalových letáčích dodávaných v balení výrobku (tabulka 2).

Obrázek 1a ukazuje vrstvu krystalů chloridu sodného (NaCl), do které jsou vloženy soli fosforečnanu hlinitého (AlPO_4) v kapce Gardasilu (anti-HPV vakcína společnosti Merck), jak ukazuje spektrum EDS (obrázek 1b). Fyziologický roztok je tekutým základem každého vakcinačního přípravku a soli hliníku nebo hydroxid hlinitý $\text{Al}(\text{OH})_3$ jsou adjuvans, která se obvykle přidávají.

Při pohledu na oblast mimo tyto precipitáty, ale uvnitř kapky kapaliny, jsme identifikovali další věci: jednotlivé částice, shluky částic a agregáty (organicko-anorganické kompozity), které jsou způsobeny interakcí anorganických částic s organickou částí vakcíny.

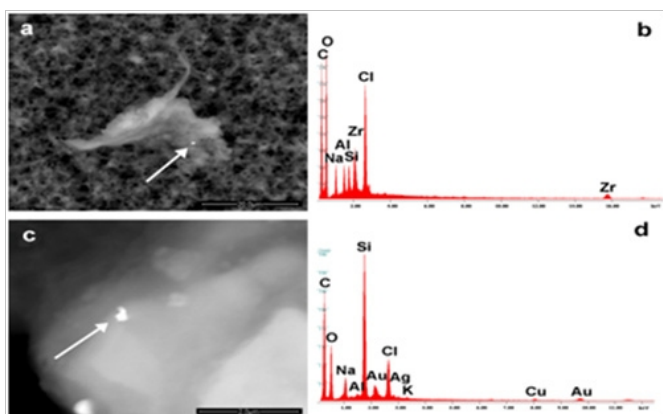
Obrázky 2a-2f ukazují různé typologie entit identifikovaných ve vakcínách (Repevax, Prevenar a Gardasil); jednotlivé částice, shluky mikro- a nanočástic (<100 nm) a agregáty s jejich spektry EDS (obrázky 2d-2f). Obrázky (Obrázek 2a a 2d) ukazují zbytky hliníku, křemíku, hořčíku a titanu; částice železa, chromu, křemíku a vápníku (Obrázek 2b a 2e) uspořádané do shluku a zbytky hliníku a mědi (Obrázek 2c a 2f) v agregátu.

Jak je patrné, částice jsou obklopeny a zapuštěny do biologického substrátu. Ve všech analyzovaných vzorcích jsme identifikovali částice obsahující: (Typhym, Cervarix, Agrippal S1, Meningitec, Gardasil) nebo nerezovou ocel (Mencevax, Infarix Hexa, Cervarix, Anateall, Focetria, Agrippal S1, Menveo, Prevenar 13, Meningitec, Vaxigrip, Stamaril Pasteur, Repevax a MMRvaxPro).

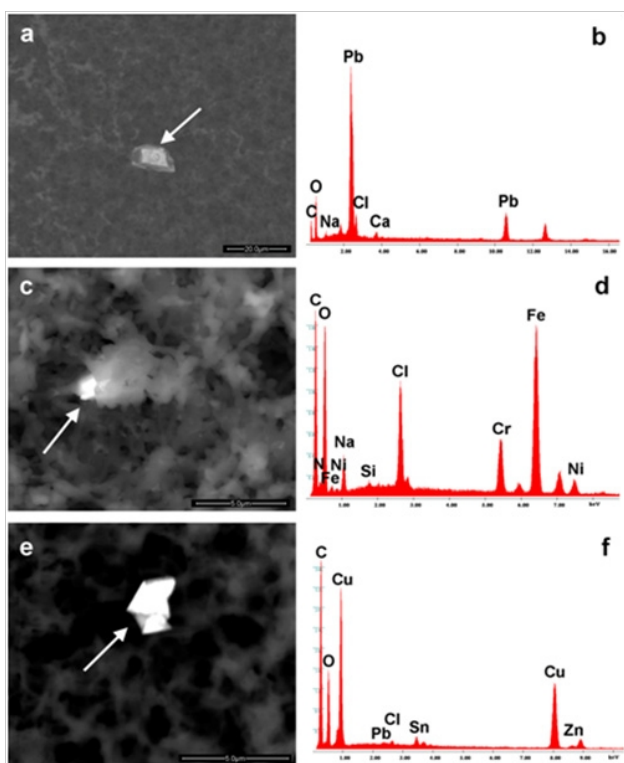
Obrázky 3a-3d ukazují částice wolframu identifikované v kapkách Prevenaru a Infarixu (hliník, wolfram, chlorid vápenatý).

Obrázky 4a-4d představují jednotlivé zbytky nalezené v Repevaxu (křemík, Zlato, stříbro) a Gardasil (zirkonium).

Byly také identifikovány některé kovové částice z wolframu nebo nerezové oceli. Byly nalezeny i další částice obsahující zirkonium, hafnium, stroncium a hliník (Vivotif, Meningetec); wolfram, nikl, železo (Priorix, Meningetec); antimon (Menjugate kit); chrom (Meningetec); zlato nebo zlato, zinek (Infarix Hexa, Repevax) nebo platinu, stříbro, vizmut, železo, chrom (MMRvaxPro) nebo olovo, vizmut (Gardasil) nebo cer (Agrippal S1). Jediný wolfram se objevuje v 8/44 vakcínách, zatímco chrom (samostatně nebo ve slitině se železem a niklem) v 25/44 vakcínách. Zkoumání ukázala, že některé částice jsou zapuštěny do biologického substrátu, pravděpodobně proteinů, endo-toxinů a zbytků bakterií. Jakmile se částice dostane do kontaktu s bílkovinnými tekutinami, dochází k nano-bio-interakci⁶ a vzniká "proteinová korona".⁷⁻¹⁰ Při nano-bio-interakci vzniká sloučenina větších rozměrů, která není biologicky odbouratelná a může vyvolat nežádoucí účinky, protože ji tělo nerozpozná jako vlastní.



Obrázek 4 Obrázky ukazují příklady nano biointerakce. Agregát (a,b) identifikovaný v přípravku Gardasil obsahuje nanočástice chloru, kremiku, hliníku, zirkonia, zatímco zbytky nalezené v přípravku Repevax obsahují kremík, zlato, stříbro (c,d). šípky ukazují body, kde byla pořizena spektra EDS.



Na **obrázku 5** jsou zobrazeny částice obklopené organickou sloučeninou. Jsou složeny z olova (a,b), železa, chromu, niklu (nerezová ocel; c,d), mědi, cínu, olova (e,f). Šípky ukazují body, kde byla pořizena spektra EDS.

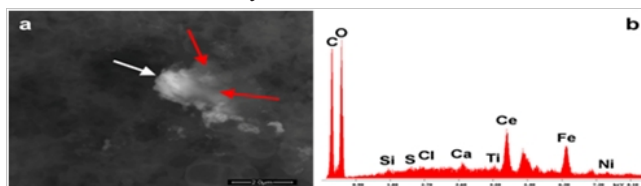
Obrázky 5a-5f ukazují příklady těchto nano-bio-interakcí. Lze pozorovat agregáty (stabilní kompozitní útvary) obsahující částice olova v přípravku Meningitec (obrázky 5a a 5b), nerezové oceli (železo, chrom a nikl, obrázky 5c a 5d) a mědi, zinku a olova v přípravku Cervarix (obrázky 5e a 5f). Podobné agregáty, i když v jiných situacích (pacienti trpící leukémií nebo kryoglobulinémií), již byly v literatuře popsány.

Spojení mezi těmito dvěma entitami vytváří rozklad proteinů, který může vyvolat autoimunitní účinek, jakmile jsou tyto proteiny injikovány lidem.

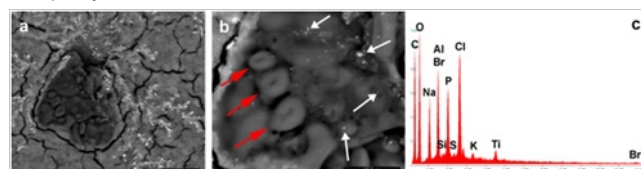
Obrázky 6a a 6b ukazují jedno z cizích těles identifikovaných u Agrippal. Částice se skládá z ceru, železa, titanu a železa.

Citace: Gatti AM, Montanari S. Nová šetření kontroly kvality vakcín: mikro- a nanokontaminace. *Int J Vaccines Vaccin.* 2017;4(1):7-14. DOI: 10.15406/ijvv.2017.04.00072

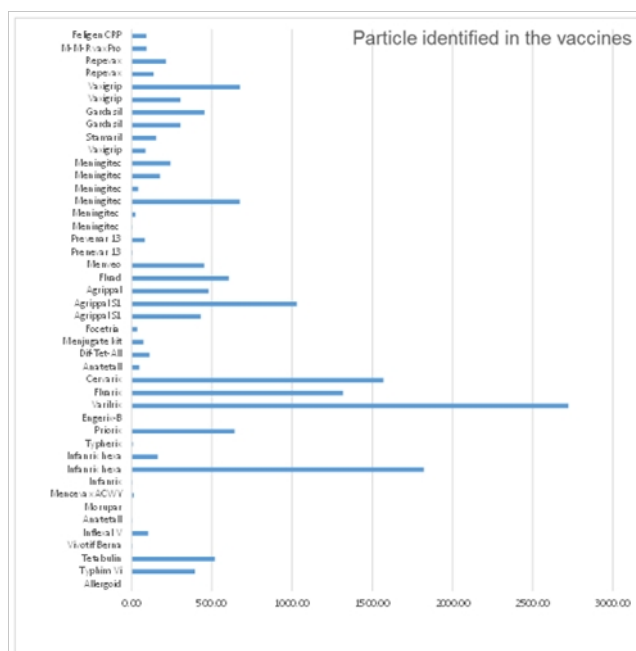
Nikl. (Obrázek 7a a 7b) představují oblast Repevaxu, kde je jasně patrná morfologie červených krvinek - nelze určit, zda se jedná o lidské nebo zvířecí krvinky.



Obrázek 6 ukazují organický agregát obsahující úlomky z ceru, železa, niklu a titanu. Červená šípka označuje organickou vrstvu (méně atomárně hustou), která pokrývá částici ceru.



Obrázek 7 Obrázek oblasti v kapce Repevaxu, kde byla identifikována morfologie červených krvinek (červené šípky). Nelze určit, zda jsou lidského nebo zvířecího původu. Mezi zbytky fyziologického roztoku a fosforečnanu hlinitého jsou přítomny zbytky (bílé šípky) složené z hliníku, bromu, kremiku, draslíku, titanu.



Obrázek 8 Graf množství nečistot identifikovaných v kapce o objemu 20 mikrolů. každou vakcínu.

Tabulka 3 shrnuje počet a morfologii identifikovaných nečistot, a to v podobě jednotlivých částic, shluků částic nebo agregátů (organicko-anorganických sloučenin), zatímco obrázek 8 ukazuje graf získaný výpočtem celkového počtu částic (částice plus shluky plus agregáty) identifikovaných pro 20mikrol každé vakcíny.

Podobné agregáty popsali již jiní vědci, kteří je identifikovali v krvi např. u pacientů s leukémií¹⁵ a u osob postižených kryoglobulinémií.¹⁶

Ne všechny analyzované vakcíny obsahují stejnou kontaminaci, ačkoli stejná vakcína patřící do různých šarží a v některých případech pocházející z různých zemí může obsahovat podobnou kontaminaci (např. vakcíny Glaxo Infarix, Typherox a další).

Priorix obsahuje wolfram. Wolfram byl rovněž identifikován v soupravě Menjugate od společnosti Novartis a v přípravcích Prevenar, Meningitec od společnosti Pfiizer a Meningitec od společnosti Wyeth).

Feligen, jediná testovaná veterinární vakcína, se ukázal být jediným vzorkem bez anorganické kontaminace, zatímco Allergoid vytváří tak silnou vrstvu anorganických solí, že neumožňuje detekci jiných částicových kontaminantů.

Diskuse

Množství zjištěných cizích těles a v některých případech i jejich neobvyklé chemické složení nás zmátlo. Zjištěné anorganické částice nejsou ani biokompatibilní, ani biologicky odbouratelné, to znamená, že jsou biopersistentní a mohou vyvolat účinky, které se mohou projevit buď bezprostředně v blízkosti doby podání injekce, nebo po určité době od podání. Je důležité si uvědomit, že částice (krystaly, nikoliv molekuly) jsou tělesa cizí organismu a jako taková se chovají. Konkrétněji řečeno, jejich toxicita je v některých ohledech odlišná od toxicity chemických prvků, které je tvoří, a přidává k této toxicitě, která je v každém případě stále přítomna, toxicitu typickou pro cizí tělesa. Z tohoto důvodu vyvolávají zánětlivou reakci.

Po injekci mohou tyto mikročástice, nanočástice a agregáty zůstat v okolí místa vpichu a vytvářet otoky a granulomy.¹⁷ Mohou však být také přenášeny krevním oběhem a vymykají se jakýmkoli pokusům odhadnout, co bude jejich konečným cílem. Domníváme se, že v mnoha případech se dostanou do celého těla, aniž by způsobily jakoukoli viditelnou reakci, ale je také pravděpodobné, že za určitých okolností se dostanou do některého orgánu, žádný nevyjímaje a včetně mikrobioty, v přiměřeném množství. Jak se stává se všemi cizími tělesy, zejména tak malými, vyvolávají zánětlivou reakci, která je chronická, protože většina těchto částic nemůže být rozložena. Kromě toho může protein-korona efekt (v důsledku nano- bio-interakce¹⁸ vytvářet organické/anorganické kompozitní částice schopné stimulovat imunitní systém nežádoucím způsobem.^{19–22} Nelze nedodat, že částice velikosti často pozorované ve vakcínách mohou pronikat do buněčných jader a interagovat s DNA.²³

V některých případech, např. u železa a některých slitin železa, mohou korodovat a korozní produkty působí toxicky na tkáň.^{24–26}

Zjištění přítomnosti hliníku a solí NaCl je zřejmé, protože se jedná o látky, které výrobci používají a deklarují jako složky, ale jiné materiály by ve vakcíně ani v žádném jiném injekčním léčivu být neměly, a hliník byl v každém případě již spojován s neurologickými onemocněními.^{27–29}

Vzhledem ke kontaminaci, kterou jsme pozorovali ve všech vzorcích vakcín pro humánní použití, jsou nežádoucí účinky po podání těchto vakcín možné a věrohodné a mají charakter náhodnosti, protože závisí na tom, kam se kontaminanty dostanou krevním oběhem. Je pouze zřejmé, že podobné množství těchto cizorodých látek může mít závažnější dopad na velmi malé organismy, jako jsou organismy dětí. Jejich přítomnost ve svalech by v důsledku extravazace z krve mohla silně narušit funkčnost svalů.^{30,31}

Při studiu případů kontaminace životního prostředí způsobené různými zdroji znečištění se setkáváme s částicemi s chemickým složením podobným těm, které jsme našli v analyzovaných vakcínách. Za většiny okolností jsou zjištěné kombinace velmi zvláštní, protože nemají žádné technické využití, nelze je nalézt v žádné příručce materiálů a vypadají jako výsledek náhodného vzniku, ke kterému dochází například při spalování odpadu. V

Nové šetření kontroly kvality žánků mikro- a nanokontaminace natož ve vakcínách, zejména ty, které jsou určeny pro kojence.

V poslední době byly pozorovány další formy dosud neznámé kontaminace a vakcíny v každém případě obsahují složky, které by samy o sobě mohly být příčinou nežádoucích účinků. V toxikologii je dobře známo, že kontaminující látky působí vzájemně synergicky a s rostoucím počtem kontaminujících látek jsou účinky stále méně předvídatelné. Tím spíše, když jsou některé látky neznámé.

Ve skutečnosti neexistují žádné vyčerpávající a spolehlivé oficiální údaje o vedlejších účincích očkování. Epizodické důkazy, které uvádějí lidé údajně poškození vakcínami, jsou dvojího druhu: někteří tvrdí, že k poškození došlo a projevilo se během několika hodin po podání, a někteří tvrdí, že to byla záležitost několika týdnů. Ačkoli nemáme žádné nezpochybnitelné důkazy o spolehlivosti těchto svědectví, můžeme předložit hypotézu, která by tyto rozdílné jevy vysvětlovala. V prvním případě se škodliviny obsažené v droze dostaly do mozku a v závislosti na zainteresovaném anatomickém místě vyvolaly reakci. Pokud tomu tak je, je celý jev velmi rychlý. Za druhé okolnosti se škodliviny dostaly do mikrobioty, čímž narušily produkci enzymů nezbytných k provádění neurologických funkcí.³²⁻³⁵ Tato možnost vyžaduje čas, protože zahrnuje produkci chemických sloučenin v dostatečném množství, a je rozumné, že mezi injekcí a klinickým důkazem uplyne několik týdnů. Samozřejmě, že naše hypotéza není ničím jiným než hypotézou otevřenou k diskusi a potřebující důkaz, doufáme, že bude připuštěna možnost dalšího zkoumání.

Závěr

Provedené analýzy ukázaly, že ve všech kontrolovaných vzorcích vakcín se nacházejí biokompatibilní a biologicky odolná cizorodá tělesa, která nejsou deklarována výrobcí a proti kterým organismus v každém případě reaguje. Toto nové šetření představuje novou kontrolu kvality, kterou lze přijmout pro posouzení bezpečnosti vakcíny. Naše hypotéza je, že tato kontaminace je neúmyslná, protože je pravděpodobně způsobena znečištěnými složkami nebo postupy průmyslových procesů (např. filtrací) používaných při výrobě vakcín, které Výrobci nezkontrolovali a nezjistili. Pokud by naše hypotéza skutečně platila, důkladná kontrola pracovišť a úplná znalost celého postupu přípravy vakcín by pravděpodobně umožnila problém odstranit.

Další purifikace vakcín by mohla zlepšit jejich kvalitu a pravděpodobně by mohla snížit počet a závažnost nežádoucích vedlejších účinků.

Poděkování

Autoři jsou zavázáni Dr. Federicu Capitanimu, Dr. Lauře Valentini a paní Lavinii Nitu za jejich technickou pomoc. Názory a závěry nemusí být nutně názory a závěry instituce.

Střety zájmů

Autor prohlašuje, že není ve střetu zájmů.

Financování

Žádné.

Odkazy

1. Zdravé děti.org
2. Ministerstvo zdravotnictví a lidských služeb USA. Aktualizovaná zpráva: Nežádoucí účinky vakcín, nežádoucí účinky, kontraindikace a bezpečnostní opatření. *CDC* . 1996;45(RR-12):1-35.

3. Ottaviani G, Lavezzi AM, Matturri L. Syndrom náhlého úmrtí kojenců (SIDS) krátce po očkování hexavalentní vakcínou: patologie u podezření na SIDS? *Virchows Arch*. 2006;448(1):100-104.
4. Taylor B, Miller E, Farrington CP, et al. Autismus a vakcína proti spalničkám, příušnicím a zarděnkám: žádný epidemiologický důkaz příčinné souvislosti. *Lancet* 353(9169): 2026-2029.
5. Demicheli V, Rivetti A, Debalini MG, Di Pietrantonj C (2012) Vakcíny proti spalničkám, příušnicím a zarděnkám u dětí. *Cochrane Database Syst Rev*. 1999;15(2):CD004407.
6. Carola Bardage, Ingemar Persson, Åke Örtqvist a kol. Neurologické a autoimunitní poruchy po očkování proti pandemické chřipce A (H1N1) monovalentní adjuvantní vakcínou: populační kohortová studie ve Stockholmu, Švédsko. *BMJ*. 2011;343:d5956.
7. Johann Liang R. Aktualizace tabulky zranění způsobených očkováním v návaznosti na zprávu IOM o nežádoucích účincích očkovacích látek z roku 2011. *HRSa*. 2012. p.1-27.
8. L Tomljenovic, CA Shaw. Hliníkové adjuvans pro vakcíny: Jsou bezpečné? *Current Medicinal Chemistry*. 2011;18(17):2630-2637.
9. Shaw CA, Petrik MS. Injekce hydroxidu hlinitého vedou k motorickému deficitu a degeneraci motorických neuronů. *J Inorg Biochem*. 2009;103(11):1555-1562.
10. Authier FJ, Sauvat S, Christov C, et al. AlOH₃-adjuvantní vakcínou indukovaná makrofágní myofasciitida u potkanů je ovlivněna genetickým pozadím. *Neuromuscul Disord*. 2006;16(5):347-352.
11. Exley C, Esiri MM. Těžká kongofilní angiopatie mozku koincidující se zvýšeným obsahem hliníku v mozku u obyvatele Camelfordu, Cornwall, Spojené království. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2006;77(7):877-879.
12. Wills MR, Savory J. Obsah vody v hliníku, demence při dialýze a osteomalacie. *Environ Health Perspect*. 1985;63:141-147.
13. Brinth L, Pors K, Theibel AC, et al. Suspected side effects to the quadrivalent human papilloma vaccine. *Danish Medical J*. 2015;62(4):1-12.
14. Palmieri B, Poddighe D, Vadalà M, et al. Závažné somatoformní a dysautonomní syndromy po očkování proti HPV: série případů a přehled literatury. *Immunol Res*. 2016.
15. Visani G, Manti A, Valentini L, et al. Environmentální nanočástice jsou významně nadměrně exprimovány u akutní myeloidní leukémie. *Leuk Res*. 2016;50:50-56.
16. Artoni E, Sighinolfi GL, Gatti AM, et al. Micro and nanoparticles as possible pathogenetic co-factors in mixed cryoglobulinemia. *Pracovní lékařství*. 2016.
17. T Hansen, L Klimek, F Bittinger, et al. Mast cell reiches Aluminium granuloma Pathologie. 2008;29(4):311-313.
18. Gatti AM, Manti A, Valentini L, et al. Nano biointerakce pevných částic v krevním oběhu. *Frontiers*. 2016;30:3.
19. Tenzer S, Docter D, Rosfa S, et al. Velikost nanočástic je kritickým fyzikálně-chemickým faktorem koróny lidské krevní plazmy: komplexní kvantitativní proteomická analýza. *ACS Nano*. 2011;5(9):7155-167.
20. Radauer Preiml, Andosch A, Hawranek T a kol. Interakce nanočástic a alergenů zprostředkovávají lidské alergické reakce: charakterizace proteinových korun a buněčné reakce. *Vláknová toxikologie*. 2015;13:3.
21. Cedervall T, Lynch I, Lindman S, et al. Understanding the nanoparticle-protein corona using methods to quantify exchange rates and affinities of proteins for nanoparticles. *PNAS*. 2016; 104 (7):2050-2055.
22. Lynch I, Cedervall T, Lundqvist M, et al. The nanoparticle-protein complex as a biological entity; a complex fluids and surface science challenge for the 21st century. *Advances in Colloid and Interface Science (Pokroky ve vědě o koloidech a rozhraních)*. 2007;134-135:167-174.
23. Gatti AM, Quaglino D, Sighinolfi GL. A Morphological Approach to Monitor the Nanoparticle-Cell Interaction (Morfologický přístup ke sledování interakce nanočástic s buňkami). *International Journal of Imaging and Robotics*. 2009;2:2-21.
24. Urban RM, Jacobs JJ, Gilbert JL a kol. Migrace korozních produktů z modulárních kyčelních protéz. Mikročásticová mikroanalýza a histopatologické nálezy. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 1994;76(9):1345-1359.
25. Kirkpatrick CJ, Barth S, Gerdes T, et al. Pathomechanisms of impaired wound healing by metallic corrosion products. *Mund Kiefer Gesichtschir*. 2002;6(3):183-190.
26. Lee SH, Brennan FR, Jacobs JJ, et al. Reakce lidských monocytů/makrofágů na produkty koroze kobaltu a chromu a částice titanu u pacientů s totálními kloubními náhradami. *J Orthop Res*. 1997;15(1):40-49.
27. Shaw CA, Seneff S, Kette SD, et al. Aluminum-Induced Entropy in Biological Systems: Důsledky pro neurologická onemocnění. *Journal of Toxicology*. 2014;2014:491316.
28. Shaw CA, Kette SD, Davidson RM, et al. Aluminum™s Role in CNS-immune System Interactions leading to Neurological Disorders. *Immunome Research*. 2013;9:069.
29. Seneff S, Swanson N, Chen Li. Aluminum and Glyphosate Can Synergistically Induce Pineal Gland Pathology: Souvislost se střevní dysbiózou a neurologickým onemocněním. *Zemědělské vědy*. 2015;6(1):42-70.
30. Pegaz B, Debeve E, Ballini JP, et al. Effect of nanoparticle size on the extravasations and the photothrombic activity of meso(p-tetracarboxyphenyl)porphyrin. *J Photochem Photobiol B*. 2006;85(3):216-222.
31. Brinth LS, Pors K, Hoppe AG, et al. Is Chronic Fatigue Syndrome/ Myalgic Encephalomyelitis a Relevant Diagnosis in Patients with Suspected Side Effects to Human Papilloma Virus Vaccine? *International Journal of Vaccines and Vaccination*. 2015;1(1):1-5.
32. Moos WH, Faller DV, Harpp DN, et al. Microbiota and Neurological Disorders: A Gut Feeling. *Biores Open Access*. 2016;5(1):137-145.
33. Sekirov I, Russell SL, Caetano L, et al. Gut Microbiota in Health and Disease. *Physiological Rev*. 2010;90(3):859-904.
34. Umbrello G, Esposito S. Mikrobiota a neurologická onemocnění: potenciál účinky probiotik. *J Transl Med*. 2006;14(1):298.
35. Kinoshita T, Abe RT, Hineno A, et al. Periferní sympatická nervová dysfunkce u dospívajících japonských dívek po očkování vakcínou proti lidskému papilomaviru. *Intern Med*. 2014;53(19):2185-2200.