

Vaccinate: Replica tecnica alla critica dell'On. Marco Bella

Il problema è la metodica, sono le analisi, è Corvelva o ci sono altri interessi?

Gentilissimo Prof. Bella,

Le scriviamo per rispondere ai commenti da lei effettuati di recente. In particolare, vorremmo approfondire e dettagliare le osservazioni tecniche da lei poste in evidenza. Riportiamo, quindi, di seguito il testo del suo intervento rispondendo per punti:

Osservazione 1

“Da quello che si può dedurre dal cosiddetto “allegato tecnico”, queste analisi non provano in alcun modo la presenza delle sostanze indicate. Innanzi tutto, la spettrometria di massa da sola permette di identificare esclusivamente quello che è il “peso molecolare” di una data sostanza chimica (es: 145 dalton). Ci sono tante combinazioni di atomi che danno esattamente lo stesso peso molecolare (isomeri). Ci sono tante combinazioni di atomi che danno esattamente lo stesso peso molecolare (isomeri). Chiunque abbia seguito un corso di base di chimica organica alla scuola superiore sa che gli isomeri, pur avendo la stessa composizione elementare, sono composti con proprietà chimiche, fisiche e biologiche completamente diverse. Ad esempio, gli isomeri possibili di un idrocarburo con 30 atomi di carbonio sono qualche miliardo, tutti con lo stesso identico peso molecolare”

Risposta 1

Nel settore identificativo delle sostanze incognite (Fabresse N, Larabi IA, Stratton T, Mistrik R, Pfau G, Lorin de la Grandmaison G, Etting I, Grassin Delyle S, Alvarez JC. Development of a sensitive untargeted liquid chromatography-high resolution mass spectrometry screening devoted to hair analysis through a shared MS2 spectra database: A step toward early detection of new psychoactive substances. Drug Test Anal. 2018 Nov 5) si usa normalmente procedere con due step analitici:

- A. Fase di **screening**, in cui è verificata la presenza **POTENZIALE** di composti;
- B. Fase di **conferma**, in cui sono selezionati composti candidati da identificare utilizzando standard analitici certificati dal produttore;

Il fatto che CORVELVA si sia limitata, per il momento ad eseguire la fase di screening investigativa è sempre stato dichiarato. **Forniremo l'identità certa dei composti, appena avremo effettuato i test di conferma, come previsto dalle procedure utilizzate di routine.**

Osservazione 2

“Inoltre, durante l'analisi tramite la spettrometria di massa, le molecole si frammentano, generando degli artefatti, quindi è probabile che i segnali che si vedono non siano neppure dovuti a molecole effettivamente presenti”

Risposta 2

Questa affermazione non è corretta. La spettrometria di massa è costituita da una famiglia di tecnologie che variano, principalmente, in funzione dei seguenti fattori:

- A. Sorgente di ionizzazione (EI, CI, ESI, APCI, APPI, SACI ecc);
- B. Lenti di focalizzazione ionica;
- C. Analizzatore (QQQ, Ion Trap, TOF, FTICR ecc);

Le analisi da noi effettuate sono state eseguite utilizzando la sorgente di ionizzazione denominata **Surface Activated Chemical Ionization (SACI)**. Essa è nota, in letteratura, per essere una tecnologia di ionizzazione soft che, operando a bassi voltaggi ed in condizioni di polarizzazione del solvente, non produce frammentazione (Cristoni S, Rubini S, Bernardi LR. Development and applications of surface-activated chemical ionization. Mass Spectrom Rev. 2007 Sep-Oct;26(5):645-56).



Osservazione 3

“Infine, la spettrometria di massa da sola non permette di misurare la quantità delle singole sostanze, figuriamoci in miscela”

Risposta 3

Altra affermazione non corretta e priva di fondamento scientifico. La spettrometria di massa è riconosciuta a livello internazionale per essere una tecnica in grado di analizzare migliaia di molecole (Roux A1, Lison D, Junot C, Heilier JF. Applications of liquid chromatography coupled to mass spectrometry-based metabolomics in clinical chemistry and toxicology: A review. Clin Biochem. 2011 Jan;44(1):119-35.). Ciò è stato favorito dall'avvento degli spettrometri di massa ad alta risoluzione ed accuratezza di massa (Eliuk S1, Makarov A. Evolution of Orbitrap Mass Spectrometry Instrumentation. Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif). 2015;8:61-80. doi: 10.1146/annurev-anchem-071114-040325.) e dall'accoppiamento di questi ultimi con sistemi separativi principalmente basati su tecniche di gas cromatografia o liquido cromatografia (Wong JW1, Wang J2, Chow W2, Carlson R3, Jia Z4, Zhang K1, Hayward DG1, Chang JS5. Perspectives on Liquid Chromatography-High-Resolution Mass Spectrometry for Pesticide Screening in Foods J Agric Food Chem. 2018 Sep 19;66(37):9573-9581.). Ad esempio la spettrometria di massa è considerata la tecnica di riferimento per eseguire l'analisi qualitativa e quantitativa dei pesticidi in miscela (Wong JW1, Wang J2, Chow W2, Carlson R3, Jia Z4, Zhang K1, Hayward DG1, Chang JS5. Perspectives on Liquid Chromatography-High-Resolution Mass Spectrometry for Pesticide Screening in Foods J Agric Food Chem. 2018 Sep 19;66(37):9573-9581.).

Osservazione 4

“Ci sono dei database nei quali sono state ordinate alcune sostanze note per peso molecolare. Nell'allegato tecnico non ci sono spettri di massa. C'è semplicemente una tabella: di sostanze presuntamente identificate, ottenute selezionandole arbitrariamente dal database e con la descrizione in italiano (ottenuta in diversi casi probabilmente tramite google e con numerosi errori, ad esempio confondendo palesemente due classi di composti, le ammidi e le ammine, vedi figura)”

Risposta 4

Le sostanze sono state soggette a SCREENING (non a conferma come sempre dichiarato) ed il riconoscimento è stato effettuato utilizzando l'algoritmo SANIST (Albini A1, Briga D2, Conti M3, Bruno A2, Farioli D1, Canali S2, Sogno I2, D'Ambrosio G2, Consonni P2, Noonan DM2,4. SANIST: a rapid mass spectrometric SACI/ESI data acquisition and elaboration platform for verifying potential candidate biomarkers. Rapid Commun Mass Spectrom. 2015 Oct 15;29(19):1703-10) che si appoggia sulle banche dati internazionali denominate KEGG (Menikarachchi LC1, Hill DW, Hamdalla MA, Mandoiu II, Grant DF. In silico enzymatic synthesis of a 400,000 compound biochemical database for nontargeted metabolomics. J Chem Inf Model. 2013 Sep 23;53(9):2483-92) e METLIN (Smith CA1, O'Maille G, Want EJ, Qin C, Trauger SA, Brandon TR, Custodio DE, Abagyan R, Siuzdak G. METLIN: a metabolite mass spectral database. METLIN: a metabolite mass spectral database. Ther Drug Monit. 2005 Dec;27(6):747-51.). Questo fatto è stato chiaramente riportato nelle relazioni tecniche diffuse da CORVELVA.

La parola alchilammide è un palese errore di errata correzione potenzialmente avvenuta ad opera del correttore ortografico durante la trascrizione del report. Il fatto che si tratta di un'ammina è contenuto chiaramente nel nome del composto riportato come candidato POTENZIALE (3-Buten-1-ammine). In ogni caso, l'identificazione POTENZIALE è data dal nome del composto e non certo dalla famiglia di appartenenza. Ringraziamo comunque per la segnalazione di questa piccola "minor revision" che correggeremo prontamente.

Osservazione 5

“Sembrirebbe che colei che ha compilato questo documento non si sia resa neppure conto che gli isomeri non si potevano distinguere tramite la spettrometria di massa”

Risposta 5

Altra inesattezza: gli isomeri possono essere separati in spettrometria di massa. In particolare i diastereoisomeri si possono separare cromatograficamente (Somoano-Blanco L1, Rodriguez-Gonzalez P2, Centineo G3, Fonseca SG3, Garcia Alonso J1. Simultaneous determination of α -, β - and γ -hexabromocyclododecane diastereoisomers in water samples by isotope dilution mass spectrometry using (81)Br-labeled analogs. J Chromatogr A. 2016 Jan 15;1429:230-7). Ne consegue che nel caso dei diastereoisomeri è possibile trovare più di un picco cromatografico all'interno del cromatogramma di estrazione ionica a parità di rapporto m/z. Inoltre le specie isomeriche, spesso si distinguono anche per lo spettro di frammentazione acquisito in modalità tandem mass spectrometry (MS/MS; Shu I1, Alexander A2, Jones M2, Jones J2, Negrusz A2. Determination of methamphetamine enantiomer composition in human hair by non-chiral liquid chromatography-tandem mass spectrometry method. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2016 Aug 15;1028:145-152; Fourle I1, Damin-Pernik M2, Benoit E2,



Lattard V2. Core-shell LC-MS/MS method for quantification of second generation anticoagulant rodenticides diastereoisomers in rat liver in relationship with exposure of wild rats. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2017 Jan 15;1041-1042:120-132.)

Osservazione 6

“In questo caso, è stato selezionato arbitrariamente un unico parametro, il peso molecolare, e si è preteso che questo singolo parametro portasse a un'identificazione “probabile”. Sarebbe come dire che era presente in una stanza qualcuno alto 170 cm e sulla sola base di questo è stata identificata contemporaneamente una persona che vive in Cina, una che vive in India e il vicino di casa antipatico, solo perché tutti e tre sono alti 170 cm”

Risposta 6

Si è omesso di specificare il fatto che le misure di spettrometria di massa sono state eseguite in **massa accurata**. Questo significa che il rapporto m/z è acquisito monitorando tre cifre decimali. Ne consegue il fatto che, mentre è vero che esistono numerosi ioni che possono avere un rapporto m/z pari a 140 ne esistono molti meno che possiedono un rapporto m/z pari a 140.123 con un intervallo di errore sulla misura di circa 5 ppm. Questa capacità degli spettrometri, aventi un analizzatore in grado di acquisire la massa accurata degli ioni molecolari, li rende idonei per ottenere l'identificazione potenziale di miscele complesse. Dette tecnologie sono, infatti, ampiamente utilizzate per screenare la complessità dei fluidi biologici ai fini della ricerca di marcatori tumorali metabolici e proteici (Zhou W1, Petricoin EF 3rd2, Longo C2,3. Mass Spectrometry-Based Biomarker Discovery. Methods Mol Biol. 2017;1606:297-311; Stoop MP1, Coulier L, Rosenling T, Shi S, Smolinska AM, Buydens L, Ampt K, Stingl C, Dane A, Muilwijk B, Luitwieler RL, Sillevs Smitt PA, Hintzen RQ, Bischoff R, Wijmenga SS, Hankemeier T, van Gool AJ, Luider TM. Quantitative proteomics and metabolomics analysis of normal human cerebrospinal fluid samples. Mol Cell Proteomics. 2010 Sep;9(9):2063-75.).

Osservazione 7

“Infine, se si avesse il sospetto della presenza della contaminazione di diserbanti nei vaccini, il comportamento corretto sarebbe quello di pubblicare in una qualsiasi forma i dati delle analisi (in questo caso gli spettri di massa) così tutti li potrebbero verificare non andare a fare in giro conferenze stampa sensazionalistiche”

Risposta 7

Come sempre sostenuto, i test eseguiti sono da considerarsi screening di primo livello. Appena saranno stati effettuati i test di conferma, eseguiti sui composti candidati di maggior interesse, i dati saranno pubblicati su riviste peer review.

In Fede,
dott.ssa Loretta Bolgan*

**Dottore in chimica e tecnologie farmaceutiche, con dottorato in scienze farmaceutiche ad Harvard medical school Boston. Ha lavorato nel settore dell'industria farmaceutica dove si è occupata di registrazione e sviluppo di progetti di ricerca in ambito oncologico. Consulente di parte legge 210/92, inquinamento ambientale e malattie professionali, ha partecipato all'ultima Commissione parlamentare d'inchiesta sull'uranio impoverito nel gruppo vaccini. Attuale consulente per l'Ordine Nazionale dei Biologi per la tossicologia dei farmaci e dei vaccini, si occupa anche di nutrizione e terapie complementari.*

