

Riconsiderazione dei livelli di dosaggio di alluminio pediatrici immunoterapeutici sicuri

James Lyons-Weiler (a),¹ Robert Ricketson (b)

a Institute for Pure and Applied Knowledge, 2912 Kilcairn Lane, Allison, PA 15101, United States

b Hale O'mana'o Research, 19 West Edwards Street, Edmond, OK 73003, United States

¹ Corresponding author: jim@ipaknowledge.org

E-mail addresses: jim@ipaknowledge.org (J. Lyons-Weiler), robertperezmd@gmail.com (R. Ricketson).

Parole chiave¹

Alluminio

Livello di rischio minimo

Assunzione settimanale tollerabile provvisoria

Elementi regolatori

Dosaggio pediatrico

Nessun livello osservato di effetti avversi

Vaccini

Vaccinazione neonatale

Neurotossine

Abstract

Le normative FDA richiedono test di sicurezza degli ingredienti costitutivi dei farmaci (21 CFR 610,15). Ad eccezione delle proteine estranee, non è richiesto alcun test sulla sicurezza dei componenti per i vaccini o per i programmi vaccinali. Il dosaggio dell'alluminio nei vaccini si basa sulla produzione dei titoli anticorpali, non sulla scienza della sicurezza. Qui stimiamo un limite della dose pediatrica che considera il peso corporeo. Identifichiamo diversi gravi passi falsi storici in precedenti analisi dei livelli provvisori di sicurezza dell'alluminio nei vaccini e forniamo aggiornamenti rilevanti per l'esposizione all'alluminio dei bambini in relazione al programma vaccinale pediatrico, considerando il peso corporeo del bambino. Se le dosi di alluminio vengono stimate secondo quanto riporta il codice di regolamentazione federale a seconda del peso corporeo, l'esposizione derivante dal programma vaccinale attuale supera la nostra stima di una dose limite pediatrica corretta, in accordo con il peso. I nostri calcoli mostrano che i livelli di alluminio suggeriti dai limiti attualmente utilizzati secondo i programmi vaccinali attuali, collocano i bambini a rischio di esposizione acuta, ripetuta e possibilmente cronica di livelli tossici di alluminio. Le esposizioni individuali per gli adulti sono alla pari con i "limiti" di assunzione settimanali tollerabili, ma alcuni individui possono essere intolleranti all'alluminio a causa della genetica o di esposizioni precedenti.

La vaccinazione nei neonati *a termine* (NdT) e nei neonati con basso peso alla nascita deve essere rivalutata; verranno discusse altre implicazioni per l'uso di vaccini contenenti alluminio, e ulteriori limitazioni nella nostra comprensione della neurotossicità e dei livelli di sicurezza dell'alluminio nei prodotti biologici.

1. Introduzione

L'alluminio è usato come adiuvante in varie forme (ad esempio, ossidrossido di alluminio e idrossifosfato di alluminio) nei vaccini autorizzati dalla Food and Drug Administration negli Stati Uniti [1-7] per migliorare l'immunogenicità del vaccino [9,10] (Fig. 1).

¹ **Abbreviazioni:** NOAEL, nessun livello di effetto avverso osservato; LOAEL, il più basso livello di effetti collaterali osservati; LMR, livello di rischio minimo; JECFA, comitato misto di esperti sugli additivi alimentari; ATSDR, agenzia per sostanze tossiche e registro delle malattie; PTWI, assunzione settimanale provvisoria tollerabile; PDL, limite di dose pediatrico; CED, dose equivalente bambino; HED, dose equivalente umana

Il Centro per la Valutazione e la Ricerca Biologica (CBER) fissa la quantità di alluminio per dose nei prodotti biologici, compresi i vaccini, a 850 µg di alluminio, se misurata mediante dosaggio. Due livelli aggiuntivi sono specificati dai regolamenti (rispettivamente 1140 e 1250 µg), a seconda di come viene misurato il livello [8].

Gli 850 µg di alluminio per dose FDA del vaccino sono stati ricavati dai dati che hanno dimostrato che questa quantità di alluminio per dose ha migliorato l'antigenicità e l'efficacia del vaccino [9,10], ma non includono considerazioni sulla sicurezza. Le quantità attuali di alluminio non sono adeguate al peso corporeo di un neonato. Per evitare la tossicità associata alla variazione del peso corporeo tra adulti e bambini correlata all'alluminio nei vaccini, i livelli di dose standard di cura convertono mg a mg / kg per l'intervallo di peso considerato [28,39]. Al momento non ci sono studi noti o pubblicati che definiscano in modo specifico i livelli di alluminio in nessun prodotto vaccinale sulla base degli studi di sicurezza dell'alluminio.

La sicurezza dell'alluminio da tutte le fonti si basa sul livello di effetti avversi non osservati (NOAEL), sul livello di rischio minimo (LMR) e sul livello di influenza osservato più basso (LOAEL) [15-20]. Il Comitato Congiunto di Esperti sugli Additivi Alimentari (JECFA, *joint expert committee on food additives*) ha stabilito una dose settimanale tollerabile provvisoria (PTWI) per l'alluminio pari a 7000 µg / kg di peso corporeo a settimana nel 1989, che si applica a tutti i composti di alluminio presenti negli alimenti, compresi gli additivi. Tale livello è rimasto in vigore fino al 2011, quando il PTWI è stato rivisto a 2000 µg Al / kg a settimana [12,13]. L'Agenzia per le Sostanze Tossiche e il Registro delle Malattie (ATSDR, *agency for toxic substances and disease registry*) aveva utilizzato un LMR di 1000 µg Al / kg al giorno (7000 µg / kg per settimana) [24-27].

Abbiamo riscontrato due errori importanti nella provenienza e nella derivazione dei livelli di assunzione di alluminio provvisori dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS; Materiale Supplementare) che, sfortunatamente, hanno portato a sovrastimare i livelli di esposizione sicura.

Qui consideriamo le dosi di alluminio equivalenti per bambini (CED, *child equivalent dose*) nei vaccini, rettificata per i bambini in base al peso corporeo, per determinare i limiti delle dosi pediatriche di alluminio stimati dalla Regola di Clark per la popolazione pediatrica, per indagare ulteriormente l'effetto che le discrepanze esistenti tra il JECFA e l'ATSDR possono avere per quanto riguarda l'LMR di alluminio nei prodotti biologici, e per confrontare il dosaggio relativo da fonti alimentari e inoculate nella popolazione pediatrica.

2. Materiali e metodi

2.1 Quantità di dose di alluminio regolate in base al dal peso corporeo nei neonati e negli adulti secondo la FDA

Le normative FDA richiedono che le proteine nei vaccini siano testate per la sicurezza. L'alluminio è una neurotossina nota, ed è spiacevole che gli additivi nei vaccini non siano tenuti ad essere sottoposti a studi sulla sicurezza su animali prima dell'uso su soggetti umani. Esistono diversi metodi noti per il dosaggio pediatrico in base al peso. Nella Regola di Clark [28-39] dei calcoli della dose pediatrica, ad esempio, il riferimento del peso corporeo dell'adulto è solitamente (come pubblicato) considerato pari a 150 libbre (68 kg), con la dose calcolata convertita in mg / kg.

Gli studi sulla tossicità dell'alluminio utilizzano come peso corporeo dell'adulto di riferimento per calcolare l'LMR e il LOAEL 60 kg [16-18]. Per questo motivo, abbiamo utilizzato 60 kg come riferimento per il peso corporeo degli adulti, piuttosto che il riferimento di 68 kg peso corporeo per adulti più comunemente utilizzato nella Regola dei calcoli pediatrici di Clark. I nostri calcoli sono quindi coerenti con i precedenti studi di tossicità dell'alluminio [16-18], e maggiormente paragonabili alle tossicità del

No Effect Adverse Effect Level (NOAEL, nessun effetto avverso osservato) e del Lowest Observed Adverse Effects Level (LOAEL, effetto avverso osservato minimo).

Dalla nascita a 15 mesi	Adattato dal programma vaccinale COC 2016	Nascita	1 mese	2 mesi	4 mesi	6 mesi	9 mesi	12 mesi	15 mesi	18 mesi	19-23 mesi	2-3 anni	4-6 anni	7-10 anni	11-12 anni	13-15 anni	16-18 anni
Vaccino	Contenuto di alluminio (µg) per dose																
Epatite B1 (HepB)	250	1 dose		2° dose		3° dose											
Rotavirus2 (RV)	0			1° dose	2° dose												
RV1 (serie di 2 dosi); RV5 (serie di 3 dosi)				1° dose	2° dose												
Difterite, tetano, pertosse acellulare (> 7 anni)	625			1° dose	2° dose	3° dose				←4° dose →			5° dose				
Haemophilus influenzae tipo b4 (Hib)	225			1° dose	2° dose			←3° o 4° dose →									
Pneumococco coniugato5 (PCV13)	125			1° dose	2° dose	3° dose		←4° dose →									
Poliovirus inattivato 6 (IPV; > 18 anni)	0			1° dose	2° dose	3° dose							←4° dose →				
Influenza7 (IV; LAIV)	0						Vaccinazione annuale (solo IV) 1 o 2 dosi			Vaccinazione annuale (solo IV) 1 o 2 dosi			Vaccinazione annuale (solo IV) 1 o 2 dosi			Vaccinazione annuale (solo IV) 1 o 2 dosi	
MPR8	0							1° dose					2° dose				
Varicella9 (VAR)	0							1° dose					2° dose				
Epatite A10 (HepA)	250							1° dose		2° dose							
Meningococco11 (Hib-MenC ≥ 6 settimane; MenACWY-D ≥ 9 mesi; MenACWY-CRM ≥ 22 mesi)	0														1° dose		
Difterite, tetano, pertosse acellulare 27 anni	330																Tdap
HPV 13 (2vHPV femmine; 4vHPV, 9vHPV femmine e maschi)	0																Serie di 3 dosi
Meningococco B11	0																
Pneumococco polisaccaride5	sconosciuto																
	Totale µg non aggiustato per kg/ua	250		1225	975	1000		600		875							

Figura 1: programma vaccinale pediatrico 2016-2017

Il programma CDC riflette i tempi previsti di somministrazione di vaccini contenenti alluminio (giallo chiaro) come adiuvante alla nascita, 2, 4, 6, 12 e 18 mesi. La quantità totale di alluminio per visita del vaccino (riquadro verde ombreggiato al di sotto di ogni intervallo programmato) viene segnalata dalla nascita fino a 24 mesi.

Ciascuna delle dosi approvate dalla FDA di 850 µg, 1140 µg e 1250 µg è stata convertita nella dose equivalente espressa in mg / kg usando la regola di Clark [28,39]:

$$\text{Dose per bambini} = \text{dose per adulti} \times \frac{\text{peso del bambino (libbre)}}{\text{peso dell'adulto (libbre)}}$$

Il peso corporeo per i bambini dalla nascita fino a 24 mesi utilizzati nel calcolo della regola di Clark è stato ottenuto utilizzando la velocità di crescita mensile calcolata ottenuta dagli standard di *Weight for Age* per maschi e femmine dal 5 ° al 95 ° percentile [40,41]. Le dosi pediatriche risultanti sono state confrontate con le stesse dosi in un adulto e anche il peso corporeo adeguato a 60 kg.

2.2 Livello minimo di rischio per l'alluminio nei bambini

I livelli minimi di rischio (LMR) per le sostanze pericolose sono di solito derivati usando l'approccio NOAEL / fattore di incertezza [16,17] per evitare tossicità [21]. Le esposizioni risultanti utilizzando i calcoli del peso corporeo sono presentate tracciando l'LMR calcolato nei bambini rispetto alle dosi FDA di 850 µg aggiustate per peso corporeo al 50 ° percentile dalla nascita dei bambini fino a 24 mesi. Abbiamo stimato la dose equivalente umana (*Human Equivalent Dose, HED*) [11,20,21] in un bambino prima ottenendo l'HED adulto utilizzando l'equazione:

$$\text{HED} = \text{dose animale NOAEL (mg/kg)} \times [\text{peso dell'animale (kg)/peso umano (kg)}]^{(1 - \text{esponente BSA } 0.67)}$$

L'HED di NOAEL / LMR può essere calcolato utilizzando un rapporto di Km o l'equazione della Regola degli Esponenti [21] con applicato un fattore di sicurezza aggiuntivo provvisorio di 10. I risultati di questi due calcoli differiscono in modo significativo.

Anche il compartimento anatomico da cui viene assorbito l'alluminio esogeno deve essere preso in considerazione (intestinale vs. intramuscolare).

Il riferimento alla dose animale utilizzato dall'ATSDR è di 260 µg / kg e il peso dell'animale di riferimento del topo è di 0,02 kg [15]. Il riferimento di peso del corpo umano adulto utilizzato era di 60 kg per essere coerente con i precedenti calcoli ATSDR di LMR [16,17]. Un fattore di sicurezza di 10 viene applicato al calcolo finale dell'adulto HED per ottenere il livello di rischio minimo (LMR) per un essere umano adulto [21].

Per ottenere la dose equivalente bambino (*Child Equivalent Dose, CED*) dell'MRL per un adulto, abbiamo moltiplicato il LMR (adulto) per il rapporto del peso corporeo tra bambino ed adulto:

$$\text{CED (mg/kg)} = \text{HED (adulto) mg/kg} \times \frac{\text{peso corporeo (bambino) (kg)}}{\text{peso corporeo (adulto) (kg)}}$$

Inoltre, abbiamo calcolato l'equivalente pediatrico della dose giornaliera provvisoria accettabile utilizzando il riferimento JECFA per adulti di 286 µg (2 µg / kg per settimana di assunzione settimanale tollerabile JECFA diviso per 7 giorni convertiti in microgrammi) per stabilire una dose giornaliera provvisoria tollerabile rivista e corretta assunzione dall'assunzione settimanale regolata dal peso corporeo del bambino dal 5 al 95 percentile, dalla nascita a 24 mesi. Va ricordato che i livelli animali (ATSDR e JECFA MRL) che contribuivano a questi livelli stimati rivisti erano basati su esposizioni enterali (da dieta) e su animali adulti.

L'unico punto di riferimento per la dose di sicurezza disponibile per le esposizioni parenterali di alluminio di grandi e piccole quantità è da CFR / FDA 21CFR201.323 per esposizione endovenosa. Tale limite di sicurezza è posto a 4-5 µg / kg / die, senza riferimento alla durata del trattamento, e si applica ai soggetti con disfunzione renale, una condizione molto comune tra i neonati prematuri.

3. Risultati

3.1. Dosi FDA regolate in base al peso corporeo nei neonati e negli adulti

Ciascuna delle dosi FDA di alluminio (850 µg, 1100 µg e 1250 µg) è stata suddivisa per il peso corporeo giornaliero per classe di peso percentuale per età dalla nascita a 2 anni ed espressi come µg / kg. Allo stesso modo, questi stessi limiti di dose sono stati divisi per il peso corporeo adulto di 60 kg per confronto (µg / kg).

3.2. Dose FDA di 850 µg adattata in base al peso corporeo in neonati ed adulti

Se i bambini ricevessero 850 µg di alluminio (iniettato), l'esposizione supererebbe di gran lunga l'unico limite di sicurezza disponibile per CFR / FDA 4-5 µg / kg / giorno (Figura 2). Rispetto a un adulto di peso corporeo di 60 kg, un bambino maschio alla nascita riceve 254 µg / kg, 152,7 µg / kg a 2 mesi, 121,4 µg / kg a 4 mesi, 107,1 µg / kg a 6 mesi, 92,8 µg / kg a 1 anno e 69,9 µg / kg a 2 anni rispetto a 12,5-14,2 µg / kg in un adulto. Una femmina il cui peso corporeo è generalmente inferiore al maschio riceve in confronto un peso leggermente superiore di alluminio. Al 50 ° percentile del peso corporeo, un bambino maschio alla nascita riceve il 1800% di alluminio in più per peso corporeo rispetto a un maschio adulto di 60 kg, il 1074,6% a 2 mesi, il 954,9% a 4 mesi, il 754,2% a 6 mesi, l'876% a 1 anno e 493% a 2 anni di età più alluminio per peso corporeo rispetto a un adulto di 60 kg (Tabella 1, Fig. 2).

3.3. Dose FDA di 1140 µg dose adattata in base al peso corporeo in neonati ed adulti

Rispetto a un adulto di peso corporeo di 60 kg, un bambino maschio alla nascita riceve 340,7 µg / kg, 204,8 µg / kg a 2 mesi, 162,8 µg / kg a 4 mesi, 143,7 µg / kg a 6 mesi, 124,4 µg / kg a 1 anno e 93,8 µg / kg a 2 anni rispetto a 16,8,8-19,0 µg / kg in un adulto. Similmente, una femmina il cui peso corporeo è generalmente inferiore al maschio riceve un peso leggermente superiore di alluminio in confronto.

3.4. Dose FDA di 1250 µg dose adattata in base al peso corporeo in neonati ed adulti

Rispetto a un adulto il cui peso corporeo è di 60 kg, un bambino maschio alla nascita riceve 373,5 µg / kg, 224,5 µg / kg a 2 mesi, 178,5 µg / kg a 4 mesi, 157,5 µg / kg a 6 mesi, 136,4 µg / kg a 1 anno e 102,9 µg / kg a 2 anni rispetto a 18,4-20,8 µg / kg in un adulto. Similmente, una femmina il cui peso corporeo è generalmente inferiore al maschio riceve un peso leggermente superiore di alluminio in confronto.

3.5. Confronto della dose FDA adattata in base al peso corporeo tra neonati e adulti

Per definire una modifica appropriata nella quantità di alluminio per dose in un vaccino pediatrico, e separare dal precedente HED in base al LMR, abbiamo applicato la regola di Clark ad entrambe le dosi FDA per 68 kg e 60 kg a 850 mcg mediante test (0,85 mg per dose per dosaggio). La dose calcolata di 850 µg per dose al 50 ° percentile è inferiore quando si converte il riferimento del peso corporeo adulto a 60 kg, il peso corporeo dell'adulto generalmente utilizzato negli studi di tossicità (Fig 3)

Alla nascita, e in considerazione della Regola di Clark nel dosaggio pediatrico (Peso corporeo per adulti = 68 kg), questi calcoli, basati su ipotesi, suggeriscono che un bambino al 50 ° percentile di peso corporeo non dovrebbe ricevere più di 44 µg / kg. Tale modifica della quantità effettiva di alluminio per dose di un vaccino pediatrico (o di vaccini al giorno) dovrebbe essere pari o inferiore all'LMR basato sulla dieta e basato sugli adulti. Sfortunatamente, ciò supererebbe l'LMR calcolato di 10,31 µg / kg alla nascita e 37,48 µg / kg a 2 anni di età.

3.6. Livello minimo di rischio giornaliero di alluminio (LMR) nei bambini, tutte le fonti con fattore di sicurezza applicato

In un adulto che pesa 60 kg per cui il K_m umano è 37 e il K_m del topo è 3 (rapporto $K_m = 0,081$), il Livello Minimo di Rischio (LMR) di 26 mg Al / kg dose per il topo (26) sarebbe $26 \times 0,081 = 2,11$ mg / kg / die. L'applicazione del fattore di sicurezza 10 correggerebbe l'LMR a 0,21 mg / kg / giorno, non 1 mg / kg / giorno. L'applicazione di un ulteriore fattore di sicurezza pari a 10 è la fase finale accettata prima di stabilire la prima dose durante il periodo di prova [12,13,15-20].

Il K_m in un bambino di 8 anni con un peso di 20 kg è 25 [15]. L'HED pediatrico calcolato del Minimal Risk Level (LMR) / NOAEL utilizzando la formula del rapporto K_m sarebbe di 26 mg / kg di volte 0,12 (Rapporto

in $K_m = 3/25$) diviso per il fattore di sicurezza di 10 risulterebbe in un HED di 3,12 mg Al / kg prima che venga applicato un fattore di sicurezza pari a 10 utilizzando il rapporto in K_m . Con il fattore di sicurezza di 10, l'LMR stimato sarebbe di 312 $\mu\text{g Al / kg / giorno}$ in un bambino di 8 anni di peso di 20 kg. Ciò ridurrebbe effettivamente la stima del LMR ATSDR da 1000 $\mu\text{g di Al / kg al giorno}$ a 312 $\mu\text{g Al / kg / giorno}$ di un fattore di 3,2 con il fattore di sicurezza applicato.

Senza un fattore di sicurezza provvisorio, l'LMR sarebbe superiore all'apporto giornaliero tollerabile provvisorio ATSDR di 1 mg Al / kg al giorno, ma inferiore alla dose giornaliera provvisoria tollerabile JECFA di 290 $\mu\text{g Al / kg}$, che costituisce una preoccupazione. Con il fattore di sicurezza di 10, l'LMR stimato nella popolazione pediatrica (<8 anni di età) è inferiore a 500 $\mu\text{g / kg}$ di peso corporeo da tutte le fonti compresi gli additivi compresi tra 100-350 $\mu\text{g / giorno}$ identificati nella relazione JECFA relativa ai bambini 2 anni.

3.7. MRL basato sulla regola degli esponenti / fattore di sicurezza di 10

Considerando che l'HED calcolato dal rapporto K_m potrebbe non essere appropriato per l'uso con esposizioni intramuscolari [22,23], abbiamo usato l'equazione della regola degli esponenti [21]

$$\text{HED} = \text{dose animale NOAEL (mg/kg)} \times [\text{peso animale (kg)}/\text{peso umano (kg)}]^{(1-\text{esponente BSA } 0.67)}$$

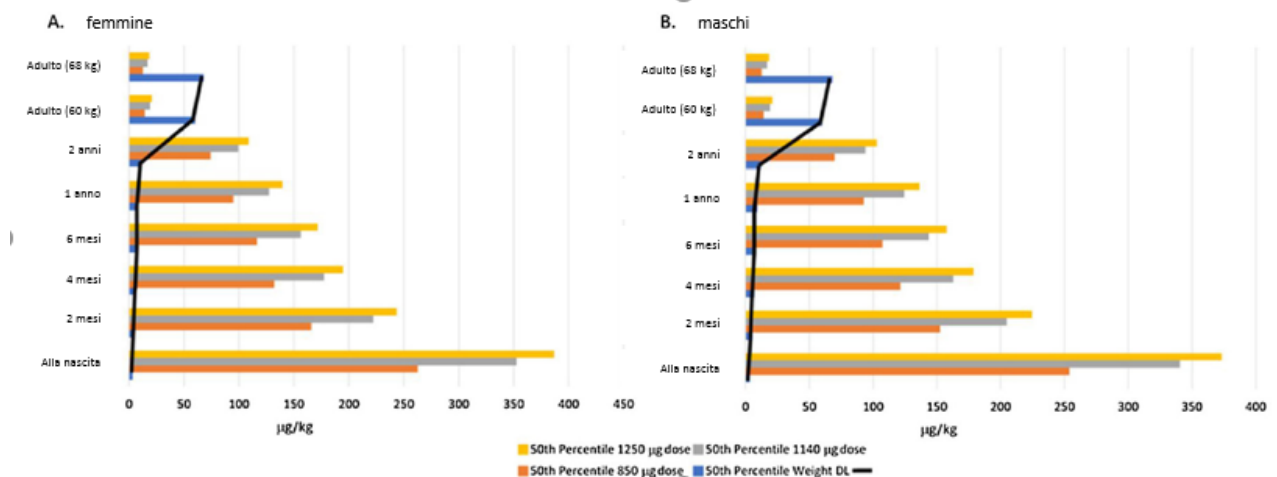


Figura 2: Dosi FDA ed esposizione aggiustati in base al peso corporeo. Comparazione tra bambini ed adulti
In un bambino maschio dalla nascita fino a 36 mesi con il peso corporeo del 50o percentile, la dose FDA di 850 μg aggiustata per peso corporeo dimostra che un adulto di 60 kg riceve molto meno alluminio per iniezione per kg rispetto a un bambino, in particolare quei bambini con pesi inferiori del corpo.

In un adulto dal peso di 60Kg, l'HED calcolato utilizzando l'equazione di cui sopra, dovrebbe essere 1850 $\mu\text{g/kg}$ senza l'applicazione del fattore di sicurezza di 10. Applicando il fattore di sicurezza 10, dovrebbe risultare in un valore di HED (LMR) pari a 185 $\mu\text{g/kg}$, significativamente più basso rispetto all'attuale ATSDR LMR/NOAEL di 1000 $\mu\text{g Al / kg/die}$. Questo si avvicina al calcolo corretto del JECFA del 2007 di 140 $\mu\text{g / kg / giorno}$ (PTWI di 1000 $\mu\text{g Al / kg}$ a settimana).

Con questo non intendiamo dire che questo livello di esposizione sia sicuro per le iniezioni pediatriche. Il corrispondente dell'HED in un bambino dovrebbe tenere in considerazione il rapporto tra Peso corporeo_(bambino)/peso corporeo_(adulto), tale che $\text{LMR}_{(\text{bambino})} = \text{LMR}_{(\text{adulto})} (\text{mg / kg}) \times \text{peso corporeo}_{(\text{bambino})} / \text{peso corporeo}_{(\text{adulto})}$.

Alla nascita, per i bambini maschi al 50° percentile di peso corporeo, l'LMR giornaliero sarebbe di 16.01 $\mu\text{g/kg/die}$ (0.01601 mg/kg/die) and 58.12 $\mu\text{g/kg/die}$ a 2 anni (vedere i Files Supplementari). Come ci si aspetta, una femmina, avrebbe un valore corretto di 15.46 $\mu\text{g/kg/die}$ alla nascita e di 54.46 $\mu\text{g/kg/die}$ a 24 mesi. In un bambino, tale LMR ricalcolato sarebbe inferiore alla dose giornaliera provvisoria ammissibile dal JECFA del 1989 dovuta ad esposizioni dietetiche e additive di 140 $\mu\text{g / kg /die}$ e

all'assunzione giornaliera provvisoria tollerabile attuale di 290 µg/kg/ die al giorno, sia prima che dopo il fattore di sicurezza di 10 venga applicato (fig 3).

Per esempio, utilizzando un vaccino specifico, gli LMR in base al peso corporeo e le esposizioni all'alluminio contenuto nel vaccino DTaP (con 625 µg di alluminio per dose) mostrano esposizioni nei bambini a 2 mesi che superano ampiamente l'LMR dietetico derivato da topi adulti tenendo in considerazione il peso corporeo (fig 4).

MASCHI (50° percentile peso corporeo)				
età	Peso corporeo (kg)	850 µg dose (µg/kg)	1140 µg dose (µg/kg)	1250 µg dose (µg/kg)
Nascita	3.35	254.00	340.66	373.54
2 mesi	5.57	152.67	204.76	224.52
4 mesi	7.00	121.39	162.80	178.51
6 mesi	7.93	107.13	143.67	157.55
1 anno	9.17	88.10	118.16	129.56
2 anni	12.15	69.95	93.82	102.87
Adulto (60 kgs)	60	14.17	19.00	20.83
Adulto (68 kgs)	68	12.5	16.76	18.38

FEMMINE (50° percentile peso corporeo)				
età	Peso corporeo (kg)	850 µg dose (µg/kg)	1140 µg dose (µg/kg)	1250 µg dose (µg/kg)
Nascita	3.23	262.98	352.70	386.73
2 mesi	5.13	165.75	222.30	243.75
4 mesi	6.42	132.32	177.47	194.59
6 mesi	7.29	116.49	156.23	171.30
1 anno	8.95	94.99	127.40	139.69
2 anni	11.48	74.06	99.92	108.91
Adulto (60 kgs)	60	14.17	19.00	20.83
Adulto (68 kgs)	68	12.5	16.76	18.38

Tabella 1: Dosi FDA adattate in base al peso corporeo (µg/kg), dall'infanzia all'età adulta, popolazione US.

4. Discussione

L'alluminio in varie forme è utilizzato come adiuvante in molti vaccini autorizzati dalla Food and Drug Administration degli Stati Uniti [1-7]. Nel 2002, il programma di vaccinazione per l'infanzia, che includeva l'alluminio come adiuvante era limitato a Difterite-Tetano-Pertosse (DPT) ed Epatite B (HepB). La quantità di alluminio per dose di vaccino andava da 250 µg/dose (HepB) fino a 625 µg/dose (DPT). Nel 2016, comunque, il numero di vaccini singoli pediatrici contenenti alluminio come adiuvante, dalla nascita fino ai 36 mesi è aumentato significativamente e spazia da 250 a 625 µg/dose [3-6] (Tabella 1; Fig 1). Quei vaccini, che contengono alluminio come adiuvante per aumentare l'antigenicità [33,34] includono l'Epatite B (HepB) [2], Difterite, Tetano, Pertosse acellulare (DTaP) [3], Haemophilus Influenza B (HiB) [4], Epatite A (HepA) [5] e lo pneumococcico coniugato (PCV13) [6]. Qui, discutiamo ulteriormente il background e la provenienza della derivazione delle dosi di alluminio, problemi che attualmente potrebbero causare delle tossicità dose-correlate impreviste.

Le dosi di riferimento della FDA di 850 µg, 1140 µg e di 1250 µg non sono state stimate considerando il peso corporeo della popolazione pediatrica né devono necessariamente riflettere direttamente le dosi non-tossiche stabilite in quella popolazione prima di questo report. Le attuali quantità di alluminio nei

vaccini non sono sufficientemente caratterizzate: le dosi di alluminio utilizzate nei vaccini, e l'esposizione per giorno che risulta dalla programmazione vaccinale della CDC, non sono state determinate sulla base di studi sulla sicurezza sulle dosi incrementate negli animali. Né sono state determinate considerando la tossicità dose-correlata, né la differenza di massa tra adulti e bambini. Questo problema deve essere affrontato.

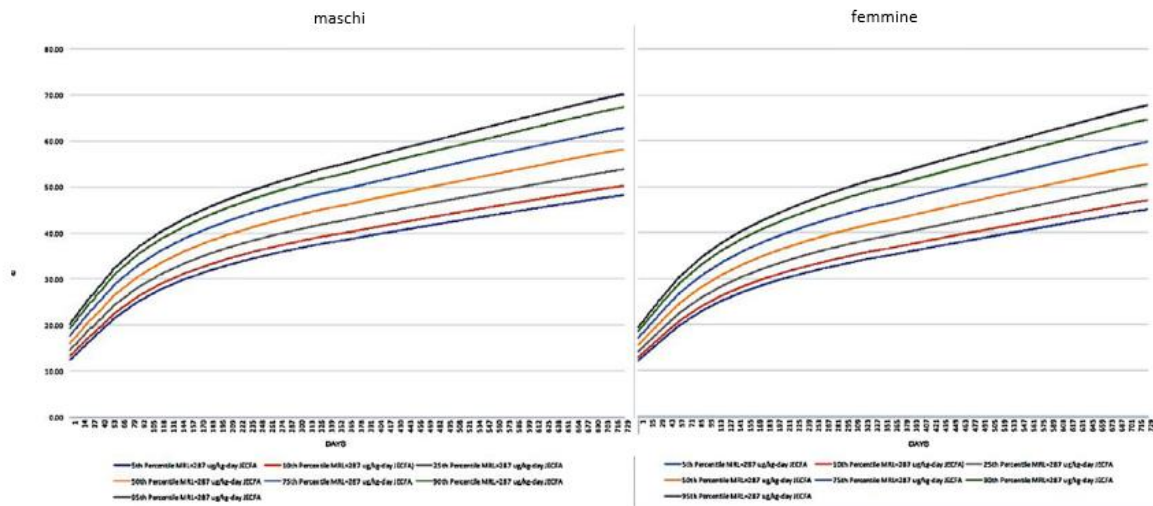


Figura 3: Dosi FDA ed esposizione adattati in base al peso corporeo. Comparazione tra bambini ed adulti

In un bambino maschio dalla nascita fino a 36 mesi con il peso corporeo del 50o percentile, la dose FDA di 850 μg aggiustata per peso corporeo dimostra che un adulto di 60 kg riceve molto meno alluminio per iniezione per kg rispetto a un bambino, in particolare quei bambini con pesi inferiori del corpo.

I nostri risultati dimostrano che l'esposizione all'alluminio da vaccini eccederebbe il Limite di Dose Pediatrica calcolato, o il PDL di 850 μg di alluminio /dose per dosaggio, se corretto a 44 μg secondo la Regola di Clark stimata dalla dose di FDA per adulti di 850 μg / dose (850 μg x peso corporeo (bambino) 3,35 / peso corporeo (Adulto) 68 kg) alla nascita, a 2,5, 4,5 e 6,5 mesi. Deve essere enfatizzato che è stato preso in considerazione alla nascita, solamente il contenuto di alluminio nel vaccino HepB. Solo a 6,5 mesi il livello di alluminio combinato scende al di sotto del livello di dose calcolato di 1140 e 1250 μg / kg al 50° percentile del peso corporeo. Questa è una preoccupazione chiaramente significativa per l'attuale programma vaccinale, specialmente nel contesto degli intervalli di tempo raccomandati (e sempre più fortemente applicati) alla nascita, 2, 4 e 6 mesi.

Tutte le dosi individuali sono eguali o al di sotto della dose della FDA di 850 μg per dosaggio. Tuttavia, quando somministrate contemporaneamente secondo il programma raccomandato della CDC, il "limite" è notevolmente superato, se non modificato in accordo con i calcoli delle dosi pediatriche standard. Queste dosi sono somministrate indipendentemente dal peso corporeo. Per esempio, il foglietto illustrativo del prodotto del vaccino DTaP stabilisce:

"Ogni dose da 0,5 mL contiene sali di alluminio come adiuvante non superiori a 0,85 mg (850 μg) di alluminio per dosaggio"

Quando adattato per il peso corporeo ($\mu\text{g}/\text{kg}$) e confrontato ad un adulto di 60-68Kg, il carico di alluminio è significativamente più elevato nelle coorti dalla nascita a 24 mesi di età.

Il programma delle vaccinazioni pediatriche si è significativamente ampliato dal 2002 al 2016, e la quantità di alluminio per dose di vaccino, in particolare l'uso del TDaP, è cambiato. Le dosi combinate di alluminio a 2, 4 e 6 mesi sono rispettivamente 1225 μg , 975 μg e 1225 μg (tabella 2) e non sono state determinate tenendo in considerazione il peso corporeo del lattante e del bambino.

Popolazione	Anno di pubblicazione	Esposizione	NOAEL	LOAEL	Riferimento
Topo	1989	Da dieta	62 mg Al/kg	130 mg Al/kg	Golub et al [24]
Topo	2001	Da dieta	26 mg Al/kg	130 mg Al/kg	Golub et al [25]
Topo	2005	Da dieta	53 mg Al/kg	103 mg Al/kg	Colomina et al [26]
Topo	2000	Da dieta	- mg Al/kg	100 mg Al/kg	Golub et al [27]

Tabella 2: Riferimenti ATSDR per NOAEL e LOAEL

Se espresso considerando il peso corporeo del lattante e del bambino (Peso corporeo_(bambino)) ottenuto dalle schede tecniche della crescita del CDC, i livelli individuali di alluminio ($\mu\text{g}/\text{kg}$) nei vaccini HepB, DTaP, HiP e PCV eccedono il limite di $850 \mu\text{g}$ della FDA per un fattore di 1,15.

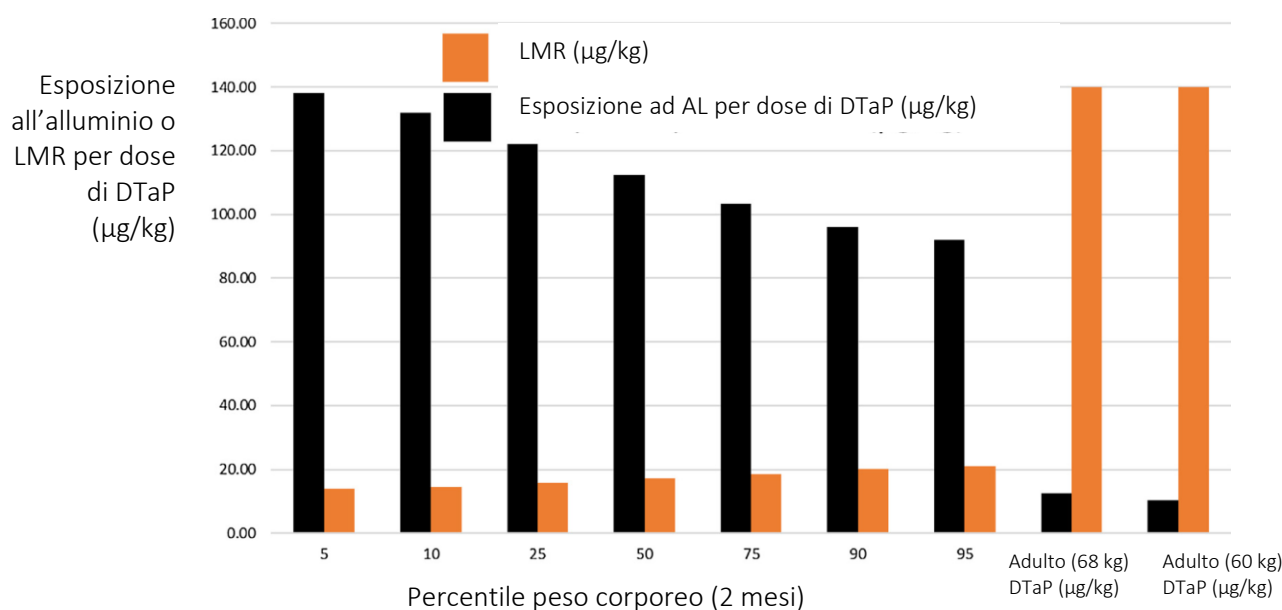


Figura 4: Confronto tra l'MRL Pediatrico Calcolato e le esposizioni ad AL dal vaccino DTaP per Bambini (e adulti) che utilizzano la regola di Clark per adattare ai pesi corporei pediatrici ($\mu\text{g}/\text{kg}$, al giorno, a 2 mesi e per adulto).

4.1 L'errore propagato del PTWI (assunzione provvisoria settimanale tollerabile)

Nella nostra review riguardo la provenienza dell'informazione sui limiti dell'Al, abbiamo scoperto uno sfortunato quanto serio errore nel calcolo del LMR. Il JECFA, Comitato di esperti congiunto sugli additivi alimentari) ha stabilito un PTWI per l'alluminio di $7000 \mu\text{g}/\text{kg}$ di peso corporeo alla settimana nel 1989. Il PTWI applicato a tutti i composti di alluminio nel cibo, inclusi quegli additivi che sono rimasti in vigore fino al 2011. L'assunzione quotidiana tollerabile provvisoria (da tutte le sorgenti) sarebbe quindi stata intorno ai $1000 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{die}$.

Dal 1989 al 2011, l'LMR era stato riportato essere $1000 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{die}$ (da tutte le fonti). Questo numero fu revocato nel 2011, quindi l'assunzione giornaliera provvisoria tollerabile dovrebbe essere attualmente di $0,29 \text{ mg Al}/\text{kg}$ al giorno sulla base dell'assunzione tollerabile provvisoria settimanale (PTWI) di $2 \text{ mg Al}/\text{kg}$ alla settimana, come espresso dal Comitato di esperti congiunto Organizzazione delle Nazioni unite per l'alimentazione e l'agricoltura e dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (FAO / OMS) sugli additivi alimentari (JECFA) nel 2011.

Nel 1996, il Comitato per la Nutrizione, nel loro articolo sulla neurotossicità dell'alluminio nei bambini, riportava il valore dell'assunzione settimanale tollerabile provvisoria di $1000 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{die}$ [12] della JECFA

del 1989 come invece assunzione giornaliera provvisoria [14]. Sfortunatamente, questo errore sovrastima l'assunzione giornaliera tollerabile provvisoria di alluminio da tutte le fonti negli adulti di un fattore di almeno 2. Dato che 1000 µg/Kg alla settimana sono stati di fatto rimpiazzati da un PTWI di 2000 µg/Kg alla settimana nel 2011, l'assunzione giornaliera provvisoria tollerabile dovrebbe essere attorno ai 286 µg/Kg al giorno, e in considerazione che il più alto consumo medio di un bambino a 2 anni è 500 µg / kg al giorno [15] Il valore di 1000 µg/Kg/die sembrerebbe riportare il 850 µg per dose all'interno del range, ma è fuori per un fattore di almeno 2 e forse 7. Il ruolo del ricorrere su un PTWI scorretto sulla salute pubblica potrebbe essere significativo, soprattutto per i lattanti, soprattutto per i lattanti a basso peso corporeo e quelli nati prematuramente.

Attraverso i nostri calcoli, e tenendo in considerazione la via di esposizione, utilizzando la regola degli esponenti per calcolare l'HED, il corretto LMR giornaliero (da tutte le fonti, tutte le dosi) nella popolazione pediatrica dovrebbe essere stato determinato essere non maggiore di 10.31-16.01 µg/Kg al giorno alla nascita fino a 58.12 µg/Kg al giorno a 2 anni di età. Le attuali esposizioni dai vaccini pediatrici eccedono questi livelli; per una media del peso (US) di 3,3 kg nei maschi, il vaccino per HepB con 250 µg porta a 75.75 µg/Kg/die. La seduta di vaccinazione a due mesi replica l'eccedenza. Un'eccessiva esposizione in lattanti a basso peso e nel periodo neonatale è ovviamente ancora più problematica. L'utilizzo del vaccino HepB in un lattante di 2kg (il limite -cut-off non ufficiale della FDA per la vaccinazione nell'unità di terapia intensiva neonatale, NICU) porta a 150 µg / kg /die. Le pratiche di vaccinazioni nel NICU devono essere rivisitate.

I nostri risultati dimostrano che il carico di alluminio dai vaccini eccederebbe la stima del PDL di porta a 850 µg alluminio /dose per dosaggio, se corretta per 47 µg dalla regola di Clark stimata dal limite della dose federale per gli adulti di 850 µg /dose (850 µg x peso corporeo_(bambino)3.35 kg/peso corporeo_(adulti) 68 kg) alla nascita fino a 24 mesi. I limiti corretti della dose sarebbero ancora più alti del LMR calcolato al giorno.

Il NOAEL e LOAEL sono stati stabiliti per ridurre l'incidenza dei noti ed allarmanti effetti neurotossici e sono basati su studi di topi adulti utilizzando alluminio ingerito a basso assorbimento e non alluminio iniettato ad elevato assorbimento. L'intero paradigma per dosare l'alluminio nei vaccini non è stato determinato considerando il peso corporeo, sulla base del NOAEL (non del LOAEL) il quale è maggiormente in linea con gli standard universali nella pratica medica durante il dosaggio pediatrico [28,29]. Questi dovrebbero essere calcolati per bambino dati il peso corporeo prima della vaccinazione, e i limiti giornalieri posti sulla base dell'alluminio totale iniettato, considerando tutte le dosi e tutte le sorgenti. Tuttavia, anche quando sono fatte le correzioni necessarie e appropriate, i nostri risultati predicono un aumentato rischio di neurotossicità dalla nascita fino a 36 mesi particolarmente quando il carico corporeo accumulato viene preso in considerazione ad ogni intervallo di vaccino programmato. Sebbene non sia stato preso in considerazione nella presente analisi, siamo consapevoli che il carico corporeo di alluminio accumulato ad ogni intervallo delle vaccinazioni sarà più alto rispetto al livello individuale di alluminio in un singolo vaccino. Questo perché ci sarà una frazione del carico corporeo di alluminio trattenuta, risultante dai precedenti intervalli di dosaggio dato il peso corporeo (in aumento) di cui bisogna tenere conto particolarmente in considerazione delle potenzialità tossiche.

I calcoli di Mitkus et al. [32] si basavano sull'errore propagato giorno/settimana. Mitkus et al. [32] hanno pubblicato il loro studi nel 2011, quando il PTWI era ancora a 1mg/kg, diffondendo ulteriormente l'errore giorno/settimana.

Pertanto, le attuali valutazioni sull'accumulo di alluminio dalla vaccinazione e sulle esposizioni dietetiche non sono corrette. Alcune fonti alimentari contengono livelli inaccettabilmente elevati di alluminio, come in alcuni brand di antiacidi. Gli individui interessati possono esercitare la scelta del consumatore ed evitare prodotti alimentari che includano l'alluminio.

Mentre l'effetto della nostra riduzione come è stata proposta sull'antigenicità finale del vaccino è sconosciuta, anche gli effetti completi su un cervello in via di sviluppo di alte dosi di alluminio iniettato sono sconosciuti. Sono state recentemente pubblicate segnalazioni di accumulo di alluminio associato ad autismo [42] in cui nella maggioranza dei campioni di tessuto da cervelli post-mortem di pazienti con diagnosi di disturbo dello spettro autistico (ASD) sono state trovate alte concentrazioni di alluminio.

Alcuni campioni contenevano concentrazioni estremamente elevate e lo studio aveva localizzato anche alluminio nelle cellule gliali cerebrali, in accordo con i modelli di gliosi indotta da alluminio nei disordini dello sviluppo neurologico.

Funding

I costi dello studio e della pubblicazione sono stati finanziati da donazioni pubbliche all'Istituto per la Conoscenza Pura ed Applicata, un puro ente pubblico di beneficenza registrato da organizzazioni di ricerca non profit.

Conflitto di interessi

RR non ha alcun conflitto di interessi reale o potenziale. JLW ha un potenziale conflitto di interessi poiché si è consultato su due casi di lesioni da vaccino per conto dei denunciati.

Appendice A. Dati supplementari

Dati supplementari associati a questo articolo possono essere trovati, nella versione online, all'indirizzo <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2018.02.025>.

Bibliografia

[1] US Centers for Disease Control and Prevention. Appendix B. Vaccine Excipient & Media Summary Excipients Included in U.S. Vaccines, by Vaccine; 2015 <https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/downloads/appendices/b/excipient-table-2.pdf>.

[2] ENGERIX-B [Hepatitis B Vaccine (Recombinant)]

https://www.gsksource.com/pharma/content/dam/GlaxoSmithKline/US/en/Prescribing_Information/Engerix-B/pdf/ENGERIX-B.PDF.

[3] INFANRIX (Diphtheria and Tetanus Toxoids and Acellular Pertussis Vaccine Adsorbed).

https://www.gsksource.com/pharma/content/dam/GlaxoSmithKline/US/en/Prescribing_Information/Infanrix/pdf/INFANRIX.PDF.

[4] Liquid PedvaxHIB® [Haemophilus b Conjugate Vaccine].

https://www.merck.com/product/usa/pi_circulars/p/pedvax_hib/pedvax_pi.pdf.

[5] HAVRIX (Hepatitis A Vaccine) Suspension for Intramuscular Injection.

https://www.gsksource.com/pharma/content/dam/GlaxoSmithKline/US/en/Prescribing_Information/Havrix/pdf/HAVRIX.PDF.

[6] PREVNAR 13 (Pneumococcal 13-valent Conjugate Vaccine).

<http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/UCM201669.pdf>.

[7] Child and Adolescent Schedule. Center for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/vaccines/schedules/hcp/imz/child-adolescent.html>.

[8] Chapter 21 of the US Code of Federal Regulations [610.15(a)] e-CRF data update December 29, 2016.

[9] N.W. Baylor, W. Egan, P. Richman, Aluminum salts in vaccines—US perspective, *Vaccine* 20 (Suppl. 3) (2002) S18–S23.

[10] J.C. May, J.J. Progar, R. Chin, The aluminum content of biological products containing aluminum adjuvants: determination by atomic absorption spectrometry, *J. Biol. Stand.* 12 (1984) 175–183.

[11] L.S. Keith, D.E. Jones, C.H. Chou, Aluminum toxicokinetics regarding infant diet and vaccinations, *Vaccine* 20 (Suppl. 3) (2002) S13–S17.

[12] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain food additives and contaminants [Thirty-third report]. WHO Technical Report Series, No. 776, 1989.

[13] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain food additives and contaminants [Eightieth report]. WHO Technical Report Series, No. 995, 2016.

[14] Committee on Nutrition. Aluminum Toxicity in Infants and Children. *Pediatrics* Vol. 97, No. 3 March 1996.

[15] ATSDR Toxicological Profile for Aluminum, September 2008. CAS#: 7429-90-5.

[16] APPENDIX A, ATSDR MINIMAL RISK LEVELS AND WORKSHEETS.

[17] APPENDIX B, ATSDR MINIMAL RISK LEVELS AND WORKSHEETS.

[18] M.A. Dorato, J.A. Engelhardt, The no-observed-adverse-effect-level in drug safety evaluations: use issues, and definition(s), *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 42 (2005) 265–274.

[19] U.S. Department of Health & Human Services. Environmental Health and Toxicology Specialized Information Services. Retrieved January 9, 2016. Based upon: Duffus, J. H.; Nordberg, M.; Templeton, D. M. Glossary of terms used in toxicology, 2nd edition (IUPAC Recommendations 2007).

[20] B.G. Reigner, K.S. Blesch, Estimating the starting dose for entry into humans: principles and practice, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 57 (2002) 835–845.

[21] V. Sharma, J.H. McNeill, To scale or not to scale: the principles of dose extrapolation, *Br. J. Pharmacol.* 157 (2009) 907–921, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00267.x>.

[22] A.B. Nair, S. Jacob, A simple practice guide for dose conversion between animals and human, *J. Basic Clin. Pharm.* 7 (2016) 27–31, <http://dx.doi.org/10.4103/0976-0105.177703>.

[23] J.A. Pennington, S.A. Schoen, Estimates of dietary exposure to aluminium, *Food Addit. Contam.* 12 (1995) 119–128.

[24] M.S. Golub, J.M. Donald, M.E. Gershwin, C.L. Keen, Effects of aluminum ingestion on spontaneous motor activity of mice, *Neurotoxicol. Teratol.* 11 (1989) 231–235.

[25] M.S. Golub, S.L. Germann, Long-term consequences of developmental exposure to aluminum in a suboptimal diet for growth and behavior in Swiss Webster mice, *Neurotoxicol. Teratol.* 23 (2001) 365–372.

- [26] M.T. Colomina, J.L. Roig, M. Torrente, et al., Concurrent exposure to aluminum and stress during pregnancy in rats: effects on postnatal development and behavior of the offspring, *Neurotoxicol. Teratol.* 27 (2005) 565–574.
- [27] M.S. Golub, S.L. Germann, B. Han, et al., Lifelong feeding of a high aluminum diet to mice, *Toxicology* 150 (2000) 107–117.
- [28] *Clinical Calculation 5th Edition*, Chapter 12 Pediatric Dosage Pages 211–232.
- [29] O. Mameli, M.A. Caria, P. Melis, et al., Effect of aluminum consumption on the vestibulo-ocular reflex, *Metab. Brain Dis.* 21 (2006) 86, <http://dx.doi.org/10.1007/s11011-006-9010-9>.
- [30] L. Tomljenovic, C.A. Shaw, Mechanisms of aluminum adjuvant toxicity and autoimmunity in pediatric populations, *Lupus* 21 (2012) 223–230, <http://dx.doi.org/10.1177/0961203311430221>.
- [31] L. Tomljenovic, C.A. Shaw, Do aluminum vaccine adjuvants contribute to the rising prevalence of autism, *J. Inorg. Biochem.* 105 (2011) 1449–1489.
- [32] R.J. Mitkus, D.B. King, M.A. Hess, et al., Updated aluminum pharmacokinetics following infant exposures through diet and vaccination, *Vaccine* 29 (2011) 9538–9543, <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.09.124>.
- [33] N.D. Priest, The biological behaviour and bioavailability of aluminum in man, with special reference to studies employing aluminium-26 as a tracer: review and study update, *J. Environ. Monit.* 6 (2004) 375–403.
- [34] A. Mirza, A. King, C. Troakes, C. Exley, Aluminium in brain tissue in familial Alzheimer's disease, *J. Trace Elem. Med. Biol.* 40 (2017) 30–36.
- [35] D. Malakoff, Public health. Aluminum is put on trial as a vaccine booster, *Science* 288 (2000) 1323–1334.
- [36] J.G. Dórea, Exposure to mercury and aluminum in early life: developmental vulnerability as a modifying factor in neurologic and immunologic effects, *Int. J. Environ. Res. Public Health* 12 (2015) 1295–1313, <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph120201295>.
- [37] J.A. Pennington, S.A. Schoen, Estimates of dietary exposure to aluminium, *Food Addit. Contam.* 2 (1995) 119–128.
- [38] R.A. Yokel. Aluminum in food – The nature and contribution of food additives. In: Yehia El-Samragy (ed.), *Food Additive*, Intech (2012) pp 203–228, ISBN 978-953-51-0067-6.
- [39] M. Cella, C. Knibbe, M. Danhof, O. Della Pasqua, What is the right dose for children? *Br. J. Clin. Pharmacol.* 70 (2010) 597–603, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2125.2009.03591>.
- [40] United States Centers for Disease Control and Prevention. Growth Charts – Clinical Growth Charts. <https://www.cdc.gov/growthcharts/charts.htm>.
- [41] United States Food and Drug Administration. TITLE 21 – FOOD AND DRUGS CHAPTER I – FOOD AND DRUG ADMINISTRATION DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES SUBCHAPTER C – DRUGS: GENERAL <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=201.323> [21CFR201.323].
- [42] M.D. Mold, A. Umar, A. King, C. Exley, Aluminium in brain tissue in autism, *J. Trace Elem. Med. Biol.* 46 (2018) 76–82, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtemb.2017.11.012>.LMR