

## Pre-pubblicazione della metodica delle analisi metagenomiche

[VACCINEGATE STAFF CORVELVA](#) 13 NOVEMBRE 2018



Ci siamo! Siamo felici di comunicarvi che Corvelva ha pre-pubblicato la metodica delle recenti analisi metagenomiche.

Come sapete, Corvelva è da quasi un anno concentrata sulle **analisi di vari campioni di vaccini**, ed i primi dati pubblicati recentemente riguardano la presenza di materiale genetico in alcuni vaccini di attuale commercializzazione, analizzati mediante NGS (Next Generation Sequencing, noto anche come deep sequencing), metodo di sequenziamento innovativo da cui è possibile ricostruire l'intera sequenza di genomi virali a DNA e RNA e di genomi batterici presenti nel campione e confrontarlo con i genomi di riferimento presenti nei database pubblici.

**Detto questo, noi avevamo posto vari target al nostro progetto, certamente verificare la conformità dei vaccini analizzati come primo scopo, ma anche, come piace a noi, rendere le nostre analisi a disposizione di tutti non solo nei risultati, ma anche nella metodica e replicabilità.**

Grazie a questa pubblicazione, è resa pubblica la metodica per il sequenziamento del materiale genetico eventualmente presente nei vaccini come impurezza, il che permetterà a chiunque di potersi rivolgere a qualsiasi laboratorio attrezzato per il "Deep sequencing" e poter replicare l'analisi. Vi assicuriamo che rispetto a 5 anni fa, la tecnologia per il sequenziamento genetico "Deep sequencing" è di facile reperimento.

Questo consente a tutti, **in ogni parte del mondo**, di diventare ente controllore senza dover investire ingenti quantità di denaro per affinare la metodica estrattiva. Corvelva ha atteso mesi prima di poter dare i primi risultati e ha finanziato i laboratori per lavorare proprio su questo. Per noi è veramente una conquista importante, indipendentemente dal contenuto della pubblicazione, estremamente tecnico e incentrato solo sulla metodica pertanto non divulgativo o utile strettamente alla causa, questo passo sposta la nostra battaglia ad un livello superiore: da **Melbourne a Roma**, chiunque potrà in autonomia verificare il materiale genetico contenuto in qualsiasi vaccino.

Nel recente articolo prepubblicato su F1000research "[\*\*Do you cov me? Effect of coverage reduction on species identification and genome reconstruction in complex biological matrices by metagenome shotgun high-throughput sequencing\*\*](#)" la tecnologia NGS è stata utilizzata per analizzare matrici biologiche di diverso tipo, tra cui anche i due lotti di un vaccino morbillo-parotite-rosolia-varicella da noi analizzati (il Priorix Tetra),

con lo scopo di dimostrare la capacità di questo sistema di caratterizzare la componente biologica in una matrice complessa.

Esistono altre pubblicazioni scientifiche che attestano come, mediante NGS, sia stato possibile dimostrare il nesso causale del danno con il campione vaccinale: **ora in presenza di un danno si potrà verificare autonomamente e si potrà dimostrarlo nelle sedi opportune.**

Sì, questo punto per noi è vitale, ormai in Italia la Legge 210/1992 è una chimera, un percorso ad ostacoli fatto di ostruzionismo, negazione e burocrazia. Ora si avrà un ulteriore strumento di lotta e, in prospettiva, si potrà cambiare il paradigma del risarcimento del danno, andando a dimostrare che la causa, e il conseguente indennizzo, sia in capo allo stesso produttore del farmaco-vaccino. Ci sarà da lavorare molto su questo, ma questa prepubblicazione è solo il primo passo, noi non ci fermiamo.

Tornando all'articolo pre-pubblicato su F1000research, si osserva come circa l'80% delle sequenze ottenute con tecnologia NGS sui due campioni vaccinali, sia costituita da DNA umano, quale impurezza presente nel processo di lavorazione; nel nostro sito abbiamo già reso pubblici i certificati di analisi dei sette campioni studiati e risulta che la quantità di DNA totale estraneo in Priorix Tetra non è residuale ed è di circa 2 microgrammi, proveniente dalla linea cellulare fetale umana MRC-5 utilizzata per fare crescere i virus della rosolia e della varicella.

Questo risultato conferma le ricerche della **"Epidemiologic and Molecular Relationship Between Vaccine Manufacture and Autism Spectrum Disorder Prevalence"**. Si ricorda che la dr.ssa Deisher ha dimostrato in via preliminare che il DNA fetale presenta dei problemi di sicurezza, in quanto può dare luogo a ricombinazione con il DNA genomico dell'ospite, un meccanismo responsabile della cancerogenesi e delle malattie autoimmuni e quindi risulta appropriato utilizzare il limite massimo precauzionale di 10 ng come per le linee immortalizzate.

Ne segue che l'altro scopo di questo lavoro è la stesura o revisione delle linee guida sui limiti delle impurezze e il miglioramento della qualità dei vaccini, per una maggiore tutela per chi sceglie, in maniera consapevole ed informata, di vaccinarsi.

Infine, ci auguriamo che questi risultati siano di stimolo per altri di approfondire su nuovi vaccini e per avviare nuovi studi sulla sicurezza dei componenti dei vaccini.

Ferdinando Donolato\* e Loretta Bolgan\*\*

\* Presidente Corvelva

\*\*Laureata in Chimica e tecnologie farmaceutiche, dottore di ricerca in scienze farmaceutiche. Lavora come consulente Dlg. 210, sicurezza dei farmaci, malattie professionali, inquinamento ambientale e terapie nutrizionali.

## Riferimenti bibliografici

- Qin J, Li R, Raes J, et al.: A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. Nature. Nature Publishing Group; 2010; 464(7285): 59–65
- Posada-Céspedes S, Seifert D, Beerenwinkel N. Recent advances in inferring viral diversity from high-throughput sequencing data. Virus Res. 2017 Jul 15;239:17-32. doi: 10.1016/j.virusres.2016.09.016. Epub 2016 Sep 28. Review. PubMed PMID: 27693290.
- Cattonaro F, Spadotto A, Radovic S and Marroni F. Do you cov me? Effect of coverage reduction on species identification and genome reconstruction in complex biological matrices by metagenome shotgun high-throughput sequencing [version 1; referees: awaiting peer review]. F1000Research 2018, 7:1767 (<https://doi.org/10.12688/f1000research.16804.1>)
- Morfopoulou S, Mee ET, Connaughton SM, Brown JR, Gilmour K, Chong WK, Duprex WP, Ferguson D, Hubank M, Hutchinson C, Kaliakatsos M, McQuaid S, Paine S, Plagnol V, Ruis C, Virasami A, Zhan H, Jacques TS, Schepelmann S, Qasim W, Breuer J. Deep sequencing reveals persistence of cell-associated mumps vaccine virus in chronic encephalitis. Acta Neuropathol. 2017 Jan;133(1):139-147. doi: 10.1007/s00401-016-1629-y. Epub 2016 Oct 21. PubMed PMID: 27770235; PubMed Central PMCID: PMC5209397.
- Deisher TA, Doan NV, Koyama K, Bwabye S. Epidemiologic and Molecular Relationship Between Vaccine Manufacture and Autism Spectrum Disorder Prevalence. Issues Law Med. 2015 Spring;30(1):47-70. PubMed PMID: 26103708.
- Jarzyna P, Doan NV, Deisher TA. Insertional mutagenesis and autoimmunity induced disease caused by human fetal and retroviral residual toxins in vaccines. Issues Law Med. 2016 Fall;31(2):221-234. PubMed PMID: 29108182.

## Allegati

- Epidemiologic and Molecular Relationship Between Vaccine Manufacture and Autism Spectrum Disorder Prevalence**tradotto in italiano dal CLiVa Toscana
- <https://f1000research.com/articles/7-1767/v1>

