

PODSUMOWANIE WSTĘPNY WYNIKI



06.07.2022

Grupa Robocza ds. Analizy Szczepionek COVID

Niniejsze podsumowanie jest wstępną, stale ewoluującą prezentacją naszych badania i ustalenia dotyczące tzw. szczepionek COVID-19, a także skutki, które znaleźliśmy na ludzkim ciele, a w szczególności na krwi. The podsumowanie ma na celu interes publiczny i dalsze zachęcanie dyskusja naukowa.

Informacje prawne

Odpowiedzialni w zakresie niemieckiego prawa prasowego są:

Arbeitsgruppe Impfstoffe Aufklärung, Expertcouncil.one eV (tj.),

a gimpfstoffeaufklaerung@protonmail.com

Redaktor odpowiedzialny: dr rer. nat. Klaus Retzlaff, Böklinger Straße 36, 39444 Hecklingen Akademie für Gesundheit Sport und Kommunikation eV, agskev@protonmail.com

Conuvice, Repräsentant Deutschland Holger Reißner (europejski inżynier przemysłowy) Stiftung Ärzte für Aufklärung Hamburg, kontakt@aerzte-fuer-aufklaerung.de

Prawa do wszystkich obrazów, grafik i zdjęć należą do naszych autorów, chyba że zaznaczono inaczej.

Programy szczepień przeciwko COVID-19 należy natychmiast przerwać

Niemiecka Grupa Robocza ds. Analizy Szczepionek COVID opublikowała swoje wstępne wyniki w obszernym raporcie:

1. Substancje toksyczne wykryto we wszystkich próbkach szczepionek COVID-19 – bez wyjątku.
2. Próbki krwi wszystkich zaszczepionych osób wykazały wyraźne zmiany.
3. Im większa stabilność otoczki nanocząstek lipidowych, tym częstsze są skutki uboczne szczepionki.

1. We wszystkich próbkach szczepionek COVID-19, bez wyjątku, stwierdzono, przy użyciu kilku metod pomiarowych, składniki, które:

- są w stwierdzonych ilościach toksyczne zgodnie z wytycznymi medycznymi,
- nie zostały zadeklarowane przez producentów jako obecne w szczepionkach,
- są w większości metalowe,
- są widoczne pod mikroskopem ciemnego pola jako charakterystyczne i złożone struktury o różnej wielkości,
- tylko częściowo można wytłumaczyć w wyniku procesów krystalizacji lub rozkładu,
- nie można wytłumaczyć jako zanieczyszczenia z procesu produkcyjnego.

2. Porównanie próbek krwi od osób nieszczepionych i zaszczepionych za pomocą mikroskopii ciemnego pola wykazało zauważalne zmiany we krwi każdej osoby zaszczepionej szczepionkami COVID-19. Było to oczywiste, nawet jeśli ci ludzie nie wykazali w tym momencie żadnej widocznej reakcji na szczepienia. W próbkach krwi zaszczepionych znaleziono złożone struktury podobne do tych w szczepionkach. Za pomocą analizy obrazu sztucznej inteligencji (AI) potwierdzono różnicę między krwią osób zaszczepionych i nieszczepionych.

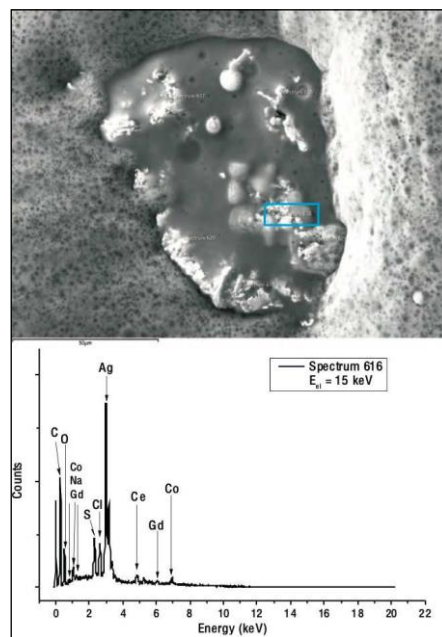
3. Stabilność otoczki nanocząstek lipidowych jest ściśle skorelowana z występowaniem skutków ubocznych i urazów szczepionki. Im bardziej stabilna jest ta otoczka, tym większa ilość mRNA przenika do komórek, gdzie następuje produkcja białek kolczastych. Wyniki te korespondują z odkryciami patologów, którzy przeprowadzili sekcję zwłok osób, które zmarły z powodu urazów poszczepiennych. Białka kolców wykryto w uszkodzonej tkance. Naukowcy podejrzewają, że białko kolce samo w sobie jest toksyczne.

Niemiecka Grupa Robocza ds. Analizy Szczepionek COVID to interdyscyplinarna grupa robocza, która podjęła się zadania analizy zawartości i skutków nowych szczepionek COVID-19. W skład grupy wchodzi niezależni naukowcy, w tym lekarze, fizycy, chemicy, mikrobiolodzy, farmakolodzy i lekarze medycyny alternatywnej, wspierani przez prawników, psychologów, analityków i dziennikarzy. Grupa Robocza ds. Analizy Szczepionek COVID wykorzystuje nowoczesne medyczne i fizyczne techniki pomiarowe, których wyniki wzajemnie się potwierdziły i uzupełniły: Skaningowa Mikroskopia Elektronowa (SEM), Energetyczna Dyspersyjna Spektroskopia Rentgenowa (EDX), Spektroskopia Masowa (MS), Indukcyjna Analiza plazmy sprężonej (ICP), mikroskopia jasnego pola (BFM), mikroskopia ciemnego pola (DFM) i diagnostyka obrazu żywej krwi, a także analiza obrazów z wykorzystaniem Sztucznej Inteligencji. Grupa Robocza ds. Analizy Szczepionek COVID kontynuuje ścisłą współpracę z kilkoma międzynarodowymi grupami, które prowadzą podobne badania i które uzyskały wyniki zgodne z naszymi. Wyniki naszej analizy szczepionek można w konsekwencji uznać za zweryfikowane krzyżowo. Są pytania, na które muszą odpowiedzieć producenci szczepionek, aw Niemczech Paul Ehrlich Institute (agencja niemieckiego Federalnego Ministerstwa Zdrowia odpowiedzialna za regulację szczepionek w tym kraju). Należy zbadać możliwe powiązania przyczynowe między szczepionkami a ofiarami śmiertelnymi. Grupa Robocza ds. Analizy Szczepionek COVID kontynuuje ścisłą współpracę z kilkoma międzynarodowymi grupami, które prowadzą podobne badania i które uzyskały wyniki zgodne z naszymi. Wyniki naszej analizy szczepionek można w konsekwencji uznać za zweryfikowane krzyżowo. Są pytania, na które muszą odpowiedzieć producenci szczepionek, aw Niemczech Paul Ehrlich Institute (agencja niemieckiego Federalnego Ministerstwa Zdrowia odpowiedzialna za regulację szczepionek w tym kraju). Należy zbadać możliwe powiązania przyczynowe między szczepionkami a ofiarami śmiertelnymi. Grupa Robocza ds. Analizy Szczepionek COVID kontynuuje ścisłą współpracę z kilkoma międzynarodowymi grupami, które prowadzą podobne badania i które uzyskały wyniki zgodne z naszymi. Wyniki naszej analizy szczepionek można w konsekwencji uznać za zweryfikowane krzyżowo. Są pytania, na które muszą odpowiedzieć producenci szczepionek, aw Niemczech Paul Ehrlich Institute (agencja niemieckiego Federalnego Ministerstwa Zdrowia odpowiedzialna za regulację szczepionek w tym kraju). Należy zbadać możliwe powiązania przyczynowe między szczepionkami a ofiarami śmiertelnymi. Grupa Robocza ds. Analizy Szczepionek COVID kontynuuje ścisłą współpracę z kilkoma międzynarodowymi grupami, które prowadzą podobne badania i które uzyskały wyniki zgodne z naszymi. Wyniki naszej analizy szczepionek można w konsekwencji uznać za zweryfikowane krzyżowo. Są pytania, na które muszą odpowiedzieć producenci szczepionek, aw Niemczech Paul Ehrlich Institute (agencja niemieckiego Federalnego Ministerstwa Zdrowia odpowiedzialna za regulację szczepionek w tym kraju). Należy zbadać możliwe powiązania przyczynowe między szczepionkami a ofiarami śmiertelnymi.

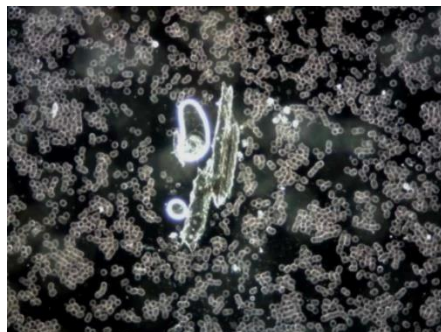
Aby zapobiec bezpośredniemu i nieuchronnemu zagrożeniu dla życia ludzkiego i bezpieczeństwa publicznego, prosimy o natychmiastowe przerwanie programów szczepień przeciwko COVID-19.

Grupa Robocza ds. Analizy Szczepionek COVID

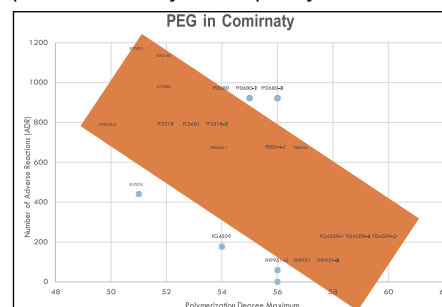
Kontakt: aqimpfstoffaufklaerung@protonmail.com



1. Obraz z mikroskopu elektronowego suchej szczepionki i wynik spektroskopii rentgenowskiej



2. Obraz z mikroskopu ciemnego pola próbki krwi osoby zaszczepionej



3. Skutki uboczne szczepienia i (zmniejszająca się w prawo) stabilność otoczki nanocząstek lipidowych

PODSUMOWANIE WSTĘPNE WYNIKI

GRUPA ROBOCZA DO ANALIZY KRYNEJ COVID VA

PRZEDMOWA

Jesteśmy międzynarodową grupą roboczą, której podstawowy zespół składa się z ponad 60 lekarzy, farmaceutów, naukowców, matematyków, lekarzy medycyny alternatywnej, prawników i dziennikarzy. Połączyliśmy nasze umiejętności i wiedzę techniczną, aby pomóc rzucić światło na to, co uważamy za największy eksperyment farmakologiczny, jaki kiedykolwiek przeprowadzono na ludzkiej rasie. Nigdy w historii nauki i medycyny nikt nie odważył się poddać całą populację, prawie cały gatunek, medycznemu – nie mówiąc już o genetycznym – eksperymentowi. Gdyby ten rodzaj eksperymentu został zaproponowany dla jakiegokolwiek innego gatunku, najprawdopodobniej zostałby odrzucony z wyjaśnieniem, że narusza on zasadę ochrony gatunku.

Fakt, że ten eksperyment jest kontynuowany bez śladu zatrzymania; fakt, że doszło do bezprecedensowej liczby działań niepożądanych i urazów spowodowanych tymi tak zwanymi szczepionkami; fakt, że krajowe statystyki na całym świecie wykazują niewątpliwy wzrost śmiertelności w następstwie odpowiednich programów szczepień; fakt, że żadna prokuratura jeszcze w tej sprawie nie interweniowała, choć śmiertelne skutki tych programów są już oczywiste; fakt, że krytycy programów zostali publicznie zniesławieni, ostracyzmowani i ekonomicznie zrujnowani – to wszystko wywołuje u nas dreszcz. Dlatego, wbrew zwyczajowej praktyce w nauce, postanowiliśmy chronić się, pozostając anonimowymi jako autorzy tego raportu.

Wiele z naszych ustaleń ma nadal charakter wstępny. Badania powinny i muszą być krytycznie omawiane, analizowane i dalej dopracowywane. Wiele jeszcze pozostaje do przeanalizowania, ale to, co odkryliśmy – jesteśmy przekonani – jest tak ważne, że należy o tym poinformować opinię publiczną w ogóle, a w szczególności środowisko naukowe. Konieczne jest szersze zrozumienie niebezpieczeństw, jakie szczepionki COVID-19 stanowią dla zdrowia, oraz badania nad tym, jak można zapobiec najgorszym skutkom tych szczepionek lub przynajmniej je złagodzić.

Ustaliliśmy, że szczepionki przeciw COVID-19 konsekwentnie zawierają, oprócz zanieczyszczeń, substancje, których przeznaczenia nie jesteśmy w stanie określić. Niektóre z tych odkrytych przez nas składników nie zostały nawet wymienione jako składniki przez producentów szczepionek. Wykorzystując małą próbkę analiz żywej krwi od osób zaszczepionych i niezaszczepionych, ustaliliśmy, że sztuczna inteligencja (AI) może ze 100% rzetelnością odróżnić krew zaszczepionych od niezaszczepionych. Wskazuje to, że szczepionki COVID-19 mogą wpływać na długoterminowe zmiany w składzie krwi osoby zaszczepionej, bez wiedzy tej osoby o tych zmianach.

Znaleźliśmy krystaliczne formacje we krwi wszystkich zaszczepionych osób, których krew zbadaliśmy. Kontynuujemy analizę tych formacji. W każdym zbadanym przez nas przypadku zaobserwowaliśmy powstawanie rulonów erytrocytów (czerwonych krwinek) i często obserwujemy niezwykle szybki rozpad różnych typów komórek w badanej przez nas krwi. Badamy hipotezę, że miażdżyca może być tylko jednym z wielu długoterminowych skutków, z którymi będą musieli zmierzyć się osoby zaszczepione szczepionkami COVID-19. Jeśli ta hipoteza zostanie potwierdzona, konsekwencje byłyby dalekosiężne zarówno pod względem zdrowotnym, jak i społeczno-ekonomicznym. Choroby autoimmunologiczne osłabienie układu odpornościowego, stany zapalne, miażdżyca itp. to podstępne choroby, które mogą prowadzić do uszkodzenia narządów, wysokiego ciśnienia krwi, zawały serca, choroby neurodegeneracyjnej, nowotwory i skrócenie oczekiwanej długości życia. Niejasny wzorzec choroby ukrywa możliwość, że szczepienia przeciwko COVID-19 mogą odgrywać przyczynową rolę w chorobie.

Przynajmniej każde z naszych ustaleń powinno skutkować natychmiastowym zawieszeniem programów szczepień przeciwko COVID-19, aby wykluczyć szczepionki z uzasadnionych podejrzeń.

W rzeczywistości, biorąc pod uwagę zagrożenia, o których już wiemy, programy szczepień przeciwko COVID-19 powinny być zostać zatrzymane dawno temu.

Jeśli nadal mamy osiągnąć ten cel, nasze odkrycia będą musiały uzyskać wysoki poziom zainteresowania mediów.

Niemiecka Grupa Robocza ds. Analizy Szczepionki COVID

Wstęp

Podsumowanie wyników naszych badań przedstawia i uzasadnia nasze ustalenia w sposób, który ma być łatwo zrozumiały. Raporty techniczne znajdują się w załącznikach. Wybraliśmy ten format, ponieważ naszym głównym celem jest dotarcie do opinii publicznej o niebezpieczeństwie tych szczepionek dla zdrowia ludzkiego.

Ze względu na bezprecedensową sytuację polityczną, w jakiej znaleźliśmy się od marca 2020 r., treść tych raportów nie została poddana zwyczajowemu procesowi recenzowania. Kilku wysoko wykwalifikowanych kolegów z naszej międzynarodowej sieci krytycznie przyjrzało się naszym prezentacjom i przekazało opinie, za które chcielibyśmy im podziękować.

Analizy przeprowadzono w różnych instytucjach w kilku różnych krajach i przy użyciu różnych metod.

Punktem wyjścia były obserwacje mikroskopowe zawartości szczepionek i krwi zaszczepionych i niezaszczepionych osób badanych różnymi metodami fotomikroskopowymi, takimi jak mikroskopia w świetle przechodzącym, mikroskopia z kontrastem fazowym i mikroskopia ciemnego pola. Wszystkie te metody wykazały niedopuszczalnie duże obiekty zgodnie z zasadami dobrej praktyki produkcyjnej (GMP) w różnych partiach i od różnych producentów w zakresie dwucyfrowym. Zwykle dopuszczalne są rozmiary nie większe niż 0,22 μm .

Do obserwacji obiektów w szczepionkach i we krwi pod mikroskopem świetlnym, mikroskopią ciemnego pola¹ jest szczególnie odpowiedni. Obraz obserwowany w mikroskopie ciemnego pola wyróżnia się bardzo wysokim kontrastem. Ze względu na sposób oświetlania w mikroskopie ciemnego pola, obiekty pojawiają się na ciemnym tle, więc nadal można obserwować obiekty odbijające światło, które są mniejsze niż rozdzielczość optyczna. Z tego powodu większe nanocząsteczki lipidów można zobaczyć w mikroskopie ciemnego pola jako jasne kropki – podobne do gwiazd na niebie. Co więcej, duże i rozdzielone optycznie obiekty wydają się znacznie bardziej kontrastowe i uporządkowane niż w mikroskopie z kontrastem fazowym lub w świetle przechodzącym.

Aby określić, co jest widoczne w kontekście mikroskopii świetlnej, zastosowano i nadal stosuje się wspólne standardowe metody analityczne różnego rodzaju.

Jako środek ostrożności chcielibyśmy zaznaczyć, że za analizę szczepionek, ich partii i uwolnień (w Niemczech) odpowiada Instytut Paula Ehrlicha (PEI), agencja rządowa, która jest organem właściwym do tego zadania. Na podstawie stale rosnącej liczby przypadków wyraźnie widać, że PEI po prostu nie wypełnia swoich obowiązków odpowiednio lub z niezbędną przejrzystością. Opinia publiczna ma bardzo małą świadomość, że tak właśnie jest. To zaniedbanie obowiązków przez odpowiedzialny organ było powodem, dla którego jako niezależni naukowcy postanowiliśmy zebrać się razem, aby przeanalizować próbki tych szczepionek.

Nasze podsumowanie jest stale aktualizowane i uzupełniane wynikami tych analiz, ale nie ogranicza się do analizy szczepionek.

¹Termin ten odnosi się do fizycznej metody techniki optycznej, a nie do ewentualnych problematycznych – bo niepotwierdzonych naukowo – interpretacji obserwacji ciemnego pola. Technika oświetlenia ciemnego pola ma wiele zastosowań w fizyce i innych dziedzinach. Znakomitym przykładem jest eksperyment Millikana, w którym technika ciemnego pola umożliwia obserwację kropeł oleju w kondensatorze. Robert Andrews Millikan otrzymał Nagrodę Nobla w dziedzinie fizyki w 1923 roku za określenie elementarnego ładunku elektronu za pomocą tego eksperymentu.

Przegląd

1. **Obserwacje porównawcze z użyciem mikroskopii ciemnego pola krwi zarówno osób zaszczepionych szczepionkami COVID-19, jak i osób, które nie:**W ciągu wielu lat przeprowadzono ponad 10 000 ustrukturyzowanych analiz krwi. W kontekście szczepień COVID-19 przebadano 48 zaszczepionych pacjentów. Bez wyjątku wszyscy ci pacjenci wykazywali osobliwości, których nie można było zaobserwować w jednym przypadku u osób nieszczepionych. Ponadto we krwi zaszczepionych osobników regularnie pojawiają się zjawiska, które mają podobieństwo do chorobotwórczych i często wysoce chorobotwórczych objawów klinicznych. Obserwacje te zostały również dostrzeżone przez innych obserwatorów lub terapeutów pracujących z mikroskopią ciemnego pola i były w rzeczywistości głównym powodem powołania tej grupy roboczej w celu zbadania pytania: Jaka jest prawda o szczepionkach opartych na genach?
2. **Cząstki metaliczne w szczepionkach COVID-19:**Badanie zanieczyszczeń metalicznych w szczepionkach COVID-19 opartych na wektorach i mRNA - Wyniki wstępne - (Fiolki szczepionek COVID-19 firmy BioNTech/Pfizer, Moderna i Astra Zeneca) są badane za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) i odpowiedniego promieniowania rentgenowskiego z dyspersją energii spektroskopii (EDX) w celu identyfikacji możliwych zanieczyszczeń. Znalezione cząsteczki metaliczne.
3. **Wstępne wyniki standardowych analiz szczepionek Covid:**Wzrost liczby skutków ubocznych z powodu bardziej stabilnych nanolipidów, efekty krystalizacji z powodu rozkładu nanolipidów (np. cholesterolu), zanieczyszczenia metaliczne w zakresie ppm, nieokreślone zanieczyszczenia spowodowane wapniem i glinem. Metody: SEM-EDS, spektroskopia masowa (MS).
4. **Antymon w Modernie:**Naturalnie występujący antymon jest wysoce toksyczny; Antymon wykryto w szczepionce Moderna podczas analizy nieorganicznej szczepionek. Szczepionki Moderna i BioNTech/Pfizer zostały przeanalizowane przy użyciu analizatora plazmy sprzężonej indukcyjnie (ICP), wyniki wszystkich 41 badanych pierwiastków, z wyjątkiem antymonu, są poniżej odpowiedniej granicy wykrywalności (DL), wyniki DL z ilości próbki, wysoki DL, ze względu na małą ilość próbki.
5. **Wstępna ocena antymonu, różne zagadnienia:**Antymon występuje naturalnie i jest wysoce toksyczny, ale jego stężenie w Modernie nie powinno być toksyczne. Walencja w Moderna jest nieznaną i działanie przeciwprwotniacze/ przeciw Pasożytnicze, ważne funkcje metaboliczne mogą być zaburzone, pozajelitowo (wstrzykiwanie) podawany pentawalentny stiboglukonian sodu, ponieważ najprawdopodobniej występuje w wartościowości w Moderna, może powodować działania niepożądane, takie jak nudności, wymioty, bóle mięśni, bóle głowy, letarg i zmiany EKG, przy długotrwałym podawaniu zapalenie płuc, uszkodzenie morfologii krwi i dysfunkcja wątroby, poważne uszkodzenia występują głównie w wątrobie i sercu. Są to wszystkie zdarzenia kliniczne, które należy zaobserwować po szczepieniu.
6. **Dokumentacja wideo:**W filmie dotyczącym szczepionek wykorzystano mikroskop Zeiss Axiolab do zbadania różnych partii szczepionki Comirnaty firmy BioNTech/Pfizer. Pod koniec filmu można również zobaczyć próbki krwi od osób zaszczepionych, w których znaleziono struktury podobne do tych w szczepionkach. Dla porównania na innym filmie zbadano dwie szczepionki przeciwko grypie. Różnice są dobrze widoczne. Filmy można znaleźć tutaj: <https://t.me/agimpfstoffe>.
7. **Czy nastąpiła zmiana we krwi w wyniku szczepień COVID-19?**Analizy porównawcze oparte na analizie obrazu z wykorzystaniem sztucznej inteligencji. Pierwotna próba przedstawienia krwi osób zaszczepionych i nieszczepionych wskazuje na zmiany we krwi. Ilustruje to sztuczna inteligencja (AI) wytrenowana przy użyciu obrazów krwi osób zaszczepionych i nieszczepionych. Nie wiadomo, czy tak będzie dalej ani jak długo po szczepieniu; od 1.5.2022 r. wielkość próby jest nadal zbyt mała. Ponieważ zmiany zostały wykazane w każdym przypadku w tej małej próbce oraz ze względu na potencjalne znaczenie faktu, że w pewnych okolicznościach ludzki narząd może zostać zmieniony przez szczepienie COVID-19, dlatego apelujemy do innych w środowisku naukowym o sprawdzenie wyników, zanim opublikujemy ostateczne wyniki.

Obserwacje porównawcze krwi osób zaszczepionych szczepionkami COVID-19 i osób nieszczepionych

Analiza krwi pod mikroskopem ciemnego pola to sprawdzona i poparta dowodami procedura z zakresu medycyny komplementarnej i alternatywnej. Stosowane są mikroskopy o wysokiej rozdzielczości ze specjalistycznym kondensatorem oleju w ciemnym polu.

W praktyce: 12 lat doświadczenia w badaniach przesiewowych krwi pod mikroskopem w ciemnym polu z udziałem ponad 10 000 osób z całego świata, w tym osób, które znajdowały się w pobliżu ataku w Nowym Jorku w dniu 9.11.2001 r., a także w klinice onkologicznej z osobami z Australia, USA, Kanada i Europa.

Jak przebiega analiza i co dzieje się podczas badania krwi pod mikroskopem ciemnego pola?

Mikroskopia ciemnego pola to jakościowa metoda analizy krwi. Wywodzi się z badań zoologa i bakteriologa prof. dr Enderleina (1872-1968), który intensywnie wykorzystywał tę technikę do badania krwi i jej składników. Dziś mikroskopia ciemnego pola jest używana na całym świecie jako metoda naukowa i oparta na dowodach. Żywa krew jest analizowana bezpośrednio i natychmiast. **Thejakość krwikomórki pod względemkształt,rozmiaroraz elastyczność**można zaobserwować i ich rozkład **wpłyn pozakomórkowy**można zbadać. Ponadto można wykryć oznaki skażenia bakteryjnego i pasożytniczego. **Therozkładoraz proces degradacji**jest również analizowany. Dzięki tej technice spożycie płynów i składników odżywczych można również przedstawić pośrednio.

Cykl życiowy składników krwi na szkiełku jest obserwowany, analizowany i oceniany w czasie aż do ostatecznego rozkładu.

Ogólnie obowiązujące normy dotyczące wykonywania badania krwi w ciemnym polu:

Warunki badania należy zawsze przeprowadzać zgodnie z tymi samymi normami. Pacjent powinien stawić się na badanie na czczo (wstrzymywanie się od jedzenia przez co najmniej 8 godzin). Przed badaniem należy wypić 1 szklankę wody (200 ml). Gabinet badań powinien być wolny od zakłóceń, ubogi w promieniowanie i absolutnie higienicznie czysty, bez np. telefonu komórkowego jako potencjalnego źródła zakłóceń. Przede wszystkim ręce myje się pod bieżącą wodą (bez mydła). Następnie za pomocą nakłuwacza ostrożnie nakłuwa się czubek palca w celu uzyskania kropli krwi (krew włośniczkowa), przy czym pierwszą kroplę wyciera się z palca wacikiem. Na szkiełko ostrożnie nanosi się dwie krople krwi (kropla krwi powinna „wskoczyć” na szkiełko), aby uniknąć mechanicznego uszkodzenia komórek krwi. Pozwala to na optymalne przeniesienie krwi na szkiełko. Następnie stosuje się szkiełka nakrywkowe, aby bardzo dokładnie przykryć próbkę krwi z niewielkiej odległości od szkiełka.

Analiza krwi:

Szkiełko z kroplą krwi jest natychmiast analizowane pod mikroskopem ciemnego pola. Przy powiększeniu 100x możliwy jest przybliżony przegląd następujących elementów:

- Stosunek komórek krwi do osocza krwi
- Kształt i liczba różnych komórek krwi
- Mobilność i aktywność komórek krwi

Przy powiększeniu 1000x można ocenić stan krwi. Czasami stosuje się również powiększenie 400x.

Wyniki są udokumentowane.

Po 1 i 2 godzinach oraz w kolejnych odstępach czasu na szkiełku obserwuje się krew:

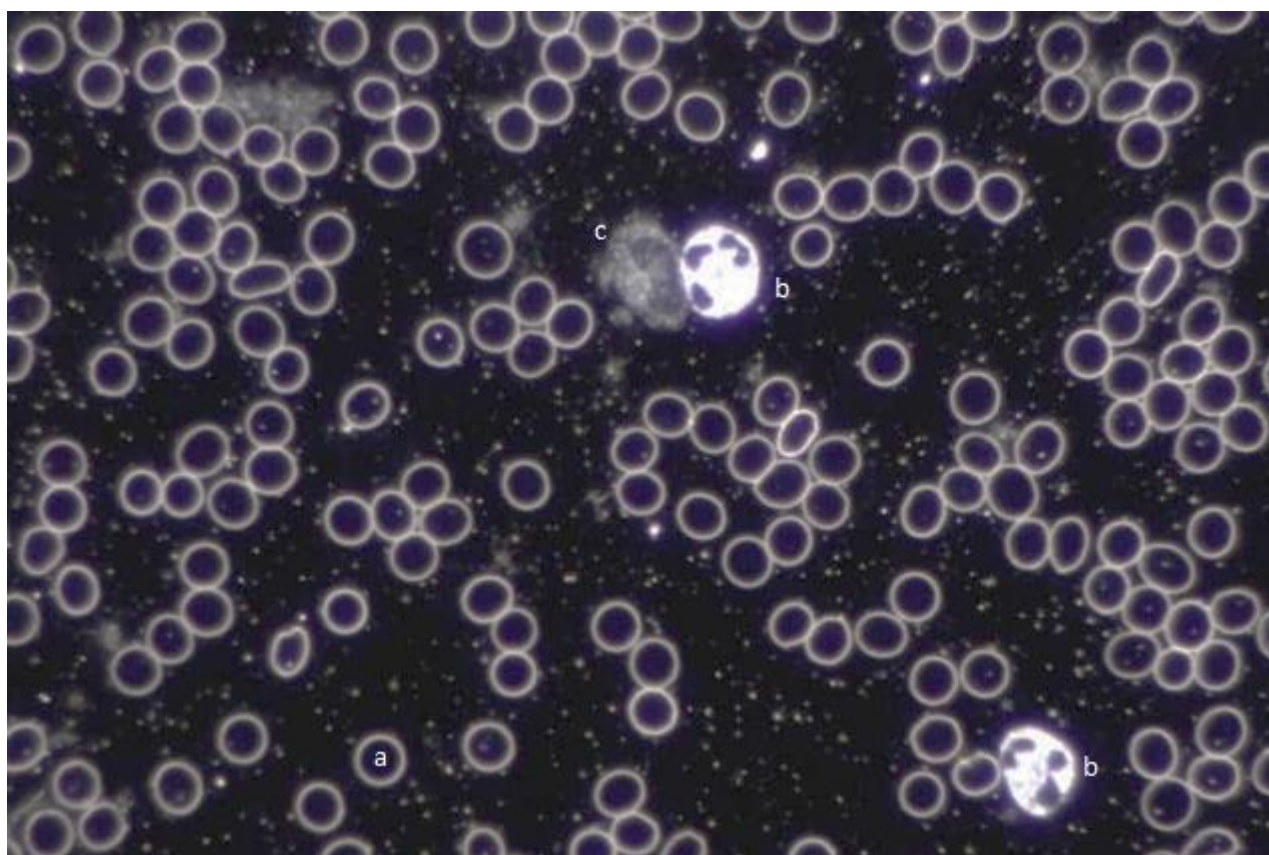
- Kształt komórek krwi
- Aktywność komórek krwi

Procedura monitorowania trwa do całkowitego rozpadu składników krwi.

Widzieć ruch krwinek oraz kształt i stabilność błon komórkowych (do momentu degradacji), a także aktywność i czas przeżycia (od kilku godzin do 6 tygodni) komórek krwi i różne patologiczne cechy płynu pozakomórkowego.

Od wielu lat obserwujemy w naszych gabinetach wzrost obciążenia zarówno metalami lekkimi, jak i ciężkimi we krwi pacjentów. Można to udowodnić i potwierdzić testami prowokacyjnymi z laboratoriów środowiskowych oraz pomiarami spektrofotometrycznymi.

Krew zdrowych, nieszczepionych osób charakteryzuje się niewielkim ruchem molekularnym Browna, wyraźnym harmonijnym rozmieszczeniem komórek krwi i wyraźną macierzą pozakomórkową (ryc. 1).



Rysunek 1: Krew zdrowego, nieszczepionego ochotnika. Możesz zobaczyć (a) stosunkowo jednorodnie ukształtowane erytrocyty (krwinki czerwone), (b) dwie neutrofile i (c) granulocyt zasadochłonny (krwinki białe).

Krew od zaszczepionych pacjentów (szczególnie tych, którzy otrzymali szczepionki BioNTech/Pfizer lub Moderna) wyróżnia się głównie następującymi różnicami:

- Nowe struktury (ryc. 3, 4 i 5), które wcześniej widzieliśmy tylko w samych szczepionkach (przeanalizowano szczepionki zamknięte, co najmniej 3 partie z ponad 12 fiolkami), np. prostokątne i kwadratowe kształty kryształów, spirale itp. rodzaje struktur nigdy wcześniej nie zostały znalezione w ludzkiej krwi. Struktury te najczęściej znajdowano w szczepionce Comirnaty firmy BioNTech/Pfizer (wielkość do 25 μm , erytrocyt ma średnicę ok. 7,5 μm) (ryc. 4, drugi rząd po lewej).
- Występuje wyraźna deformacja błon komórkowych erytrocytów, z którą spotykamy się tylko u osób przewlekłe chorych i osób z ciężkimi chorobami zwyrodnieniowymi (ryc. 4, 2 rząd po lewej).
- Często obserwuje się również skrzepy krwi, struktury blaszkowate, które mogą zatykać małe naczynia (rozmiar do 40 μm). Lepkość krwi (zmniejszona przepustowość krwi) u zaszczepionych osób jest znacznie

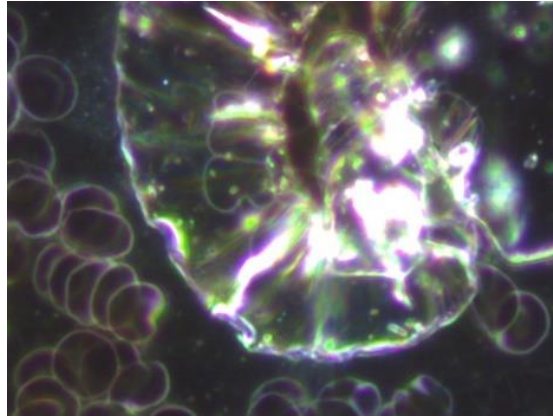
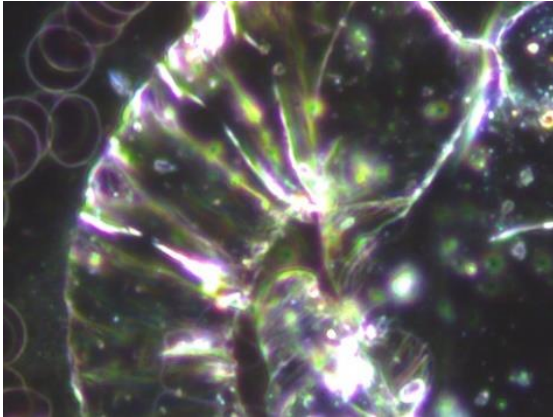
podniesiony. Zwykle widzimy te dowody tylko u osób zagrożonych udarem lub zakrzepicą (ryc. 4, 2. rząd po lewej).

- Obserwacja procesu rozkładu (krew zdrowych ludzi może żyć aktywnie na szkiełku przez kilka dni) pokazuje szybki postęp, krew czasami żyje tylko kilka godzin.
- Jednak na początku można również zaobserwować procesy rozpadu erytrocytów, tak zwane duchy/cienie erytrocytów, które normalnie obserwujemy tylko u pacjentów z ciężkimi przewlekłymi procesami zapalnymi i przewlekłe chorych (ryc. 2 do 5).
- Uderzające jest to, że niekoniecznie trzeba wiedzieć, czy pacjent został zaszczepiony, czy nie. Można to rozpoznać po widocznych zmianach we krwi pacjenta.

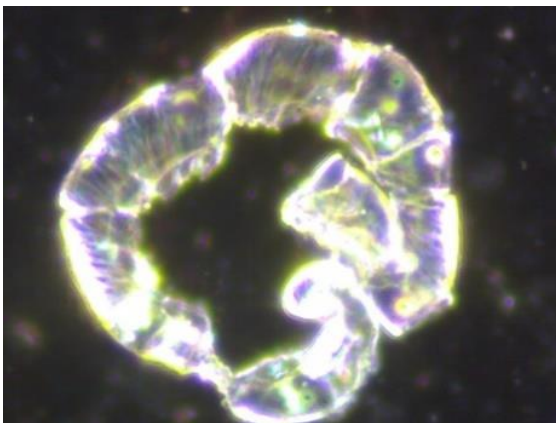
Z naszego doświadczenia z licznymi pacjentami, powinniśmy poinformować, że istnieją wyraźnie znaczące różnice we krwi osób zaszczepionych i nieszczepionych. Mikroskop nie kłamie. Czysta praca, duże doświadczenie i identyczne warunki lub standardy podczas pobierania próbek krwi są warunkiem wyraźnego wykrycia tych różnic.

Obrazy krwi zaszczepionych osób są bardzo niepokojące, zwłaszcza że nikt nie wie, dokąd organizm przenosi te struktury. Z medycyny środowiskowej wiadomo, że np. metale ciężkie mogą przedostawać się do tkanki łącznej i mózgu. W przypadku szczepionek i technologii, którą wykorzystują, zmuszeni jesteśmy stwierdzić, że substancje te mogą rozprzestrzeniać się po całym organizmie.

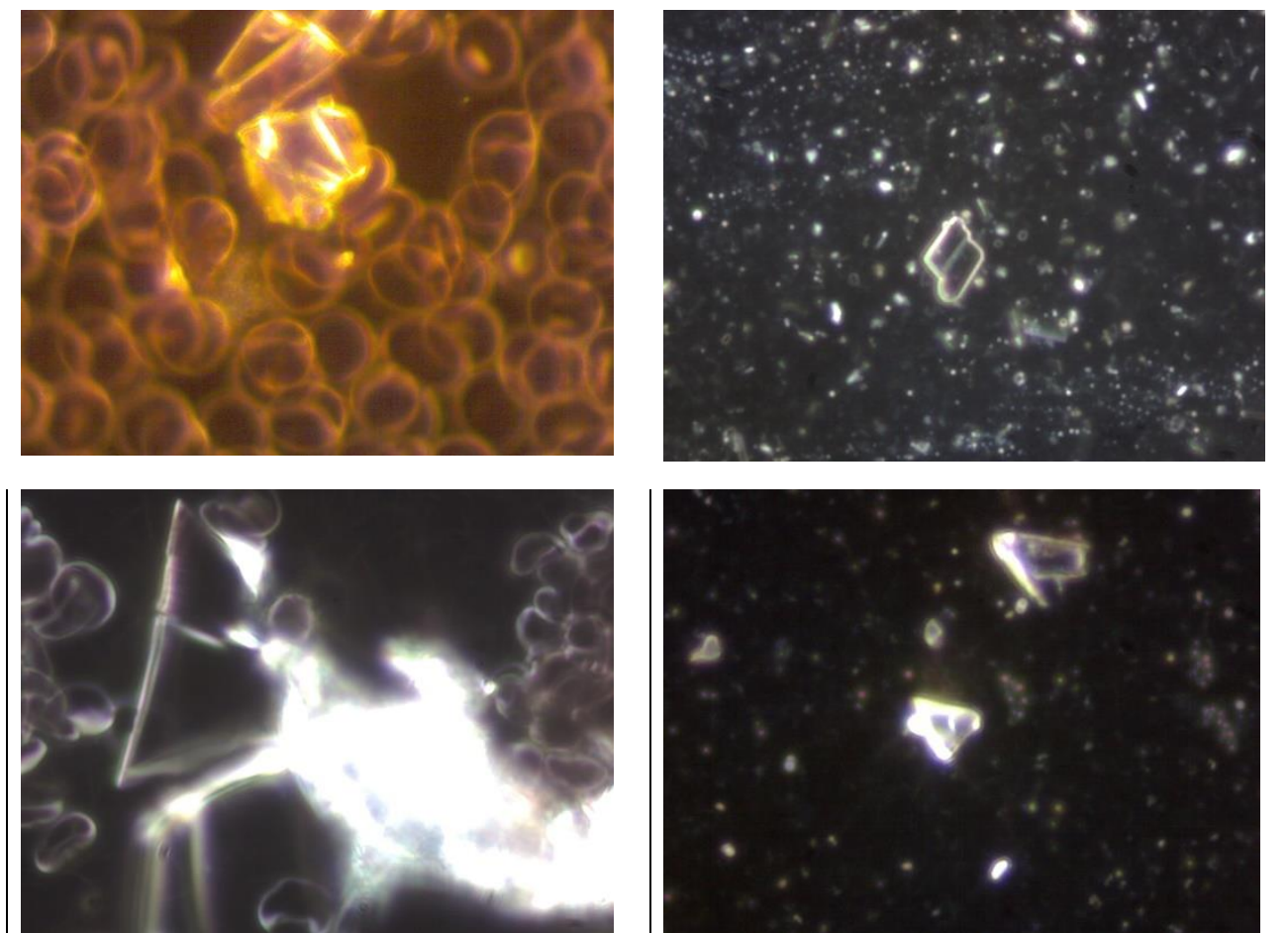
Dokumentacja obrazkowa



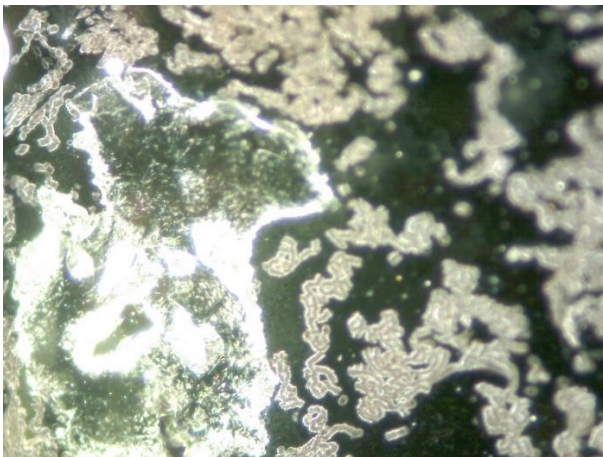
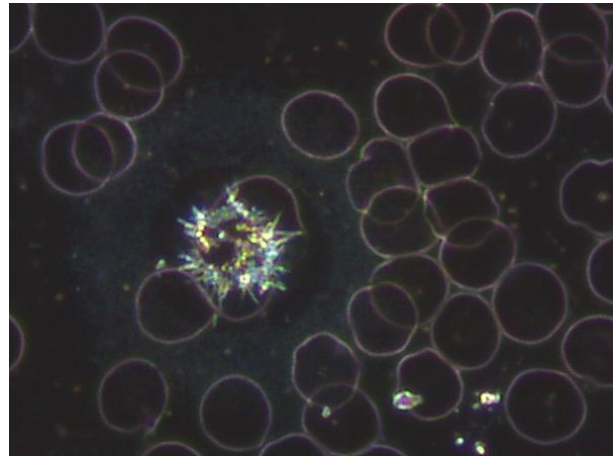
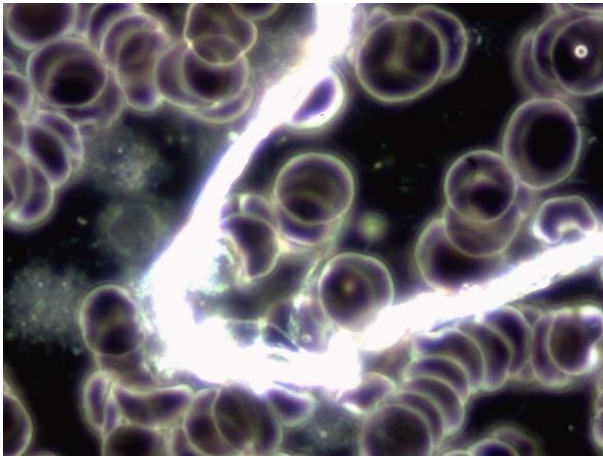
Rysunek 2: Dwa obrazy przedstawiają anomalne obiekty we krwi 52-letniego mężczyzny zaszczepionego Comirnaty. Podmiot skarżył się na silne zmęczenie i wyczerpanie.



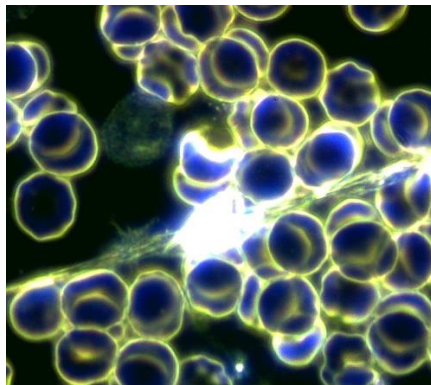
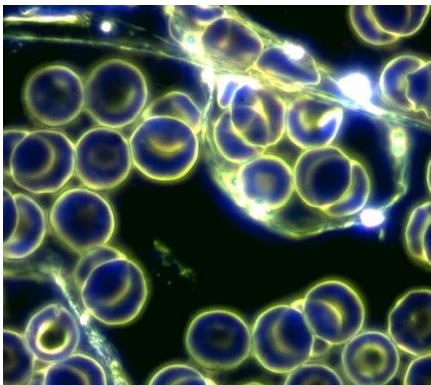
Zdjęcie po lewej pokazuje podobny obiekt w niezmienionej Comirnaty firmy BioNTech/Pfizer (z różnych partii). Tego rodzaju obiekty nie są bynajmniej wyjątkowe i były wielokrotnie obserwowane przez wielu niezależnych obserwatorów w różnych próbkach krwi i próbkach szczepionek, więc jest skrajnie nieprawdopodobne, aby były konsekwencją późniejszego skażenia. Nie trzeba dodawać, że ze względu na swój rozmiar tak duże przedmioty mogą prowadzić do:
zaburzenia krążenia krwi w naczyniach.



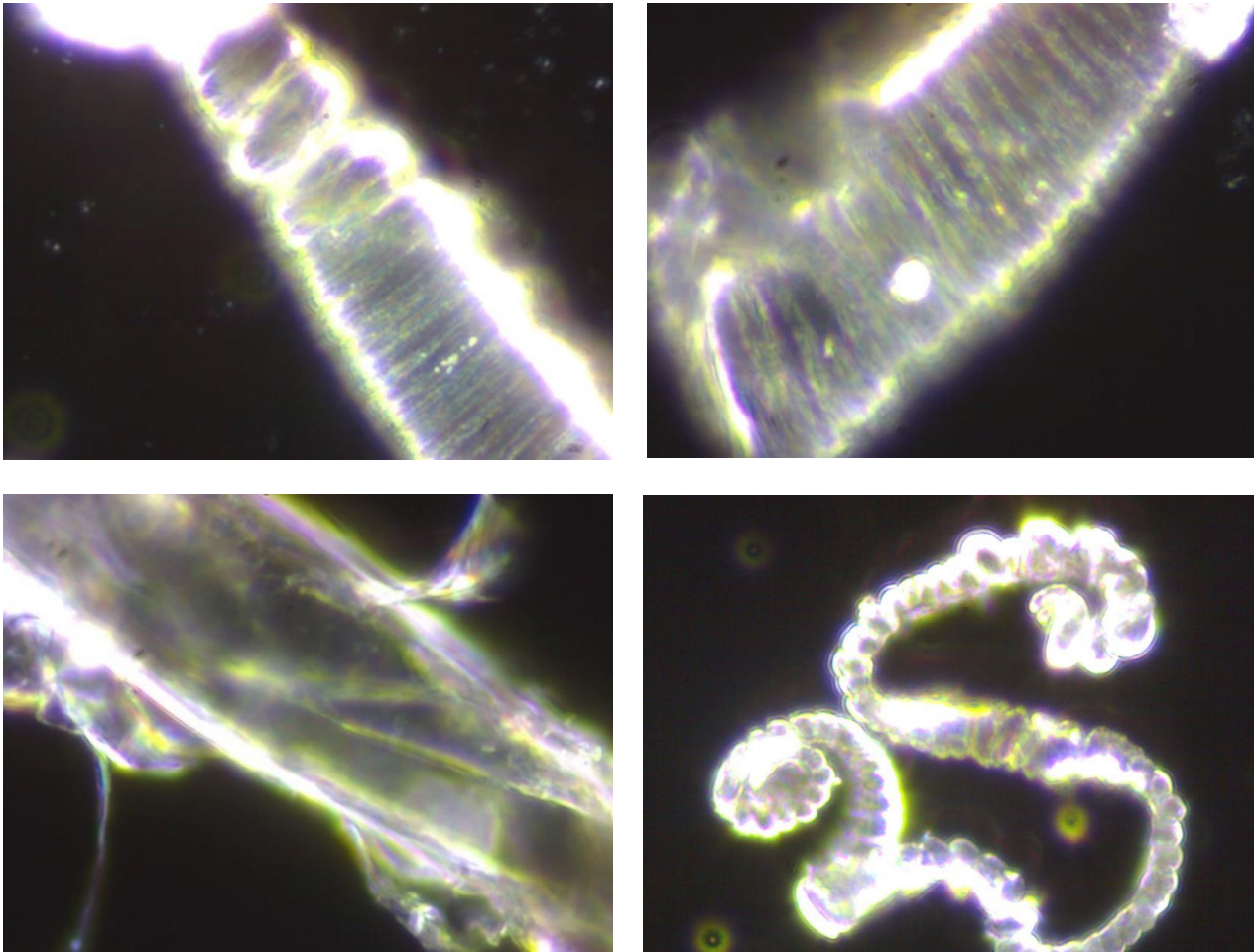
Rysunek 3: Porównanie kryształów we krwi i w szczepionce; po lewej stronie, we krwi badanych osób zaszczepionych preparatem Comirnaty (BioNTech/Pfizer) znajdują się formacje krystaliczne, obrazy po prawej pokazują, że tego typu kryształy znajdują się również w szczepionkach Comirnaty. Należy jednak zauważyć, że wielkość dawki szczepionki byłaby niewystarczająca do spowodowania wysokiej zachorowalności we krwi, którą można regularnie obserwować. Rozsądne jest zatem założenie, że szczepionka wpływa również na funkcje narządów, np. wątroby, co skutkowałoby obecnością tych struktur.



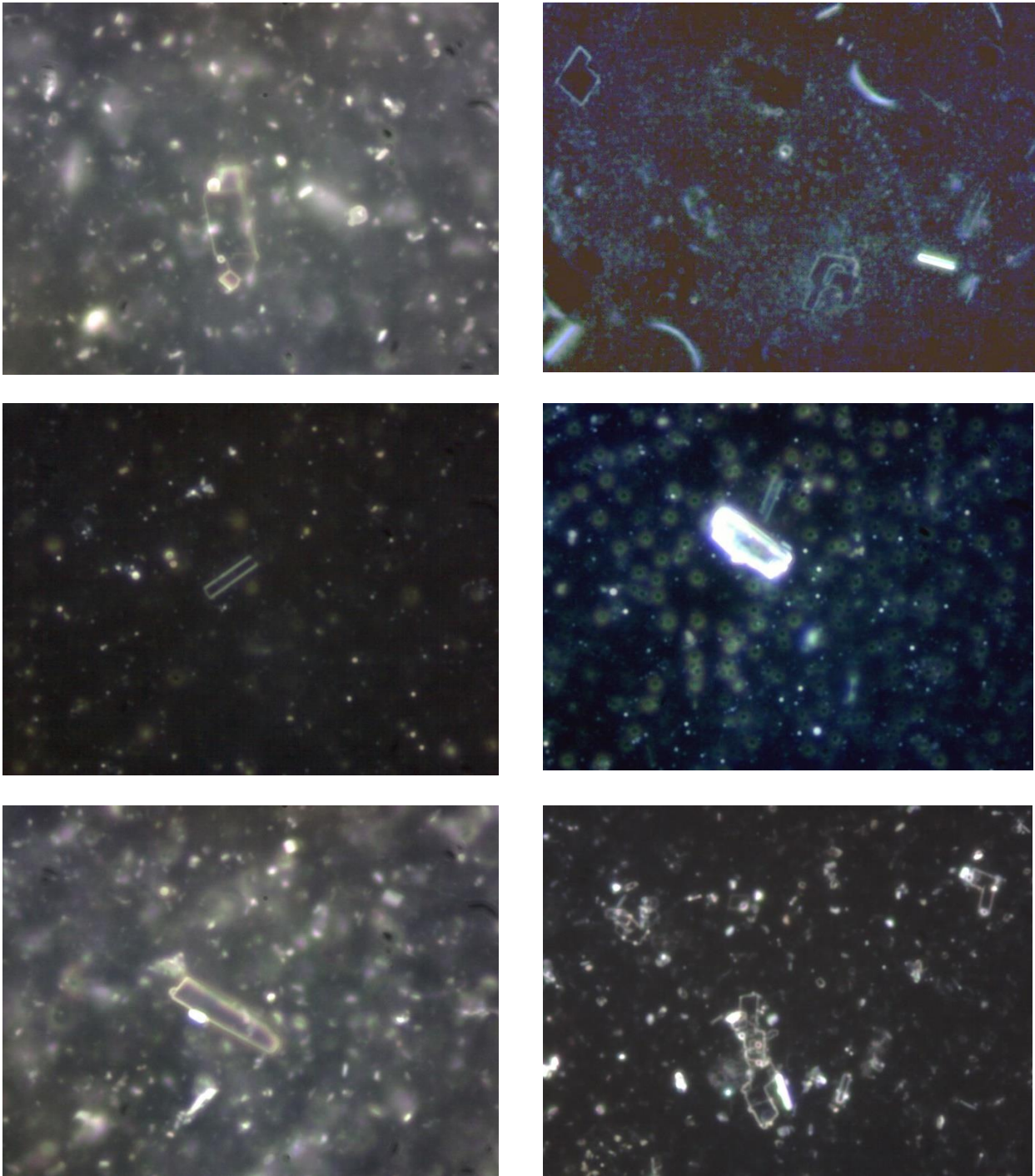
Rysunek 4: Te 4 obrazy ilustrują różnorodność niezwykłych zjawisk i przedmiotów znalezionych we krwi osób zaszczepionych Comirnaty (BioNTech/Pfizer).



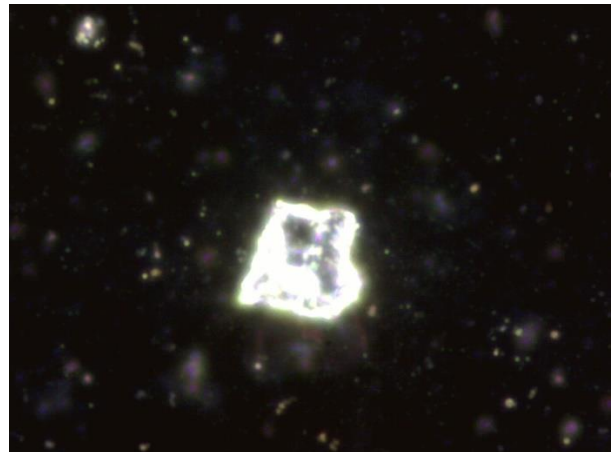
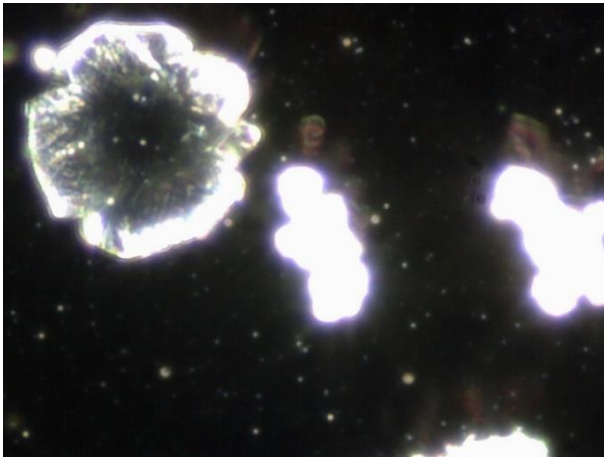
Rysunek 5: Przedmioty, które nie należą do krwi, pojawiają się również we krwi badanych osób, które zostały zaszczepione Astra Zeneca. Obrazy po lewej i pośrodku pokazują krew w powiększeniu 1000x, obraz po prawej w powiększeniu 100x.



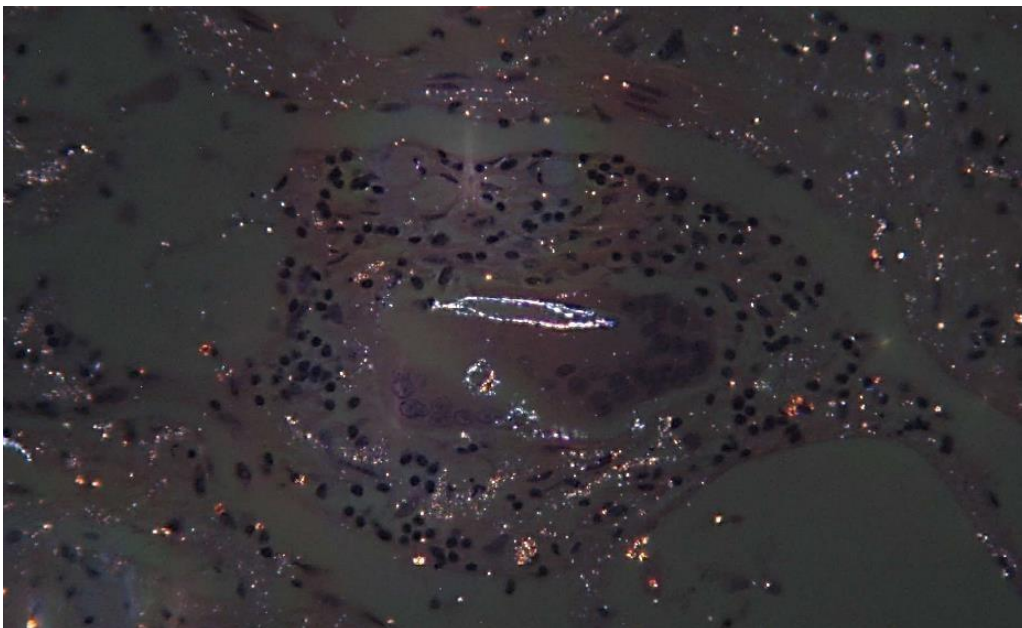
Rysunek 6: Obiekty anomalne w szczepionce wektorowej Janssen firmy Johnson & Johnson. Należy zauważyć, że nie we wszystkich próbkach znaleziono tego typu obiekty.



Rysunek 7: Szczepionka Comirnaty firmy BioNTech/Pfizer wykazuje różnorodność i dużą liczbę niezwykłych obiektów. Ogromną liczbę krystalicznych płytek i kształtów trudno interpretować jako zanieczyszczenia. We wszystkich próbkach pojawiają się regularnie i licznie.



Cyfra 8: Jest prawdopodobne, że te obiekty w Comirnaty (BioNTech/Pfizer) są zanieczyszczeniami, których pochodzenie wymaga wyjaśnienia. W niektórych przypadkach rozmiar przekracza 50 μm .



Rysunek 9: Ten obraz tkanki płucnej osoby zaszczepionej ujawnia dwójłomną cząstkę. Te rodzaje cząstek są uważane za obce dla ludzkiego ciała. Zwróć uwagę na uderzające podobieństwo do obiektu na Ryc. 8 w lewym dolnym rogu. [Źródło: dzięki uprzejmości Arne Burkhardt i współpracowników, 2022].

Metaliczne cząstki w COVID-19

Korzystanie z nowoczesnych technik obserwacji i procedur analizy fizycznej, takich jak:

- Skonszerwowaniemikroskopii (SEM)
- minergiaDwytrwałyX-spektroskopia promieniowa (EDX)

dawki szczepionki COVID-19 od

- AstraZeneca
- BioNTech/Pfizer
- Nowoczesna
- Johnson & Johnson
- Lubecavax
- Napływ Tera

badano.

W dawkach AstraZeneca, BioNTech/Pfizer i Moderna nieoczekiwanie wykryto następujące pierwiastki, głównie metaliczne:

- Metale alkaliczne: cez (**Cs**), potas (**K**), wapń
- Metale ziem alkalicznych: (**Ca**), bar (**Ba**),
- metale przejściowe: kobalt (**Współ**), żelazo (**Fe**), chrom (**Cr**), tytan (**Ti**),
- Metale ziem rzadkich: cer (**Ce**), gadolin (**Bóg**), aluminium (**Glin**),
- Grupa wydobywcza/metal:
- Grupa węgla: krzem (**Si**) (częściowo podporowy materiał/płytki),
- Grupa tlenowa: siarka (S)

Tło naszych badań

Pod koniec lata 2021 r. w fiolkach szczepionki Moderna w Japonii znaleziono zanieczyszczenia metaliczne. W efekcie władze japońskie zawiesiły stosowanie trzech partii Moderny zawierających 1,63 mln dawek [1]. W związku z tym można również rozpatrywać zgony dwóch mężczyzn w wieku od 30 do 40 lat, którzy zmarli w ciągu kilku dni po otrzymaniu szczepionki Moderna COVID-19 z omawianych partii, które zawierały zanieczyszczenia [2].

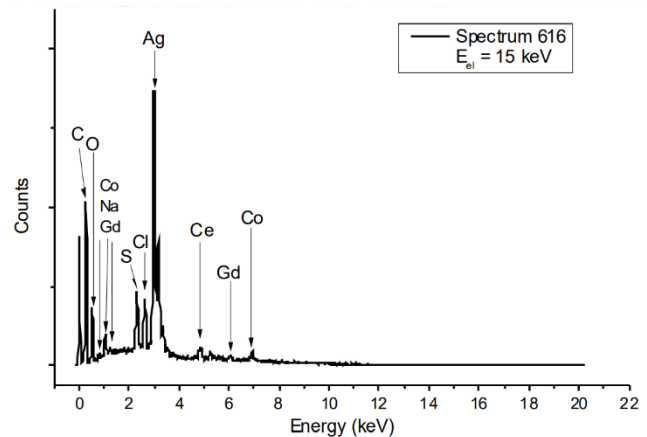
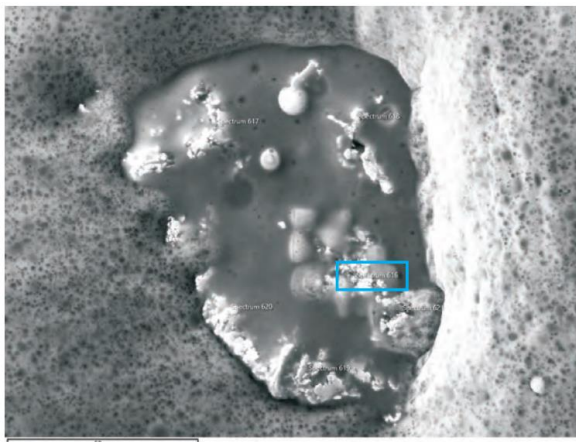
Ponadto kilka tygodni później w dwóch niewykorzystanych fiolkach szczepionki Pfizer COVID-19 znaleziono unoszącą się białą substancję [3]. Niedawno Moderna musiała wycofać 764 900 dawek swojej szczepionki COVID-19 w Europie po wykryciu zanieczyszczenia w fiolce [4]. Zainspirowane różnymi odkryciami obcego zanieczyszczenia w Japonii, kilka fiolek opartych na mRNA szczepionek COVID-19 (BioNTech/Pfizer i Moderna) oraz AstraZeneca zbadano za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) i napromieniono odpowiednią ilością energii w celu wykrycia lub wykluczyć możliwe zanieczyszczenie za pomocą dyspersyjnej spektroskopii rentgenowskiej (EDX). SEM dostarcza szczegółowe obrazy o wysokiej rozdzielczości badanej próbki przy użyciu skupionej wiązki elektronów o wysokiej energii i generuje elektrony wtórne o niskiej energii. Intensywność tych elektronów wtórnych zależy głównie od topologii powierzchni próbki.

Można je wykorzystać za pomocą spektroskopii rentgenowskiej z dyspersją energii (EDX) w celu uzyskania informacji specyficznych dla danego pierwiastka.

Wśród wykrytych cząstek metalicznych znajdują się kobalt (Co), żelazo (Fe), chrom (Cr), tytan (Ti), metale ziem rzadkich, takie jak np. cer (Ce) i gadolin (Gd), bar (Ba), cez (Cs), aluminium (Al), ale także

krzem (Si), siarka (S), potas (K) i wapń (Ca). Wielkość cząstek wahała się od 1 μm do 100 μm . Potrzebne są jednak dalsze potwierdzenia i pomiary, które są planowane na najbliższą przyszłość. Dostępny jest również bardziej szczegółowy raport z tych wstępnych ustaleń, który można pobrać [5].

SEM i EDX - jeden z wielu przykładów...



Rysunek (po lewej) przedstawia obraz uzyskany za pomocą wtórnego mikroskopu elektronowego (SEM) zanieczyszczenia znalezione w próbce AstraZeneca (Vaxzevria: partia 210101) wraz z widmem punktowym EDX (po prawej) zarejestrowanym w miejscu zaznaczonym na niebiesko. Widmo punktowe EDX wskazuje na obecność srebra (Ag) oraz śladowych ilości siarki (S), kobaltu (Co), ceru (Ce) i gadolinu (Gd) w tym skażeniu. Inne zarejestrowane skany punktowe dają podobne wyniki. Otaczający materiał jest organiczną częścią szczepionki wektorowej

Interpretacja z medycznego punktu widzenia

W stabilnej formie, **cez (Cs)** ma niewielkie znaczenie toksykologiczne. Wchłonięty cez zachowuje się podobnie jak potas (**K**), więc może istnieć ryzyko dla równowagi między potasem w komórce i we krwi. Niedobór potasu może prowadzić do zaburzeń rytmu serca i zaburzeń rozwojowych. Skutki rakotwórcze są związane z radiocezem. Ale również tutaj, podobnie jak w przypadku innych znalezionych pierwiastków, nie jest jasne, które izotopy tych pierwiastków są rzeczywiście obecne.

Hipoteza: Z medycznego punktu widzenia cez nie ma wartości terapeutycznej; wręcz przeciwnie, należałoby założyć, że dodatek cezu zaburza równowagę potasową i może spowodować obumieranie żywotnych komórek (np. komórek obronnych), aby ewentualnie przyspieszyć działanie szczepionki lub uniknąć zagrożenia tego efektu.

Potas (K) jest niezbędnym minerałem. Ułatwia przekazywanie sygnałów elektrycznych między komórkami poprzez aktywację określonych enzymów. Potas odgrywa decydującą rolę w regulacji wartości pH, a także bierze udział w regulacji ciśnienia krwi. Niedobór potasu może zaostrzyć wysokie ciśnienie krwi. Zatrucie potasem może zagrażać życiu; objawy obejmują osłabienie mięśni, paraliż i zaburzenia rytmu serca. Nie wiadomo, czy zamierzonym celem zwiększenia pH jest zapewnienie szczepionce lepszego dostępu do komórki w miejscu docelowym.

Wapń (Ca) jest bardzo ważnym minerałem. Rzeczywiście, ten minerał jest najważniejszy w ludzkim ciele pod względem ilościowym. Wapń utrzymuje mocne kości i zęby i jest niezbędnym czynnikiem krzepnięcia krwi. Każda komórka w ciele potrzebuje wapnia. Wapń stabilizuje ściany komórkowe, jest niezbędny do przekazywania sygnałów w komórce oraz do przekazywania sygnałów w układzie nerwowym (np. słuchu, wzroku, dotyku) oraz jest niezbędny do funkcjonowania mięśni. Na dłuższą metę podwyższone stężenie wapnia może prowadzić do kamieni moczowych, upośledzenia funkcji nerek, ryzyka chorób serca i raka prostaty. Typowe objawy to zwiększona woda

wydalanie, nudności, zaparcia, wymioty, czasami zapalenie trzustki, zaburzenia rytmu serca, apatia, osłabienie mięśni, skrajna senność, psychoza i w skrajnych przypadkach śpiączka.

Bar (Ba) jest toksyczny dla ludzi i zwierząt w postaci rozpuszczalnej. Zaburza równowagę potasową. W wysokich stężeniach bar blokuje pasywne kanały potasowe w błonie komórkowej. Prowadzi to np. do zaburzenia funkcji komórek mięśniowych i niedoboru potasu we krwi, ponieważ potas pozostaje w komórkach w zwiększonych ilościach. Bar znajduje również zastosowanie w stomatologii. To zastosowanie nie jest pozbawione problemów, chyba że bar, który jest związany z cementami dentystycznymi, ma wysoką stałą adhezji i wchodzi do krwi jako swobodnie rozpuszczalny związek.

Kobalt (Co) jest metalem ciężkim. Kobalt w połączeniu z witaminą B12 ma dobroczynne działanie na organizm człowieka i jest niezbędny do życia. Jednak w przypadku przedawkowania mogą wystąpić objawy takie jak nudności, nudności, zaburzenia widzenia, problemy z sercem i uszkodzenie tarczycy.

Żelazo (Fe) pełni ważną funkcję w transporcie tlenu w czerwonych krwinkach. W zależności od dawki żelazo może być toksyczne dla przewodu pokarmowego, układu sercowo-naczyniowego i ośrodkowego układu nerwowego. W ostrym zatruciu żelazem występują objawy takie jak wymioty, biegunka, śpiączka i krwawienie w przewodzie pokarmowym, później (do 24 h) gorączka, zaburzenia krzepnięcia krwi, uszkodzenie wątroby i nerek. Przeładowanie żelazem może powodować długotrwałe uszkodzenia poprzez odkładanie żelaza w narządach, a tym samym stwarzać ryzyko chorób wątroby (marskość, rak), niewydolności serca, cukrzycy lub artrozy, wtórnych hemochromatoz.

Chrom (Cr) nie jest toksyczny w połączeniu. Chrom wolny i zawieszony może prowadzić do ostrych objawów zatrucia, w tym anemii, niedoboru płytek krwi, obumierania tkanek, zwłaszcza nerek, zapalenia przewodu pokarmowego. Przewlekłe narażenie na chrom wywołuje choroby, takie jak astma alergiczna, zapalenie oskrzeli, zapalenie skóry, zapalenie spojówek i zapalenie wątroby.

Tytan (Ti): Stopy tytanu są stosowane w instrumentach chirurgicznych, a także implantach, takich jak protezy kości i stawów, implanty dentystyczne, zabiegi na szczękę i twarz, urządzenia sercowo-naczyniowe itp. Dwutlenek tytanu jest stosowany jako środek wybielający w kosmetykach, żywności i suplementach diety, leki i nie tylko. Obecnie jego bezpieczeństwo jest ponownie oceniane i coraz częściej wiąże się z genotoksycznością.

Cer (Ce) Cer ma niską toksyczność. Bezpośredni kontakt może powodować swędzenie, wrażliwość na ciepło i zmiany skórne.

Gadolin (Gd) jest stosowany jako środek kontrastowy w obrazowaniu metodą rezonansu magnetycznego. W międzyczasie pojawia się coraz więcej dowodów na obecność w mózgu pozostałości metalicznego gadolinu. Oficjalnym zaleceniem jest obecnie stosowanie środków kontrastowych zawierających gadolin tylko w nieuniknionych badaniach, również dlatego, że ostre lub przewlekłe choroby nerek są obecnie kojarzone ze środkami kontrastowymi zawierającymi gadolin. Długoterminowe zagrożenia związane z podawaniem gadolinowego środka kontrastowego są nadal nieznanne. Wolny gadolin jest wysoce toksyczny, a wolny gadolin gromadzi się w kościach. Możliwe, że gadolin może ułatwić przekraczanie bariery krew-mózg.

Aluminium (Al) jest najpopularniejszym metalem w skorupie ziemskiej i ważnym materiałem do wielu różnych zastosowań, takich jak materiały opakowaniowe, dodatki do żywności, kosmetyki i leki. Czasami aluminium dodaje się nawet do wody pitnej. Podejrzewa się, że u ludzi aluminium przyczynia się do choroby Alzheimera [6]. Uważa się, że w szczepionkach jako adiuwant stosuje się glin [7].

Krzem (Si) jest drugim po tlenie najliczniej występującym pierwiastkiem w biosferze. Krzem jest budulcem tkanki łącznej, skóry, ścięgien i więzadeł, kości i chrząstek. Krzem jest ważny dla elastyczności i elastyczności naczyń, np. w układzie sercowo-naczyniowym. Ma również znaczenie dla układu odpornościowego np. do produkcji limfocytów i „komórek zmiatających” w walce z drobnoustrojami. Nadmiar krzemu może skutkować rozpuszczaniem komórek krwi i może powodować anemię (anemię). Długotrwałe przyjmowanie nadmiernych ilości krzemu może prowadzić do powstawania kamieni moczowych. Krzem w postaci suplementu diety nie powinien być

<https://www.bfr.bund.de/cm/343/neubewertung-von-titandioxid-bfr-zieht-aehnliche-schluesse-wie-die-europaeische-behoerde-fuer-lebensmittelsicherheit.pdf>

podjęte w czasie ciąży. Krzem zaabsorbowany z powietrza w wyższych stężeniach może prowadzić do krzemicy choroby płuc. Krzem w próbkach prawdopodobnie pochodzi z materiału nośnego.

Siarka (S) jest ważnym składnikiem kilku cegiełek budulcowych białek (aminokwasów). Siarka odgrywa rolę w tworzeniu i naprawie komórek i tkanek, a także we wzmacnianiu układu odpornościowego i jest ważna dla produkcji hormonów i enzymów. Czysta siarka nie jest toksyczna. Jednak niektóre związki siarki w wyższych dawkach są toksyczne i mają np. działanie hamujące na enzymy lub sprzyjają karcynogenezie. Znanymi toksycznymi związkami siarki są na przykład siarkowodór, dwutlenek siarki, kwas siarkowy i dwusiarczek węgla. Ostre zatrucie prowadzi do stanów pobudzenia, utraty przytomności i paraliżu oddechowego. W przewlekłym zatruciu występują zaburzenia snu, drażliwość, zaburzenia widzenia, utrata masy ciała i uszkodzenie nerek.

Bibliografia

[1]<https://www.reuters.com/business/healthcare-pharmaceuticals/japan-finds-stainless-steel-particles-zawieszone-dawki-moderna-szczepionka-2021-09-01/>

[2]<https://www.forbes.com/sites/graisondangor/2021/08/28/two-men-in-japan-die-after-covid-19-shots-from-supply-suspected-of-contamination/?sh=2a03771075e4>

[3]<https://www.japantimes.co.jp/news/2021/09/15/national/contaminants-pfizer-tokyo-osaka/>

[4]<https://www.reuters.com/business/healthcare-pharmaceuticals/moderna-recalls-thousands-covid-vaccinedoses-2022-04-08/>

[5]<https://2020news.de/moeglicherweise-toedliche-mrna-impfstoffchargen-enthalten-metallischeverunreinigungen/>

[6]<https://www.br.de/wissen/gesundheit/aluminium-gefaehrlich-gesundheit-alzheimer-100.html>

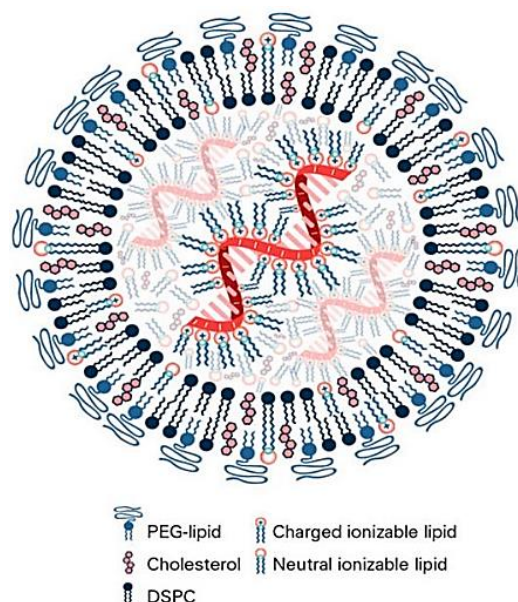
[7]<https://www.pei.de/SharedDocs/FAQs/DE/impfen-impfstoffe/enthalten-impfstoffe-aluminium.html>

Pełny artykuł w załączeniu:

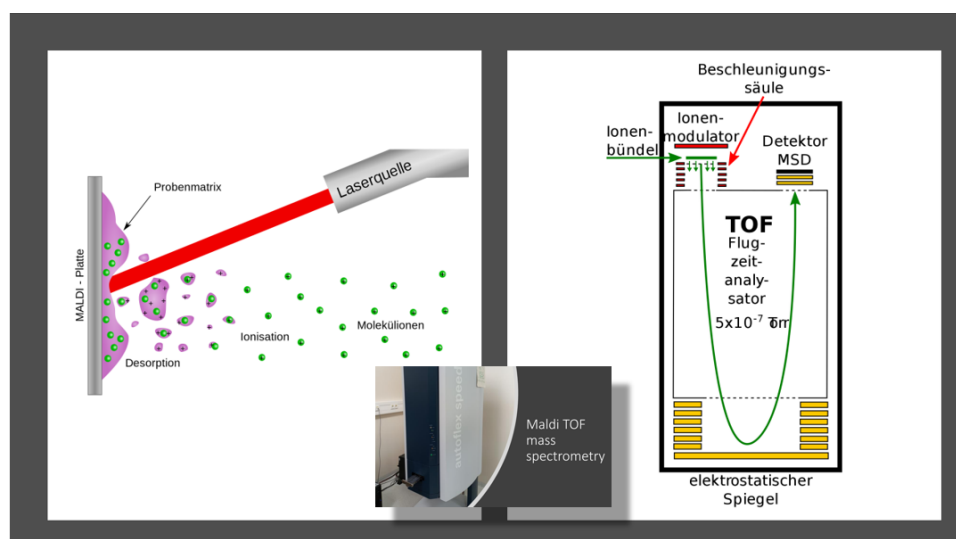
„Badanie zanieczyszczeń metalicznych występujących w szczepionkach przeciwko COVID-19-”opartym na wektorze i mRNA”

Jednorodność i niejednorodność w zakresie długości łańcucha lipidowego PEG i częstości uszkodzeń szczepionkowych w szczepionkach mRNA

mRNA potrzebuje ochronnej otoczki, aby dostać się do komórek. Ta otoczka ochronna składa się z nanolipidów. Nanolipidy są stabilizowane warstwą **polimetylenoglikolu (PEG)**. PEG składa się z łańcuchów o różnej długości. Strukturę cząstki nanolipidowej chroniącej mRNA przedstawiono schematycznie na poniższej rycinie 1.

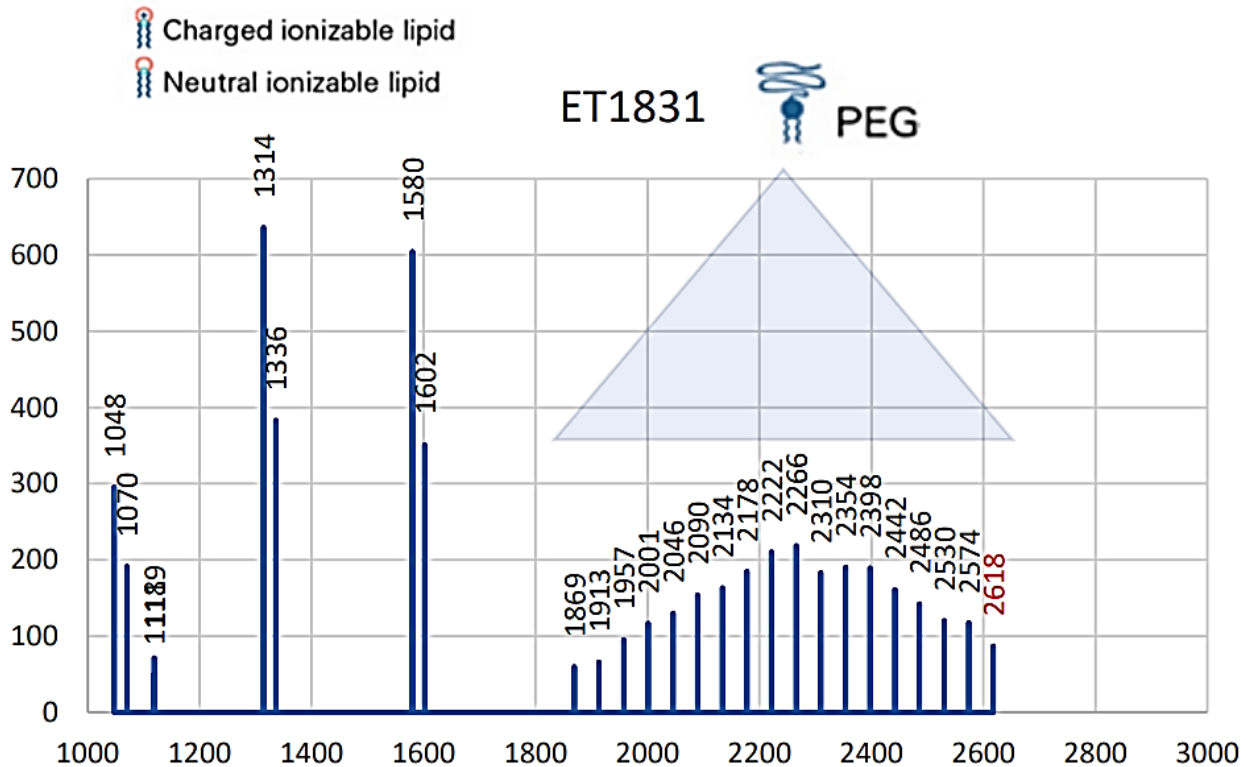


Rysunek 1: Schematyczna budowa archetypowej cząstki nanolipidowej z mRNA wewnątrz. Ta otoczka chroni mRNA przed rozpadem i degradacją poprzez własne mechanizmy obronne organizmu i zapewnia, że mRNA może zostać wprowadzone do komórki organizmu w celu przeprogramowania funkcji komórki w celu wytworzenia białek kolczastych. Może powodować alergię. Pomimo ich powszechnego stosowania, badanie toksyczności podejrzanych kationowych nanocząstek liposomalnych nie zostało jeszcze przeprowadzone. Zewnętrzne faliste loki wskazują łańcuchy, źródło obrazu: doi:10.3390/vaccines9010065.



Rysunek 2: Schemat układu do wyznaczania widm masowych przy użyciu analizy MALDI (macierzowa desorpcja/jonizacja wspomagana laserem) i TOF (czas przelotu). Źródło obrazu: https://de.wikipedia.org/wiki/Matrix-unterst%C3%BCtzte_Laser-Desorption/Ionisation.

Za pomocą spektroskopii masowej czasu przelotu (TOF-MS) możliwe jest wykrycie PEG i pomiar długości jego łańcucha (patrz Rysunek 2). W tym celu fragmenty próbek są oddzielane za pomocą wiązki laserowej, jonizowane, a następnie odchylane w lustrze elektrycznym. Fragmenty o różnej masie poruszają się po odpowiednio dłuższych lub krótszych ścieżkach i są wykrywane osobno w czasie. Częsteczki PEG o różnych długościach łańcucha tworzą następnie rozkład w widmie MALDI. Przykładowe widmo można zobaczyć na rysunku 3.



Rysunek 3: Oryginalne widmo masowe z próbki partii ET1831 (BioNTech/Pfizer). Ta próbka pokazuje wąskie spektrum łańcuchów PEG.

Widma te rejestrowano dla różnych partii. Stwierdzono różne wzorce rozmieszczenia mas PEG, co można również interpretować jako wskazujące na różnice w jakości partii.

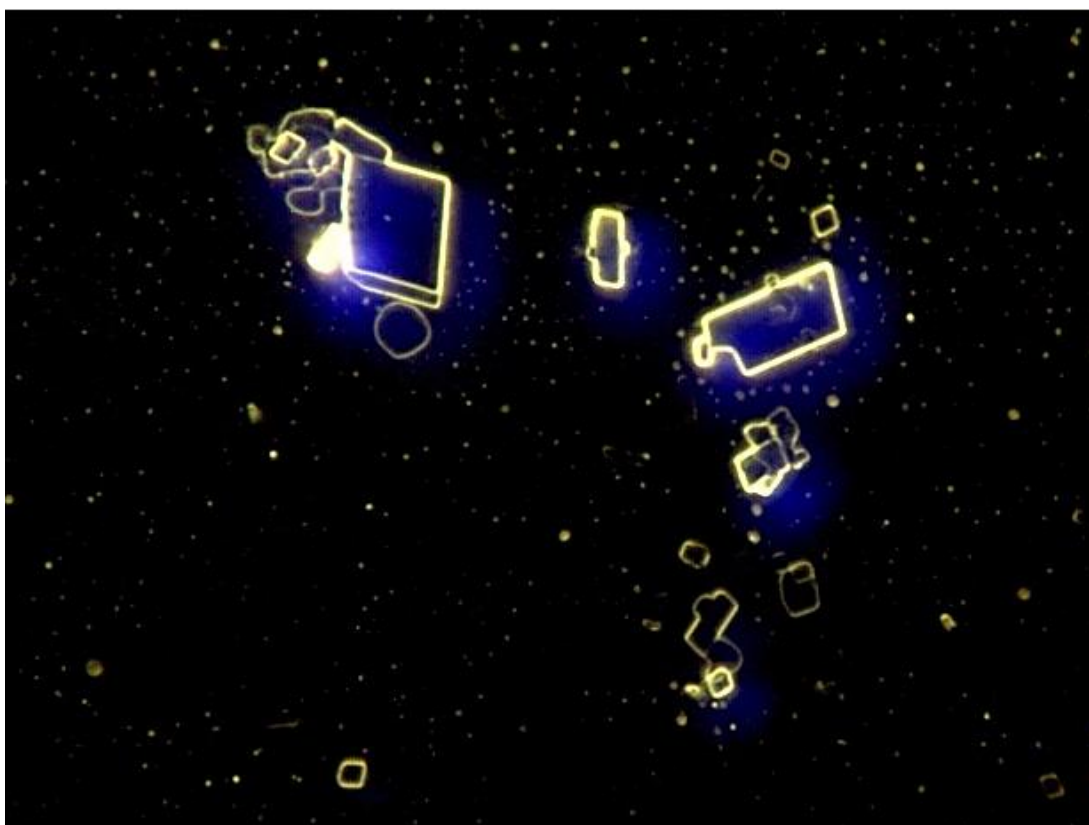
Na podstawie obserwacji można przypuszczać, że jakość PEG ma długofalowy wpływ na działanie szczepionki. W związku z tym partie o bardzo szerokim spektrum masowym i dłuższych łańcuchach mniej skutecznie chroniłyby mRNA. Nanolipidy są bardziej niestabilne i mogą rozpaść się wcześniej i przed penetracją komórki, uwalniając w ten sposób mRNA na zewnątrz komórki. Procesy autohydrolizy i enzymatyczne mogą następnie zniszczyć mRNA i ostatecznie zneutralizować jego funkcję genetyczną.

W tego typu partiach w ciemnym polu można zaobserwować liczne cząstki kryształów lipidów jako drobne ciała stałe, których występowanie w naczyniach krwionośnych może prowadzić do blokad i w konsekwencji różnego rodzaju uszkodzeń (ryc. 4).

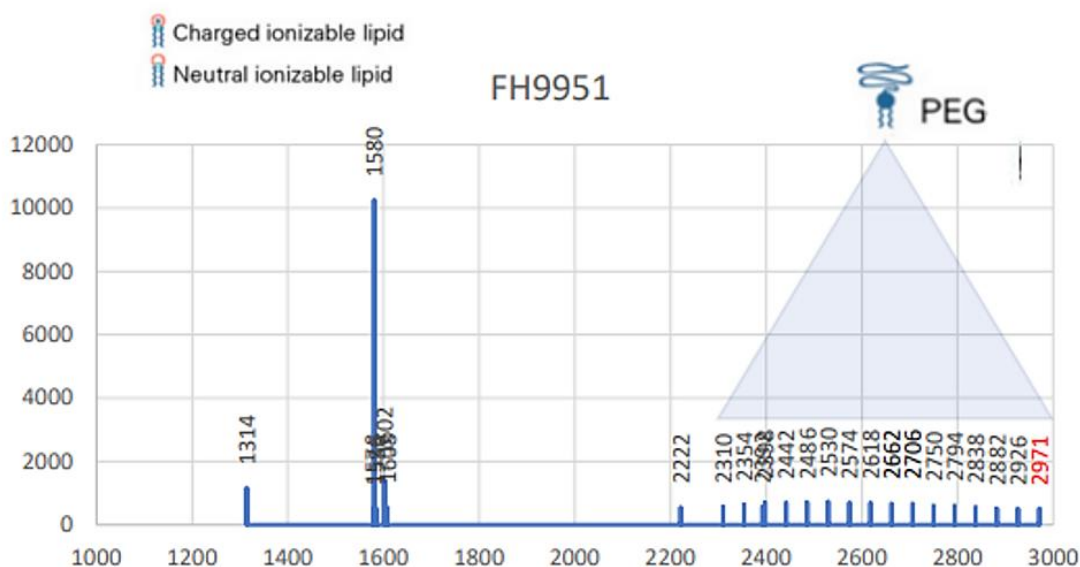
Przykład szerokiego wzorca rozkładu masy PEG pokazano na Figurze 5. Widmo to wykazuje rozkład płaski i ma dłuższe łańcuchy.

Koncepcję, że szeroko rozpowszechnione powłoki PEG są związane z gorszą jakością szczepionek, ilustruje Rysunek 6. Widać tam, że kosztem większej długości łańcuchów PEG pojawiają się luki w powłoce powierzchniowej, które prowadzą do zmniejszenia stabilności.

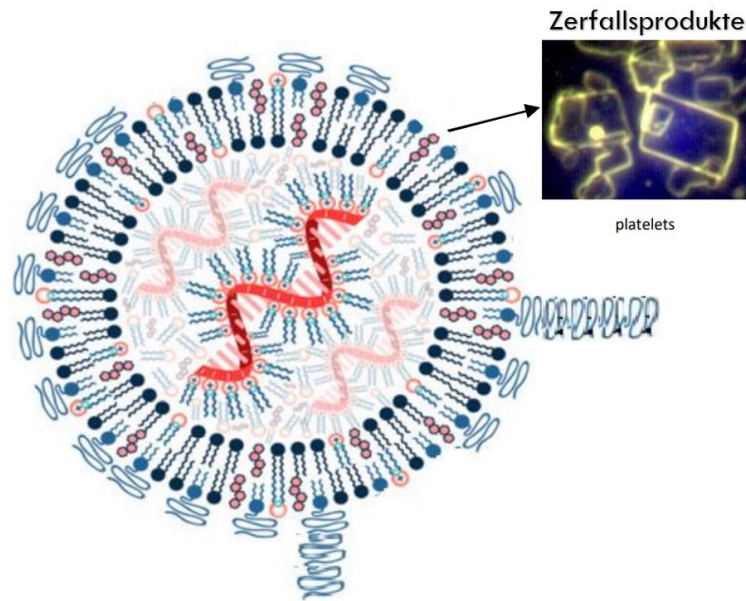
Porównanie partii o różnie jednorodnych widmach masowych w związku z liczbą wykrytych powikłań po szczepieniu ujawnia wyraźną korelację, ryc. 7.



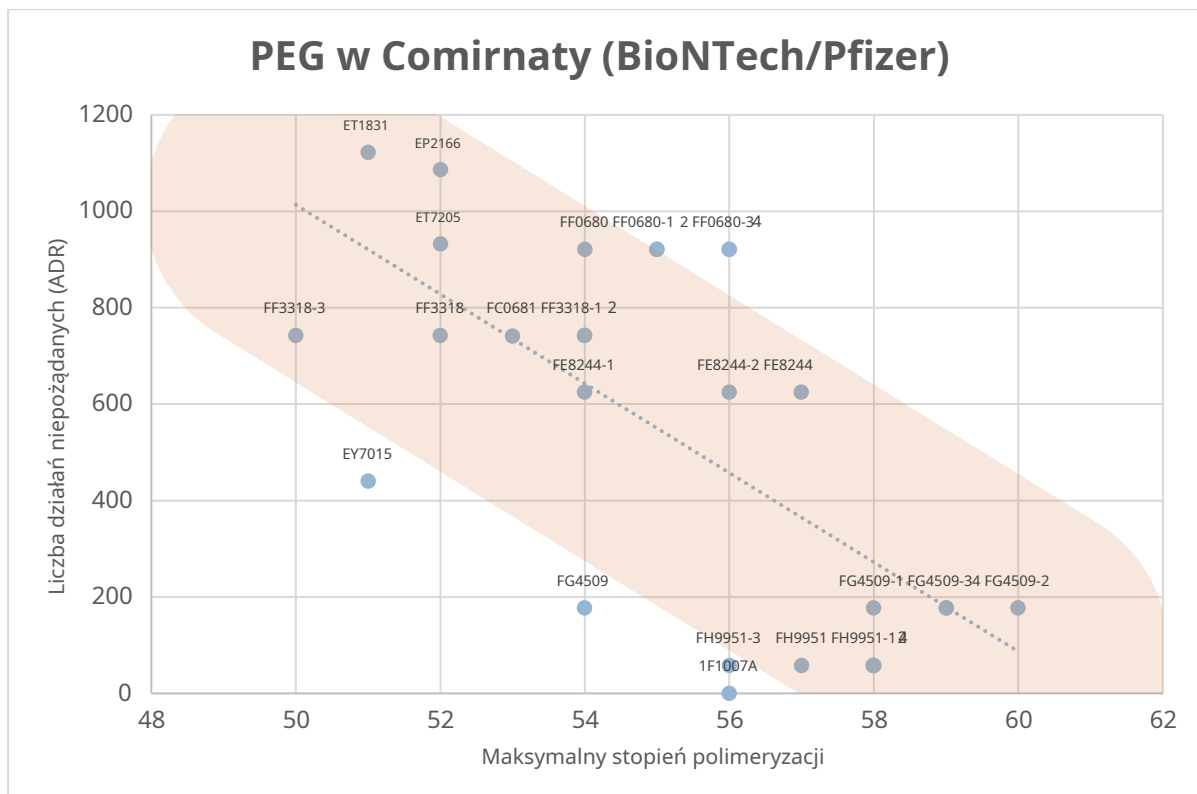
Rysunek 4: Częsteczki kryształów lipidów w powiększeniu 1000x w szczepionce Comirnaty firmy BioNTech/Pfizer. Niektóre kryształy mieszczą się w zakresie wielkości czerwonych krwinek ($\varnothing$ 7-8 μm], tzw. erytrocytów, a nawet większych).



Rysunek 5: Oryginalne widmo masowe z próbki partii ET1831 (BioNTech/Pfizer). Ta próbka wykazuje stosunkowo płaski i długołańcuchowy rozkład PEG w widmie masowym.



Rysunek 6: Schematyczna struktura wadliwej cząsteczki nanolipidu z mRNA w środku. Ta powłoka nie może bezpiecznie chronić mRNA przed rozpadem. mRNA jest w stanie uciec, a następnie jest szybko niszczone ze względu na swoją niestabilność, zanim przeniknie do wnętrza komórki ciała, aby zmodyfikować funkcję komórki i wywołać produkcję białek kolczastych, które podejrzewa się o to, że są toksyczne. Źródło obrazu: doi: 10.3390/vaccines9010065 i zmodyfikowane przez naszego autora.



Rysunek 7: Na podstawie widm masowych próbek z różnych partii szczepionki Comirnaty (BioNTech/Pfizer) porównano maksymalne długości łańcucha z liczbą zgłoszonych powikłań po szczepieniu. Widać wyraźną korelację. Niebieskie kropki są powiązane z analizowanymi numerami partii BioNTech/Pfizer.

Korelacja między powikłaniami szczepionki a jakością partii PEG wskazuje, że to właśnie partie szczepionek są technicznie skomplikowane w produkcji i w których nanocząstki nie ulegają rozpadowi, które mogą powodować komplikacje szczepionki (definicja według EMA).

Im bardziej stabilna jest szczepionka mRNA, tym bardziej może indukować komórki organizmu do wytwarzania białek kolczastych, a im bardziej szczepionka jest w stanie to zrobić, tym większe ryzyko, że zaszczepiona osoba dozna obrażeń poszczeniennych.

Załącznik: PDF z prezentacją PowerPoint: Wstępny raport standardowych analiz dotyczących szczepionek przeciw Covid

Antymon w Modernie – Szczepionka?

Poniższe analizy i ustalenia powinny zostać zweryfikowane przez inne grupy, ponieważ dostępna była tylko niewielka ilość materiału próbki.

Odkrycia są znaczące, ponieważ antymon jest pierwiastkiem toksycznym i należy wyjaśnić, jaka jest jego funkcja w szczepionce Moderna COVID-19 lub czy jest niepożądanym zanieczyszczeniem.

Zbadano trzy próbki z otwartych fiolek Moderna z pozostałościami 1-3 g płynu każda oraz 8 otwartych fiolek BioNTech/Pfizer z bardzo małymi pozostałościami. Aby móc zapewnić wystarczającą ilość materiału próbki do badania, ilości substancji połączono oddzielnie.

Do badania wykorzystano plazmę sprzężoną indukcyjnie (ICP). W ICP atomy pierwiastka są wzbudzane, aby emitować promieniowanie. Promieniowanie to jest wykrywane, a zawartość odpowiedniego pierwiastka może być mierzona w porównaniu z roztworami standardowymi.

Ponieważ w pomiarze ICP (rozpuszczanie cząstek, płytek krwi, włókien itp.) można wykryć tylko rozpuszczone pierwiastki, do próbek dodawano kwas azotowy (HNO₃) i ogrzewano (trawienie).

Dokładna procedura oraz tabele wyników znajdują się w załączniku.

Co uderzające, antymon jest powyżej granicy wykrywalności, co wskazuje na znaczne stężenie.

Dlaczego antymon jest substancją dominującą w szczepionce Moderna?

Granica wykrywalności (LOD) wynika z ilości próbki.

Ponadto należało wziąć pod uwagę specyficzne warunki: z jednej strony, jak intensywny jest sygnał danego pierwiastka w ICP, a z drugiej strony, jakie jest ogólne zanieczyszczenie laboratoryjne różnymi substancjami, np. Woda podwójnie destylowana ; sprzęt laboratoryjny; ICP.

Granica wykrywalności krzemu musiała być ustawiona wysoko, ponieważ laboratorium często ma do czynienia z substancjami zawierającymi krzem jako główny składnik i dlatego istnieje ryzyko zanieczyszczenia.

Wstępna ocena Antymony

Antymon (Sb) jest pierwiastkiem występującym w przyrodzie i jest definiowany jako metal wysoce toksyczny. Za najmniej toksyczny uważa się pięciowartościowy antymon. Najbardziej niebezpieczną formą jest gazowy wodorek antymonu (stiban, SbH_3).

Metaloorganiczne związki antymonu mają działanie przeciwprwotniacze/przeciw pasożytnicze i są stosowane, na przykład, do leczenia tropikalnej choroby pasożytniczej, leishmaniozy. W międzyczasie stosuje się do tego celu pięciowartościowy antymon (stibo[V]-glukonian sodu) z jednej strony ze względu na jego wyższą skuteczność w porównaniu z antymonem trójwartościowym, z drugiej zaś ze względu na wyższą toksyczność wcześniej stosowanego antymonu trójwartościowego związku. Antymon znajduje się również jako adiuwant przeciwprwotniaczy w szczepionkach, jakie znamy do tej pory.

W Moderne nasze analizy wykazały podwyższony poziom antymonu w porównaniu do innych pierwiastków metalowych. W obecnie dostępnych wynikach dawka nie była toksyczna. Nie jest jeszcze jasne, w jakiej wartościowości antymon jest obecny w testowanej szczepionce Moderna. Oficjalne informacje o występowaniu antymonu w szczepionce w ogóle nie zostały dotychczas opublikowane.

Antymon blokuje grupy SH w enzymach w sposób niekonkurencyjny, co między innymi tłumaczy działanie przeciwprwotniacze (także przeciwwirusowe). Jednak te grupy sulfhydrylowe znajdują się również w enzymach tworzących białka lub mogą być częścią centrów aktywnych, takich jak koenzymy, a zatem mogą być zdecydowanie zaburzone w ich ważnej funkcji metabolicznej przez antymon. Zaburzenie to może również wpływać na szpik kostny, pełniący kluczową funkcję producenta komórek krwi, w tym czerwonych krwinek (nośników tlenu), ale także białych krwinek (komórek obronnych). Dotychczas opisano toksyczne działanie tlenku antymonu na linię erytrozoidów.

Antymon może być stosowany jako tlenek antymonu w postaci nanocząstek. Oficjalne informacje o strukturze nanocząstek w Moderna wskazują jednak na liposomalną strukturę powłoki mRNA. Nie ma odniesień do antymonu.

Według oficjalnych informacji skład Moderny pod względem nanocząstek lipidowych przedstawia się następująco:

- Glikol polietylenowy (PEG) 2000 dimirystoiloglicerol (DMG)
- 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfocholina
- Cholesterol
- SM-102 (własność Moderna)

Zastosowanie nanocząstek opiera się na zasadzie dostarczania nośników dla związków immunosupresyjnych. Uzasadnieniem tego jest to, że działanie substancji aktywnych mRNA zależy między innymi od ich zdolności do wywoływania niepożądanych odpowiedzi immunologicznych, co może osłabiać działanie i wywoływać niepożądane efekty w organizmie. W tym celu wykorzystuje się zasadę immunosupresji pośredniej za pośrednictwem nanocząstek poprzez modyfikację mRNA poprzez wymianę uracylu na N1-metylopseudourydynę, a tym samym zmniejszenie jej immunogenności [1]. Zapobiega to immunologicznym szlakom sygnałowym. Nanocząstki mogą być wytwarzane w postaci liposomów (kulek dwuwarstwowych lipidów), a także nanocząstek tlenku metalu, w tym nanocząstek tlenku antymonu.

Jeśli weźmiemy pod uwagę nasze analizy, w których wykrywany jest antymon, można założyć, że zamierzone tutaj działanie przeciwprwotniacze jest mniej prawdopodobne; ponadto obecność nanomateriału lipidowego jest wskazywana jako otoczka mRNA. Tak więc wśród obecnie dostępnych wyników pozostaje założenie, że antymon ma działanie immunosupresyjne [2].

Nie jest możliwe określenie wartościowości antymonu w Modernie. Jak opisano powyżej, istnieją różnice w toksyczności w zależności od wartościowości chemicznej: tlenek antymonu, ponieważ może być stosowany jako nanomateriał, występuje w formie pięciowartościowej.

Obecnie toksykologia i immunologia nanocząstek nie zostały jeszcze jednoznacznie zbadane; nanocząsteczki tlenku antymonu są potencjalnie toksyczne dla krwiotwórczych serii czerwonych krwinek. Nawet jeśli z drugiej strony przeprowadzono eksperymenty w warunkach laboratoryjnych na sztucznie nieśmiertelnych seriach komórek (serii komórek nieśmiertelnych) pochodzenia krwiotwórczego (komórki macierzyste szpiku kostnego), gdzie nie wykazano toksyczności, to naszym zdaniem obecny stan wiedzy jest dalece niewystarczający, aby wykluczyć decydujące toksyczne działanie nanocząstek tlenku antymonu *in vivo* (w organizmie w warunkach naturalnych).

Niezależnie od oczywistego zastosowania antymonu w Modernie, istnieje wiele pytań bez odpowiedzi dotyczących postępowania z nanocząstkami, a także mRNA *jako taki*; niezależnie od tego, stosowanie szczepionek w badaniach terenowych ma miejsce miliard razy u ludzi.

W odniesieniu do potencjalnie toksycznych konsekwencji należy zauważyć, że jako działania niepożądane pięciowartościowego stiboglukonianu sodu podawanego bezpośrednio do krwiobiegu, ponieważ najprawdopodobniej występuje on w walencji w Modernie, należy uznać: nudności, wymioty, bóle mięśni, ból głowy, letarg i zmiany EKG; przy długotrwałym podawaniu należy odnotować zapalenie płuc, uszkodzenie morfologii krwi i zaburzenia czynności wątroby. Gdy wystąpią, poważniejsze uszkodzenia dotyczą głównie wątroby i serca. Są to wszystkie zdarzenia kliniczne obserwowane po szczepieniu.

Liczba niezgłoszonych przypadków osób, które otrzymały szczepionki Moderna bezpośrednio do krwiobiegu jest prawdopodobnie wysoka, ponieważ władze (np. WHO) wiele lat temu zdecydowały, że aspiracja przed podaniem szczepionki nie jest już konieczna. Ta niezrozumiała i błędna ocena została niedawno cofnięta przez Stiko/RKI i ponownie zalecana jest aspiracja.

Antymon w tkance mięśniowej jest związany z degradacją włókien mięśniowych, zwłaszcza na połączeniach mięśni z nerwami. W literaturze opisano zmiany patologiczne w neuronach rdzenia kręgowego wywołane antymonem [3].

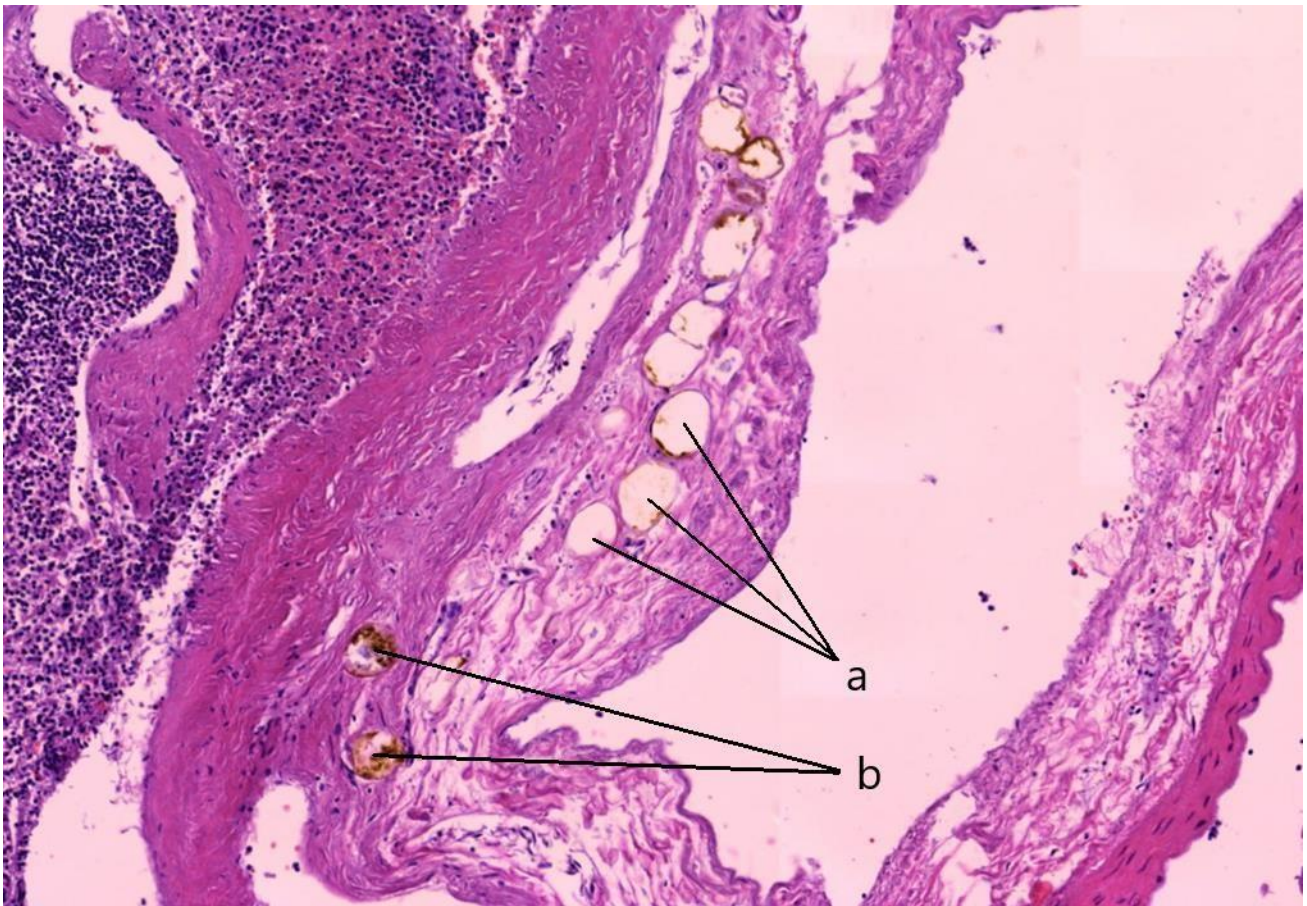
Nadal nie jest jasne, gdzie w organizmie odkładają się składniki lub produkty rozpadu szczepionek oraz wytworzone kolce. Badania wskazują, że nanocząstki tlenku antymonu mają toksyczny wpływ na prekursorzy czerwonych krwinek [4]. Wyniki te pokazują, jak daleko są jeszcze badania toksykologiczne i immunologiczne. Pilnie potrzebne są dalsze badania przed dokonaniem ostatecznej oceny. Niestety, na te wciąż oczekujące badania nie czekano, a nanocząsteczki są już używane w szczepieniach Covid.

Wiadomo, że:

1. pobieranie nanocząstek lipidowych (LNP) przez komórkę jest toksyczne; jeśli wchłonie się zbyt wiele LNP, to toksyczność lipidów kationowych jest tak silna, że prowadzi do zaprogramowanej śmierci komórki (apoptozy).
2. dotknięte chorobą komórki, które przeżyły, wytwarzają białka kolczaste i mogą zostać zniszczone przez układ dopełniacza przeciwciał lub przez limfocyty zabójcze.

Ponieważ proces ten zachodzi również we wszystkich komórkach odpornościowych, komórki T, B i inne komórki odpornościowe zmniejszają się, co powoduje immunosupresję. Jest to zatem pośredni efekt LNP.

Na szczurach doświadczalnych stwierdzono m.in. cytozę osocza w węzłach chłonnych [5]. Komórki plazmatyczne penetrują węzły chłonne i śledzionę, jeśli obecnych jest zbyt mało komórek odpornościowych.



Rysunek 1: Rysunek przedstawia przekrój przez tkankę śledziony pacjenta, który zmarł w bliskim związku czasowym ze szczepieniem COVID-19. Tkanka ma dziury (a), które można wytłumaczyć zanikiem komórek i amyloidozą (b). Amyloidoza to termin używany do opisu złogów białek, które są trudne do rozbicia. Amyloidoza może być spowodowana rearanżacją białek kolców [6].

Bibliografia

- [1] Karikó K, Buckstein M, Ni H, Weissman D. Tłumienie rozpoznawania RNA przez receptory Toll-podobne: wpływ modyfikacji nukleozydów i ewolucyjne pochodzenie RNA. Odporność. 2005 sierpień;23(2):165-75. doi: 10.1016/j.immuni.2005.06.008. PMID: 16111635.
- [2] Ngobili, TA i Daniele, MA (2016). Nanocząstki i bezpośrednia immunosupresja. Biologia eksperymentalna i medycyna (Maywood, NJ), 241(10), 1064-1073.
<https://doi.org/10.1177/1535370216650053>
- [3] Sundar, S. i Chakravarty, J. (2010). Toksyczność antymonu. Międzynarodowe czasopismo badań środowiskowych i zdrowia publicznego, 7(12), 4267-4277. <https://doi.org/10.3390/ijerph7124267>
- [4] Bregoli L, Chiarini F, Gambarelli A, Sighinolfi G, Gatti AM, Santi P, Martelli AM, Cocco L (2009) Toksyczność nanocząstek trójtlenku antymonu na ludzkich hematopoetycznych komórkach progenitorowych i porównanie z liniami komórkowymi. Toksykologia 262:121-129
- [5] https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessmentreport_en.pdf
- [6] Prezentacja Powerpoint: „Sekcja zwłok i badania histopatologiczne nad zdarzeniami niepożądanymi i zgonami spowodowanymi szczepieniami COVID-19”, przeprowadzona w Reutlingen, dzięki uprzejmości profesora Arne Burkhardta i współpracowników, 2022

Czy w wyniku szczepień COVID-19 we krwi nastąpiła modyfikacja? - Próba badania porównawczego opartego na analizie obrazu z wykorzystaniem sztucznej inteligencji.

W ostatnich latach algorytmy, które mogą uczyć się autonomicznie z danych, stały się częścią doświadczenia naszego społeczeństwa w dziedzinie informatyki. Aplikacje takie jak autonomiczna jazda, wnioskowanie, podsumowywanie tekstu, rozpoznawanie mowy, analiza obrazu i tłumaczenie językowe zostały udostępnione ogółowi społeczeństwa.

W trakcie analizy wykorzystano wypróbowany i przetestowany system do analizy obrazów (Google AutoML Vision) do klasyfikacji obrazów. Tego rodzaju oznaczenia są również bardzo dokładne do klasyfikowania np. obrazów różnych typów chmur. System jest prezentowany z kilkoma obrazami każdego obrazu chmury z odpowiednią klasyfikacją i jest przeszkolony, aby znaleźć podobieństwa między tymi zdjęciami. System uczy się cech wspólnych i różnic oraz „rozumie”, której części należy się nauczyć. Jeśli następnie spróbujesz sklasyfikować nowy obraz, którego system nigdy wcześniej nie widział, szansa na poprawną prognozę jest bardzo wysoka (ponad 95%).

W tej analizie zastosowano ten sam rodzaj klasyfikacji, aby przewidzieć, czy obraz krwi pochodzi od osoby zaszczepionej czy niezaszczepionej. Jako dane wejściowe wykorzystano obrazy profesjonalnie pobranych próbek krwi, które następnie wykonano kamerą mikroskopową. Każdemu obrazowi nadano klasyfikację „zaszczepiony” lub „niezaszczepiony” i przekazano systemowi do szkolenia.



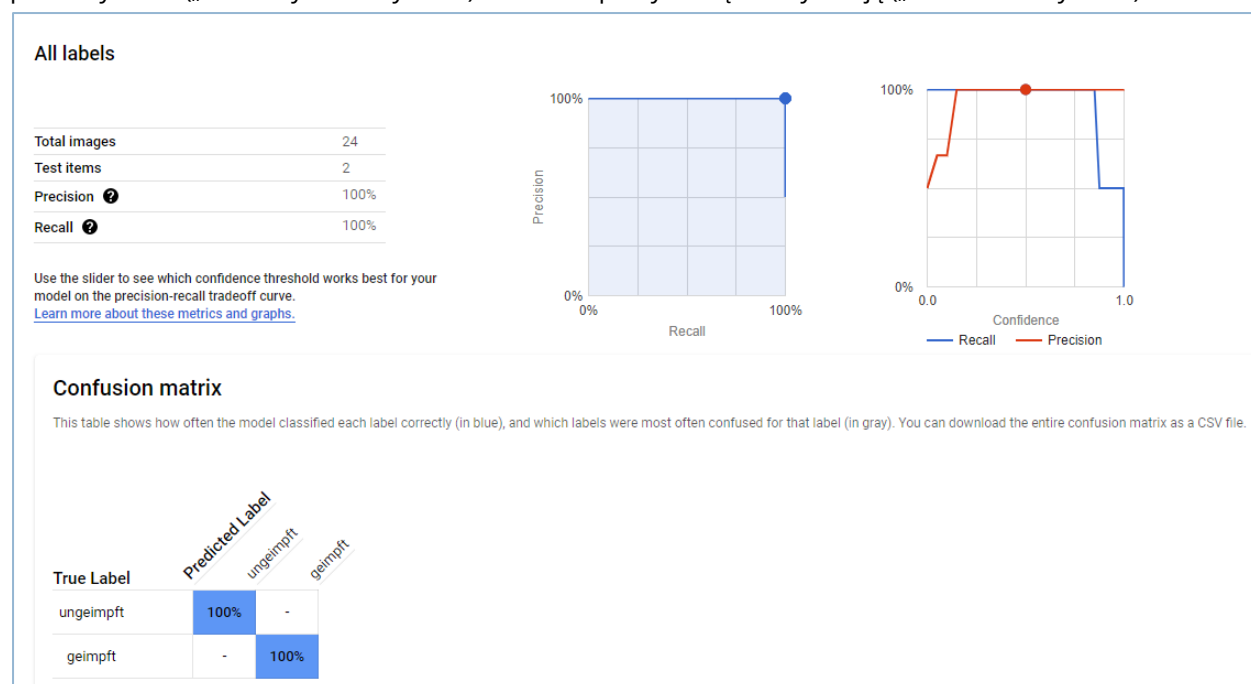
Rysunek 1: Galeria zdjęć, krew od zaszczepionych i niezaszczepionych osób badanych. We krwi zaszczepionych osób testowych regularnie znajdują się nieprawidłowe przedmioty. Czy te obiekty uruchamiają klasyfikację?

W zestawie tym znalazło się 12 zdjęć osób zaszczepionych i 14 osób niezaszczepionych. Dwa zdjęcia z każdej kategorii nie zostały przesłane do AI do klasyfikacji przez modela. Pierwszym krokiem jest faza uczenia, która generuje model jako dane wyjściowe, które można ocenić i wykorzystać do analizy kolejnych obrazów.

Po fazie szkolenia dwa obrazy, po jednym z każdej kategorii, są wybierane w celu dokonania prognozy. Obrazy te są wyłączone z treningu i nie były wcześniej analizowane.

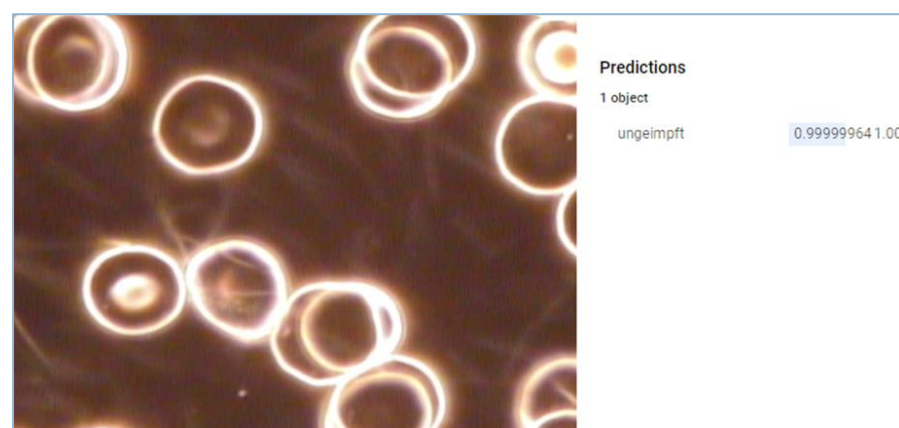
Każdy model zawiera dodatnią wartość predykcyjną (Precyzja) i czułość (Recall), które odnoszą się do obrazów krwi sklasyfikowanych jako fałszywie zaszczepiona lub fałszywie niezaszczepiona. Wyniki fałszywie zaszczepionych to takie, w których obraz krwi osoby niezaszczepionej jest klasyfikowany jako zaszczepiony. Fałszywie niezaszczepione to te, w których obraz krwi osoby zaszczepionej jest klasyfikowany jako niezaszczepiony. W modelu przeszkolonym w tym miejscu nie obserwuje się wyników w kategorii fałszywie zaszczepionych lub fałszywie niezaszczepionych.

Prostszym podejściem jest „Macierz pomyłek”, która również wyświetla te same wyniki klasyfikacji, ponieważ przewidywanie („Przewidywana etykieta”) dokładnie pokrywa się z klasyfikacją („Prawdziwa etykieta”).

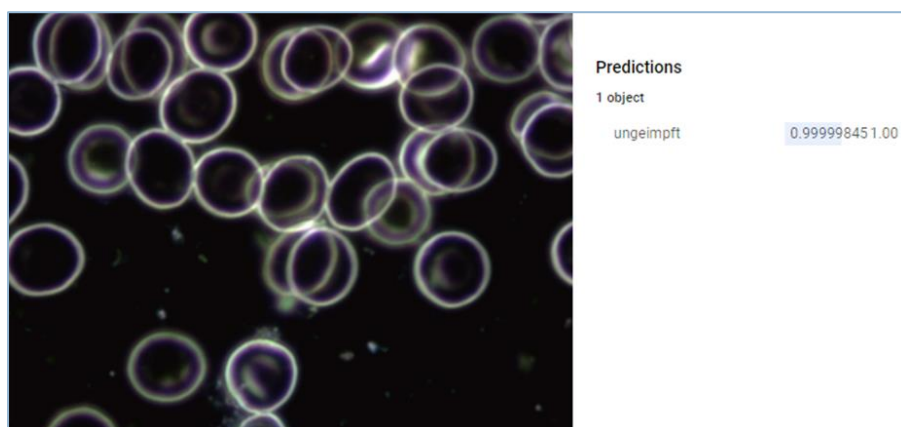


Rysunek 2: Wyniki po wytrenowaniu AI, a dokładniej sztucznej sieci neuronowej. Macierz 4-polowa określa ilościowo względną częstość klas błędów: prawda-nieszczepione, fałszywie-nieszczepione, prawdziwe-szczepione, fałszywie szczepione. Obecnie ta wyszkolona sztuczna inteligencja klasyfikuje ze 100% dokładnością, w oparciu o bardzo małą populację.

Poniżej przedstawiamy przykłady oceny ilościowej zarówno osób nieszczepionych (ryc. 3 i 4), jak i zaszczepionych (ryc. 5 i 6). Wartości są zawsze bliskie 1, tj. AI klasyfikuje przykładowe obrazy z dużym prawdopodobieństwem jako krew zaszczepionych i krew nieszczepionych osób.



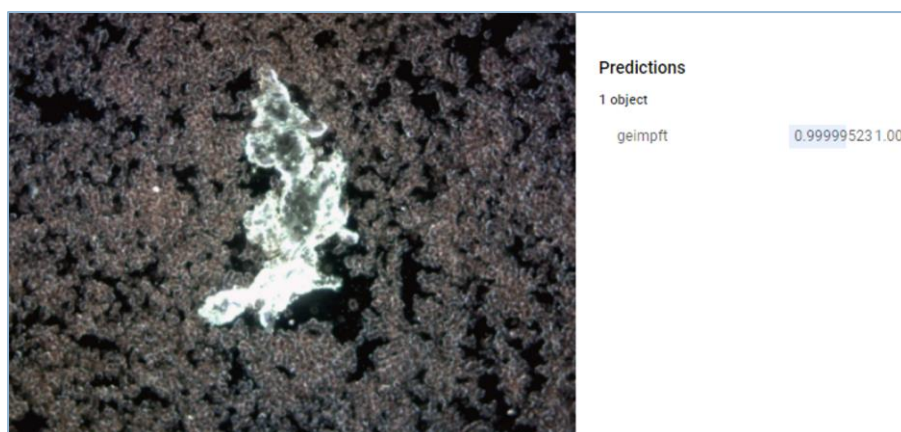
Rysunek 3: AI prawidłowo klasyfikuje krew osoby nieszczepionej.



Rysunek 4: Również tutaj krew nieszczepionego osobnika jest prawidłowo sklasyfikowana. Na przykładzie widać, że bardzo różne obrazy, tj. obrazy powstałe w różnych warunkach obrazowania, są prawidłowo klasyfikowane.



Rysunek 5: Krew zaszczepionych osób regularnie zawiera niezwykle przedmioty, które nie należą do krwi, ale także zjawisko rolek. To może być wyjaśnienie doskonałych wyników klasyfikacji.



Rysunek 6: Powinno być oczywiste, że tego typu obiekty mogą blokować naczynia włosowate.

Dowody na zmiany we krwi – niezależnie od metody analizy krwi – jako wynik szczepień COVID-19 rosną w alarmującym tempie i znajdują coraz większe odzwierciedlenie w odpowiednich statystykach.

Jak widać z klasyfikacji zaszczepionych i niezaszczepionych, trafna prognoza może być dokonana z prawdopodobieństwem przekraczającym 98%. Chociaż jest to badanie na małej próbie, sugeruje to, że uzasadnione jest bardziej szczegółowe badanie. W szczególności, ponieważ tego typu badań nie przeprowadzono na etapach eksperymentalnych, a krew jest dobrym prognostykiem przyszłej choroby, pilnie potrzebne są badania krwi na dużą skalę w celu odróżnienia osób zaszczepionych od niezaszczepionych.

Załączniki

(Kolekcja dokumentów)

Streszczenie

Różne fiołki szczepionek COVID-19-”opartych na mRNA” (Biontech i Moderna) są badane za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) i odpowiedniej spektroskopii rentgenowskiej z dyspersją energii (EDX) w celu zbadania potencjalnych zanieczyszczeń. Cząstki metaliczne zawierające metale przejściowe (np. kobalt (Co), żelazo (Fe), chrom (Cr), tytan (Ti)), metale ziem rzadkich, takie jak cer (Ce) i gadolin (Gd), bar (Ba), cez (Cs), glin (Al), krzem (Si), siarkę (S), potas (K) i wapń (Ca). Wielkość cząstek waha się od 1 µm do 100 µm. W przeciwieństwie do tego, wstępne badania zawartości Johnson & Johnson (Janssen), Lubecavax i Influpit Tetra jak dotąd nie wykazały oznak tego rodzaju zanieczyszczeń i cząstek. Jednakże,

Sekcja Eksperymentalna

Różne próbki „szczepionek” na COVID-19 są badane przez SEM/EDX. W skaningowym mikroskopie elektronowym (SEM) badana próbka jest skanowana za pomocą wąsko skupionej wiązki elektronów (5-10 nm) o energii kilku tysięcy elektronowoltów. W prezentowanych badaniach zastosowano energię 15000 eV (15 keV), a do obrazowania wykorzystano elektrony wtórne. Oprócz obrazowania powierzchni próbki w bardzo wysokiej rozdzielczości, analizę chemiczną można przeprowadzić przy użyciu spektroskopii rentgenowskiej z dyspersją energii (EDX). Przy zastosowanej tutaj energii 15 keV osiągana jest głębokość detekcji rzędu kilku mikrometrów.

Próbki były pozostałościami z fiołek, które nie mogły być już używane do wstrzykiwania lub fiołek, w których przerwano łańcuch chłodzenia. Próbki zostały przygotowane do REM/EDX na dwa różne sposoby. Po pierwsze, kilka szkiełek mikroskopowych pokryto cienką warstwą złota (Au) w celu uzyskania przewodności elektrycznej wymaganej do pomiarów. Próbki szczepionek pobrano strzykawkami dokładnie tak, jak wykonano przed wstrzyknięciem osobie, która miała być zaszczepiona. Następnie próbki szczepionek wkroplono ze strzykawki na szkiełko pokryte Au. Szczepionka suszyła się przez kilka dni w warunkach otoczenia zabezpieczonych przed jakimkolwiek zanieczyszczeniem, zanim próbki zostały wprowadzone do SEM. Po drugie, inne partie „szczepionek” na COVID-19 zostały przygotowane w innym laboratorium. Tutaj fiołki zostały otwarte, a próbki bezpośrednio wylane na szkiełka mikroskopowe, czy próbki były suszone przez kilka dni w warunkach otoczenia chronionych przed zanieczyszczeniem. Następnie próbki zostały wysłane do laboratorium SEM. Ponieważ te szkiełka mikroskopowe nie były pokryte Au, przed pomiarami SEM/EDX szkiełka te zostały pokryte cienką warstwą irydu (Ir), aby zapewnić wymagane przewodnictwo elektryczne. Należy zauważyć, że używany detektor EDX zawiera okienko oparte na węglu, stąd sygnały z węgla i tlenu w widmach EDX nie są całkowicie wiarygodne.

Wyniki

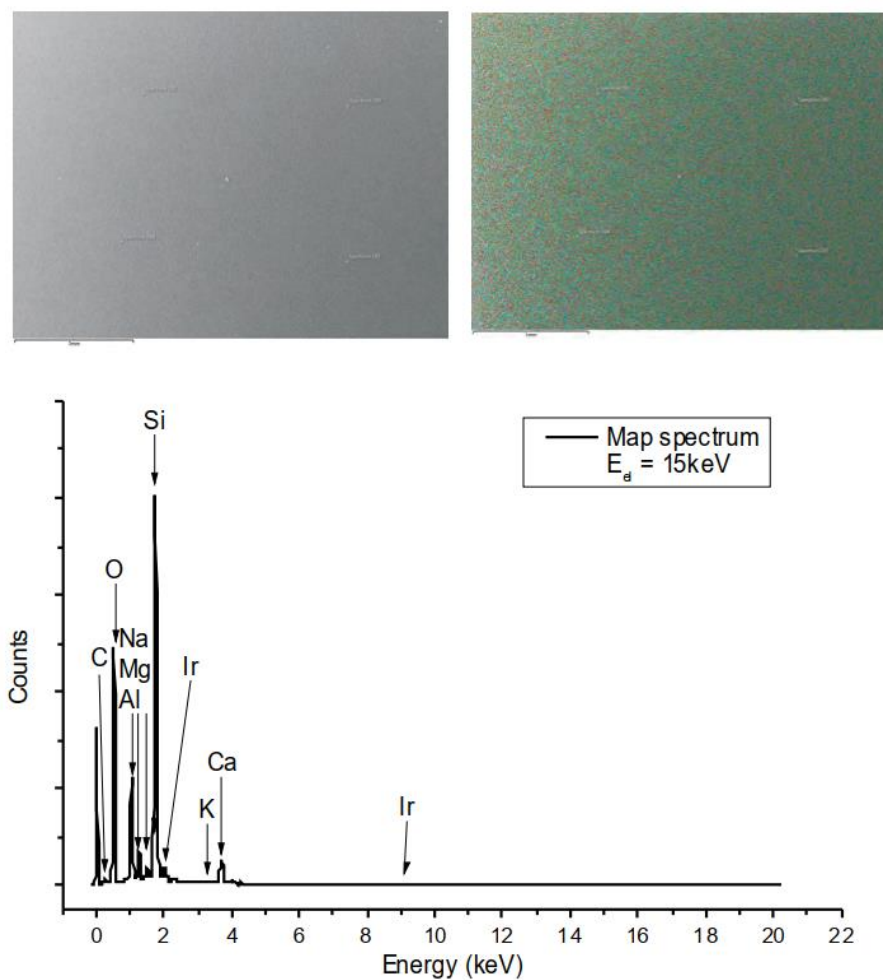
Poniższa próbka referencyjna, próbka szczepionki opartej na białkach Lubecavax oraz wiele nowych „szczepionek” przeciwko COVID-19 zostały zbadane za pomocą SEM/EDX:

- pusty szkiełko mikroskopowe jako odniesienie
- Lubecavax (prof. Stońko)
- AstraZeneca (Vaxzevria): partia 210101 i partia 1423474
- Biontech-Pfizer (Cormirnaty) partia FE7011, partia FE8045 i partia 1F1010A
- Moderna (Spikevax), partia 3004217

Pusty szkiełko mikroskopowe

Rysunek 1 przedstawia obraz SEM obszaru kilku mm² pustego szkiełka mikroskopowego pobrany bezpośrednio z oryginalnego opakowania. Szkiełko zostało pokryte cienką warstwą Ir, aby zapewnić przewodnictwo elektryczne bezpośrednio przed pomiarem. Szkiełko jest jednorodne z kilkoma mikroskopijnymi rysami. Mapa EDX wskazuje również

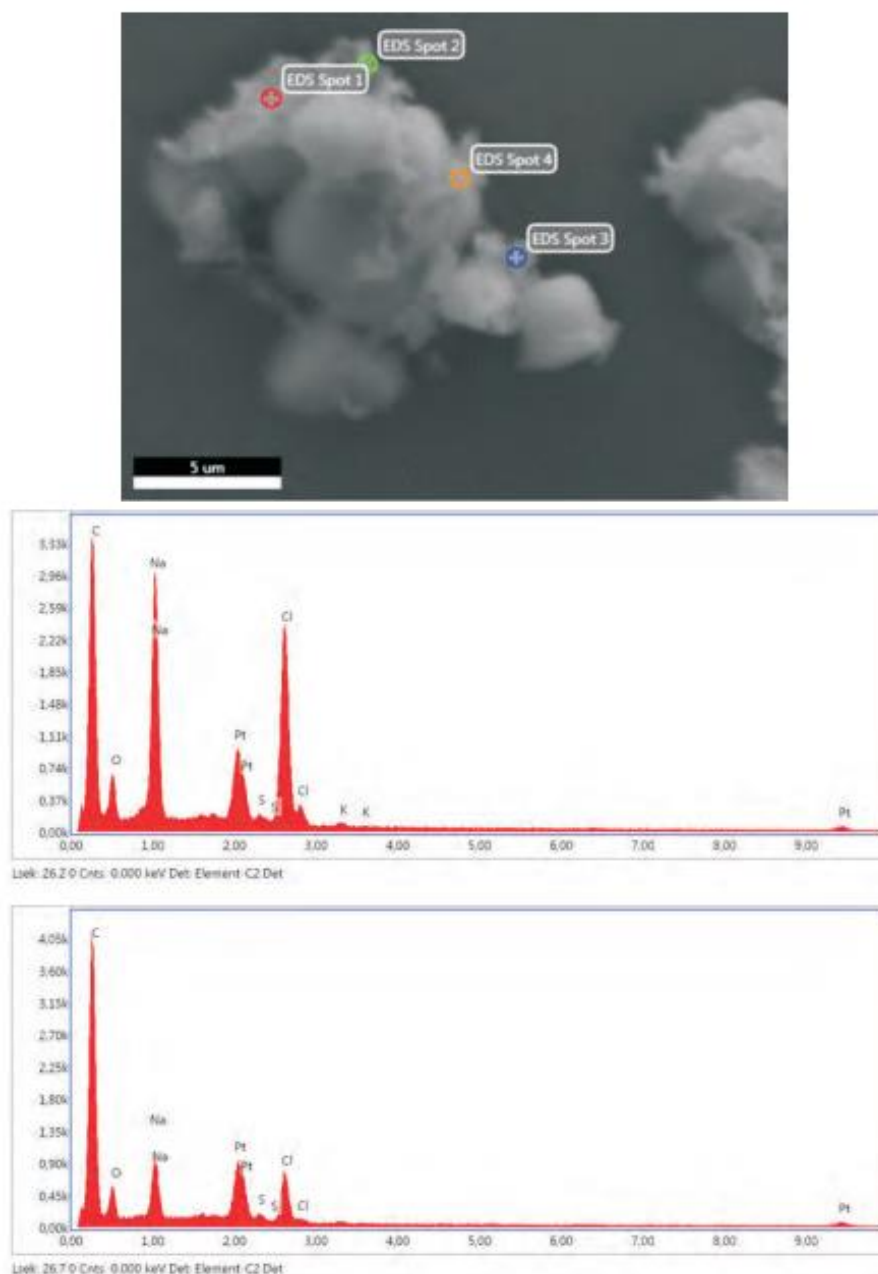
jednorodny rozkład pierwiastków chemicznych zidentyfikowanych w widmie EDX, tj. Na), Mg, Al, K, Ca, a głównym składnikiem jest Si (prawdopodobnie SiO₂).



Rysunek 1: U góry po lewej: obraz SEM pustego szkiełka mikroskopowego. U góry po prawej: mapa EDX. Na dole: sumaryczne widmo EDX mapowanego obszaru.

Lubecavax

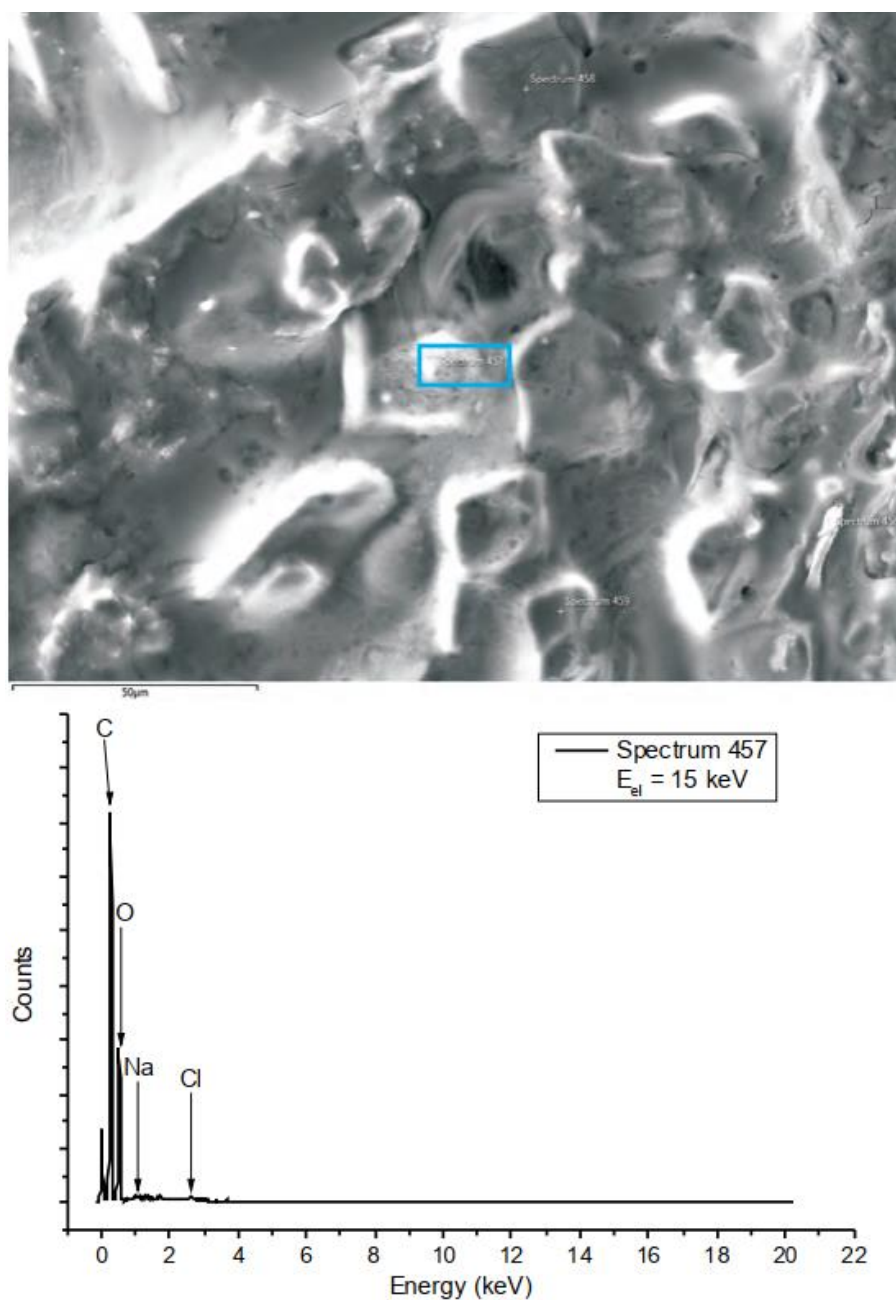
Ta próbka została przygotowana w innym laboratorium do eksperymentów SEM/EDX. W tym przypadku uchwyt próbki pokryto cienką warstwą platyny (Pt) przed pomiarami SEM/EDX, aby zapewnić wymaganą przewodność elektryczną. Figura 2 przedstawia typowy obraz SEM składnika białkowego Lubecavax. Widma punktowe EDX pokazują plamę z większą ilością Na i chloru (Cl) (prawdopodobnie NaCl) (Punkt 1) oraz plamkę z większą ilością składników organicznych (Punkt 4). Z wyjątkiem niewielkich ilości S i K nie znaleziono innych zanieczyszczeń.



Rysunek 2: U góry: obraz SEM suszonego składnika białkowego szczepionki Lubecavax. Środek i dół: widma punktowe EDX suchej szczepionki (plamy 1 i 4). Należy zauważyć, że Pt nie należy do próbki sondowanej przez EDX ze względu na opisaną powyżej przygotowanie próbki.

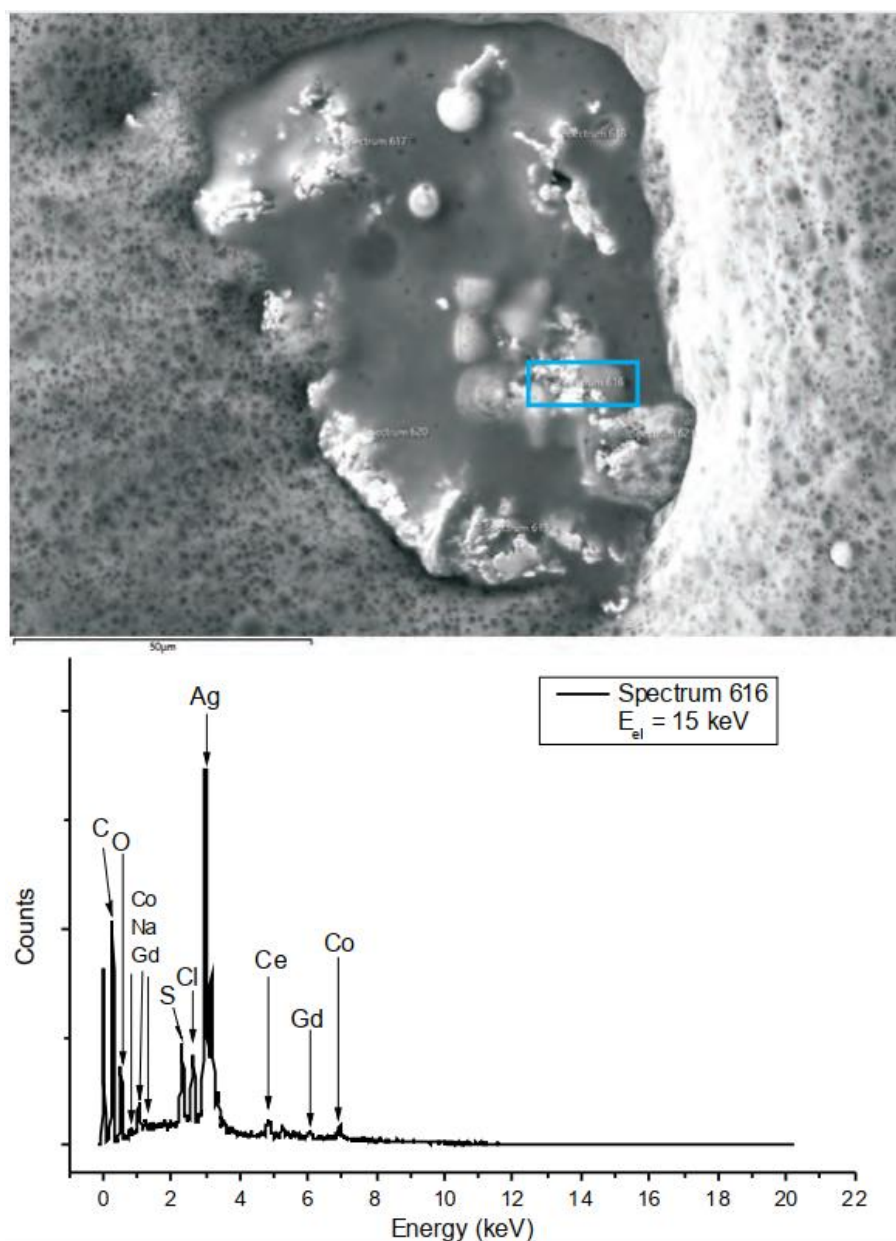
AstraZeneca (Vaxzevria: partia 210101)

Ta próbka została przygotowana za pomocą strzykawki na szkiełku mikroskopowym pokrytym złotem, jak opisano w rozdziale 2. Widmo EDX pokazane na Rys. 3 jest typowe dla wysuszonej „szczepionki Vaxzevria”, składa się z pewnej ilości Na i Cl (prawdopodobnie NaCl) i głównie ze składników organicznych.



Rysunek 3: U góry: obraz SEM wysuszonej szczepionki. Na dole: widmo punktowe EDX suchej szczepionki (miejsce 457), zaznaczone niebieską ramką.

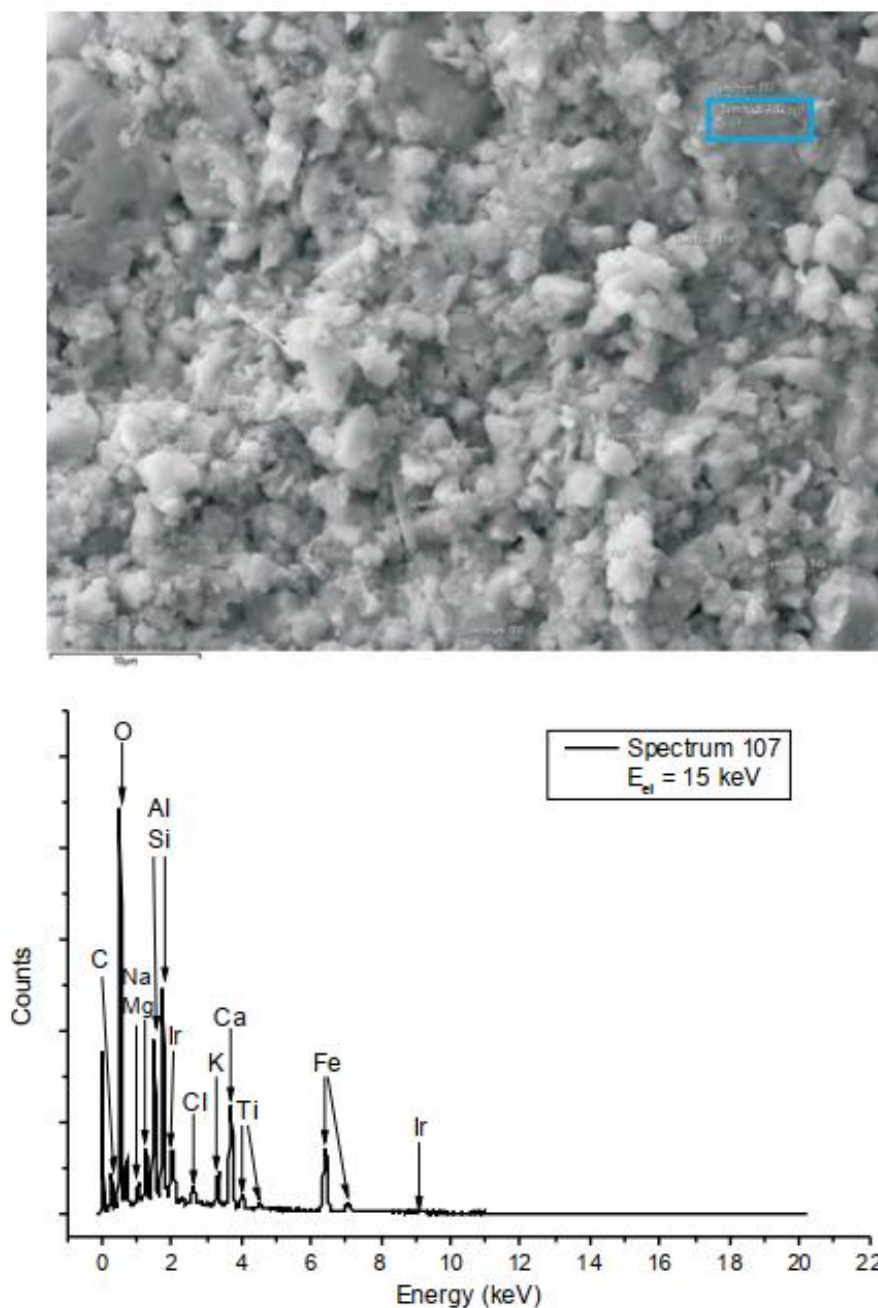
Rysunek 4 przedstawia obraz SEM zanieczyszczenia znalezione w tej próbce. Widmo punktowe EDX wykonane w miejscu 616 (por. Fig. 4) ujawnia obecność srebra (Ag) oraz ślady S, Co, Ce i Gd zlokalizowane w tym skażeniu. Inne skany punktowe przyniosły podobne wyniki. Otaczający materiał to organiczna część „szczepionki mRNA” wystawiona na promieniowanie elektronowe.



Rysunek 4: U góry: obraz SEM zanieczyszczenia. Na dole: widmo punktowe EDX ze strony 616 (oznaczone niebieską ramką).

AstraZeneca (Vaxzevria: partia 1423474)

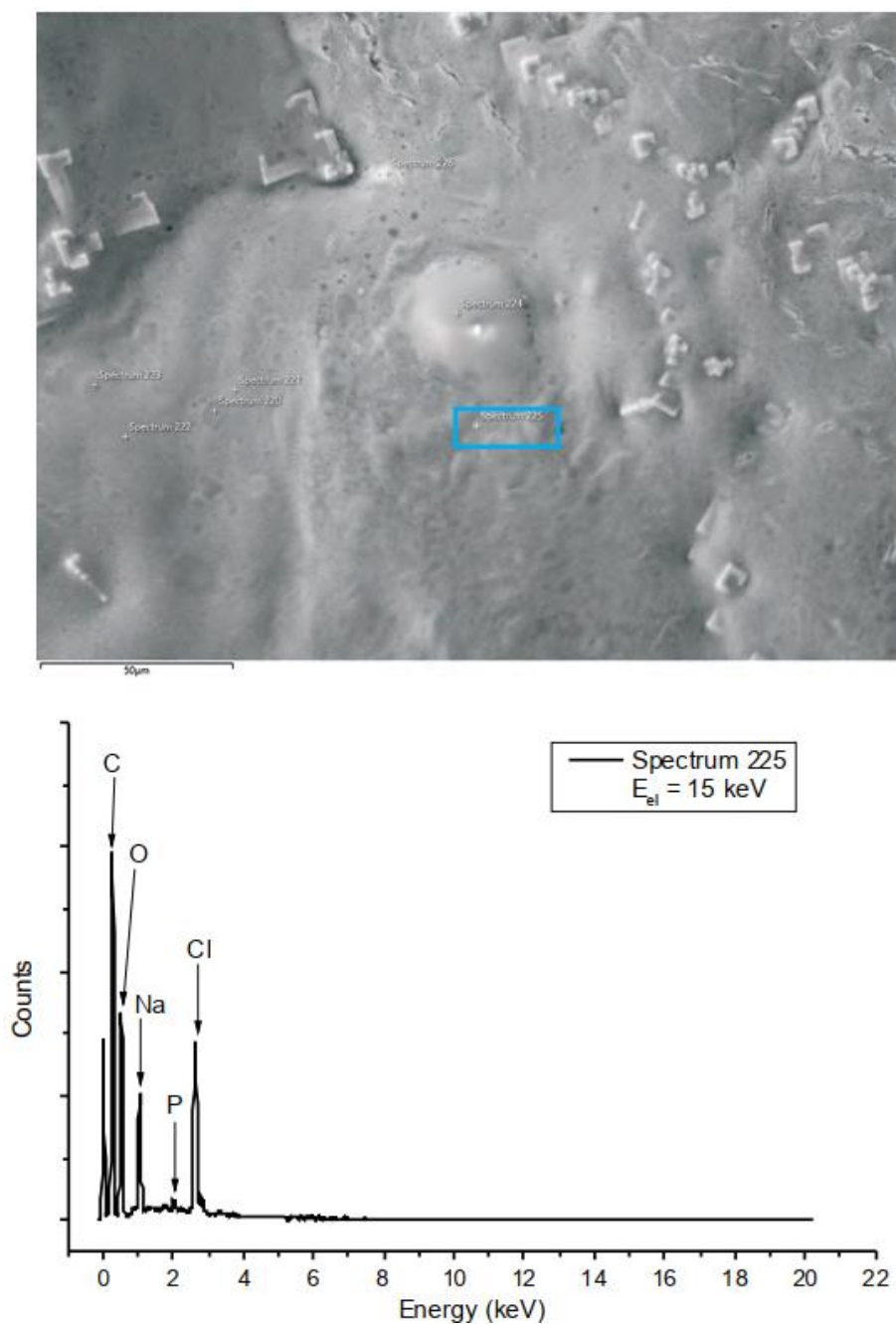
Ta próbka została przygotowana w innym laboratorium poprzez otwarcie fiolki, a następnie przygotowanie próbki zgodnie z opisem w sekcji 2. Rysunek 5 przedstawia obraz SEM zanieczyszczenia wykrytego w tej próbce. Widmo punktowe EDX wykonane w miejscu 616 (por. Fig. 5) ujawnia obecność Al i S, ale także Ca, Fe i Ti obecnych w tym skażeniu. Inne wykonane skany punktowe dają podobne wyniki.



Rysunek 5:U góry: obraz SEM zanieczyszczenia. Na dole: widmo punktowe EDX lokalizacji 107 (oznaczone niebieską ramką). Należy zauważyć, że Ir nie należy do próbki badanej przez EDX ze względu na sposób przygotowania próbki opisany w punkcie 2.

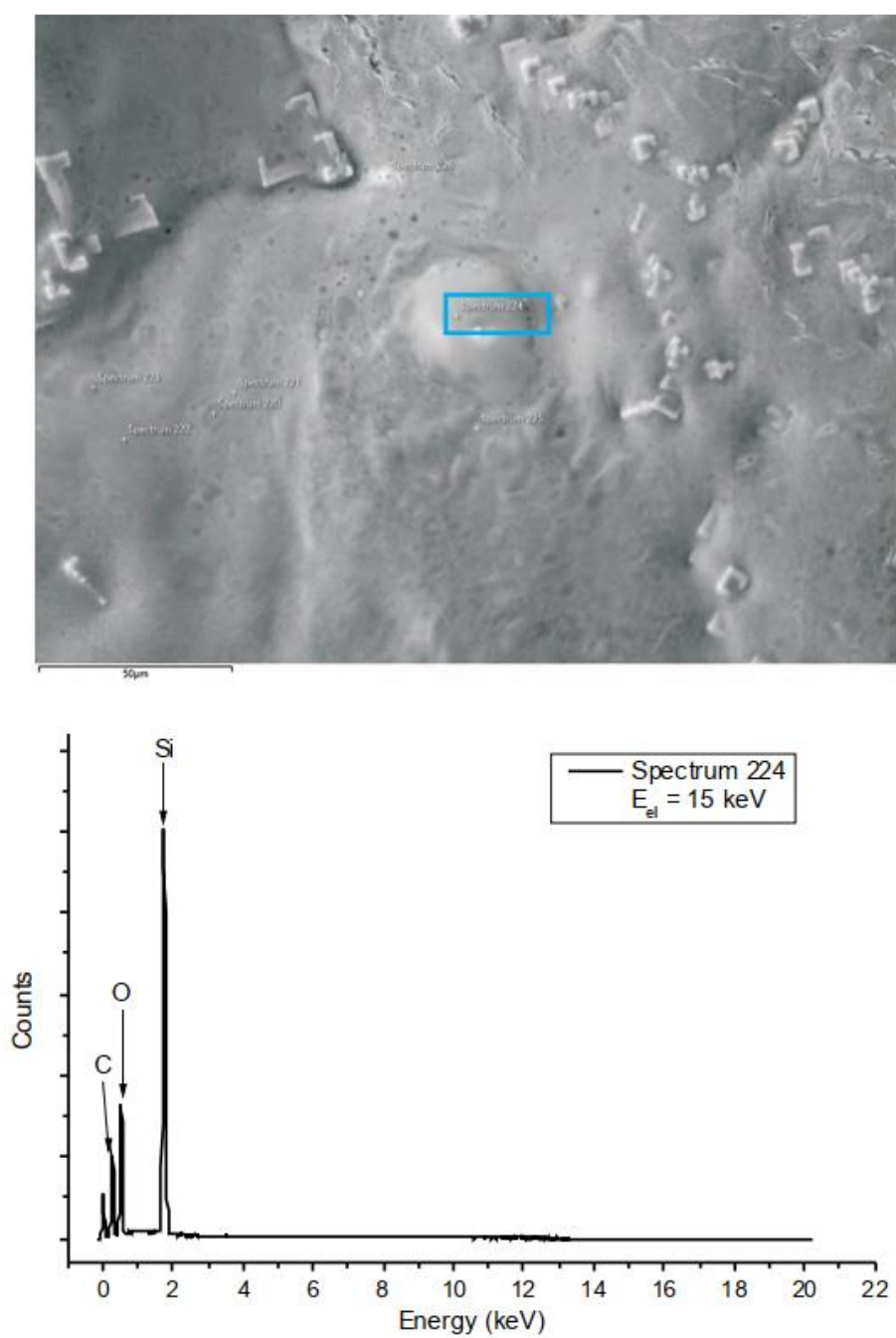
Biontech-Pfizer (Cormirnaty: partia FE7011)

Próbka została przygotowana za pomocą strzykawki na szkiełku mikroskopowym pokrytym złotem, jak opisano w rozdziale 2. Widmo EDX pokazane na Rys. 6 jest typowe dla wysuszonej „szczepionki Cormirnaty”, składa się głównie z Na i Cl (prawdopodobnie NaCl), fosfor (P), który może pochodzić z niektórych lipidów i składników organicznych.



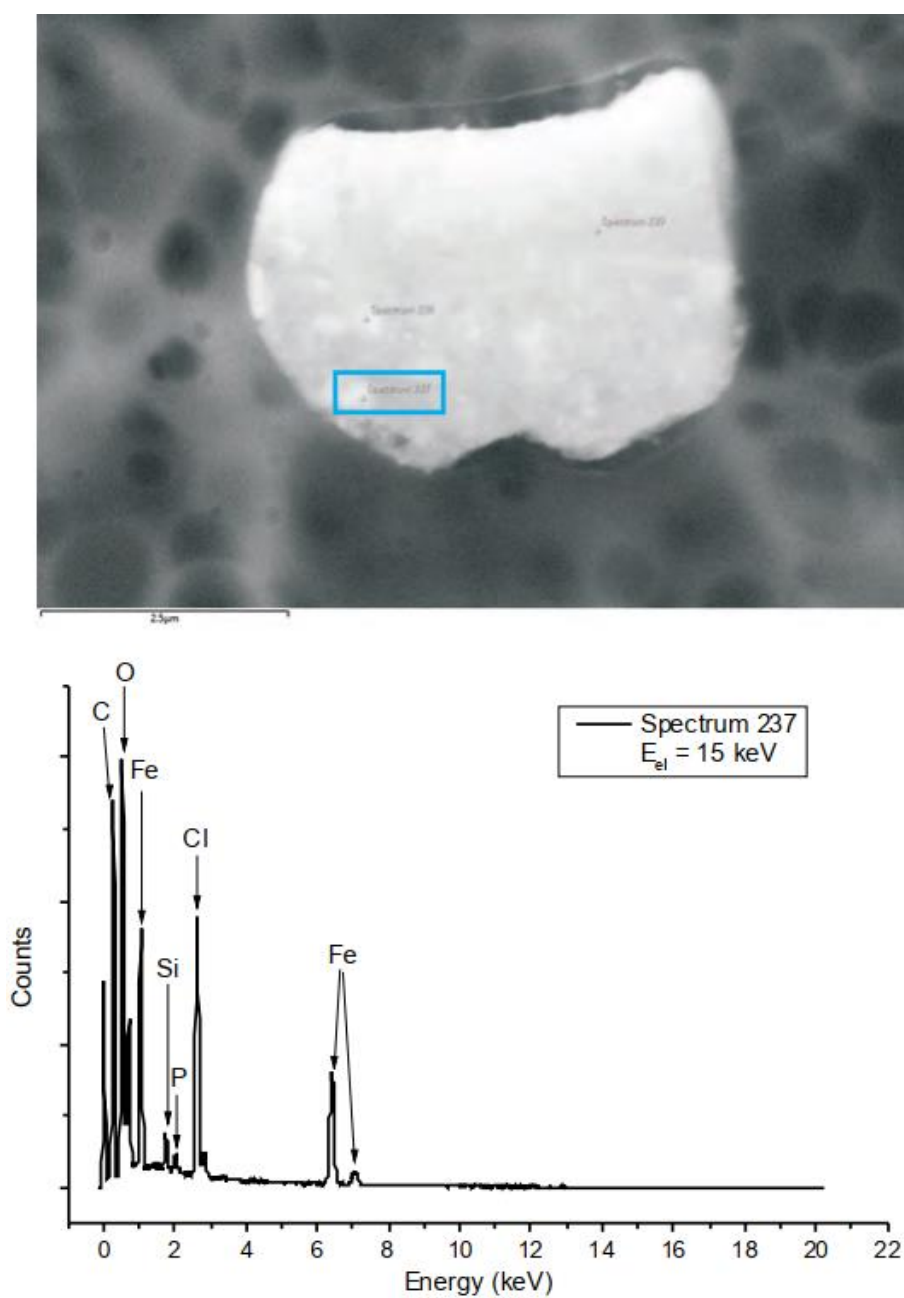
Rysunek 6: U góry: obraz SEM wysuszonej szczepionki z zanieczyszczeniem pośrodku. Na dole: widmo punktowe EDX suchej szczepionki (ośrodek 225), zaznaczone niebieską ramką.

Figura 7 przedstawia obraz SEM zanieczyszczenia składającego się z samego Si, co można zobaczyć z odpowiedniego widma EDX.



Rysunek 7: U góry: obraz SEM wysuszonej szczepionki i zanieczyszczenia Si pośrodku. Na dole: widmo punktowe EDX Si (strona 224), zaznaczone niebieską ramką.

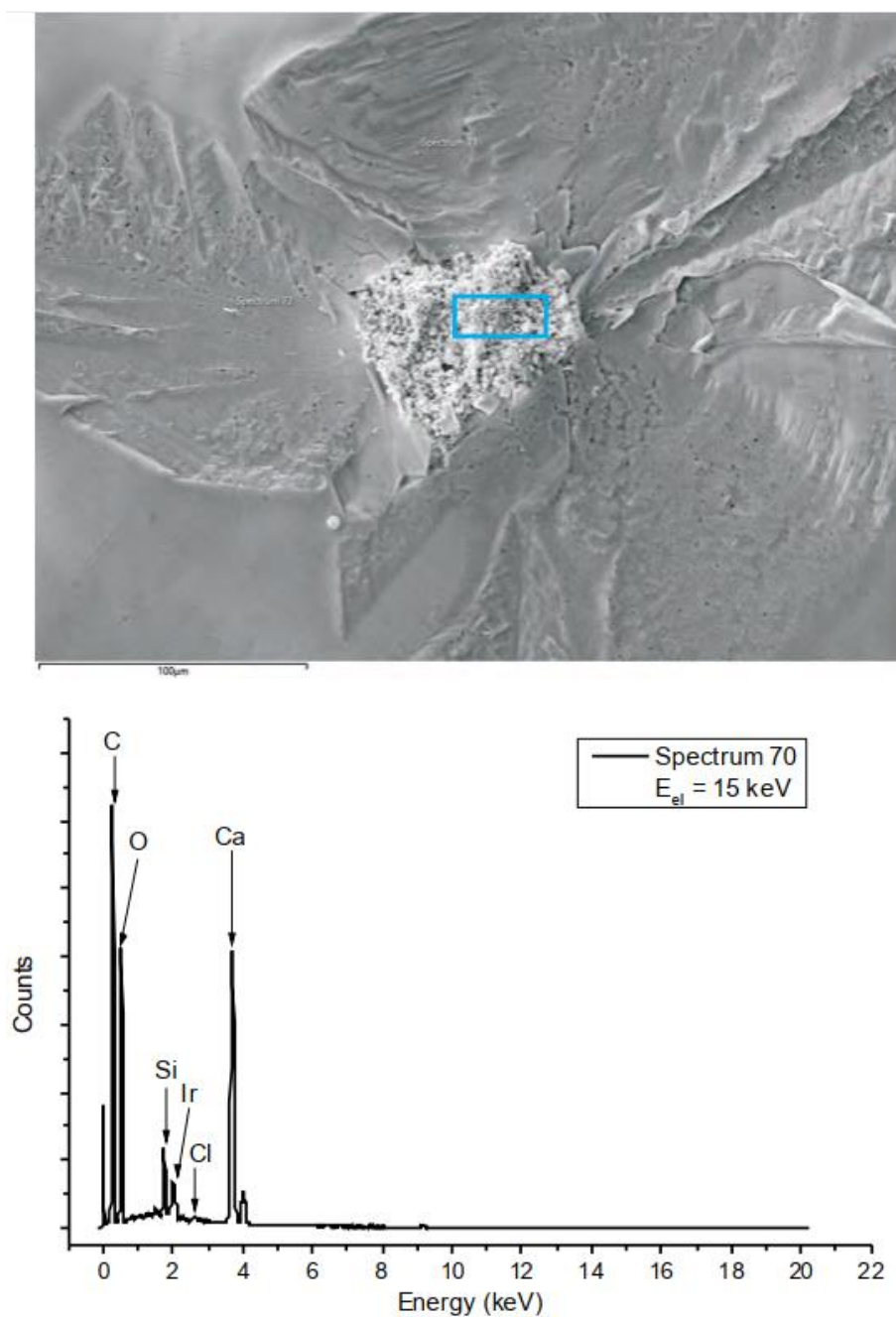
Rysunek 8 przedstawia cząsteczkę zawierającą Fe znaną z tej próbkę. Wymiary cząstek to $\approx 2,5 \mu\text{m} \times 2,0 \mu\text{m}$



Cyfra 8: U góry: obraz SEM zanieczyszczenia o szerokości $2,5 \mu\text{m}$. Na dole: widmo punktowe EDX cząstki zawierającej Fe (miejsce 237), zaznaczone niebieską ramką.

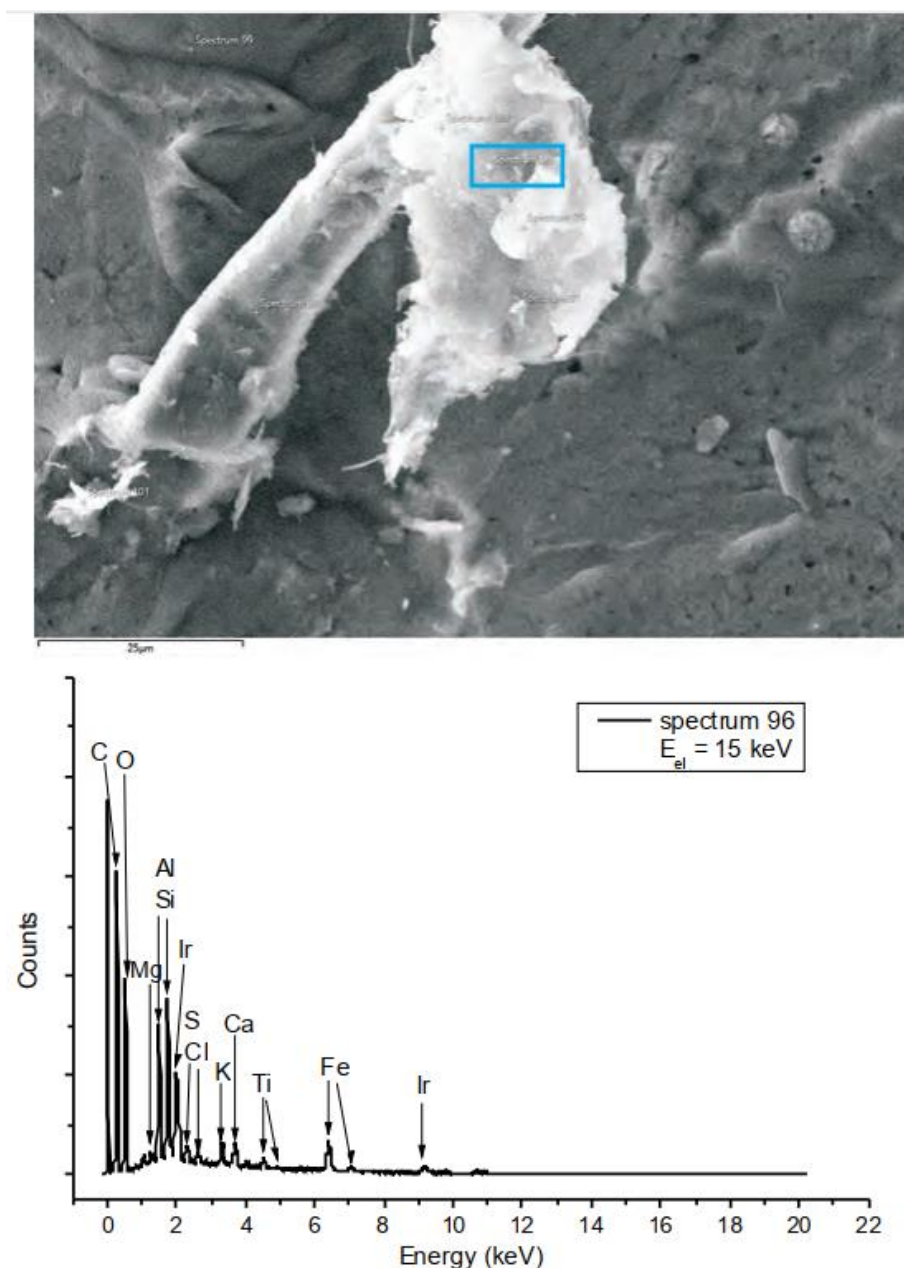
Biontech-Pfizer (Cormirnaty: partia FE8045)

Próbkę tę przygotowano w innym laboratorium, otwierając fiolkę, a następnie przygotowując próbkę, jak opisano w sekcji 2. Figura 9 przedstawia obraz SEM zanieczyszczenia składającego się głównie z Ca, obecne są również ślady Si.



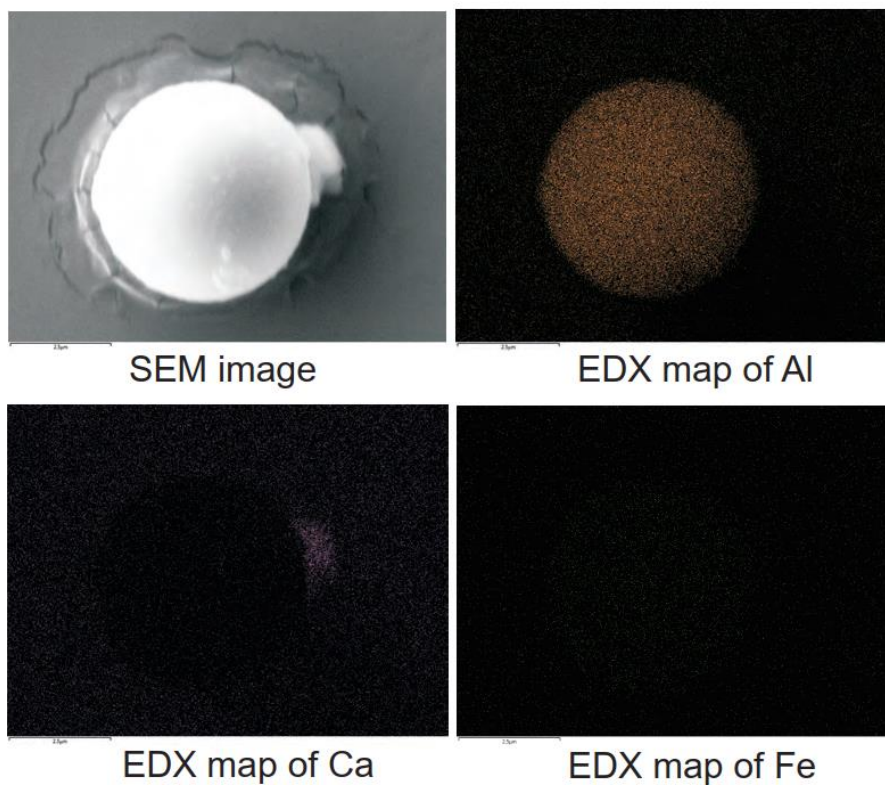
Rysunek 9: U góry: obraz SEM zanieczyszczenia o wielkości 40-50 μm. Na dole: widmo punktowe EDX tego zanieczyszczenia (miejsce 70), zaznaczone niebieską ramką. Należy zauważyć, że Ir nie należy do próbki badanej przez EDX ze względu na sposób przygotowania próbki opisany w punkcie 2.

Figura 10 przedstawia obraz SEM zanieczyszczenia zawierającego szereg pierwiastków chemicznych. Oprócz Mg, Al, Si, S, K i Ca wykrywane są również 3d metale przejściowe Ti i Fe. Inne widma punktowe zarejestrowane przy tym zanieczyszczeniu dają podobne wyniki pod względem wykrytych pierwiastków, przy częściowo zmieniającej się stechiometrii.



Rysunek 10: U góry: obraz SEM zanieczyszczenia o wielkości 25-30 μm. Na dole: widmo punktowe EDX tego zanieczyszczenia (punkt 96), zaznaczone niebieską ramką. Należy zauważyć, że Ir nie należy do próbki sondowanej przez EDX ze względu na sposób przygotowania próbki opisany w części eksperymentalnej.

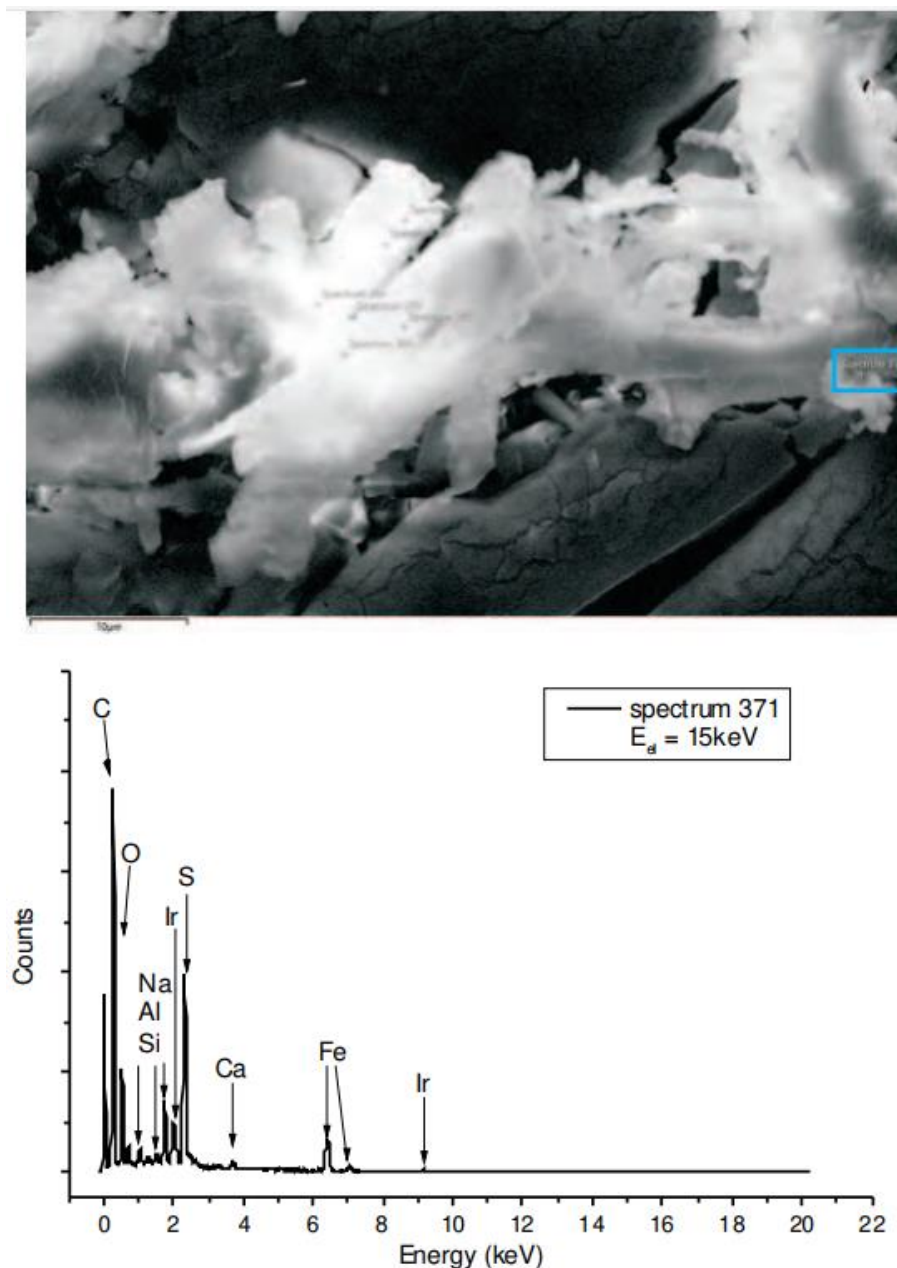
Rysunek 11 (u góry po lewej) pokazuje obraz SEM cząstki w formie kuli. Sfera ta składa się głównie z Al, trochę Ca i śladowe ilości Fe, co można zobaczyć na podstawie wyników mapowania przestrzennego EDX dla danego pierwiastka.



Rysunek 11: U góry po lewej: obraz SEM kuli o średnicy 3 µm. U góry po prawej: Mapowanie EDX specyficzne dla elementu Al. Na dole: specyficzne dla elementu mapowania EDX Ca i Fe.

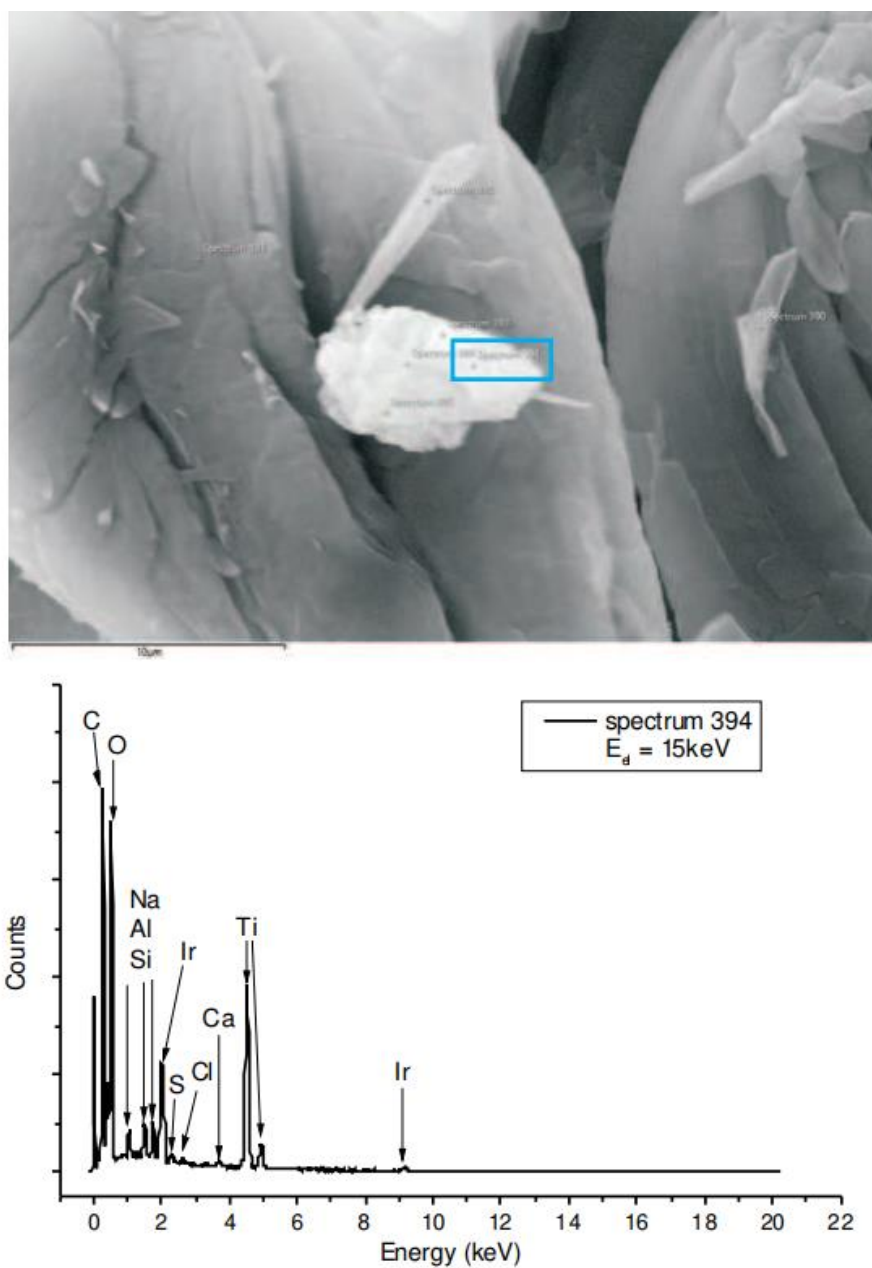
Biontech-Pfizer (Cormirnaty: partia 1F1010A)

Tę próbkę przygotowano w innym laboratorium, otwierając fiolkę, a następnie przygotowując próbkę, jak opisano w sekcji 2. Rysunek 12 przedstawia obraz SEM zanieczyszczenia składającego się głównie z S. Obecna jest również pewna ilość Fe. Ponadto wykrywane są ślady Na, Al, Si i Ca. Inne wykonane skany punktowe dają podobne wyniki, z częściowo zmieniającą się stechiometrią.



Rysunek 12: U góry: obraz SEM zanieczyszczenia o wymiarach $40\ \mu\text{m} \times 10\ \mu\text{m}$. Na dole: widmo punktowe EDX tego zanieczyszczenia (miejsce 371), zaznaczone niebieską ramką. Należy zauważyć, że Ir nie należy do próbki badanej przez EDX ze względu na sposób przygotowania próbki opisany w punkcie 2.

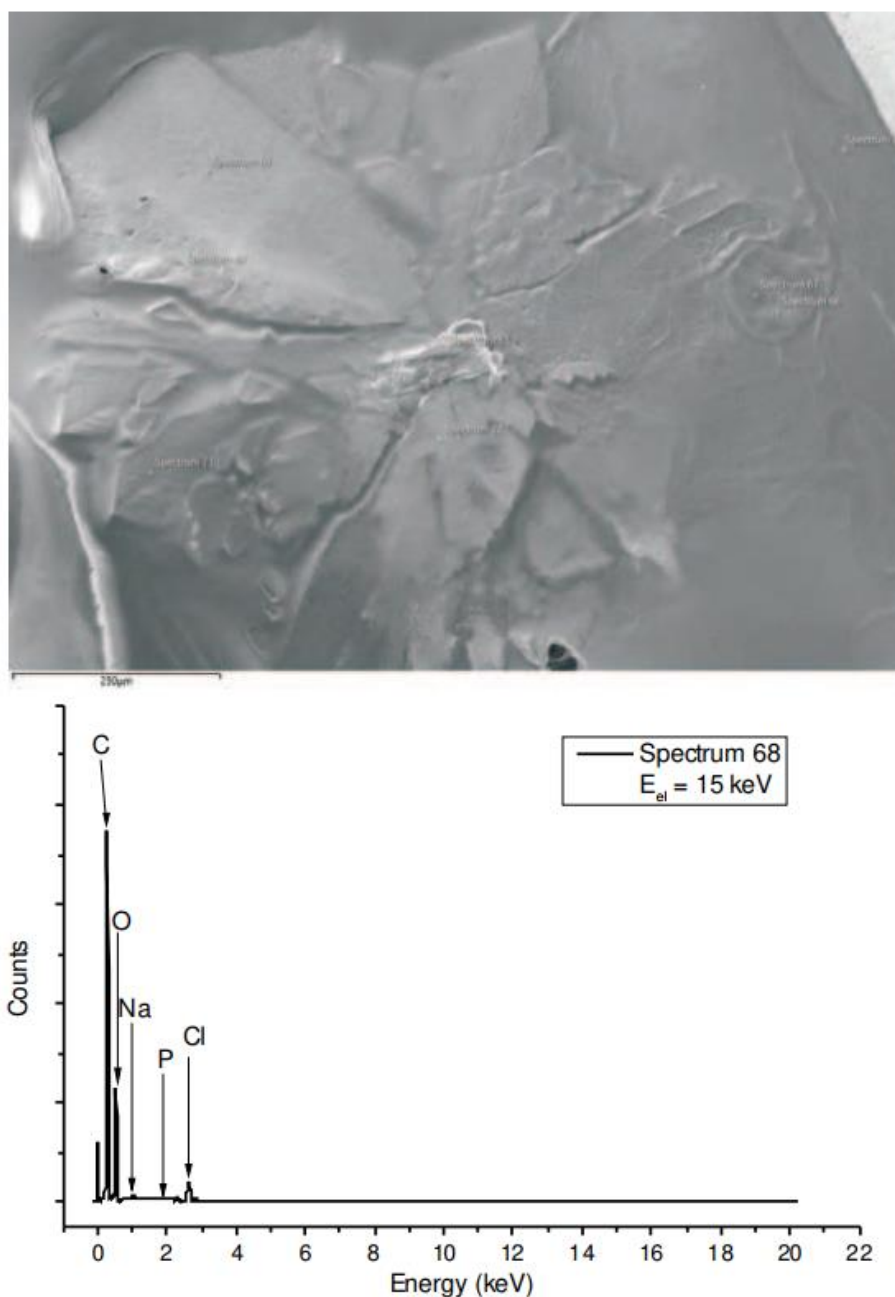
Figura 13 pokazuje obraz SEM zanieczyszczenia zawierającego znaczne ilości Ti, wykryto również ślady Na, Al, Si, S i Ca.



Rysunek 13: U góry: obraz SEM cząstki o wielkości 5 μm . Na dole: widmo punktowe EDX tej cząstki (miejsce 394), zaznaczone niebieską ramką. Należy zauważyć, że Ir nie należy do próbki badanej przez EDX ze względu na sposób przygotowania próbki opisany w punkcie 2.

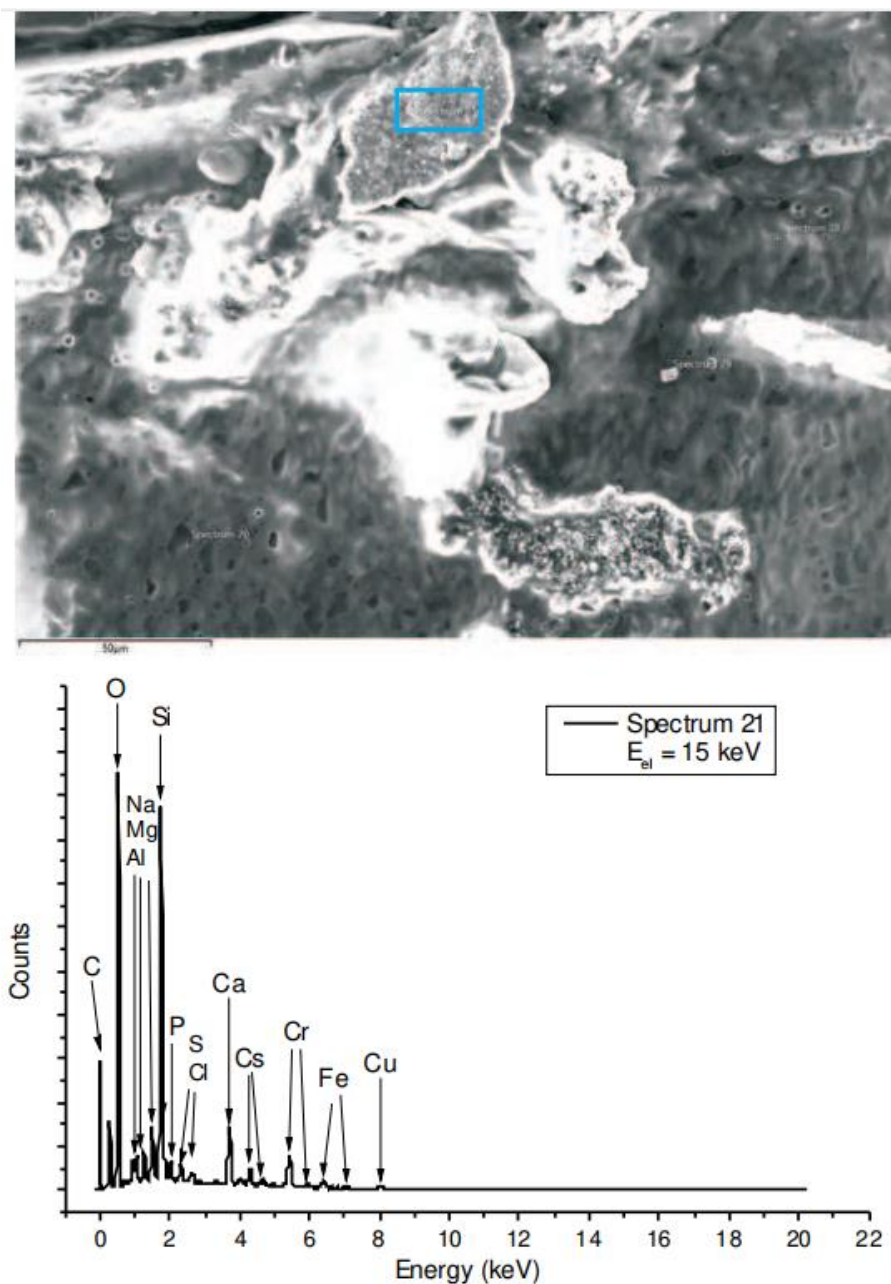
Moderna (Spikevax: partia 3004217)

Próbkę tę przygotowano za pomocą strzykawki na szkiełku mikroskopowym pokrytym złotem, jak opisano w rozdziale 2. Widmo EDX pokazane na Rys. 14 jest typowe dla wysuszonej „szczepionki” Spikevax, składa się z Na i Cl (prawdopodobnie NaCl), śladowe ilości P, które może pochodzić z niektórych lipidów i męskich, organicznych składników.



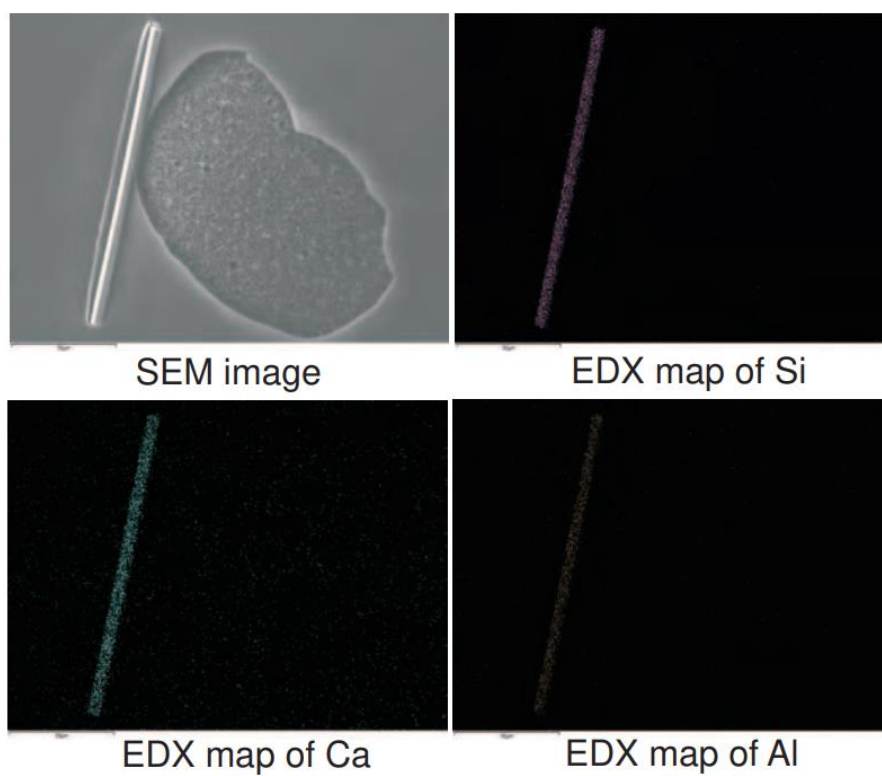
Rysunek 14: U góry: zdjęcie suszonej szczepionki SEM. Na dole: widmo punktowe EDX suchej szczepionki (ośrodek 68), zaznaczone niebieską ramką.

Tę próbkę przygotowano za pomocą strzykawki na szkiełku mikroskopowym pokrytym złotem, jak opisano w sekcji 2. Figura 15 przedstawia obraz SEM zanieczyszczenia zawierającego znaczne ilości Si. Oprócz śladów Na, Mg, Al, P, S, Cl i Ca wykrywane są również metale Cs, Cr, Fe i miedź (Cu).



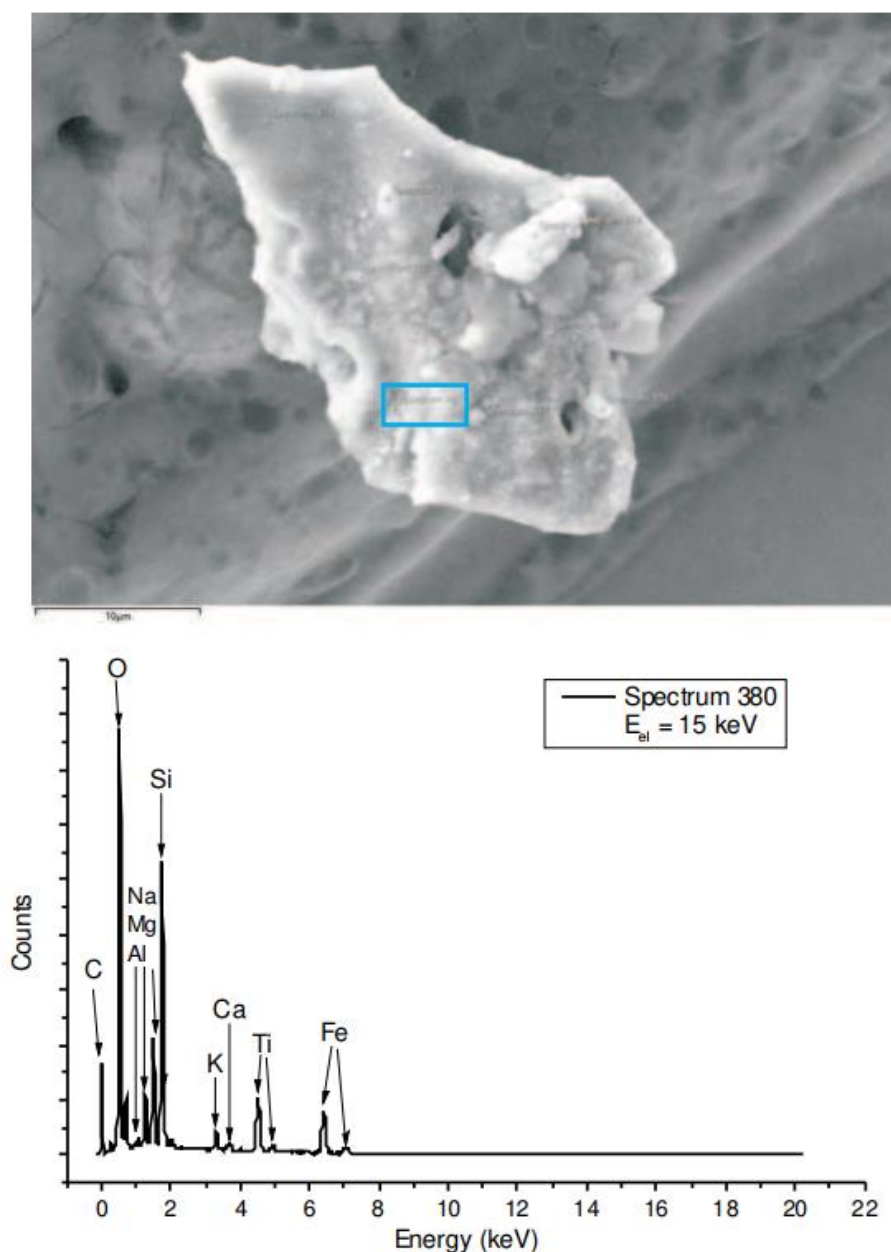
Rysunek 15: U góry: obraz SEM cząstki o wielkości 50 μm. Na dole: widmo punktowe EDX tej cząstki (miejsce 21), zaznaczone niebieską ramką.

Tę próbkę przygotowano za pomocą strzykawki na szkiełku mikroskopowym pokrytym złotem, jak opisano w sekcji 2. Figura 16 (u góry po lewej) przedstawia obraz SEM zanieczyszczenia podobnego do pręcika. Ta struktura podobna do pręcika składa się głównie z Si, niektóre Ca i Al są również obecne, co można zobaczyć na podstawie wyników mapowania przestrzennego EDX specyficznego dla pierwiastka.



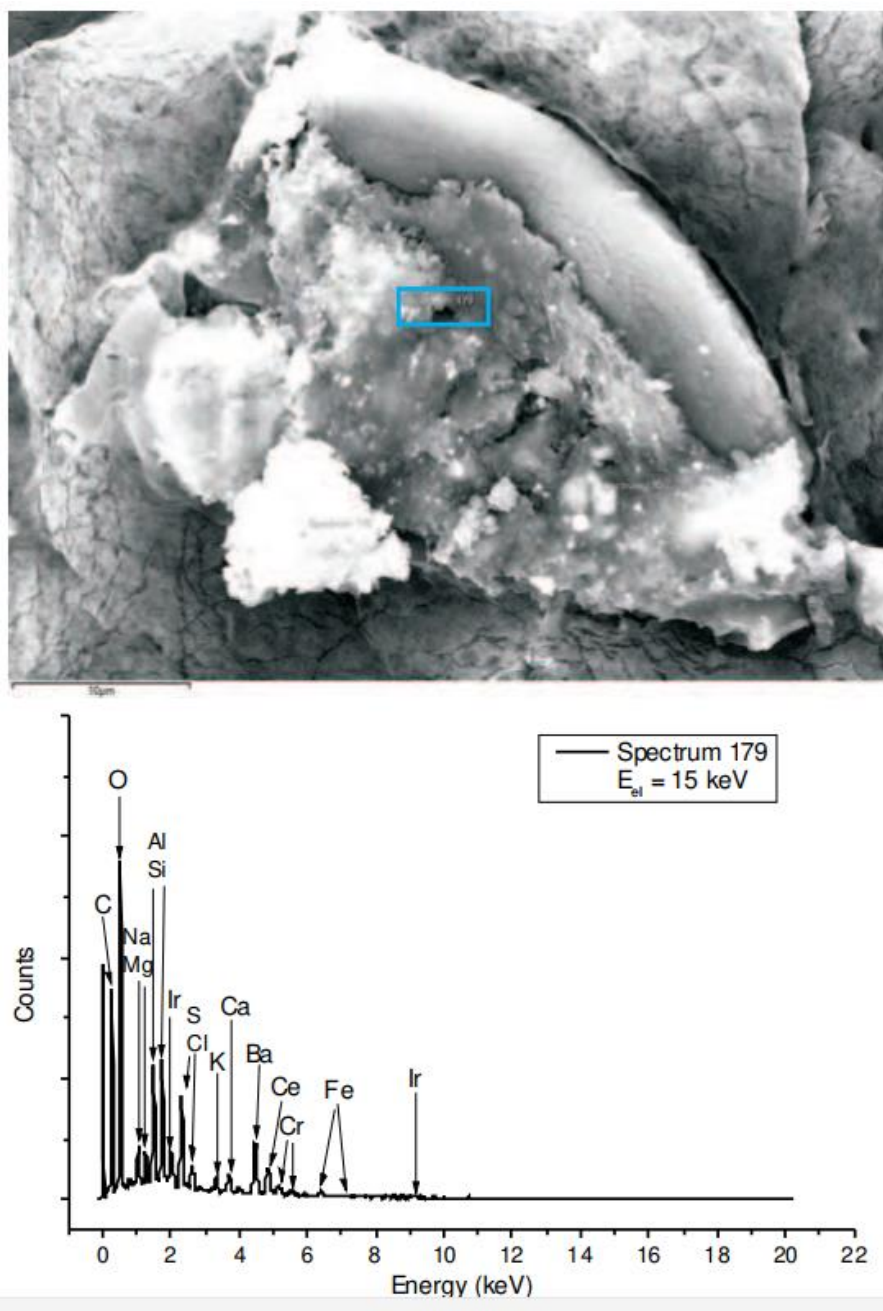
Rysunek 16: U góry po lewej: obraz SEM struktury przypominającej pręt o długości 20 μm . U góry po prawej: mapowanie Si w EDX specyficzne dla elementu. Na dole: specyficzne dla elementu mapowania EDX Ca i Al.

Tę próbkę przygotowano z fiolki z tej samej partii, ale w innym laboratorium, otwierając fiolkę, a następnie przygotowując próbkę zgodnie z opisem w części eksperymentalnej. Rysunek 17 przedstawia obraz SEM zanieczyszczenia zawierającego znaczne ilości Si, Ti i Fe. Wykrywane są również ślady Na, Mg, Al, K i Ca.



Rysunek 17: U góry: obraz SEM cząstki o wielkości 15-20 μm. Na dole: widmo punktowe EDX tej cząstki (miejsce 380), zaznaczone niebieską ramką. Należy zauważyć, że Ir nie należy do próbki badanej przez EDX ze względu na sposób przygotowania próbki opisany w punkcie 2.

Tę próbkę przygotowano z fiolki z tej samej partii, ale w innym laboratorium, otwierając fiolkę, a następnie przygotowując próbkę zgodnie z opisem w części eksperymentalnej. Figura 18 przedstawia obraz SEM zanieczyszczenia zawierającego znaczne ilości Al, Si, S i Ba. Wykrywane są również ślady Na, Mg, S, Cl, K, Ca, Ce, Cr i Fe.



Rysunek 18: U góry: obraz SEM zanieczyszczenia o wielkości 20-30 μm . Na dole: widmo punktowe EDX tej cząstki (miejsce 179), zaznaczone niebieską ramką. Należy zauważyć, że Ir nie należy do próbki badanej przez EDX ze względu na sposób przygotowania próbki opisany w punkcie 2.

Wstępne wyniki standardowych testów analitycznych dla szczepionek Covid

Streszczenie

Głównym przełomem w produkcji szczepionek mRNA przez Biontech/Pfizer i Moderna było opracowanie otoczki wykonanej z lipidów kationowych. Czysty mRNA jest łatwo rozkładany przez enzymy rozszczepiające zwane rybonukleazami i ma trudności z przejściem przez błonę komórkową. Podwójna warstwa cząsteczek lipidów tworzy małe kulki, a wewnątrz nich upakowane jest mRNA. Ze względu na swój mały rozmiar nazywane są nanocząsteczkami lipidowymi. W celu stabilizacji tych nanocząstek potrzebna jest powłoka z PEG (glikolu polietylenowego). Pomijając kwestię genetycznego manipulowania własnymi komórkami organizmu w celu ekspresji antygenów białka S, pojawia się pytanie o właściwości tych nanolipidów i ich ochronnych powłok PEG.

Szczepionki COVID-19 mRNA zatwierdzone przez EMA zawierają część informacji genetycznej SARS-CoV-2 w postaci informacyjnego kwasu rybonukleinowego (mRNA). Podczas podawania szczepionki mRNA jest wstrzykiwany do mięśnia i tym samym wnika do komórek organizmu. Nanocząsteczki lipidowe są następnie wbudowywane do komórki ciała poprzez endocytozę, tj. poprzez wpust w obszarze błony komórkowej, gdzie mogą uwalniać transportowane mRNA do cytozolu. W tych komórkach części wirusowego białka S są następnie syntetyzowane w rybosomach na podstawie zakodowanego planu mRNA, a następnie wyrażane na błonie w celu wywołania specyficznej odpowiedzi immunologicznej. Samo mRNA jest degradowane przez organizm po pewnym czasie, przy czym wspomina się o kilkutygodniowych okresach.

Do klasyfikacji szczepionek użyliśmy (A) mikroskopii jasnego pola BFM, (B) mikroskopii ciemnego pola DFM, (C) skaningowej mikroskopii elektronowej SEM, (D) spektroskopii rentgenowskiej z dyspersją energii EDS, (E) całkowitego odbicia rentgenowskiego spektroskopii fluorescencyjnej (TXRF) i (F) spektroskopii masowej TOF-MS czasu przelotu.

W BFM i DFM można było potwierdzić powstawanie struktur krystalicznych. Porównanie z próbkami osadów cholesterolowych potwierdziło hipotezę, że produkty rozpadu cząstek nanolipidów przypominają m.in. „struktury ciekłokrystaliczne” cholesterolu. Cholesterol wbudowuje się w warstwę nanolipidową, dzięki czemu m.in. ułatwia endocytozę. Napięcie powierzchniowe i elektryczność statyczna wpływają na powstawanie mikroskopijnych kryształów o geometrii o różnym stopniu złożoności.

Po wysuszeniu za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) próbek Moderna znaleziono bardzo duże prostokątne płytki krwi, które po analizie EDS okazały się głównie kryształami NaCl. Istnieją jednak powody, by sądzić, że są to większe krystalizacje soli fizjologicznej mniejszych kryształów lipidów/cholesterolu. Ponadto przy użyciu SEM znaleziono również zanieczyszczenia w postaci cząstek, na przykład cząstki metalu ze stali nierdzewnej (Fe-Ni-Cr). Trudno jednak oszacować, czy kwoty te są na tyle znaczące, że stanowią zagrożenie dla zdrowia. Dodatkowe pomiary z TXRF większych powierzchni próbki nie wykazały istotnych sygnałów spektralnych, co oznacza, że udział zanieczyszczeń metalicznych tego rodzaju można przypuszczalnie oszacować w niskim zakresie ppm. TXRF wykazał jednak zauważalne piki Ca, ale także niewielkie ilości Al i Mg. Jednakże,

Najbardziej znaczącym wynikiem na tym etapie jest korelacja między zachowaniem polimeryzacyjnym PEG a profilem skutków ubocznych szczepienia dla Pfizer/Biontech. MALDI TOF-MS ujawnił zależny od partii stopień polimeryzacji PEG. Jeśli maksymalny rozkład zmierzonych mas cząsteczkowych PEG jest następnie wykreślany w stosunku do zgłaszanych liczb działań niepożądanych, powłoka o węższym rozkładzie i krótszym łańcuchu wskazuje na wzrost liczby działań niepożądanych szczepionki. W konsekwencji, bardziej jednolita powłoka może wydłużyć okres półtrwania w wyniku rozpadu, a tym samym sprzyjać dalszemu transportowi do innych części tkanek i narządów. I odwrotnie, ilość kryształów lipidów i cholesterolu powstałych w wyniku rozpadu

produkt jest związany z bardziej niestabilną, szerzej rozproszoną i dłuższą łańcuchową powłoką PEG. Oczywiście tego rodzaju kryształy mieszane, powstające w wąskich mikrokapilarach, również stanowią potencjalne zagrożenie.

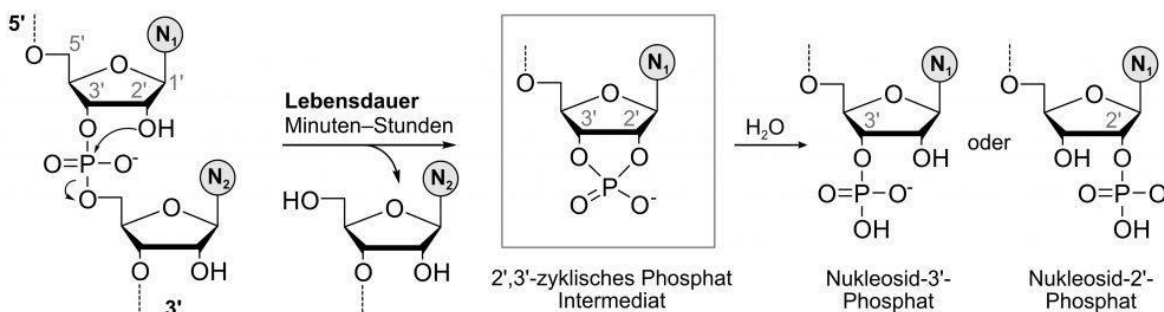
Dalsze badania próbek szczepionek filtrowanych na żelu za pomocą spektroskopii w podczerwieni FTIR i mikrospektroskopii Ramana potwierdziły powyższe podejrzenia i nie wykazały żadnych dowodów na zanieczyszczenie grafenem lub tlenkiem grafenu.

Wstęp

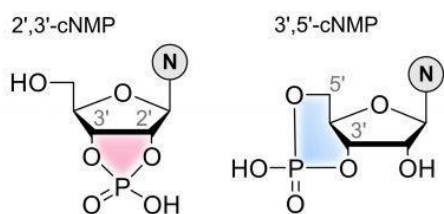
Globalna pandemia COVID-19 dała bezprecedensowy impuls do rozwoju szczepionek mRNA. Można to wytłumaczyć faktem, że w przeciwieństwie do konwencjonalnych szczepionek, szczepionki RNA mogą być szybko opracowywane, produkowane w dużych ilościach i teoretycznie dostosowywane do różnych patogenów. Przegląd leków na bazie RNA przy użyciu metod skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM), spektroskopii rentgenowskiej z dyspersją energii (EDS), spektroskopii rentgenowskiej całkowitego odbicia (TXRF), spektroskopii w podczerwieni (FTIR) i spektrometrii masowej (MS) może uchwycić tylko niektóre cechy jakościowe tych substancji o przeznaczeniu medycznym i faktycznie wymagałyby pełnego spektrum analiz biochemicznych, mikrobiologicznych i fizycznych.

RNA ma bardzo niską stabilność i jest bardzo wrażliwy na otaczające środowisko. Fakt, że DNA jest stabilny, a RNA niestabilny, można przypisać różnym cukrom w szkielecie DNA. Ryboza w RNA zawiera grupę hydroksylową na C2japozycji, która destabilizuje wiązanie fosfodiesterowe. To 2-Grupa OH może wewnątrzcząsteczkowo atakować grupę fosforanową w C3janukleotydu. Prowadzi to do autohydrolizy [1] RNA nawet przy braku rozkładających się enzymów. W dezoksyrybozie w szkielecie DNA ta grupa OH nie jest obecna. Dlatego DNA nie ulega autohydrolizie, a fragmenty DNA mogą pozostać stabilne przez setki, a nawet tysiące lat.

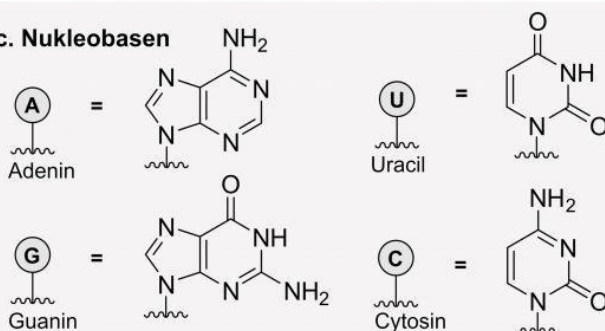
a. Autohydrolyse von RNA



b. Zyklische Nukleosidmonophosphate



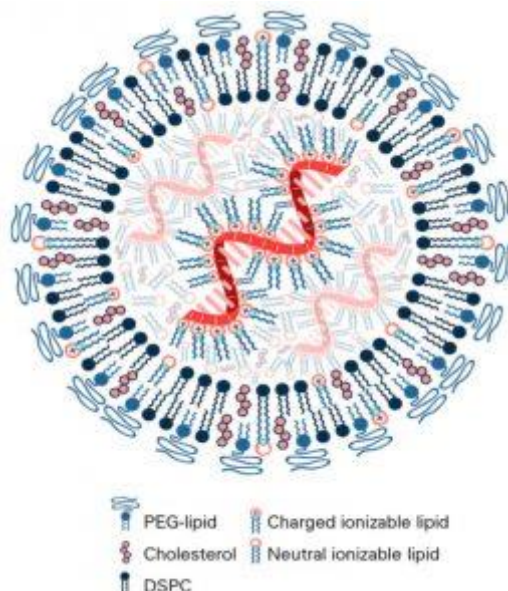
c. Nukleobasen



Rysunek 1: Autohydroliza wpływa na stabilność RNA. a) Schemat autohydrolizy na nici RNA z 2,3-cykliczny związek pośredni fosforanowy. Wewnątrzcząsteczkowy atak nukleofilowy 2-Grupa OH inicjuje rozszczepienie fosfodiesteru. Brak 2-Grupa OH w DNA zapobiega tam rozszczepieniu. b) Struktury cyklicznych izomerów monofosforanu nukleotydu. c) Nazewnictwo i struktury zasad nukleinowych RNA (N).

Wyraźnym wyzwaniem dla terapii mRNA jest ich wrażliwość na nukleazy, ilustrowana okresem półtrwania w surowicy <5 min [2]. Chociaż chemiczne modyfikacje siRNA były bardzo skuteczne w poprawie stabilności i zmniejszeniu immunogenności [3], nie były skuteczne w przypadku mRNA ze względu na wrażliwość maszynerii translacyjnej na te modyfikacje [4]. Innym wyzwaniem dla mRNA jest brak wychwytu komórkowego nagiego mRNA w większości typów komórek [5], z wyjątkiem niedojrzałych komórek dendrytycznych [6]. Te dwa wyzwania rozwiązuje się poprzez włączenie mRNA o zmodyfikowanej nukleozydach lub zmodyfikowanej sekwencji do systemu dostarczania, który zarówno chroni mRNA przed atakiem enzymatycznym, jak i ułatwia wychwyt komórkowy. Na przykład,

Fragmentację jonów można badać za pomocą spektrometrii masowej. W ten sposób można uzyskać informacje strukturalne o lipidach i kwasach nukleinowych. fragmenty c są tworzone przez rozerwanie wiązania między 5-O i atom fosforu. Fragmenty c dinukleotydów RNA mają taki sam stosunek masy do ładunku (m/z) jak katalizowane zasadą fragmenty RNA po autohydrolizie. Opublikowano dokładny skład Pfizer-BioNTech LNP [9] i Moderna LNP [10].



Rysunek 2: Struktura nanocząsteczek lipidów mRNA z 1-10 mRNA zdolnych do kopiowania. Lipidowy glikol polietylenowy (PEG) tworzy powierzchnię nanocząstki lipidowej (LNP) wraz z DSPC, który tworzy dwuwarstwę. Cholesterol i ulegający jonizacji lipid w postaci naładowanej i nienaładowanej mogą być rozprowadzane po LNP.

Polimery kationowe są od wielu lat szeroko stosowane do dostarczania kwasów nukleinowych. W najprostszym zastosowaniu polimery kationowe miesza się w nadmiarze z kwasem nukleinowym, tworząc związane elektrostatycznie polipleksy kationowe. Chociaż wiele z tych polimerów zostało opracowanych, nie są one tak zaawansowane jak nanocząstki lipidowe do dostarczania kwasów nukleinowych, a liczba badań na zwierzętach, w których z powodzeniem zastosowano je w szczepionkach, jest bardzo ograniczona. Nanolipidy są następnie powlekane hydrofilowym PEG w celu stabilizacji w środowisku wodnym i ograniczenia interakcji białek i komórek po dostarczeniu *in vivo*.

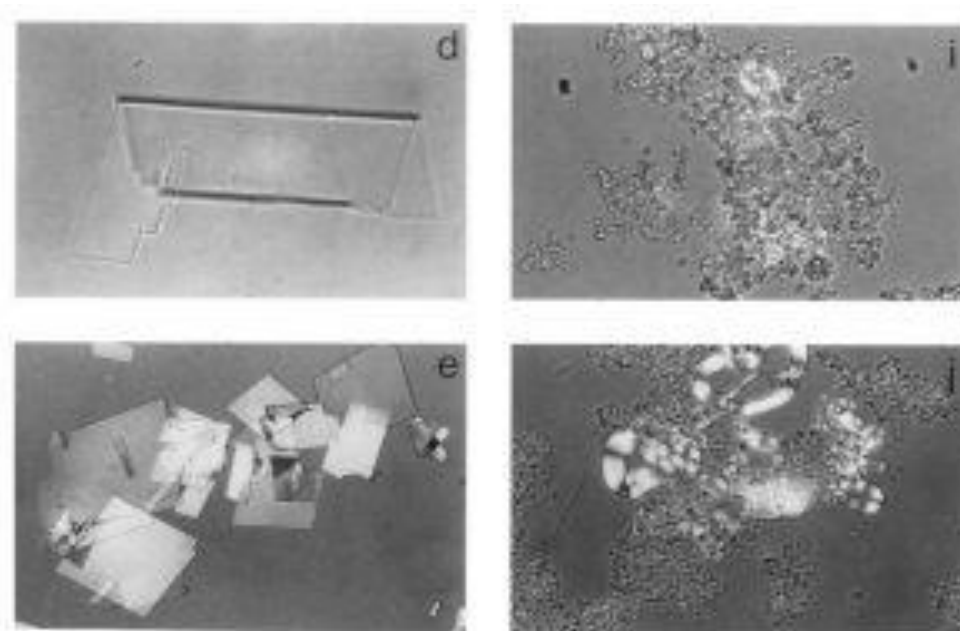
ALC-0315 w połączeniu z DSPC, cholesterolem i lipidem PEG ALC-0159 jest systemem dostarczania w badaniach SARS-CoV-2 firmy BioNTech [9]. Firma rozpoczęła opracowywanie szczepionki SARS-CoV-2 z czterema immunogenami kodowanymi przez mRNA, z których dwa były modyfikowane nukleozydami, jeden niezmodyfikowany, a jeden samowzmacniający się.

Rozpad szczepionek mRNA

Szczepionka Moderna COVID-19 musi być przechowywana w temperaturze od -25°C do -15°C , ale jest również stabilna do 30 dni w temperaturze od 2°C do 8°C i do 12 godzin w temperaturze od 8°C do 25°C [11]. Szczepionka Pfizer/BioNTech COVID-19 jest przechowywana w temperaturze od -80°C do -60°C i może być przechowywana po rozmrożeniu w temperaturze od 2°C do 8°C przez maksymalnie 5 dni przed rozcieńczeniem solą fizjologiczną przed wstrzyknięciem [12]. Temperatury suchego lodu wymagane dla szczepionki Pfizer są trudniejsze do osiągnięcia podczas dystrybucji i przechowywania niż normalna temperatura zamrażania wymagana dla szczepionki Moderna. Przyczyny tych różnic temperatur nie są oczywiste, ponieważ obie szczepionki zawierają podobne stężenia sacharozy jako krioprotektanta. LNP mRNA Moderny są zamrażane w dwóch buforach, Tris i octanowym [10], podczas gdy szczepionka firmy Pfizer/BioNTech wykorzystuje tylko jeden bufor fosforanowy [9].

Mechanizm autohydrolizy RNA *in vitro* był szeroko badany [1]. Zjawisko występuje, gdy 2-Grupa OH nukleofilowo atakuje 3-fosforan, co prowadzi do cyklicznego 2,3-fosforan za pośrednictwem fosforanu, który jest kluczowym produktem pośrednim w autohydrolizie RNA (ryc. 1a). Następnie półprodukt hydrolizuje się w roztworze wodnym do 2-i 3-fosforan. W warunkach kwasowych lub zasadowych autohydrolizę RNA można przyspieszyć milion razy w porównaniu z hydrolizą spontaniczną w pH obojętnym [15].

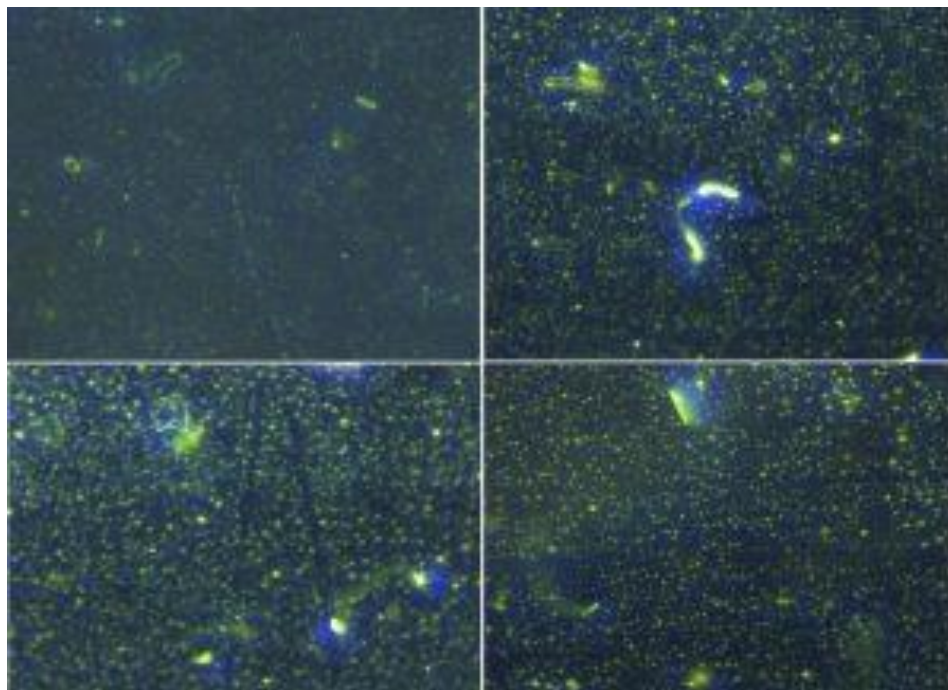
Jeśli nie ma przerw w powłoce PEG, można założyć, że całe mRNA również pozostanie nienaruszone przez co najmniej 5 dni w temperaturze od 2°C do 8°C . Wyższe temperatury mogą skrócić ten czas do kilku godzin. W międzyczasie jednak okresy trwałości zostały wydłużone, a wymagania dotyczące chłodzenia jeszcze bardziej zmniejszone [16], a 5 dni wydłużono do 30. W ten sposób producent prawdopodobnie jeszcze bardziej poprawił stabilizację LNP. Warto było zbadać, czy stabilizująca powłoka PEG może wykazywać różnice w jakości ze względu na proces produkcyjny. Badania mikroskopowo-optyczne szczepionek mRNA wykazały bardzo nietypowe zanieczyszczenia kryształopodobne, których stężenie wzrasta wraz z czasem przechowywania. Są to struktury geometryczne w kształcie płytek krwi, które wykazują silne podobieństwo do romboidalnych kryształów cholesterolu [17].



Rysunek 3: Stałe i ciekłe kryształy cholesterolu obserwowane pod mikroskopem w świetle spolaryzowanym: (d) pęknięcia kryształów w kształcie rurek (e) typowe kryształy ChM o kątach $79,2^{\circ}$ i $100,8^{\circ}$ i często z karbowanymi narożnikami.

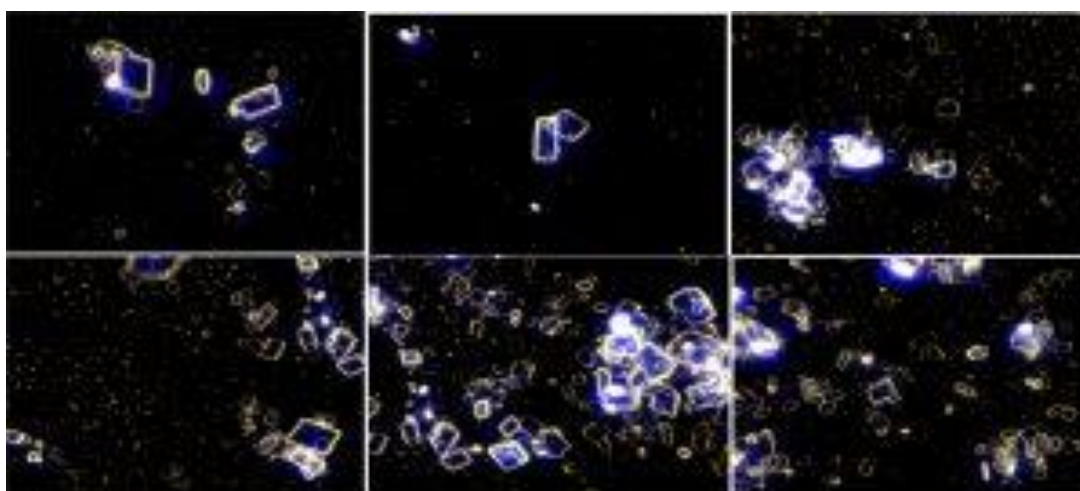
Mikroskopia optyczna

W międzyczasie przeprowadzono wiele analiz mikroskopowych szczepionek mRNA (stężonych i rozcieńczonych) w BF (jasne pole) i DF (ciemne pole), które wykazują podobne wyniki. Naukowcy zgłosili obserwację niezwykle i niezidentyfikowanych zanieczyszczeń geometrycznych obok LNP w próbkach szczepionek. Obserwacje pod mikroskopem DF ujawniły następujące obrazy dla szczepionek Moderna:



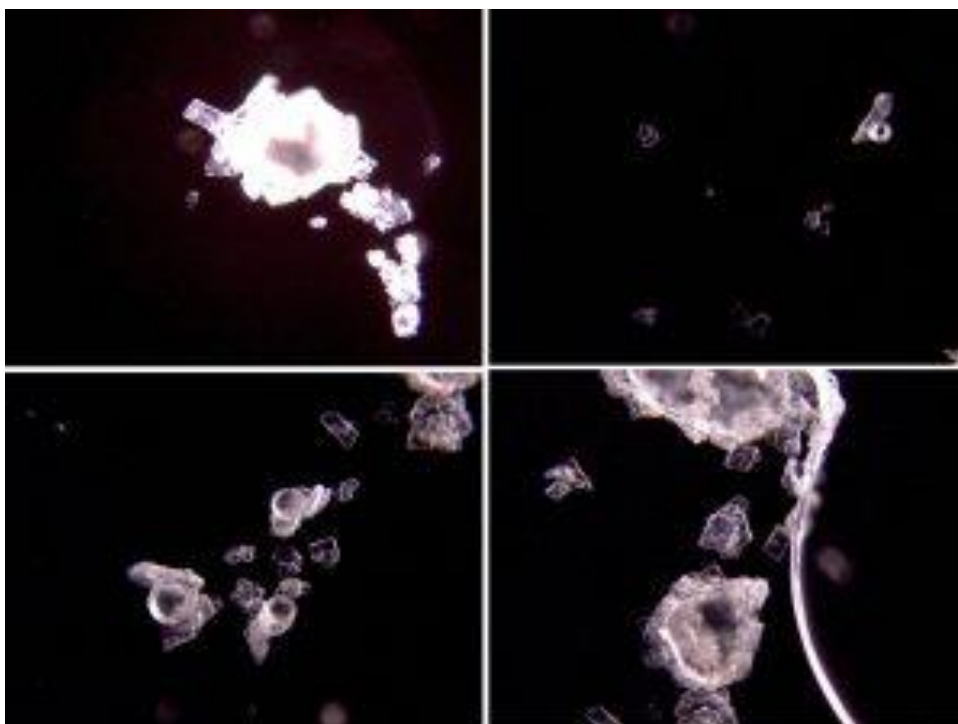
Rysunek 4: Szczepionka mRNA od producenta Moderna przechowywana w temperaturze -18°C i powiększona 1000 razy w mikroskopie DF

Krystalizacja występuje częściej podczas przechowywania w temperaturze pokojowej. Mleczne zmętnienie Pfizer/Biontech Comirnaty jest najprawdopodobniej związane z krystalizacją. Zostało to również potwierdzone prostymi badaniami w lampie szczelinowej oryginalnie zamkniętych dawek szczepionki. Pod mikroskopem ciemnego pola staje się to wyraźniejsze i zjawisko to zostało również udokumentowane nagraniami wideo.



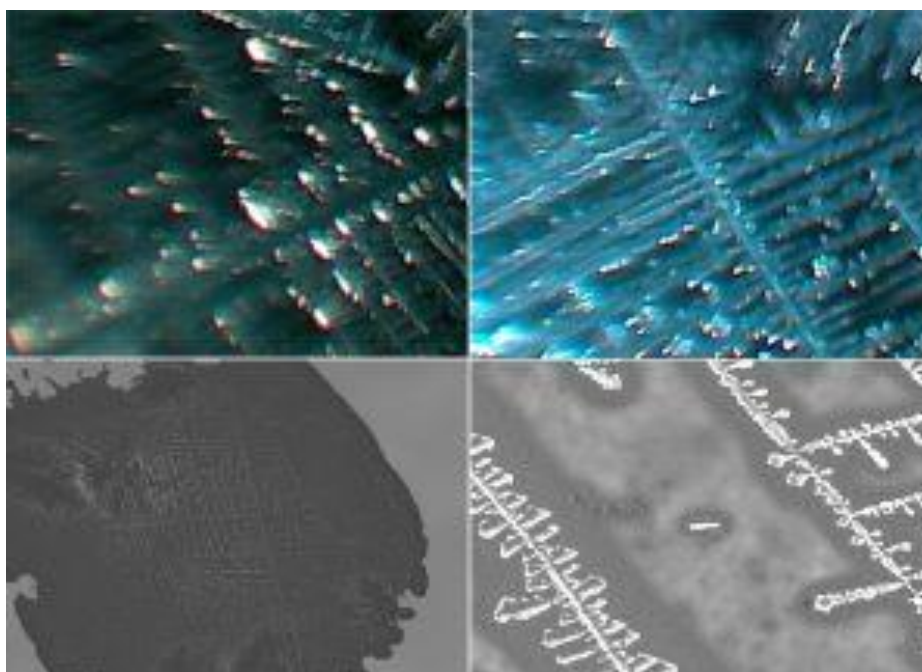
Rysunek 5: Szczepionka mRNA firmy Pfizer/Biontech przechowywana w temperaturze pokojowej i powiększeniu 1000x w mikroskopie DF.

Porównanie z wodnym roztworem stałego cholesterolu (marka: Fisher Chemical C/5360/48) w mikroskopie DF wyraźnie pokazuje podobne struktury krystaliczne do tych obserwowanych w szczepionkach:



Rysunek 6: *Kryształy cholesterolu w roztworze wodnym*

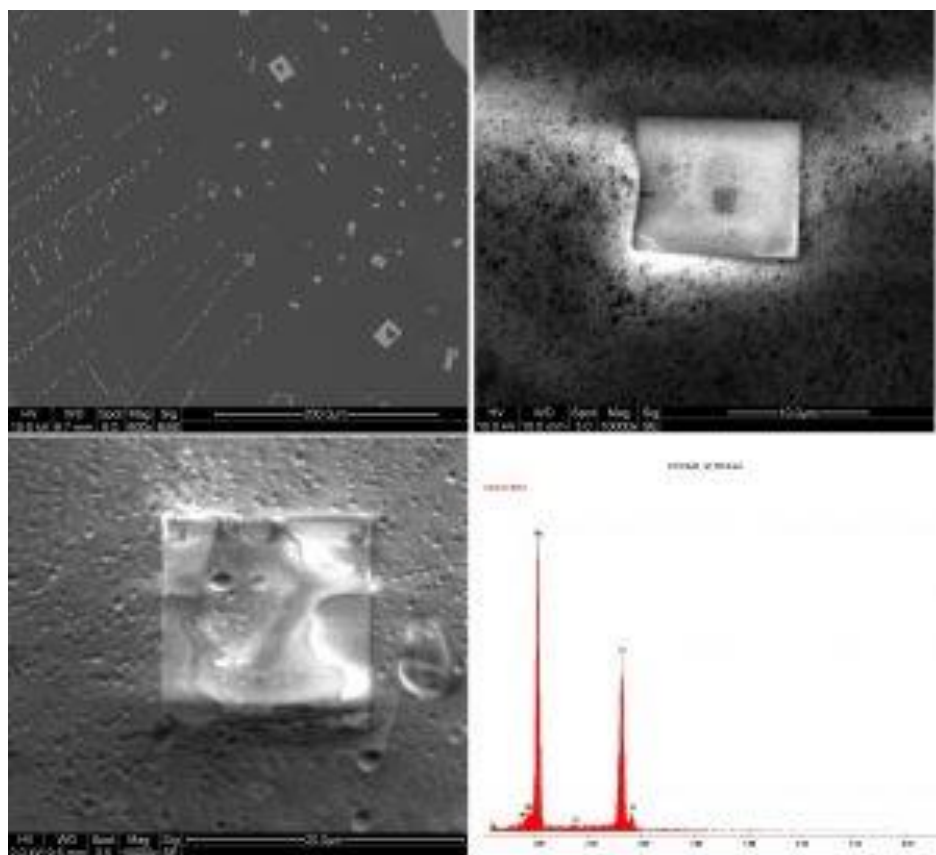
Badania wysuszonych próbek inokulacyjnych na nośnikach krzemowych w mikroskopie światła odbitego oraz w skaningowym mikroskopie elektronowym (SEM) wykazały dalsze zjawiska krystalizacji na powierzchniach krystalicznych, takich jak Si, ze względu na specyficzny dla modyfikatora bufor i roztwory soli:



Rysunek 7: *Tworzenie kryształów mRNA-1273 (Moderna) w mikroskopie światła odbitego (góra) i skaningowym mikroskopie elektronowym (dół)*

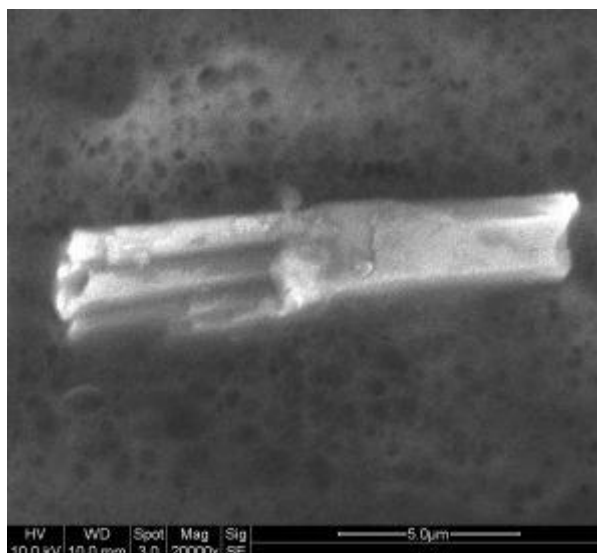
Skaningowa Mikroskopia Elektronowa (SEM)

Bliższe badanie SEM wysuszonych próbek szczepionki Moderna w obszarach brzeżnych wykazało krystalizację większych struktur płytkopodobnych. Badanie tych kryształów wiązką elektronów wykazało następnie wyraźny sygnał NaCl w EDS:



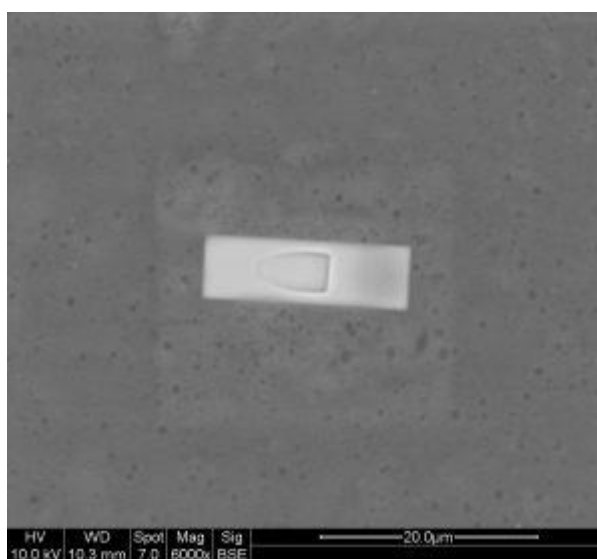
Cyfra 8: Płytki kryształów NaCl w wysuszonym mRNA-1273 w skaningowym mikroskopie elektronowym i ich widmo EDS

Figury 4, 5 i 6 ilustrują wygląd stałych kryształów zawierających cholesterol i optyczne tekstury ciekłych kryształów. Po wysuszeniu zaobserwowano włókna, które mogą być dłuższe niż 10 μm . W stanie ciekłym znajdują się kryształy łukowate, a czasami spiralne. Typowe są również układy rurkowe (ryc. 9). Płytkowe kryształy cholesterolu - kryształy zwykle występują pod kątem $79,2^\circ$ i $100,8^\circ$ i często z karbowanym rogiem. Wytrącające się ciekłe kryształy mają tendencję do skupiania się (ryc. 5) i zwykle tworzą 1- 5 μm krystalizy, które można nazwać agregatami.



Rysunek 9: Rurowe kryształy cholesterolu w SEM

Podczas procesu suszenia sole roztworu buforowego krystalizują również na istniejących kryształach lipidów i otaczają je. Rysunek 10 przedstawia prostokątny kryształ NaCl, który ma wewnętrzną podstrukturę z zaokrąglonymi rogami wskazującymi na kryształy lipidów.



Rysunek 10: Kryształ SEM NaCl z osadzonym cholesterolu

Poniższe pytania powstały na podstawie obserwacji optycznych podanych tutaj jako przykłady.

1. jakie zmiany materiałowe ograniczają żywotność szczepionek mRNA i czy można je wykazać za pomocą prostych metod pomiarowych?
2. czy zmiany materiału są również wykrywalne w niektórych partiach ze względu na proces produkcyjny i jak wpływają one na profil bezpieczeństwa?

Powyżej wyjaśniono, dlaczego nanolipidy są powlekane hydrofilowym PEG w celu stabilizacji. Odniesiono się również do kombinacji z DSPC i cholesterolu. Procedura spektrometrii masowej może być wykorzystana do:

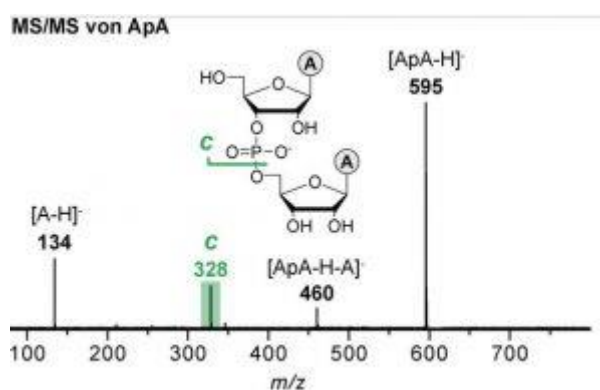
scharakteryzować powłokę PEG. W tym celu wykorzystaliśmy spektrometr masowy czasu przelotu Bruker MALDI z jednej z lokalnych uczelni.

Spektrometria masy

Z analitycznego punktu widzenia próbki zawierające PEG nadają się do konwencjonalnych metod spektroskopowych, takich jak spektrometria mas z jonizacją z desorpcją laserową wspomaganą matrycą (MALDI-TOF MS) [18, 19].

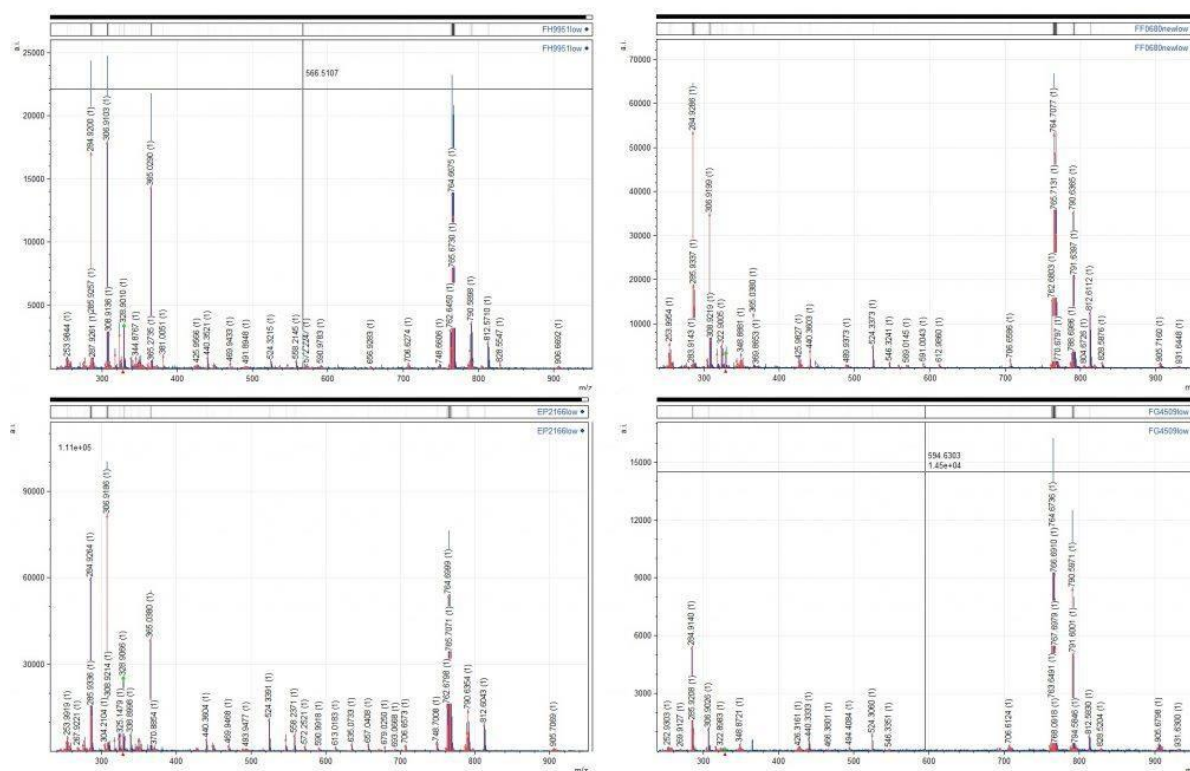
Próbki PEG w konsekwencji przygotowano zgodnie ze standardowym protokołem pomiaru MS. Widma masowe MALDI-TOF rejestrowano w trybie reflektrobowym na spektrometrze masowym Ultraflex-TOF-TOF (Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Niemcy). Seryjny przyrząd był wyposażony w laser N2 337 nm, 50 Hz. Osiągnięta rozdzielczość szczytowa mieściła się w zakresie m/z 250 - 950 lub 1000 - 4000, w zależności od badanego zakresu. Jeżeli pomiar jest ograniczony do zakresu mas określonego przez kalibratora (m/z 3000-4000), ponad 95% pików zostało zmierzonych z błędami poniżej 5 ppm.

Dla wszystkich badanych partii Comirnaty materiał wyekstrahowano z wcześniej zamkniętych fiolek. Zadanie polegało na zidentyfikowaniu „lotnych” składników frakcji stałych i zbadaniu ich pod kątem różnic jakościowych. Pomiar pozwala na przykład na wyciągnięcie wniosków na temat liczby jednostek tlenku etylenu (n) oraz struktury końcowej grupy R ALC-0159. Uzyskiwane są również informacje o jakości ALC-0135.



Rysunek 11: Fragmentacja TOF-MS RNA prowadzi do tego samego cyklicznego fosforanowego związku pośredniego, który powstaje podczas autohydrolizy RNA.

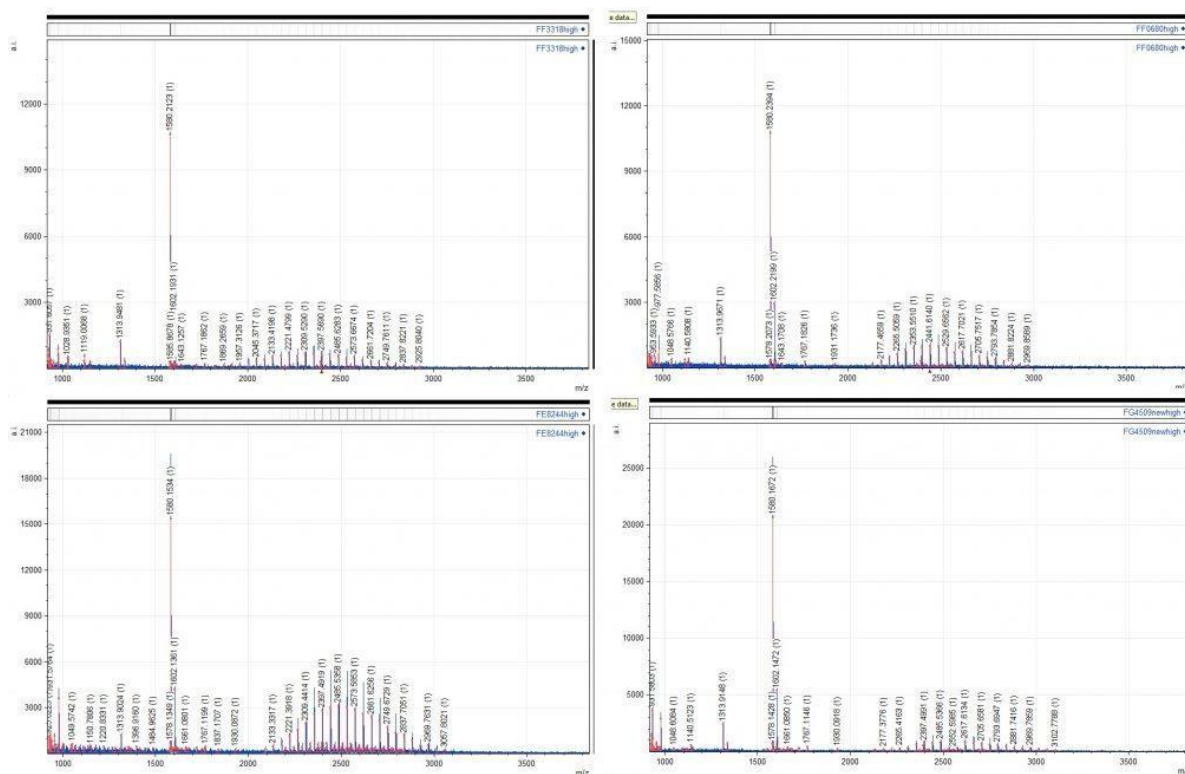
Fragmentacja RNA prowadzi do 2,3-fosforany cykliczne. Powstające w tym procesie fragmenty c mają taki sam stosunek m/z jak cykliczny fosforanowy produkt pośredni, który powstaje podczas autohydrolizy RNA [18]. Pomiar różnych partii wykazały stosunkowo duże różnice we fragmentacji przy $m/z=328$. Rysunek 12 przedstawia widma różnych partii o różnej fragmentacji c. Wysokie względne proporcje fragmentów c (EP2166) prawdopodobnie wskazują na wysokie proporcje nienaruszonego mRNA. Ta obserwacja odpowiada również następującym obserwacjom dla PEG.



Rysunek 12: MS czterech partii Comirnaty. Różnice $m/z=328$ wskazują na różne ładunki mRNA LNP.

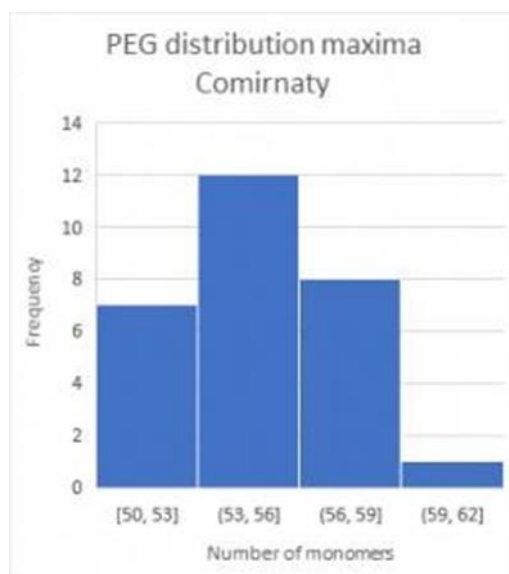
Rozszczepienie przy $m/z=766$ i $m/z=764$ ALC-0315 może być związane z podstawieniem dwóch wodorów wiązaniem podwójnym C=C. Pozostaje do ustalenia, czy można to przypisać metodologii MALDI, czy jakości produkcji. Również intensywność ALC-0315 zgadza się z następującymi wynikami PEG.

Zakresy mas m/z 1000 - 4000 pokazują rozkłady polimerów PEG w analizowanych partiach. Na rys. 12 różnice te stają się oczywiste i wymagają wyjaśnienia. Po pierwsze, skrócone łańcuchy polimerów mogą być generowane podczas analizy MALDI przez fragmentację w źródle lub podczas przygotowywania próbek. Bardziej prawdopodobne są jednak reakcje niepełne prowadzące do obecności produktów ubocznych (nieprzereagowane materiały wyjściowe, prawdopodobnie po prostu podstawiony PEG lub nieoczekiwana modyfikacja grupy końcowej). Produkty te mogą być stabilne w pozostałych etapach syntezy lub reagować dalej, dając coraz bardziej złożone mieszaniny z jonami wykrywanymi w szerokim zakresie mas.

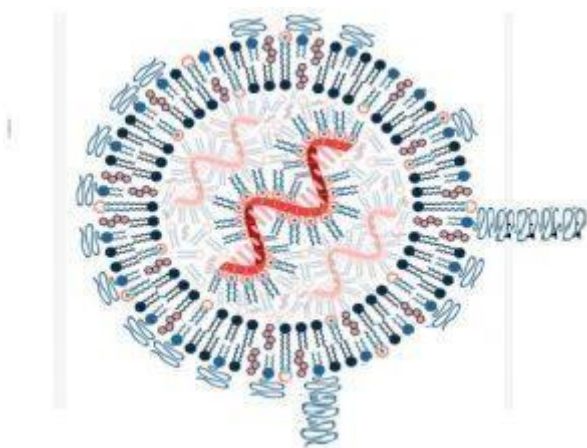


Rysunek 13: Zakres PEG m/z 2000-3500 pokazuje wyniki polimeryzacji zależne od partii

Jeśli następnie podsumujemy zmierzone rozkłady polimeru PEG pod względem liczby jednostek glikolu etylenowego, możemy zinterpretować przesunięty rozkład jednostek glikolu etylenowego w kierunku wyższego stopnia polimeryzacji jako możliwą niepełną polimeryzację powierzchni LNP.

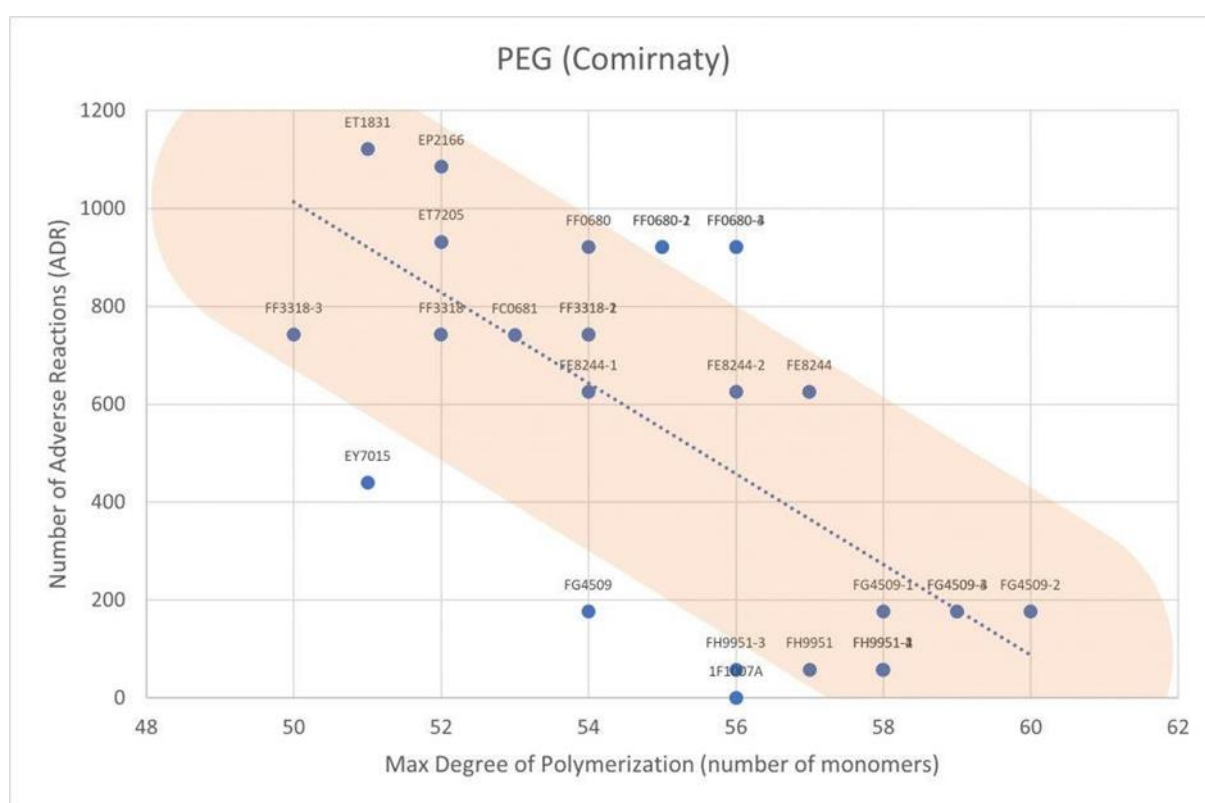


Rysunek 14: Przegląd polimeryzacji PEG



Rysunek 15: Niepełna polimeryzacja PEG powierzchni LNP

W kolejnym kroku zadaliśmy sobie pytanie, czy te zinterpretowane niejednorodności PEG mogą mieć wpływ na skutki uboczne (ADR = Adverse Reactions) po wstrzyknięciu. Biorąc pod uwagę silną zależność LNP i mRNA od mechanizmu stabilizacji PEG, jest to uzasadnione pytanie. Działania niepożądane szczepionki specyficzne dla danej partii można znaleźć w [20] w „How Bad is My Batch”. Pomiary wykazały istotną statystyczną korelację pomiędzy maksimum rozkładu (rys. 14) jednostek glikolu etylenowego (Max Stopień Polimeryzacji) a ADR z bazy danych [20].



Rysunek 16: Związek między polimeryzacją PEG a skutkami ubocznymi szczepienia

W związku z tym najpierw stawiamy hipotezę, że krótsze łańcuchy, a zatem bardziej jednorodna powłoka PEG na powierzchni LNP może stabilizować szczepionkę przez długi czas, a tym samym zapobiegać jej rozpadowi przed transportem do niezamierzonych narządów ciała. Polimeryzacja o dłuższym łańcuchu, a zatem bardziej niejednorodna

Powłoki przeciwnie stanowią niewystarczającą ochronę przed szybkim rozpadem LNP i niszczą ich funkcję jako ochronnego transportera mRNA. Wraz z rozpadem LNP uwalniane są również cholesterol i lipidy kationowe, które mogą tworzyć kryształy. Potrzebne są dalsze badania w tej dziedzinie, zwłaszcza dokładne testy na zwierzętach, aby dowiedzieć się więcej o wpływie PEG, kationowych lipidów i cholesterolu.

Bibliografia

- [1] K. Greis, C. Kirschbaum, MI Taccone, M. Götze, S. Gewinner, W. Schöllkopf, G. Meijer, G. von Helden, K. Pagel, *Angew. Chem. wewn. Wyd.* 2022, 61, e202115481;
- [2] Michael D. Buschmann, Manuel J. Carrasco, Suman Alishetty, Mikell Paige, Mohamad Gabriel Alameh, Drew Weissman, *Szczepionki (Bazylea)* 2021 styczeń; 9(1): 65. Opublikowano online 2021 19 stycznia. doi: 10.3390/vaccines9010065, PMID: PMC7836001
- [3] Behlke MA., *Oligonukleotydy*. 2008 grudzień;18(4):305-19. doi: 10.1089/oli.2008.0164. PMID: 19025401
- [4] Choi J., Indrisiunaite G., DeMirci H., Jeong K.-W., Wang J., Petrov A., Prabhakar A., Rechavi G., Dominissini D., He C. i in., *Nat. Struktura. Mol. Biol.* 2018;25:208-216. doi: 10.1038/s41594-018-0030-z [5] Lorenz C., Fotin-Mleczek M., Roth G., Becker C., Dam TC, Verdurmen WPR, Brock R., Probst J., Schlake T., *Biol RNA*. 2011;8:627-636. doi: 10.4161/rna.8.4.15394.
- [6] Diken M., Kreiter S., Selmi A., Britten CM, Huber C., Türeci Ö., Sahin U., *Gene Ther.* 2011;18:702-708. doi: 10.1038/gt.2011.17.
- [7] Oberli MA, Reichmuth AM, Dorkin JR, Mitchell MJ, Fenton OS, Jaklenec A., Anderson DG, Langer R., Blankschtein D., *Nano Lett.* 2017;17:1326-1335. doi: 10.1021/acs.nanolett.6b03329
- [8] Pardi N., Hogan MJ, Naradikian MS, Parkhouse K., Cain DW, Jones L., Moody MA, Verkerke HP, Myles A., Willis E. i in., *J. Exp. Med.* 2018;215:1571-1588. doi: 10.1084/jem.20171450
- [9] COVID-19 Vaccine Emergency Use Authorization (EUAs), pismo autoryzacyjne EUA, <https://www.fda.gov/media/144412/download>
- [10] Badanie kliniczne szczepionki COVID-19 u zdrowych dorosłych, <https://www.modernatx.com/sites/default/files/mRNA-1273-P301-Protocol.pdf> [11] Arkusz informacyjny dla pracowników służby zdrowia podających szczepionkę , <https://www.fda.gov/media/144637/download>
- [12] Arkusze informacyjne i często zadawane pytania dotyczące firmy Pfizer-BioNTech, <https://www.fda.gov/media/144413/download>
- [13] Gómez G, Pikal MJ, Rodríguez-Hornedo N., *Pharm Res.* 2001 styczeń;18(1):90-7. doi: 10.1023/a:1011082911917. PMID: 11336359.
- [14] Tang X, Pikal MJ., *Pharm Res.* 2004 luty;21(2):191-200. doi: 10.1023/b:pham.0000016234.73023.75. PMID: 15032301
- [15] Emilsson GM, Nakamura S, Roth A, Breaker RR., *RNA*. 2003 sierpień;9(8):907-18. doi: 10.1261/rna.5680603. PMID: 12869701; PMID: PMC1370456
- [16] Biuro prasowe EMA, <https://www.ema.europa.eu/en/news/more-flexible-storage-conditionsbiontechpfizers-covid-19-vaccine>
- [17] DQ Wang, MC Carey, *Journal of Lipid Research*, 1996, tom 37(3), 606-630, ISSN 0022-2275
- [18] Christine Enjalbal i in., *MALDI-TOF Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2005, vol 16 (5), 670-678, ISSN 1044-0305
- [19] Na, DH, Youn, YS i Lee, KC (2003), *Rapid Commun. Widmo masowe*, 17: 2241- 2244. <https://doi.org/10.1002/rcm.1175>
- [20] Kody partii i związane z nimi zgony, niepełnosprawności i choroby dla szczepionek Covid 19, <https://howbad.info/>

Raport analityczny - Analiza nieorganiczna szczepionek

Próbki:

- 3 (otwarte) fiołki Moderna z pozostałościami 1-3 g płynu każda.
- 8 (otwartych) fiolek Biontech z bardzo małymi pozostałościami. Wszystkie płyny zostały połączone i dały ok. 2g płynu

Urządzenie analityczne: plazma sprzężona indukcyjnie (ICP). W ICP atomy pierwiastka są wzbudzone w celu wyemitowania promieniowania. Promieniowanie to jest wykrywane, a zawartość odpowiedniego pierwiastka można określić w porównaniu z roztworami standardowymi. Niestety do pomiaru ICP potrzebna jest duża ilość materiału próbki w porównaniu z innymi metodami analitycznymi. Dlatego próbki musiały zostać rozcieńczone, jak opisano poniżej (lub połączone i rozcieńczone w BioNTech), aby w ogóle uzyskać rozsądny pomiar.

Ponieważ w pomiarze ICP można zarejestrować tylko pierwiastki rozpuszczone (rozpuszczanie cząstek, płytek krwi, nici itp.), próbka została zmieszana z HNO_3 , a następnie podgrzana (trawienie).

Przygotowanie próbki: Próbkę odmierzono do czystych 10 ml szklanych kolb i zmieszano z 0,8 ml stęż. kwas azotowy. Następnie podgrzewane przez ok. 1 godz. 30 min w 85°C na płycie grzejnej, a następnie napełnij do znaku kalibracji wodą podwójnie destylowaną. Woda została dodana do znaku kalibracyjnego.

Przygotowano również ślepą próbkę (trawienie bez próbki) w celu wykluczenia możliwości wprowadzenia przez mnie zanieczyszczeń lub HNO_3 .

Z każdej fiołki Moderna przygotowano trawienie: M1; M2; M3

Wszystkie fiołki BioNTech połączono w jedno trawienie: BT

	Porcja ważona	Całkowita objętość rozcieńczonego
M1	1,5490 gramów	10 ml
M2	2,5865 gramów	10 ml
M3	1 3046 g	10 ml
BT	1,9568 g	10 ml

Pomiar ICP: Dla elementów wymienionych w tabeli ICP kalibrowano za pomocą 4-punktowej linii prostej. Oznacza to, że dla każdego pierwiastka zmierzono jedną wartość ślepą i 3 standardy ($\beta(E) = 0,6; 1; 2 \text{ mg/l}$). Dla antymonu skalibrowano inną serię wzorcową $\beta(\text{Sb}) = 1; 2; 5 \text{ mg/l}$.

W ICP analizowano tylko te elementy, których poszukiwano również przy użyciu standardowych rozwiązań. Z kilku powodów elementy, które nie są tutaj wymienione, nie były testowane.

Wartości są przeliczane na oryginalne roztwory, a nie na rozcieńczenie.

Element	M1	M2	M3	BT
$\beta(\text{Aluminium}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{antymon}) =$	3 mg/l	3 mg/l	2 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{Arsen}) =$	< 2 mg/l	< 2 mg/l	< 2 mg/l	< 2 mg/l
$\beta(\text{bar}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{beryl}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{Bizmut}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{Ołów}) =$	< 3 mg/l	< 3 mg/l	< 3 mg/l	< 3 mg/l
$\beta(\text{Kadm}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{Cer}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{Kobalt}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{chrom}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{Żelazo}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{germ}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{Złoto}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{hafn}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{Ind}) =$	< 2 mg/l	< 2 mg/l	< 2 mg/l	< 2 mg/l
$\beta(\text{miedź}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{lantan}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{lit}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{Mangan}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{molibden}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{nikiel}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{niob}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{pallad}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{Platyna}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{rtęć}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{selen}) =$	< 3 mg/l	< 3 mg/l	< 3 mg/l	< 3 mg/l
$\beta(\text{srebrny}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{krzem}) =$	< 20 mg/l	< 20 mg/l	< 20 mg/l	< 20 mg/l
$\beta(\text{stront}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{Tellur}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{Terb}) =$	< 2 mg/l	< 2 mg/l	< 2 mg/l	< 2 mg/l
$\beta(\text{tor}) =$	< 2 mg/l	< 2 mg/l	< 2 mg/l	< 2 mg/l
$\beta(\text{Tytan}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{Uran}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{Wanad}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{Wolfram}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{itr}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{Cynk}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{cyna}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l
$\beta(\text{Cyrkon}) =$	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l	< 1 mg/l

Wyniki wszystkich pierwiastków, z wyjątkiem antymonu, są poniżej odpowiedniej granicy wykrywalności. Granica wykrywalności wynika z ilości próbki (niestety wysoki LOD, ponieważ materiału próbki jest tak mało); natężenie sygnału danego pierwiastka w ICP oraz ogólne zanieczyszczenie w laboratorium (woda podwójnie destylowana; sprzęt laboratoryjny; ICP). Musiałem ustawić granicę wykrywalności dla krzemu na tak wysokim poziomie, ponieważ w moim laboratorium mam do czynienia z substancjami, które zawierają krzem jako główny składnik i dlatego istnieje ryzyko zanieczyszczenia. Fiolki ze szczepionkami i sprzęt laboratoryjny są również wykonane ze szkła i dlatego mogą dostarczać podwyższone wartości Si.

Sygnał jest wyraźnie wykrywalny dla antymonu (Sb). Aby wykluczyć interferencję z innymi pierwiastkami, antymon mierzono przy trzech różnych długościach fal, z których wszystkie dają ten sam wynik. Wartość ślepa biegnie na linii podstawowej (wskazując, że zanieczyszczenie z mojej strony jest nieprawdopodobne).

Zrobiłem kilka pomiarów roztworów (również przed i po weekendzie) i stwierdziłem, że im dłużej roztwory trawiące stoją, tym mniejsza jest wartość antymonu. Można zaobserwować, że z czasem zawarte w szczepionce lipidy tworzą w roztworze kwasu azotowego większe białe płatki. Jest możliwe, że antymon jest absorbowany przez te płatki i w konsekwencji uzyskuję coraz niższe wartości w miarę postępu tego procesu.

Należy stwierdzić, że trawienie kwasem azotowym jest dalekie od ideału. Lepszym rozwiązaniem byłoby takie, w którym lipidy są również rozpuszczone (ewentualnie przy użyciu mieszaniny wody i rozpuszczalnika organicznego). Niestety nie miałem na to pola ze względu na małą ilość próbki.

Jeżeli wartość antymonu jest istotna z punktu widzenia grupy roboczej, konieczne byłyby dalsze analizy. Mój wynik wskazuje, że antymon może być obecny w próbce Moderny, ponieważ wyraźny sygnał można zidentyfikować przy różnych długościach fal antymonu.

Aby zweryfikować wynik, dalsze analizy musiałyby zostać przeprowadzone z nieotwartymi fiolkami i dalszymi procedurami trawienia.