



INFORME FINAL

***SÍNTESIS DE EVIDENCIA SOBRE LA  
SEGURIDAD DE VACUNAS QUE CONTIENEN  
TIMEROSAL***

*Santiago, diciembre 2014*

# Síntesis de evidencia sobre la seguridad de vacunas que contienen timerosal

## INFORME FINAL

Diciembre 2014

Autores:

Gabriel Rada (<sup>1 2 3 4</sup>)

Miguel Araujo (<sup>5</sup>)

Héctor Gatica (<sup>6 7</sup>)

Lorena Cifuentes (<sup>1</sup>)

Ignacio Neumann (<sup>1 2 3 4</sup>)

Blanca Peñaloza (<sup>1</sup>)

José Adolfo Rodríguez (<sup>8</sup>)

Este documento ha sido preparado por un grupo de expertos convocado por la Academia de Medicina de Chile, a solicitud del Ministerio de Salud. Su objetivo primario es sintetizar la evidencia existente sobre los riesgos de la utilización de timerosal en las vacunas, respecto de los trastornos del neurodesarrollo. La Academia de Medicina actúa como garante de la ausencia de conflictos de intereses relevantes, e independencia de los autores de este reporte.

---

<sup>1</sup> Programa de Salud Basada en Evidencia, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

<sup>2</sup> GRADE working group

<sup>3</sup> The Cochrane Collaboration

<sup>4</sup> Fundación Epistemonikos

<sup>5</sup> Dirección de Calidad, Clínica Indisa.

<sup>6</sup> Departamento de Medicina, Hospital Clínico Universidad de Chile

<sup>7</sup> Centro de Epidemiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

<sup>8</sup> Profesor Titular de Medicina PUC, Miembro de Número Academia de Medicina

## Contenido

Resumen.....	4
Antecedentes .....	5
Objetivos .....	5
Métodos .....	5
Criterios de inclusión y exclusión .....	6
Métodos de búsqueda para la identificación de estudios .....	7
Extracción y análisis de datos.....	8
Resumen de hallazgos y evaluación de calidad de la evidencia.....	9
Resultados .....	10
Resultados de la búsqueda .....	10
Riesgo de sesgo de los estudios incluidos .....	13
Efectos del timerosal.....	15
Conclusiones de los autores.....	18
Resumen de los resultados y aplicabilidad de la evidencia .....	18
Diferencias entre este informe y otras fuentes .....	18
Implicancias para los tomadores de decisiones.....	19
Referencias.....	20
Anexo 1: Antecedentes adicionales .....	23
Anexo 2. Consideraciones metodológicas.....	27
Anexo 3: Entrevistas con expertos en la etapa de elaboración del protocolo.....	31
Anexo 4: Referencias adicionales.....	32
Anexo 5. Características de los estudios incluidos.....	38

## Resumen

**ANTECEDENTES:** Un equipo de expertos fue convocado por la Academia Chilena de Medicina del Instituto de Chile para evaluar la evidencia existente sobre la asociación entre timerosal y autismo

**MÉTODO:** Se realizó una búsqueda de revisiones sistemáticas existentes utilizando las bases de datos Epistemonikos, Cochrane Database of Systematic Reviews, Database of Abstracts of Reviews of Effectiveness (DARE), ACP Journal Club y Health Technology Assessment Database. También se llevó a cabo una búsqueda de estudio primarios adicionales en las bases de datos PubMed, EMBASE, Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL) y LILACS.

**RESULTADOS:** Se identificaron 5 revisiones sistemáticas y 32 estudios primarios pertinentes. Ningún estudio fue realizado utilizando diseños que permitan minimizar el sesgo. No se encontró asociación entre timerosal y autismo (OR 0,98; IC 95% 0,92 a 1,04). El resultado no varió sustantivamente al incorporar una serie de estudios provenientes de una base de datos que ha sido cuestionada por diversas razones (OR 1,03; 0,89 a 1,18). La certeza de la evidencia es moderada (GRADE) principalmente debido a las limitaciones propias de los diseños de estudio utilizado.

**CONCLUSIÓN DE LOS REVISORES:** La información con la que se cuenta hoy es mucho más rica que aquella que llevó a la toma de decisiones en otros países, y también mayor que aquella existente al momento de la discusión sobre este tema en Chile. Los resultados no muestran asociación entre timerosal y autismo, pero la certeza de la evidencia es moderada, debido a limitaciones propias del diseño de estudios utilizados. La única forma de obtener mayor certeza sería mediante la realización de estudios aleatorizados, o de otros diseños con menor riesgo de sesgo.

## Antecedentes

La Academia Chilena de Medicina del Instituto de Chile ha convocado a un grupo de estudio para que la asesore en la tarea de analizar críticamente la evidencia disponible en fuentes públicas de información científica. Debe tenerse presente que esta revisión de la evidencia está restringida a responder una pregunta concreta en el contexto de las diversas controversias descritas en el [Anexo 1: Antecedentes adicionales](#): ¿Existe evidencia científica sobre la asociación causal del timerosal contenido en las vacunas que se administran en la infancia y el ulterior desarrollo de enfermedad del espectro autista? y en caso de existir ¿Cuál es la certeza de esta evidencia? Cabe destacar sin embargo, que el grupo de trabajo ha revisado numerosa información reunida en el proceso de búsqueda y acopio de ésta, la que independiente de su pertinencia y mérito científico para responder la pregunta primaria, ha sido considerada para posicionar el análisis en su debido contexto.

En la vida real y considerando que estudios de similar naturaleza pueden arrojar resultados diferentes y hasta opuestos, una tarea insoslayable de quienes analizan la información científica, es evaluarla y sintetizarla en un todo coherente, cada vez que sea posible, siguiendo para ello metodologías ampliamente aceptadas.

## Objetivos

Evaluar si el timerosal contenido en las vacunas constituye un factor de riesgo de trastornos del neurodesarrollo en niños.

## Métodos

Se realizó una revisión sistemática de la literatura. Se utilizaron las revisiones sistemáticas ya existentes como fuente de estudios primarios, complementadas con los estudios primarios publicados con posterioridad a éstas.

Si bien los métodos de una revisión sistemática se encuentran ampliamente aceptados en el mundo, particularmente los estándares definidos al respecto por la Colaboración Cochrane (1), existen consideraciones metodológicas propias de cada pregunta de evaluación, así como conceptos generales relacionados con la validez de las pruebas científicas, que los autores han considerado importante mencionar, para una mejor comprensión de los resultados de la revisión; [Anexo 2: Consideraciones metodológicas](#).

## **Criterios de inclusión y exclusión**

### **Tipo de estudios:**

Se consideraron elegibles 3 categorías de diseño de estudio, cuya selección siguió igual orden de precedencia, es decir, en caso de encontrar suficiente información para un desenlace de interés en una categoría superior, el análisis se centró principalmente en ella. Este criterio se fundamenta en el hecho conocido de que los estudios de menor rigor científico (mayor potencial de sesgo) tienden a sobreestimar las asociaciones.

Las 3 categorías de diseño son las siguientes:

*Grupo 1:* Estudios Controlados Aleatorizados

*Grupo 2:* Diseños no aleatorizados de menor riesgo de sesgo, de acuerdo a la definición empleada por el grupo Cochrane de Práctica Efectiva y Organización de la Atención Sanitaria Cochrane EPOC (Cochrane EPOC group)(2). Estos son: Estudios controlados cuasialeatorizados (por ejemplo por alternancia), estudios cuasiexperimentales (por ejemplo estudios controlados antes y después), series de tiempo interrumpidas, y estudios de medidas repetidas.

*Grupo 3:* Otros estudios observacionales analíticos que no cumplan con la definición de los grupos 1 o 2.

*Criterios de exclusión:* se excluyen todos los diseños que no cumplan con los criterios de inclusión.

### **Tipo de población:**

Se incluyeron estudios en seres humanos, de cualquier edad, expuestos a vacunas con timerosal. Se excluyen estudios en animales o in vitro.

### **Tipo de intervención:**

Se incluyeron estudios que hubieran evaluado la exposición a cualquier tipo de vacuna que contenga timerosal en cualquier concentración, versus cualquier comparador, es decir:

- Personas que reciben la misma vacuna (u otro vacuna equivalente) sin timerosal.
- Personas no vacunadas
- Estudios (de alguno de los diseños señalados) que comparan una población antes y después de introducida la vacunación con timerosal, o antes y después del retiro del timerosal de la vacunación.

Se excluye: cualquier otra forma de mercurio (por ej. metilmercurio) en vacunas u otras formas de exposición.

### **Tipo de desenlaces:**

Si bien existen múltiples desenlaces que posiblemente se pueden monitorizar en el contexto de los efectos adversos de una vacuna o de alguno de sus componentes, el equipo revisor se centró en aquellos que parecen plausibles desde la perspectiva de los actores que participaron en la discusión parlamentaria. Esta información fue recopilada mediante entrevista con representantes de cada uno de los grupos que participaron en la discusión. La pauta de entrevista se encuentra descrita en el [anexo: 3 Entrevistas con expertos en la etapa de elaboración del protocolo](#).

De lo anterior se resolvió incluir solamente los estudios que reportaran desenlaces relacionados con trastornos del neurodesarrollo, con énfasis en los trastornos del espectro autista.

## **Métodos de búsqueda para la identificación de estudios**

### **Búsqueda de revisiones sistemáticas**

Se realizó una búsqueda de revisiones sistemáticas previas en la base de datos Epistemonikos (3) y se construyó una matriz de evidencia, identificando todos los estudios primarios incluidos en las revisiones sistemáticas existentes.

### **Búsqueda de estudios primarios**

La búsqueda de estudios primarios se limitó a los últimos 5 años, antes de Junio 2014. Ello, porque a contar de 2009 las revisiones tienen búsquedas con limitaciones (4-6), lo que justifica una búsqueda complementaria; a la vez, se estimó poco probable que hubiera estudios relevantes anteriores al 2009 no detectados por las revisiones previas. No se limitó por estado de publicación ni por idioma.

Se realizaron búsquedas electrónicas en las siguientes bases de datos:

- 1) Medline (PubMed)
- 2) CENTRAL
- 3) EMBASE
- 4) LILACS
- 5) WHO ICTRP

Palabras clave: thimerosal OR thiomersal\* (como texto libre, e incluyendo vocabulario controlado [Mesh; Emtree; Decs])

Filtros metodológicos: no se utilizaron para favorecer la sensibilidad de la búsqueda.

## **Otras fuentes de búsqueda**

### **Documentos utilizados en la discusión parlamentaria**

Se realizó además una revisión de las referencias de los documentos empleados en el proceso parlamentario y de los documentos entregados por los entrevistados ([Anexo 4: Referencias adicionales](#))

## **Extracción y análisis de datos**

El análisis se realizó en acuerdo con las guías publicadas en the *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* Version 5.1.0 (1) y las guías GRADE (7).

### **Selección de los estudios**

Todos los registros identificados mediante la búsqueda electrónica fueron evaluados independientemente por dos revisores.

Las discrepancias entre dos revisores fueron resueltas por consenso, o en caso necesario arbitradas por un tercer revisor.

### **Extracción y manejo de los datos**

Los datos fueron extraídos en un formulario de recolección de datos diseñado especialmente para este proyecto, que incluye, entre otros, los siguientes datos: datos bibliográficos de la publicación, diseño de estudio, población estudiada, intervención (tipo de vacuna, momento de exposición), comparación y desenlaces medidos.

### **Evaluación del riesgo de sesgo**

Todos los estudios fueron evaluados por un investigador y revisados por un segundo. Para los estudios controlados aleatorizados se planeó la utilización de la Risk of Bias Tool de la Colaboración Cochrane, sin embargo no se identificó estudios con dicho diseño. Para los estudios de otros diseños se utilizaron las herramientas propuestas por el grupo EPOC de la Colaboración Cochrane para evaluación del riesgo de diferentes diseños (2).

### **Medidas de efecto de la intervención**

Debido a la imposibilidad de realizar metanálisis del total de los estudios, el análisis se centró en los metanálisis existentes, utilizando las medidas de riesgo estimadas por los autores y respetando el método de ajuste realizado.

### **Comparación entre revisiones sistemáticas**

Se prepararon matrices de evidencia en Epistemonikos y una tabla describiendo las razones por las cuales cada revisión incluyó o no incluyó a cada uno de los estudios primarios identificados por alguna revisión sistemática.

### **Análisis de subgrupos y evaluación de la heterogeneidad**

A priori se había considerado evaluar los siguientes subgrupos:

- Embarazadas, niños
- Cambios en la tecnología (concentraciones o formulaciones de mercurio)
- Cambios en los criterios diagnósticos

No fue posible realizar análisis de subgrupo debido a las limitaciones metodológicas de los estudios. En la discusión se abordan las implicancias de estas limitaciones.

### **Análisis de sensibilidad**

A priori se ha definido evaluar, según sea procedente, a lo menos los siguientes factores:

- Diseño del estudio (estudios predefinidos)
- Conflictos de interés de los investigadores / estudios cuestionados (probable fraude)

No fue posible realizar un análisis de sensibilidad formal debido a las limitaciones metodológicas de los estudios. En la discusión se abordan las implicancias de estas limitaciones.

### **Resumen de hallazgos y evaluación de calidad de la evidencia**

Se elaboraron tablas resumen con la información básica sobre la jerarquía de evidencia de acuerdo al sistema GRADE, para cada uno de los desenlaces analizados, incluyendo:

- Variable de resultado
- Certeza de la evidencia
- Efecto relativo e IC del 95%
- Efectos absolutos

La certeza de la evidencia fue sintetizada en tablas específicas considerando diseño, calidad metodológica (potencial de sesgo y confusión), consistencia, aplicabilidad, precisión, y fuerza de la asociación (magnitud, gradiente de respuesta).

Por último, basado en estos datos, se realizó una síntesis narrativa para responder a la pregunta de evaluación y se abordaron los aspectos adicionales que siguen a manera de conclusiones.

## Resultados

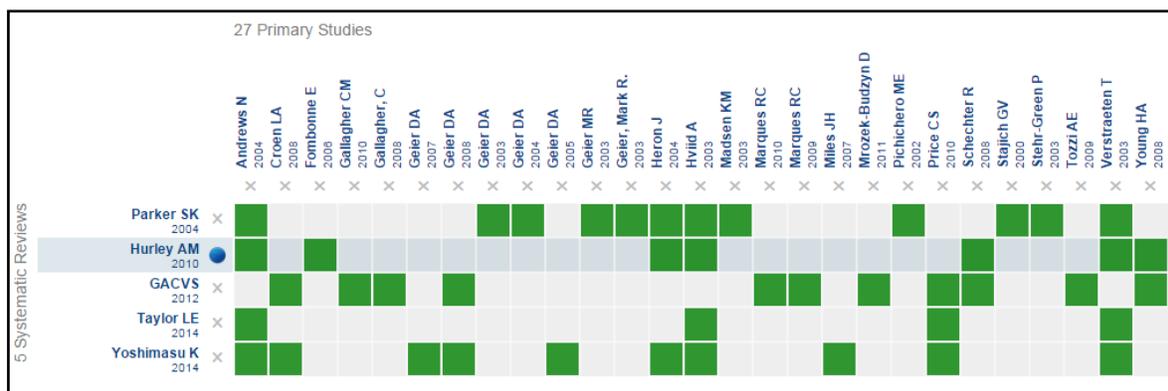
### Resultados de la búsqueda

#### Revisiones sistemáticas y comparación entre ellas

La búsqueda en Epistemonikos identificó 5 revisiones sistemáticas. Tres de las revisiones evaluaron específicamente la pregunta de interés de nuestra revisión (4, 8, 9), una evaluó los efectos de la exposición a mercurio prenatal o en la temprana infancia, incluyendo a timerosal entre las posibles fuentes de mercurio (6) y otra evaluó la asociación entre vacunas en general y autismo, incluyendo un análisis por separado de las vacunas con timerosal (5). En total, incluyen 51 estudios primarios, todos ellos observacionales, de los cuales 27 evalúan la pregunta de interés de nuestra revisión (10-36).

Se preparó una matriz de evidencia en Epistemonikos (**figura 1**) para ofrecer una comparación de las distintas revisiones, la cual incluye todas las revisiones pertinentes y los estudios primarios que estas identificaron y que responden nuestra pregunta (37).

Figura 1. Matriz de evidencia en Epistemonikos. Los recuadros verdes corresponden a estudios incluidos en cada revisión sistemática.



La sobreposición entre los estudios pertinentes incluidos en las revisiones fue muy baja por las fechas en que fueron realizadas, por tener diferentes criterios de inclusión (población, intervención, comparación o desenlace, u otras) o por razones desconocidas. Dos revisiones aducen razones para excluir estudios diferentes a los criterios de población, intervención, comparación, desenlace o diseño de estudio. Con el fin de reproducir fielmente estas razones, ofrecemos una cita textual de la sección correspondiente:

“The present review does not include studies evaluated in the IOM’s Immunization Safety Review Committee report in 2004 on vaccines and autism” (8).

“Papers that recruited their cohort of participants solely from the Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS) in the United States were not included due to its many limitations and high risk of bias including unverified reports, underreporting, inconsistent data quality, absence of an unvaccinated control group and many reports being filed in connection with litigation” (5)

El detalle sobre la comparación entre revisiones se puede observar en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Comparación entre revisiones sistemáticas y sus estudios incluidos

	Mrozek-Budzyn 2011	Marques 2010	Price 2010	Gallagher 2010	Tozzi 2009	Marques 2009	Schechter 2008	Geier 2008	Croen 2008	Gallagher 2008	Young 2008	Miles 2007	Geier 2007	Fombonne 2006	Geier 2005	Heron 2004	Geier 2004	Andrews 2004	Madsen 2003	Geier 2003	Geier 2003b	Geier 2003c	Stehr-Green 2003	Verstraeten 2003	Hviid 2003	Pichichero 2002	Stajich 2000
Taylor 2014	E	?	✓	D	?	D	D	E	?	I	?	?	E	D	E	?	E	✓	D	E	E	E	D	✓	✓	I	I
Yoshimasu 2014	E	?	✓	D	?	D	D	✓	✓	?	?	✓	✓	D	✓	✓	?	✓	D	?	?	?	D	✓	✓	I	I
GACVS 2012	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
Hurley 2010	F	F	F	F	?	?	✓	?	?	?	✓	?	?	✓	?	✓	E	✓	E	E	E	E	E	✓	✓	E	E
Parker 2004	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

✓ = Estudio incluido

F= No incluido por tratarse de un estudio publicado en una fecha posterior a la realización de la revisión.

I= Estudio excluido por no cumplir criterios de inclusión de la revisión (Población, intervención, comparación, desenlace)

D=Estudios excluido por no corresponder al diseño de estudios primarios utilizado por la revisión.

E= Estudio excluido por otra causa

?=Causa no clara

## Búsqueda de estudios primarios

La búsqueda de estudios primarios en bases de datos electrónicas arrojó 871 registros. El detalle de los resultados de búsqueda se encuentra descrito en la **Tabla 2**.

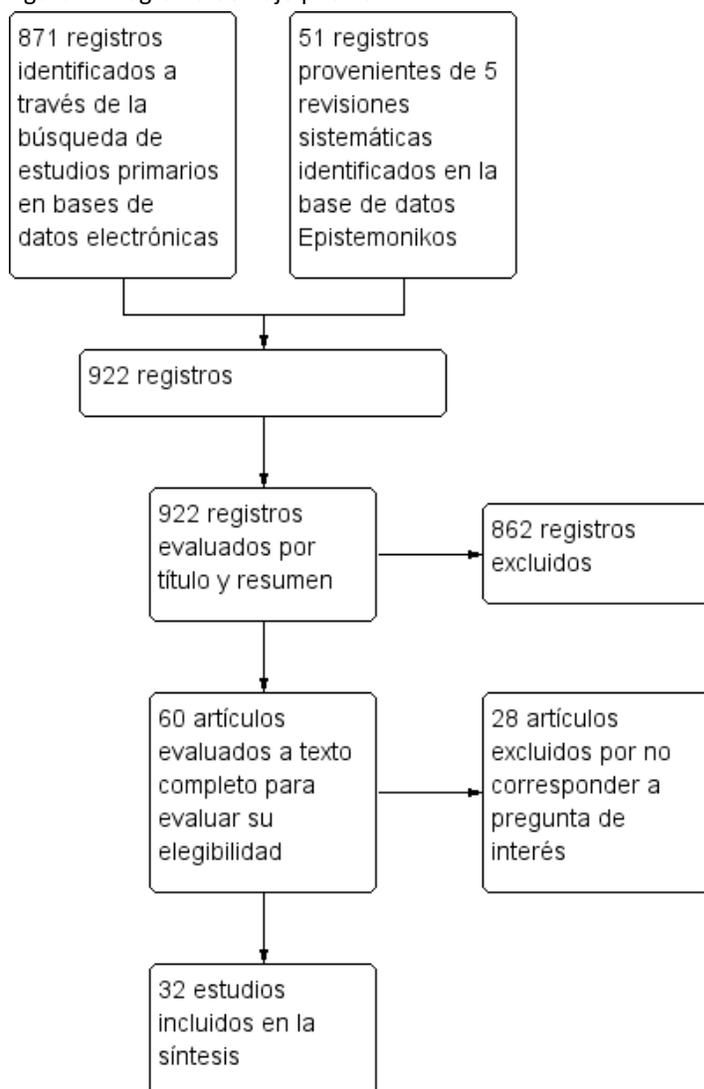
Se identificaron 9 artículos potencialmente relevantes que no habían sido incluidos en las revisiones sistemáticas, los cuales fueron evaluados en texto completo. 5 estudios fueron

finalmente incluidos. El proceso de búsqueda, cribado y selección de los estudios se encuentra descrito en la **Figura 2**.

Tabla 2. Resultado de la búsqueda en bases de datos electrónicas

Base de Datos	Referencias	Acum
Medline (Pubmed)	266	266
EMBASE	598 (14 duplicados)	850
EBM Reviews – CDSR, ACP Journal Club, DARE, CCRCT, HTA	14 (1 duplicado)	863
Lilacs	8	871

Figura 2. Diagrama de flujo prisma.



Se identificaron 32 estudios, 27 provenientes de las revisiones sistemáticas existentes, y 5 desde la búsqueda adicional de estudios primarios en bases de datos electrónicas.

Ninguno de los estudios correspondía al grupo 1 de diseño (estudio controlado aleatorizado) ni al grupo 2 de aquellos definidos en nuestros métodos.

De los 32 estudios, 14 correspondieron a estudios de cohorte, 9 a estudios de casos y controles, 6 a estudios transversales y 3 a otros diseños (estudios ecológicos, series de casos)

Diecinueve estudios fueron realizado en Estados Unidos, 3 en Polonia, 3 en Brasil, 2 en el Reino Unido, 2 en Dinamarca, 1 en Italia y 1 en Canadá. Un estudio incorporó población de Estados Unidos, Dinamarca y Suecia (33).

Con respecto a las poblaciones evaluadas, 1 estudio evaluó la exposición prenatal a timerosal, 26 estudios evaluaron la exposición a timerosal durante la infancia y 5 evaluaron la exposición combinada pre y postnatal.

La intervención más comúnmente evaluada fue la exposición a timerosal en las vacunas, en 25 estudios. En 3 estudios la fuente de timerosal fue la inmunoglobulina anti-D immune, y en 4 casos se evaluó una combinación de timerosal proveniente de vacunas y otras fuentes.

Para detalles sobre las principales características de los estudios incluidos, ver [Anexo 5: Características de los estudios incluidos](#)

## Riesgo de sesgo de los estudios incluidos

Ninguno de los estudio identificados fue realizado con un diseño aleatorizado controlado ni otros diseños que minimicen el sesgo (grupo 1 o 2 respectivamente. Ver sección métodos). Ningún criterio fue cumplido satisfactoriamente por los estudios en su conjunto (ver figura 3) y ningún estudio cumplió satisfactoriamente los criterios establecidos (ver figura 4).

Figura 3. Gráfico de riesgo de sesgo: Juicios realizados por los autores acerca de cada uno de los criterios de riesgo de sesgo. Presentado como porcentaje sobre el total de estudios incluidos.

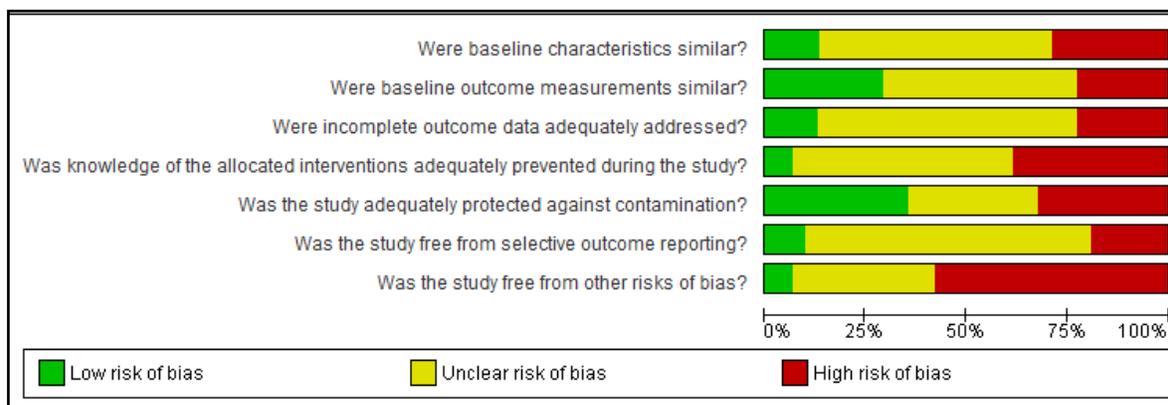


Figura 4. Resumen del riesgo de sesgo: Juicios acerca de cada ítem de riesgo de sesgo.

	Were baseline characteristics similar?	Were baseline outcome measurements similar?	Were incomplete outcome data adequately addressed?	Was knowledge of the allocated interventions adequately prevented during the study?	Was the study adequately protected against contamination?	Was the study free from selective outcome reporting?	Was the study free from other risks of bias?
Andrews 2004	?	+	+	?	?	?	?
Barile 2012	+	+	?	+	+	+	+
Croen 2008	?	+	+	?	?	?	?
Dorea 2014	+	+	+	+	+	+	+
Fombonne 2006	?	+	+	+	+	+	+
Gallagher 2008	+	?	+	+	+	?	?
Gallagher 2010	?	?	+	+	+	?	+
Geier 2003a	+	?	?	+	+	?	+
Geier 2003b	+	?	?	+	+	?	+
Geier 2003c	+	?	?	+	+	?	+
Geier 2004	+	+	?	?	+	?	+
Geier 2005	?	?	?	?	+	?	+
Geier 2007	?	?	?	+	+	?	+
Geier 2008	?	?	?	+	+	?	+
Geier 2013	+	?	?	+	+	?	+
Heron 2004	?	+	?	?	?	?	?
Hviid 2003	?	?	+	?	?	+	?
Madsen 2003	?	?	+	?	?	?	+
Majewska 2010	?	+	+	?	+	+	+
Marques 2009	?	?	+	+	+	?	?
Marques 2010	+	+	+	?	?	?	?
Miles 2007	+	+	?	?	+	?	?
Mrozek-Budzyn 2011	?	+	?	?	+	+	+
Mrozek-Budzyn 2012	?	+	?	?	+	+	+
Pichichero 2002	?	+	?	?	+	+	?
Price 2010	+	+	?	?	?	?	?
Schechter 2008	?	?	?	?	?	?	+
Stajich 2000	+	+	?	?	+	+	+
Stehr-Green 2003	+	+	?	+	?	?	?
Verstraeten 2003	?	?	?	?	+	?	+
Young 2008	?	?	?	+	?	?	+

## Efectos del timerosal

Las limitaciones metodológicas y de reporte de los estudios primarios, así como las diferencias de diseño entre los estudios, no hacen posible ni aconsejable realizar un metanálisis que incluya el total de los estudios primarios. Los distintos autores de las revisiones sistemáticas han optado por aproximaciones diferentes para la síntesis de los efectos. Tres revisiones no realizaron metanálisis (4, 8, 9). Las 2 revisiones sistemáticas más recientes sí presentan metanálisis mostrando en ambos casos una ausencia de asociación entre timerosal y autismo; OR 1,03 (IC 95% 0,89 a 1,18) en el caso de la revisión de Yoshimasu (6), que incluye los estudios utilizando la base de datos VAERS (**Figura 5**), y 0,98 (0,92 a 1,04) en la revisión de Taylor (5) que excluye a estos (**Figura 6**) .

Figura 5. Metanálisis de relación entre exposición a timerosal y autismo (6)

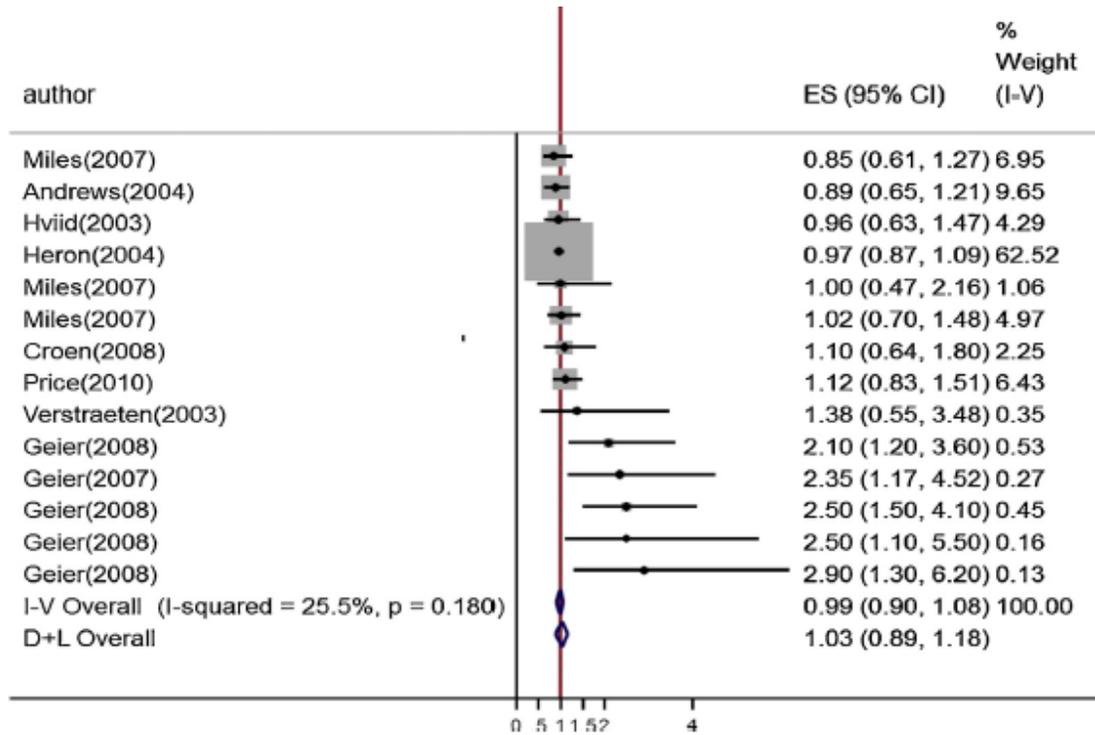
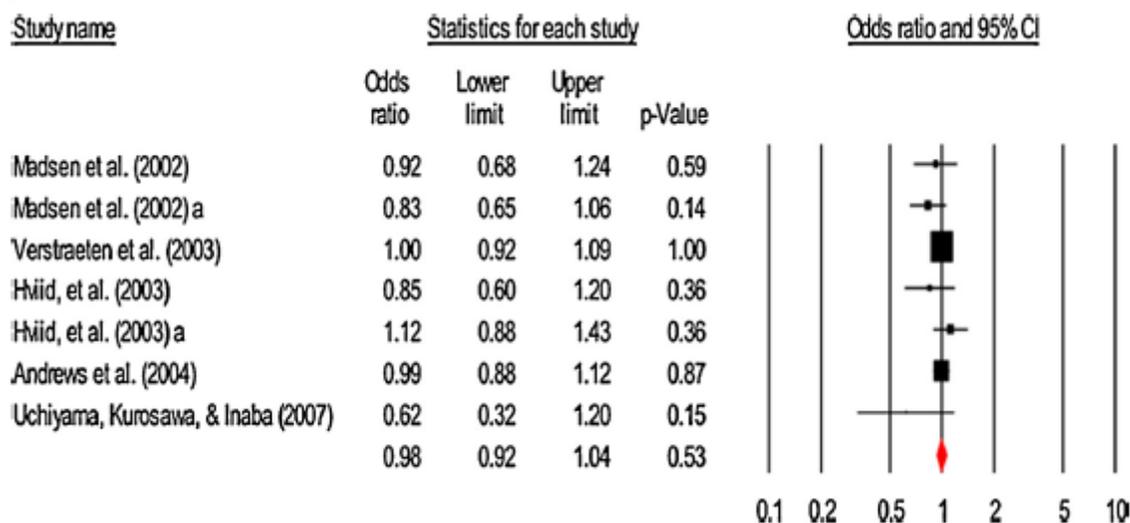


Figura 6. Metanálisis de relación entre exposición a timerosal y autismo (5)



Como se observa en la tabla 1, las 2 revisiones sistemáticas que realizaron un metanálisis excluyeron algunos estudios utilizados en otras revisiones, especialmente en el informe del GACVS (4). En la mayoría de los casos no es posible asegurar si estas revisiones sistemáticas no los pesquisarón, o lo hicieron y fueron excluidos.

En la **Tabla 3** se presentan los principales resultados de los 7 estudios no incluidos en ninguna de las 2 revisiones sistemáticas con metanálisis (5, 6) que se encuentran incluidos en la revisión del *Global Advisory Committee on Vaccine Safety (GACVS)* para la Organización Mundial de la Salud (4). En la tabla 4 se presentan los resultados de los estudios identificados en la búsqueda adicional de estudios primarios.

Tabla 3. Resultados de estudios no incluidos en metanálisis que fueron considerados en reporte del GACVS

Estudio	Resultado	Comentarios
Mrozek-Budzyn 2011	No se encontró asociación significativa entre vacunas con timerosal y autismo: OR ajustado 1,52 (IC 95% 0,29 a 11,11) para dosis de 12,5 a 87,5 µg	Estudio de casos y controles. En idioma polaco.
Marques 2010	No hubo diferencias significativas en el retraso del neurodesarrollo entre los grupo de niños expuestos y no expuestos intraútero a vacuna con timerosal	Estudio de casos y controles. No entrega una medida de riesgo ni datos metanalizables
Gallagher 2010	Neonatos vacunados con vacuna para hepatitis B (con timerosal) tuvieron 3 veces mayor riesgo de autismo (reporte parental) que niños no vacunados.	Estudio transversal. El estudio no compara vacunas con y sin timerosal.
Marques 2009	Se realizaron varios modelos de regresión múltiple para evaluar la relación entre la exposición post natal a mercurio (concentración de mercurio en muestras del pelo de los niños) y la evaluación del desarrollo a través del test de Gesell a los 6 meses: R= -0.333, p= 0.002 - A los 36meses r= -0.172, p=0.122; a los 60 meses, r=-0.803, p=0.010). Por lo	Estudio transversal. No reporta autismo.

	tanto hubo una correlación negativa estadísticamente significativa entre los niveles de mercurio y el test de desarrollo de Gesell a los 6 y 60 meses.	
Tozzi 2009	No hubo diferencias significativas en test neuropsicológicos entre los dos grupos de niños. La incidencia de autismo fue muy baja (1/856 en el grupo con menor exposición a timerosal; 0/848 en el grupo de alta exposición a timerosal)	Estudio de cohorte. No entrega una medida de riesgo ni datos metanalizables.
Schechter 2008	Se comparó prevalencia de registros de niños nacidos entre 1989 y 2003 con registros posteriores. El aumento de incidencia a lo largo de los años se ha mantenido de manera sostenida pese a la reducción en la exposición a timerosal.	Estudio transversal
Gallagher 2008	Probabilidad de tener necesidad especiales de educación como proxy de trastornos del desarrollo, OR= 8,63 (IC 95% 3,24 a 22,28) entre los expuestos y los no expuestos.	Estudio transversal. Comparación con población no vacunada

La búsqueda adicional de estudios primarios identificó 5 estudios pertinentes no incluidos en ninguna revisión sistemática. No fue posible asegurar, aunque parece muy probable, que estos hayan sido pesquisados por las revisiones y excluidos intencionalmente, debido a la ausencia de una lista de estudios excluidos en las publicaciones.

En la **tabla 4** se presentan los principales resultados de estos estudios. A excepción del estudio de Geier 2013, cuyos datos provienen parcialmente de la base de datos VAERS, no se encontró asociación entre timerosal y autismo.

Tabla 4. Resultados de estudios adicionales identificados en la búsqueda de estudios primarios

<b>Estudio</b>	<b>Resultado</b>	<b>Comentarios</b>
Dorea 2014	No se observó un patrón claro de neurodesarrollo asociado a etilmercurio.	Estudio transversal.
Mrozek-Budzyn 2012	Reporta asociación significativa entre timerosal y neurodesarrollo en algunos periodos de seguimiento. No se encontró asociación al final del seguimiento (3 años).	Estudio de cohorte. Probablemente se trata de un reporte duplicado de Mrozek-Budzyn 2011
Geier 2013	Los niños con autismo tuvieron 2,02 veces más riesgo de haber sido expuestos a vacunas con timerosal utilizando la base de datos VAERS, y 2,18 veces en la base de datos VSD.	Estudio de cohorte, proveniente de la base de datos VAERS y VSD (Vaccine Safety Datalink)
Barile 2012	No se encontró asociación entre timerosal y autismo	Estudio de cohorte.
Majewska 2010	No se encontraron diferencias en exposición a vacunas con timerosal entre niños autistas y no autistas.	Estudio de casos y controles.

# Conclusiones de los autores

## Resumen de los resultados y aplicabilidad de la evidencia

La evidencia acumulada muestra que no existe asociación entre timerosal y autismo. Este resultado no varía de manera sustantiva si se incorporan una serie de estudios cuestionados por diversos autores y organizaciones, debido a que a pesar de ser numerosos, tienen un peso menor que otros estudios en el metanálisis.

La certeza de ésta evidencia es moderada, principalmente por provenir de estudios con alto riesgo de sesgo. Sin embargo, se debe destacar que el sesgo en este caso muy probablemente operaría tendiendo a mostrar una asociación entre timerosal y autismo que realmente no existe. De allí que, en cierto modo, esta debilidad de los estudios reafirma la ausencia de asociación. Por ejemplo, un factor confundente probable al que están expuestos los estudios analizados lo constituye el hecho de que existe un estado de mayor alerta –de parte de los padres o de los investigadores- hacia esta condición, en los niños que han recibido vacunas con timerosal, y que los criterios diagnósticos y la capacidad de los clínicos de pesquisar dicha condición han aumentado.”

La tabla de resumen de resultados GRADE ilustra tanto los efectos absolutos y relativos, como la certeza de la evidencia (**Tabla 5**)

En términos de aplicabilidad, los estudios incluyen a un amplio grupo poblacional en diversos países, consideran tanto la exposición prenatal como postnatal, y evalúan la exposición a timerosal proveniente de diversos tipos de vacunas y otras fuentes. Por esta razón, es posible extrapolar estos resultados con confianza a todo tipo de poblaciones. La evaluación de heterogeneidad en el metanálisis reafirma la anterior según las pruebas estadísticas en ambos metanálisis. Solo se observa heterogeneidad de cuantía leve cuando se incorporan los estudios provenientes de la base de datos VAERS.

## Diferencias entre este informe y otras fuentes

Nuestras conclusiones son concordantes con las conclusiones de las revisiones sistemáticas individuales identificadas, en especial con aquellas más recientes, de mayor calidad y que han logrado estimar un resultado acumulado mediante metanálisis.

Nuestros resultados también son concordantes con las recomendaciones emitidas por la organización mundial de la salud.

Si bien los resultados concuerdan parcialmente con el informe del Institute of Medicine, es importante destacar que el conjunto de evidencia disponible en la actualidad es incomparable con aquel existente hace 10 años, cuando este informe fue emitido.

Tabla 5. Tabla de resumen de resultados con la metodología GRADE (*Summary of Findings*)

<b>Vacunas con timerosal y riesgo de autismo</b>				
<b>Pacientes</b>	Niños sanos			
<b>Intervención</b>	Vacunas con timerosal			
<b>Comparación</b>	Vacunas sin timerosal			
Desenlaces	Efecto absoluto*		Efecto relativo (IC 95%)	Certeza de la evidencia (GRADE)
	SIN timerosal	CON timerosal		
	Diferencia: pacientes por 1000			
<b>Autismo (incluyendo todos los estudios)</b>	15 <b>por 1000</b>	15 <b>por 1000</b>	OR 1,03 (0,89 a 1,18)	⊕⊕⊕○ <sup>1 2</sup> Moderada
	Diferencia: No hay diferencia (Margen de error: 2 menos a 3 más)			
<b>Autismo (excluyendo estudios de la base de datos VAERS)</b>	15 <b>por 1000</b>	15 <b>por 1000</b>	OR 0,98 (0,92 a 1,04)	⊕⊕⊕○ <sup>1 2</sup> Moderada
	Diferencia: No hay diferencia (Margen de error: 1 menos a 1 más)			
Margen de error = Intervalo de confianza del 95% RR: Riesgo relativo GRADE: grados de evidencia del GRADE Working Group (ver última página)				
* Los riesgos SIN timerosal están basados en las cifras de prevalencia de autismo en EEUU (38). El riesgo CON timerosal (y su margen de error) está calculado a partir del efecto relativo (y su margen de error).				
1 Los estudios presentan alto riesgo de sesgo, sin embargo la presencia de sesgo en este caso muy probablemente favorece la conclusión de asociación entre timerosal y autismo, por lo que no se disminuyó la certeza por este hecho.				
2 Se aumentó un nivel la certeza de la evidencia debido a que las variables confundentes residuales refuerzan la conclusión.				

## Implicancias para los tomadores de decisiones

La evidencia existente no muestra una asociación entre timerosal y autismo, con un alto nivel de precisión. Sin embargo, la certeza de la evidencia es moderada, debido a las limitaciones propias de los estudios utilizados para investigar esta pregunta.

La única forma de obtener una mayor certeza sería mediante la realización de un estudio controlado aleatorizado, o algún otro diseño con menor riesgo de sesgo, como por ejemplo una serie de tiempo interrumpida, que podría ser más factible de realizar en el contexto actual.

Como en todos los casos, la evidencia es necesaria, pero no suficiente para tomar decisiones, por lo que no es adecuado sugerir un curso de acción específico. Sin embargo, nos parece razonable balancear las opciones entre la mantención del timerosal en las vacunas y la realización de un estudio que permita elevar el nivel de certeza de la evidencia.

## Referencias

1. Collaboration" TC. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0 [updated March 2011]. . Higgins J, Green S, editors 2011.
2. (EPOC) EPaOoC. EPOC Resources for review authors. Oslo: Norwegian Knowledge Centre for the Health Services 2013. Available from: <http://epocoslo.cochrane.org/epoc-specific-resources-review-authors>.
3. Rada G, Pérez D, Capurro D. Epistemonikos: a free, relational, collaborative, multilingual database of health evidence. *Studies in health technology and informatics*. 2013;192:486-90.
4. GACVS. Thiomersal in vaccines. 2012 2012. Report No.
5. Taylor LE, Swerdfeger AL, Eslick GD. Vaccines are not associated with autism: an evidence-based meta-analysis of case-control and cohort studies. *Vaccine*. 2014 2014/05/06;32(29):3623-9. English.
6. Yoshimasu K, Kiyohara C, Takemura S, Nakai K. A meta-analysis of the evidence on the impact of prenatal and early infancy exposures to mercury on autism and attention deficit/hyperactivity disorder in the childhood. *Neurotoxicology*. 2014 2014/06/19;44C:121-31. English.
7. Guyatt G, Oxman AD, Akl EA, Kunz R, Vist G, Brozek J, et al. GRADE guidelines: 1. Introduction—GRADE evidence profiles and summary of findings tables. *Journal of clinical epidemiology*. 2011;64(4):383-94.
8. Hurley AM, Tadrous M, Miller ES. Thimerosal-containing vaccines and autism: a review of recent epidemiologic studies. *The journal of pediatric pharmacology and therapeutics : JPPT : the official journal of PPAG*. 2010 2010/07/05;15(3):173-81. English.
9. Parker SK, Schwartz B, Todd J, Pickering LK. Thimerosal-containing vaccines and autistic spectrum disorder: a critical review of published original data. *Pediatrics*. 2004 2004/09/02;114(3):793-804. English.
10. Andrews N, Miller E, Grant A, Stowe J, Osborne V, Taylor B. Thimerosal exposure in infants and developmental disorders: a retrospective cohort study in the United kingdom does not support a causal association. *Pediatrics*. 2004 2004/09/02;114(3):584-91. English.
11. Croen LA, Matevia M, Yoshida CK, Grether JK. Maternal Rh D status, anti-D immune globulin exposure during pregnancy, and risk of autism spectrum disorders. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2008 2008/09/13;199(3):234.e1-6. English.
12. Fombonne E, Zakarian R, Bennett A, Meng L, McLean-Heywood D. Pervasive developmental disorders in Montreal, Quebec, Canada: prevalence and links with immunizations. *Pediatrics*. 2006 2006/07/04;118(1):e139-50. English.
13. Gallagher C, Goodman M. Hepatitis B triple series vaccine and developmental disability in US children aged 1–9 years. *Toxicological & Environmental Chemistry*. 2008 2008/09/01;90(5):997-1008. English.
14. Gallagher CM, Goodman MS. Hepatitis B vaccination of male neonates and autism diagnosis, NHIS 1997-2002. *Journal of toxicology and environmental health Part A*. 2010 2010/11/08;73(24):1665-77. English.
15. Geier DA, Geier MR. An assessment of the impact of thimerosal on childhood neurodevelopmental disorders. *Pediatric rehabilitation*. 2003 2003/10/09;6(2):97-102. English.
16. Geier DA, Geier MR. A comparative evaluation of the effects of MMR immunization and mercury doses from thimerosal-containing childhood vaccines on the population prevalence of autism. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. 2004 2004/03/01;10(3):PI33-9. English.

17. Geier DA, Geier MR. A two-phased population epidemiological study of the safety of thimerosal-containing vaccines: a follow-up analysis. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. 2005 2005/04/24;11(4):CR160-70. English.
18. Geier DA, Geier MR. A prospective study of thimerosal-containing Rho(D)-immune globulin administration as a risk factor for autistic disorders. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians*. 2007 2007/05/03;20(5):385-90. English.
19. Geier DA, Mumper E, Gladfelter B, Coleman L, Geier MR. Neurodevelopmental disorders, maternal Rh-negativity, and Rho(D) immune globulins: a multi-center assessment. *Neuro endocrinology letters*. 2008 2008/04/29;29(2):272-80. English.
20. Geier MR, Geier DA. Neurodevelopmental disorders after thimerosal-containing vaccines: a brief communication. *Experimental biology and medicine (Maywood, NJ)*. 2003 2003/06/29;228(6):660-4. English.
21. Geier MR, Geier DA. Thimerosal in Childhood Vaccines, Neurodevelopment Disorders, and Heart Disease in the United States. *Journal of American Physicians and Surgeons*. 2003 2003;8(1):6-11. English.
22. Heron J, Golding J, Team AS. Thimerosal exposure in infants and developmental disorders: a prospective cohort study in the United kingdom does not support a causal association. *Pediatrics*. 2004 2004/09/02;114(3):577-83. English.
23. Hviid A, Stellfeld M, Wohlfahrt J, Melbye M. Association between thimerosal-containing vaccine and autism. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2003 2003/10/01;290(13):1763-6. English.
24. Madsen KM, Lauritsen MB, Pedersen CB, Thorsen P, Plesner AM, Andersen PH, et al. Thimerosal and the occurrence of autism: negative ecological evidence from Danish population-based data. *Pediatrics*. 2003 2003/09/01;112(3 Pt 1):604-6. English.
25. Marques RC, Dórea JG, Bernardi JV. Thimerosal exposure (from tetanus-diphtheria vaccine) during pregnancy and neurodevelopment of breastfed infants at 6 months. *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)*. 2010 2010/06/09;99(6):934-9. English.
26. Marques RC, Dórea JG, Bernardi JV, Bastos WR, Malm O. Prenatal and postnatal mercury exposure, breastfeeding and neurodevelopment during the first 5 years. *Cognitive and behavioral neurology : official journal of the Society for Behavioral and Cognitive Neurology*. 2009 2009/06/09;22(2):134-41. English.
27. Miles JH, Takahashi TN. Lack of association between Rh status, Rh immune globulin in pregnancy and autism. *American journal of medical genetics Part A*. 2007 2007/07/01;143A(13):1397-407. English.
28. Mrozek-Budzyn D, Majewska R, Kiełtyka A, Augustyniak M. [Lack of association between thimerosal-containing vaccines and autism ]. *Przegląd epidemiologiczny* . 2011 2011/12/21;65(3):491-5. English.
29. Pichichero ME, Cernichiari E, Lopreiato J, Treanor J. Mercury concentrations and metabolism in infants receiving vaccines containing thiomersal: a descriptive study. *Lancet*. 2002 2002/11/30;360(9347):1737-41. English.
30. Price CS, Thompson WW, Goodson B, Weintraub ES, Croen LA, Hinrichsen VL, et al. Prenatal and infant exposure to thimerosal from vaccines and immunoglobulins and risk of autism. *Pediatrics*. 2010 2010/10/13;126(4):656-64. English.
31. Schechter R, Grether JK. Continuing increases in autism reported to California's developmental services system: mercury in retrograde. *Archives of general psychiatry*. 2008 2008/01/08;65(1):19-24. English.

32. Stajich GV, Lopez GP, Harry SW, Sexson WR. Iatrogenic exposure to mercury after hepatitis B vaccination in preterm infants. *The Journal of pediatrics*. 2000 2000/05/23;136(5):679-81. English.
33. Stehr-Green P, Tull P, Stellfeld M, Mortenson PB, Simpson D. Autism and thimerosal-containing vaccines: lack of consistent evidence for an association. *American journal of preventive medicine*. 2003 2003/08/25;25(2):101-6. English.
34. Tozzi AE, Bisiacchi P, Tarantino V, De Mei B, D'Elia L, Chiarotti F, et al. Neuropsychological performance 10 years after immunization in infancy with thimerosal-containing vaccines. *Pediatrics*. 2009 2009/02/27;123(2):475-82. English.
35. Verstraeten T, Davis RL, DeStefano F, Lieu TA, Rhodes PH, Black SB, et al. Safety of thimerosal-containing vaccines: a two-phased study of computerized health maintenance organization databases. *Pediatrics*. 2003 2003/11/03;112(5):1039-48. English.
36. Young HA, Geier DA, Geier MR. Thimerosal exposure in infants and neurodevelopmental disorders: an assessment of computerized medical records in the Vaccine Safety Datalink. *Journal of the neurological sciences*. 2008 2008/08/15;271(1-2):110-8. English.
37. Rada G. Matrix of evidence (Epistemonikos): Thimerosal-containing vaccines and autistic spectrum disorder 2014 [cited 2014 26/11]. Available from: <http://www.epistemonikos.org/matrixes/52dc4e24d5d70f22c2ee9387>.
38. CDC. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years—Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 sites, United States, 2010. *MMWR*. 2014;63(SS 2):1-21.

## **Anexo 1: Antecedentes adicionales**

El Timerosal es un polvo blanco, cristalino (también conocido como Tiomerosal, mercurotiosalicilato de sodio, fórmula  $C_9H_9HgNaO_2S$ ). Es un agente oxidante organomercurial que contiene, por peso, aproximadamente un 50% de mercurio en la forma de etilmercurio unido a tiosalicilato.

Las sales de mercurio forman parte de un número de productos químicos con propiedades antibacterianas y antifúngicas, desarrollados en la época inmediatamente posterior al nacimiento de la bacteriología, y que fueron identificadas en la búsqueda de nuevas sustancias para estos fines. El cloruro de mercurio (sal inorgánica) fue considerado altamente eficaz como antiséptico por el propio Robert Koch, y su uso en humanos fue limitado por ser irritante para los tejidos. Una serie de compuestos organomercuriales estuvieron en uso desde comienzos del siglo 20 en las salas de operación y en los hogares debido a sus propiedades antisépticas.

La Universidad de Chicago perfeccionó una molécula estable de etilmercurio, que había emergido como un producto antiséptico de mucho interés luego de la Primera Guerra Mundial. Un Grant de investigación otorgado por la compañía farmacéutica Elly Lilly les permitió sintetizar esta molécula, la cual se patentó en 1928 con el nombre comercial de Merthiolate®. Los investigadores de la compañía, estimaron que era 40 a 50 veces más efectivo que el fenol contra *Staphylococcus Aureus*, siendo este último el patrón de referencia en la época como antiséptico en los quirófanos, y señalaron que en concentraciones de hasta 25 mg/ Kg/peso resultaban aparentemente seguras en conejos y otros animales de experimentación. Los antisépticos para uso médico, el fenol y el cresol, disponibles hasta entonces, eran más tóxicos y afectaban la integridad y potencia biológica de las sustancias que se intentaba preservar libre de contaminación por microorganismos.

A diferencia de estas últimas, se estableció que el Timerosal era suficientemente eficaz en concentraciones de 1/10.000 para ejercer su actividad antiséptica, y que por otra parte no afectaba la integridad de las vacunas o sueros. Debe tenerse presente, sin embargo, que la FDA no requería que se efectuaran estudios preclínicos de toxicidad antes de 1938, ni estudios de eficacia sino hasta 1960, para autorizar el uso de sustancias para fines sanitarios.

En 1929 durante una epidemia de meningitis meningocócica (y atendida la gravedad y ausencia de tratamientos), la compañía puso la sustancia a disposición del Hospital General de Indiana, que fue administrada en solución endovenosa al 1% a 22 pacientes. No hubo beneficios terapéuticos, pero llamó la atención de la comunidad médica que los pacientes toleraron la sustancia sin toxicidades evidentes. Esta experiencia y la de los animales de investigación, se constituyeron en pruebas adicionales de la aparente seguridad del uso del Timerosal en humanos.

También se llevó a cabo otras pruebas terapéuticas para enfermedades infecciosas severas y sin tratamiento disponible en la época, pero de manera muy excepcional y limitada. El Timerosal permaneció disponible durante las siguientes décadas casi exclusivamente como antiséptico tópico.

Dos acontecimientos muy infortunados, en los cuales viales de vacunas se habían contaminado con la bacteria *Staphylococcus Aureus*, hicieron patente la necesidad de protegerlas contra la sobreinfección bacteriana. En Columbia, Carolina del Sur, un lote de vacunas antitifoidea había causado 68 reacciones adversas severas, 28 abscesos y 4 muertes. Luego en 1926, en Australia, un lote de vacuna antidiftérica había causado la muerte de 12 de 21 niños. En ambos casos los viales se habían contaminado con *Staphylococcus Aureus*. Dada la potencia bacteriostática y bactericida el Timerosal, que permitía el uso de muy pequeñas concentraciones, así como su aparente inocuidad, dieron sustento a la decisión de utilizarlo en adelante como agente preservante (antiséptico) en vacunas y en otros productos biológicos.

Sólo en la década de 1970 se estableció que altas dosis de etilmercurio resultaban tóxicas en seres humanos. Pero, atendido el orden de magnitud de las concentraciones que causaban toxicidad y que las vacunas contenían cantidades substancialmente inferiores, se continuó considerando suficientemente seguro el uso del producto en las vacunas.

Un cambio significativo ocurrió hacia 1970, cuando las observaciones efectuadas desde los años '50 en adelante (que vinculaban al metilmercurio -contenido en alimentos, principalmente peces y semillas de cereales fumigados con esta sustancia como antifúngico, en relativamente bajas concentraciones - con enfermedad neurológica) convergieron con la preocupación por la potencial toxicidad del timerosal en bajas concentraciones, debido a las similitudes químicas de ambos compuestos junto a la demostración por primera vez que el timerosal en altas concentraciones también era tóxico en niños. El debate surgido desde entonces ha sido sobre qué tan similares o qué tan diferentes son el etilmercurio con el metilmercurio y cuáles las pruebas objetivas de su toxicidad.

Si bien la diferencia química es muy pequeñas entre el metilmercurio y etilmercurio, algunos sostienen que podría ser equivalente a la diferencia que existe entre el etanol y el metanol, el primero consumido por la humanidad durante milenios en bebidas recreacionales, en concentraciones de hasta 50º vol., (que en ciertas dosis puede ser hasta beneficioso para la salud), con el segundo, que es altamente tóxico incluso en concentraciones muy pequeñas, argumentación que ha puesto en relieve las limitaciones de efectuar inferencias especulativas a partir de la similitud entre dos sustancias químicas. En 1976 la FDA efectuó una revisión formal de los antecedentes y concluyó que no había evidencia que el timerosal, en las concentraciones contenidas en las vacunas, constituyera un riesgo para la salud.

Las observaciones efectuadas en la Bahía de Minamata (1950) y en Iraq (1971, 1973) y su evolución en el tiempo acrecentaron los temores sobre la toxicidad del metilmercurio conduciendo a las autoridades en EEUU a establecer niveles máximos de consumo diario de esta sustancia (derivada de los peces especialmente), para adultos.

Los consumos máximos para niños resultaron complejos de establecer debido a falta de información científica adecuada. Dos estudios prospectivos efectuados en los años 80, en comunidades isleñas, aisladas y con alto consumo de pescado, arrojaron resultados discordantes sobre las consecuencias del metilmercurio para el neurodesarrollo. En un caso (Islas Seychelles) no se constató efectos secundarios neurologicos, en otro (Islas Feroes) sí. Las evaluaciones en ambos estudios habían sido diferentes y también el tipo de consumo de alimentos marinos.

En los años 90 tres agencias estatales en EEUU hicieron recomendaciones diferentes sobre el consumo diario de metilmercurio, basadas especialmente en los datos de las observaciones en Iraq, y las Islas Seychelles y Feroes, en el rango de 0,4  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$  a 0,1  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ .

Desde la perspectiva de las decisiones regulatorias formales, el curso de las controversias tuvo un vuelco significativo cuando el 9 de Julio de 1999 la Food and Drug Administration (FDA) con la American Academy of Pediatrics y el Centers for Disease Control and Prevention (CDC), resolvieron emitir una declaración conjunta en la que se señaló ...“thimerosal-containing vaccines should be removed as soon as possible” ..., dejando constancia que esta declaración se efectuaba en ausencia de datos o evidencia de que el timerosal contenido en las vacunas como preservante hubiera causado algún daño a los niños. Como contexto de esta declaración conjunta cabe señalar que la FDA había encargado a una de sus divisiones (el Center for Biologics Evaluation and Research, CBER) que reuniera la información y evaluara los antecedentes disponibles, concluyendo que la cantidad acumulada promedio de mercurio, proveniente de las vacunas administradas hasta los 6 meses de edad, podría llegar a ser tanto como 187,5  $\mu\text{g}$  de etilmercurio en algunos casos, cantidad que excedía la recomendación de seguridad de la Environmental Protection Agency (EPA) para el metilmercurio. En ausencia de un estándar de seguridad para etilmercurio, se tomó el del metilmercurio como referencia. Adicionalmente, agrupaciones de padres de niños autistas con el apoyo de autoridades ejecutivas y legislativas en EEUU habían instalado la hipótesis de que siguiendo a los cambios de los esquemas de vacunación y/o ciertos tipos de vacunas, se había observado desde los años 90 un incremento aparentemente explosivo e inexplicable de la prevalencia de los trastornos del espectro autista, situación que atribuyeron inicialmente a vacunas específicas y luego al timerosal contenido en ellas, generando nuevas controversias.

Otras fuentes substantivas en esta controversia provienen de las analogías de estudios ecológicos emblemáticos sobre los efectos tóxicos del metilmercurio: el de Bahía de Minamata en Japón y otro que comparó dos comunidades, una de las Islas Feroes y otra de las Islas Seychelles, con resultados opuestos. Más aún, la controversia se ha extendido a diversos campos de las ciencias que abarcan, por vía de ejemplo, desde controvertir sobre la eficacia del timerosal como antiséptico, hasta el rol del timerosal como coadyuvante para la eficacia de las vacunas; asimismo y de manera muy incisiva, la sospecha de los padres de niños autistas, sobre la asociación aparente entre las vacunas administradas en edad temprana y el posterior desarrollo de la enfermedad (apoyada entre otras consideraciones observacionales, en el incremento aparentemente explosivo

de las enfermedades del espectro autista coincidiendo en el tiempo con cambios en los esquemas de vacunación de los niños). Inicialmente, estas aprehensiones fueron dirigidas a vacunas para prevenir enfermedades muy específicas y más adelante al timerosal contenido en ellas.

Un componente adicional y potencialmente muy relevante de la controversia, surge de la existencia de acusaciones cruzadas entre las partes, las que se atribuyen mutuamente sesgos, conflicto de intereses o manipulación de datos o información. Este componente puede imponer enormes dificultades metodológicas y analíticas, a veces insuperables, al momento de efectuar una síntesis de los resultados y debe ser tenido en consideración apropiadamente por quienes utilizan la información y toman decisiones.

Intentar resolver estas numerosas y distintivas controversias conllevaría evaluar críticamente la pertinencia, validez y solidez de las pruebas que sustentan las posiciones de las partes, en primer lugar y en ausencia de pruebas científicamente admisibles, sería necesario conducir estudios de máxima calidad científica que permitan contrastar apropiadamente las hipótesis en juego.

## Anexo 2. Consideraciones metodológicas

El objetivo principal de este anexo es describir y resumir de manera suficientemente breve y simple, accesible al mayor número de lectores posible, los aspectos metodológicos involucrados al evaluar y agrupar resultados de artículos científicos en los que ha tenido por propósito fundamental establecer una asociación causal entre una exposición a un factor de riesgo potencial y un desenlace determinado, juzgado dañino para la salud.

Es necesario esclarecer que en medicina clínica y en epidemiología suele existir un camino o proceso que se inicia con observaciones casuísticas que llaman la atención de personas o grupos de la comunidad afectados por un rasgo de salud negativo o bien directamente por la comunidad médica o científica. Esta especial atención puede surgir sea porque es muy inusual, por su gravedad, por el incremento inexplicable de su frecuencia, u otras numerosas razones. El siguiente paso a partir de estas observaciones, involucra activamente a los investigadores quienes deben diseñar estudios con ciertas metodologías apropiadas para describir, establecer la exacta naturaleza y cuantificar el fenómeno de interés; en otros casos estudios adecuados para establecer si existe o no alguna forma de asociación entre la causa(s) presunta(s) y el desenlace. Junto con ello, se busca establecer racionalmente si la asociación documentada excede los límites de lo esperable como producto del azar. En diversas formas de estos estudios se suele evaluar también el rol que pueden estar jugando otros factores, ya sean inherentes a las propias personas, al ambiente, u otros factores, que puedan incidir en el desenlace. Un paso ulterior, conlleva planificar estudios de diseño experimental que permitan probar con la mayor certidumbre posible si la(s) asociación(es) previamente evaluada(s) es(son) efectivamente de carácter causal, producto del azar, de otra naturaleza o simplemente no existen.

Debe tenerse presente que en campo de la medicina humana, esta última aproximación – la experimentación – no está frecuentemente disponible debido a limitaciones de orden técnico y más frecuentemente ético: ningún investigador, comité ético-científico institucional, agencia pública o privada de financiamiento están facultados para conducir, autorizar y/o financiar estudios que implican exponer deliberadamente a las personas a una substancia o condición que se presume potencialmente dañina. Por otra parte, en los estudios de eficacia / beneficio, se contemplan estrategias metodológicas apropiadas para detectar efectos adversos potenciales e inesperados. Es igualmente importante tener en mente que la imposibilidad técnica o ética para efectuar un estudio experimental no autoriza, racional ni éticamente, a sobrestimar el mérito de la prueba que puedan arrojar los estudios observacionales. En el campo de la epidemiología se han postulado una serie de principios que podrían contribuir a formarse una convicción más robusta sobre el rol potencialmente causal de factores de riesgo identificado en los estudios observacionales, en ausencia de prueba experimental, con todo, los epistemólogos de la ciencia aún no han logrado resolver esta materia de manera definitiva.

Una consideración final que resulta imprescindible señalar aquí, es el hecho que un estudio experimental impecablemente concebido, diseñado y ejecutado, con sus datos

adecuadamente analizados, puede arrojar como resultado una asociación causal espuria. Esto bajo el paradigma de la ciencia cuantitativa en la cual las inferencias se efectúan rechazando o no la hipótesis nula (indirectamente aceptando la hipótesis alternativa). En todo diseño experimental de esta naturaleza existe una probabilidad de cometer un error de tipo I o  $\alpha$  (falso positivo) o un error tipo II o  $\beta$  (falso negativo). Por convención los estudios se diseñan para acotar la probabilidad de error tipo I a 5% y la probabilidad de error tipo II entre 5 y 20%. Bajo este paradigma, la comunidad científica y particularmente la médica asigna un especial mérito a la replicación de los estudios y a la consistencia de sus hallazgos, por ejemplo en diversas poblaciones, en diversas épocas y por diversos grupos de investigadores. Adicionalmente, cabe destacar que se han desarrollado técnicas analíticas para reunir en un todo coherente los resultados de diferentes estudios de igual diseño que han evaluado las mismas asociaciones, naturalmente cumpliendo criterios objetivos estrictos que los hagan apropiados para este análisis.

Diseños.

Experimento, denominado clínica ensayo clínico controlado cuando se aplica la medicina. Requiere definir apropiadamente los criterios de elegibilidad (inclusión / exclusión), instrumentos de medición precisos y confiables, definición precisa del desenlace y medición enmascarada de éste, asignación aleatoria de los sujetos del experimento a cada grupo, administración del factor cuya acción sobre el desenlace que se está estudiando, de manera enmascarada doble (para quien lo administra y para quien lo recibe), entre otros factores relevantes. Es el diseño más robusto para evaluar asociación causal y su solidez radica en el hecho que los participantes en ambos grupos del experimento han tenido igual probabilidad de ingresar a cada grupo, igualando por efectos del azar los factores desconocidos que pueden influir sobre el desenlace dejando a la intervención como la causa dominante del desenlace. Está expuesto, sin embargo, a las limitaciones éticas, prácticas o técnicas y errores inferenciales señalados más arriba.

Cohortes prospectivas, estudios observacionales, de ausencia de posibilidad o factibilidad de experimento, son los más robustos para evaluar riesgo. La asociación entre un factor de riesgo potencial se expresa en mediante el denominado Riesgo Relativo. Requiere contar con un grupo de personas que estando previamente sanas hayan estado expuestas posteriormente al factor de riesgo de interés y que finalmente experimenten el desenlace de interés; para comparar se requiere otro grupo de persona que no hayan estado expuestas al factor de riesgo y que también presenten posteriormente el desenlace de interés. Los estudios de cohorte más robustos son aquéllos prospectivos, incipientes, con mediciones planificadas en plazos definidos e iguales en ambos grupos, registro de intervenciones y cointervenciones, evaluación planificada del desenlace a lo largo del tiempo y con los mismos criterios diagnósticos. La integridad de la cohorte es de crucial importancia puesto que la pérdida de seguimiento, incluso simétrica entre ambos grupos, limita seriamente la validez de las inferencias que se hagan. La limitación principal de los estudios de cohortes deriva del hecho que las causas y circunstancias por las cuales las personas estuvieron o expuestas es desconocida y exige buscar personas “parecidas” (“pareo”) al grupo expuesto, en factores biodemográficos que presumiblemente pudieran influir sobre el desenlace. Una limitación más importante aún deriva del hecho que las

cohortes suelen ser “de oportunidad” o arbitrarias y difícilmente son una muestra representativa del universo que debería estudiarse. Muchos de los registros prospectivos de salud no suelen cumplir con los requisitos de una auténtica cohorte de investigación.

Los estudios de casos-controles, representan uno de los diseños más ampliamente usados en epidemiología general para establecer asociaciones entre factores de riesgos y desenlaces. La principal razón para su amplia utilización es su costo substancialmente más bajo y su especial aplicabilidad para estudiar desenlaces negativos de baja o muy baja prevalencia. Son estudios esencialmente analíticos y sus resultados solo deberían entenderse como una forma de dar sustento racional y plausibilidad a ciertas hipótesis a partir de las cuales diseñar estudios más robustos. En estos estudios se reúne a un grupo de sujetos que han experimentado el desenlace de interés y se explora retrospectivamente la exposición a un número de factores de riesgo, incluido uno o más que se presume pudieran haberse asociado al desenlace, junto a otras variables biodemográficas. Luego se reúne un grupo de personas que no presentan el desenlace y se les estudia los mismos factores del grupo anterior. El objetivo es estimar la disparidad en las tasas de ocurrencia del desenlace entre ambos grupos. Aparte de las dificultades que representa encontrar registrado apropiadamente o recordar un eventual factor de riesgo del pasado, también existen dificultades con los criterios e instrumentos con los cuales se ha podido medir estos factores. Otra de las principales limitaciones de este tipo de estudios radica en la forma de reunir a los “controles”, quienes deberían provenir de la misma población (no se refiere a país, ni región geográfica necesariamente) de la cual provienen los controles, haber tenido iguales probabilidades de exposición al factor de riesgo, similares atributos biodemográficos, etc. Por razones estadísticas y de otra naturaleza suelen o pueden usarse más de un control para caso. El pareo inapropiado o el sobre-pareo son también factores adicionales que suelen comprometer la validez de estos estudios. Sus resultados se expresan como Odds Ratio, una aproximación al Riesgo relativo, con limitaciones.

Un diseño observacional inusual en medicina y epidemiología es el denominado series temporales o series en el tiempo. Cuando se dispone de registros prolijos, sistemáticos, apropiados para la materia que se desea estudiar y que se hayan medido los factores de interés repetidamente en el tiempo con espaciamientos fijos, permiten analizar diversas asociaciones de factores y vincular estas asociaciones con cambios experimentados en el tiempo en uno o más factores de interés.

Los estudios epidemiológicos descriptivos clásicos como los de prevalencia, incidencia, así como las comunicaciones clínicas de casos y series de casos carecen de los atributos científicos suficientes para los efectos de efectuar inferencias de causalidad generalizables.

La materia objeto de la controversia puede ser clasificada dentro de la categoría “causalidad / daño”, toda vez que la pregunta subyacente es si el Timerosal®, contenido en las vacunas, administrado en ciertas dosis, con cierta periodicidad, a unas ciertas edades, es la causa necesaria y suficiente de un grupo de padecimientos denominados Trastorno del Espectro Autista.

Para evaluar críticamente la información científica publicada sobre la materia cabe hacerse al menos las siguientes preguntas fundamentales:

1. El diseño del estudio ¿Es el más apropiado para responder la pregunta?
2. El(los) autores ¿Precisa(n) la naturaleza primaria del estudio: confirmatorio, exploratorio, descriptivo, etc.? ¿Causalidad o asociación, etc.?
3. El diseño del estudio ¿Es explícito y apropiado para responder la pregunta?
4. ¿Existe una definición explícita y precisa del(los) desenlaces? ¿La medición / evaluación del (los) desenlace(s) se efectúa de manera “ciega”, la medición es precisa y reproducible?
5. ¿Se explicitan la naturaleza del ambiente, las poblaciones, los periodos de tiempo en que se lleva a cabo la investigación, los periodos de seguimiento, los intervalos en que se llevan a cabo las mediciones, etc.?
6. ¿Se explicitan las herramientas y pruebas estadísticas utilizadas para caracterizar las variables, describir los datos y efectuar las inferencias pertinentes? ¿Son éstas las apropiadas para el estudio? ¿Se calculó el tamaño muestral y el poder? ¿Se estimó el intervalo de confianza en torno a estimación media?
7. Los datos obtenidos ¿Son suficientemente precisos y sólidos? ¿Se aseguró la completitud e integridad de la base de datos?
8. Las inferencias que hacen los autores ¿Están sustentadas por los datos sólidos y objetivos recogidos en el propio estudio?

En mérito de lo anteriormente expuesto la estrategia inicial del grupo de trabajo fue identificar los ensayos clínicos controlados que pudieran haber sido publicados sobre la materia y reunirlos en un meta-análisis si fuera técnicamente factible, luego revisar los estudios de cohorte y los de casos-controles y agruparlos con la misma estrategia, para finalmente reunirlos en una información científicamente válida y coherente, siempre manteniendo en mente respetar cabalmente las limitaciones de los métodos.

Un aspecto relevante en la controversia, imposible de incorporar con estrategias científicas y metodologías de amplio consenso, derivó del hecho de tomar conocimiento de la existencia de acusaciones mutuas entre investigadores y/o sus grupos que se ocupan de la materia, acerca de posibles fraudes y conductas profesionales o científicas censurables (o censuradas). Sobre esta materia y en la medida que no exista retractación o retiro de la información publicada, el grupo estimó que esta sigue estando disponible para su análisis y discusión por parte de la comunidad. El grupo de trabajo en la Academia de Medicina consideró la posibilidad de utilizar una forma de análisis de sensibilidad con los datos de publicaciones objeto de controversia sobre su validez en la medida que los diseños y los datos contenidos en las publicaciones lo permitieran. Esta estrategia fue considerada para incorporar y retirar iterativamente los datos de las publicaciones objetadas, para estimar la magnitud y dirección del efecto que pudieran tener sobre los desenlaces de interés.

### **Anexo 3: Entrevistas con expertos en la etapa de elaboración del protocolo**

Antes de iniciar la revisión sistemática de la literatura el grupo consideró útil recabar opiniones de personas involucradas en el tema. Para ello llevó a cabo entrevistas presenciales con las siguientes personas:

Diputada Sra. Cristina Girardi y asesores, Dr. Enrique Paris (pediatra y experto en intoxicaciones, Director del CITUC, Centro de Información toxicológica y de medicamentos de la Pontificia Universidad Católica de Chile y Presidente del Colegio Médico de Chile), Dr. Miguel O’Ryan (infectólogo pediátrico, miembro de número de la Academia Chilena de Medicina), Drs. Marcela Potin y Jaime Cerda (miembros del Directorio de la Sociedad Chilena de Infectología), Dra. Viviana Venegas y Dr. Marcos Manríquez (Sociedad de Psiquiatría y Neurología de la Infancia y Adolescencia).

## Anexo 4: Referencias adicionales

1. Arie S. Chile votes to ban thiomersal in vaccines despite opposition from doctors and scientists. *BMJ*. 2014 Feb 5;348:g1355. doi: 10.1136/bmj.g1355. PubMed PMID: 24500362.
2. WHO Global Advisory Committee on Vaccine Safety (GACVS). Report on GACVS meeting June 2012. Disponible en: [http://www.who.int/vaccine\\_safety/committee/reports/Jun\\_2012/en/](http://www.who.int/vaccine_safety/committee/reports/Jun_2012/en/)
3. WHO Weekly Epidemiological Record (WER). Global Advisory Committee on Vaccine Safety, June 2012. 27 July 2012, vol. 87, 30 (pp 277–288). Disponible en: <http://www.who.int/wer/2012/wer8730/en/>
4. Institute of Medicine. Immunization Safety Review: Vaccines and Autism Immunization Safety Review Committee ISBN: 0-309-53275-2, 214 pages, 6 x 9, (2004) Disponible en: <http://www.nap.edu/catalog/10997.html>
5. National Research Council, Committee on the Toxicological Effects of Methylmercury, Board on Environmental Studies and Toxicology. Toxicological Effects of Methylmercury. ISBN: 0-309-56970-2, 368 pages, 6 x 9 (2000). Disponible en: <http://www.nap.edu/catalog/9899.html>
6. Rada G. Thimerosal in vaccines - white, black, or quite the opposite?. *Medwave*. 2014;14(2):5929 doi: 10.5867/medwave.2014.02.5929
7. Kottow M. A bioethical j'accuse: analysis of the discussion around thiomersal in Chile. *Medwave* 2014;14(2):e5923 doi: 10.5867/medwave.2014.02.5923
8. Informe de la Comisión de Salud Recaído en el Proyecto de Ley que elimina las Vacunas Multidosis con Timerosal o Compuestos Organomercúricos. Boletín N° 7.036-11 (Tercer Trámite Constitucional)
9. Loison E, Poirier-Beaudouin B, Seffer V, Paoletti A, Abitbol V, Tartour E, Launay O, Gougeon ML. Suppression by thimerosal of ex-vivo CD4+ T cell response to influenza vaccine and induction of apoptosis in primary memory T cells. *PLoS One*. 2014 Apr 1;9(4):e92705. doi: 10.1371/journal.pone.0092705. eCollection 2014. PubMed PMID: 24690681; PubMed Central PMCID: PMC3972181.
10. Pieper I, Wehe CA, Bornhorst J, Ebert F, Leffers L, Holtkamp M, Höseler P, Weber T, Mangerich A, Bürkle A, Karst U, Schwerdtle T. Mechanisms of Hg species induced toxicity in cultured human astrocytes: genotoxicity and DNA-damage response. *Metallomics*. 2014 Mar;6(3):662-71. doi: 10.1039/c3mt00337j. Epub 2014 Feb 19. PubMed PMID: 24549367.
11. Staab TA, Evgrafov O, Knowles JA, Sieburth D. Regulation of synaptic nlg-1/neuroigin abundance by the skn-1/Nrf stress response pathway protects against oxidative stress. *PLoS Genet*. 2014 Jan;10(1):e1004100. doi: 10.1371/journal.pgen.1004100. Epub 2014 Jan 16. Erratum in: *PLoS Genet*. 2014 Apr;10(4):e1004361. Egrafov, Oleg [corrected to Evgrafov, Oleg]. PubMed PMID: 24453991; PubMed Central PMCID: PMC3894169.
12. Wehe CA, Pieper I, Holtkamp M, Thyssen GM, Sperling M, Schwerdtle T, Karst U. On-line species-unspecific isotope dilution analysis in the picomolar range reveals the time- and species-depending mercury uptake in human astrocytes. *Anal Bioanal Chem*. 2014 Mar;406(7):1909-16. doi: 10.1007/s00216-013-7608-4. Epub 2014 Jan 18. PubMed PMID: 24442014.
13. Zimmermann LT, Santos DB, Naime AA, Leal RB, Dórea JG, Barbosa F Jr, Aschner M, Rocha JB, Farina M. Comparative study on methyl- and ethylmercury-induced toxicity in C6 glioma cells and the potential role of LAT-1 in mediating mercurial-thiol complexes uptake. *Neurotoxicology*. 2013 Sep;38:1-8. doi: 10.1016/j.neuro.2013.05.015. Epub 2013 May 30. PubMed PMID: 23727015.
14. Zimmer B, Lee G, Balmer NV, Meganathan K, Sachinidis A, Studer L, Leist M. Evaluation of developmental toxicants and signaling pathways in a functional test based on the migration of human neural crest cells. *Environ Health Perspect*. 2012 Aug;120(8):1116-22. doi:

- 10.1289/ehp.1104489. Epub 2012 May 9. PubMed PMID: 22571897; PubMed Central PMCID: PMC3440079.
15. Li WX, Chen SF, Chen LP, Yang GY, Li JT, Liu HZ, Zhu W. Thimerosal-induced apoptosis in mouse C2C12 myoblast cells occurs through suppression of the PI3K/Akt/survivin pathway. *PLoS One*. 2012;7(11):e49064. doi: 10.1371/journal.pone.0049064. Epub 2012 Nov 7. PubMed PMID: 23145070; PubMed Central PMCID: PMC3492179.
16. Blanuša M, Orct T, Vihnanek Lazarus M, Sekovanić A, Piasek M. Mercury disposition in suckling rats: comparative assessment following parenteral exposure to thiomersal and mercuric chloride. *J Biomed Biotechnol*. 2012;2012:256965. doi: 10.1155/2012/256965. Epub 2012 Jul 26. PubMed PMID: 22899883; PubMed Central PMCID: PMC3412121.
17. Khan A, Sulkowski ZL, Chen T, Zavacki AM, Sajdel-Sulkowska EM. Sex-dependent changes in cerebellar thyroid hormone-dependent gene expression following perinatal exposure to thimerosal in rats. *J Physiol Pharmacol*. 2012 Jun;63(3):277-83. PubMed PMID: 22791642.
18. Chauvat A, Benhamouda N, Loison E, Gougeon ML, Gey A, Levionnois E, Ravel P, Abitbol V, Roncelin S, Marcheteau E, Quintin-Colonna F, Fridman WH, Launay O, Tartour E. Pitfalls in anti-influenza T cell detection by Elispot using thimerosal containing pandemic H1N1 vaccine as antigen. *J Immunol Methods*. 2012 Apr 30;378(1-2):81-7. doi: 10.1016/j.jim.2012.02.008. Epub 2012 Feb 16. PubMed PMID: 22366633.
19. Duszczek-Budhathoki M, Olczak M, Lehner M, Majewska MD. Administration of thimerosal to infant rats increases overflow of glutamate and aspartate in the prefrontal cortex: protective role of dehydroepiandrosterone sulfate. *Neurochem Res*. 2012 Feb;37(2):436-47. doi: 10.1007/s11064-011-0630-z. Epub 2011 Oct 21. PubMed PMID: 22015977; PubMed Central PMCID: PMC3264864.
20. Sulkowski ZL, Chen T, Midha S, Zavacki AM, Sajdel-Sulkowska EM. Maternal thimerosal exposure results in aberrant cerebellar oxidative stress, thyroid hormone metabolism, and motor behavior in rat pups; sex- and strain-dependent effects. *Cerebellum*. 2012 Jun;11(2):575-86. doi: 10.1007/s12311-011-0319-5. PubMed PMID: 22015705.
21. Ida-Eto M, Oyabu A, Ohkawara T, Tashiro Y, Narita N, Narita M. Embryonic exposure to thimerosal, an organomercury compound, causes abnormal early development of serotonergic neurons. *Neurosci Lett*. 2011 Nov 14;505(2):61-4. doi: 10.1016/j.neulet.2011.05.053. Epub 2011 Jun 6. PubMed PMID: 21669256.
22. Olczak M, Duszczek M, Mierzejewski P, Meyza K, Majewska MD. Persistent behavioral impairments and alterations of brain dopamine system after early postnatal administration of thimerosal in rats. *Behav Brain Res*. 2011 Sep 30;223(1):107-18. doi: 10.1016/j.bbr.2011.04.026. Epub 2011 Apr 28. PubMed PMID: 21549155.
23. Wyrembek P, Szczuraszek K, Majewska MD, Mozrzymas JW. Intermingled modulatory and neurotoxic effects of thimerosal and mercuric ions on electrophysiological responses to GABA and NMDA in hippocampal neurons. *J Physiol Pharmacol*. 2010 Dec;61(6):753-8. PubMed PMID: 21224507.
24. Ziemska E, Toczylowska B, Stafiej A, Lazarewicz JW. Low molecular weight thiols reduce thimerosal neurotoxicity in vitro: modulation by proteins. *Toxicology*. 2010 Oct 29;276(3):154-63. doi: 10.1016/j.tox.2010.07.023. Epub 2010 Aug 7. PubMed PMID: 20696200.
25. Rodrigues JL, Serpeloni JM, Batista BL, Souza SS, Barbosa F Jr. Identification and distribution of mercury species in rat tissues following administration of thimerosal or methylmercury. *Arch Toxicol*. 2010 Nov;84(11):891-6. doi: 10.1007/s00204-010-0538-4. Epub 2010 Apr 13. PubMed PMID: 20386881.

26. Gardner RM, Nyland JF, Silbergeld EK. Differential immunotoxic effects of inorganic and organic mercury species in vitro. *Toxicol Lett.* 2010 Oct 5;198(2):182-90. doi: 10.1016/j.toxlet.2010.06.015. Epub 2010 Jun 26. PubMed PMID: 20600710.
27. Migdal C, Tailhardat M, Courtellemont P, Haftek M, Serres M. Responsiveness of human monocyte-derived dendritic cells to thimerosal and mercury derivatives. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2010 Jul;246(1-2):66-73. doi: 10.1016/j.taap.2010.04.007. Epub 2010 Apr 22. PubMed PMID: 20417223.
28. Migdal C, Foggia L, Tailhardat M, Courtellemont P, Haftek M, Serres M. Sensitization effect of thimerosal is mediated in vitro via reactive oxygen species and calcium signaling. *Toxicology.* 2010 Jul-Aug;274(1-3):1-9. doi: 10.1016/j.tox.2010.04.016. Epub 2010 May 10. PubMed PMID: 20457211.
29. Minami T, Miyata E, Sakamoto Y, Yamazaki H, Ichida S. Induction of metallothionein in mouse cerebellum and cerebrum with low-dose thimerosal injection. *Cell Biol Toxicol.* 2010 Apr;26(2):143-52. doi: 10.1007/s10565-009-9124-z. Epub 2009 Apr 9. PubMed PMID: 19357975.
30. Olczak M, Duszczak M, Mierzejewski P, Majewska MD. Neonatal administration of a vaccine preservative, thimerosal, produces lasting impairment of nociception and apparent activation of opioid system in rats. *Brain Res.* 2009 Dec 8;1301:143-51. doi: 10.1016/j.brainres.2009.09.003. Epub 2009 Sep 9. PubMed PMID: 19747466.
31. Hashimoto E, Oyama TB, Oyama K, Nishimura Y, Oyama TM, Ueha-Ishibashi T, Okano Y, Oyama Y. Increase in intracellular Zn<sup>2+</sup> concentration by thimerosal in rat thymocytes: intracellular Zn<sup>2+</sup> release induced by oxidative stress. *Toxicol In Vitro.* 2009 Sep;23(6):1092-9. doi: 10.1016/j.tiv.2009.05.020. Epub 2009 Jun 2. PubMed PMID: 19497362.
32. Minami T, Miyata E, Sakamoto Y, Kohama A, Yamazaki H, Ichida S. Expression of metallothionein mRNAs on mouse cerebellum microglia cells by thimerosal and its metabolites. *Toxicology.* 2009 Jun 30;261(1-2):25-32. doi: 10.1016/j.tox.2009.04.037. Epub 2009 Apr 19. PubMed PMID: 19386279.
33. James SJ, Rose S, Melnyk S, Jernigan S, Blossom S, Pavliv O, Gaylor DW. Cellular and mitochondrial glutathione redox imbalance in lymphoblastoid cells derived from children with autism. *FASEB J.* 2009 Aug;23(8):2374-83. doi: 10.1096/fj.08-128926. Epub 2009 Mar 23. PubMed PMID: 19307255; PubMed Central PMCID: PMC2717775.
34. Branch DR. Gender-selective toxicity of thimerosal. *Exp Toxicol Pathol.* 2009 Mar;61(2):133-6. doi: 10.1016/j.etp.2008.07.002. Epub 2008 Sep 3. PubMed PMID: 18771903.
35. Eke D, Celik A. Genotoxicity of thimerosal in cultured human lymphocytes with and without metabolic activation sister chromatid exchange analysis proliferation index and mitotic index. *Toxicol In Vitro.* 2008 Jun;22(4):927-34. doi: 10.1016/j.tiv.2008.01.012. Epub 2008 Feb 1. PubMed PMID: 18321677.
36. Wu X, Liang H, O'Hara KA, Yalowich JC, Hasinoff BB. Thiol-modulated mechanisms of the cytotoxicity of thimerosal and inhibition of DNA topoisomerase II alpha. *Chem Res Toxicol.* 2008 Feb;21(2):483-93. doi: 10.1021/tx700341n. Epub 2008 Jan 16. PubMed PMID: 18197631.
37. Liu SI, Huang CC, Huang CJ, Wang BW, Chang PM, Fang YC, Chen WC, Wang JL, Lu YC, Chu ST, Chou CT, Jan CR. Thimerosal-induced apoptosis in human SCM1 gastric cancer cells: activation of p38 MAP kinase and caspase-3 pathways without involvement of [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> elevation. *Toxicol Sci.* 2007 Nov;100(1):109-17. Epub 2007 Aug 13. PubMed PMID: 17698513.
38. Lawton M, Iqbal M, Kontovraki M, Lloyd Mills C, Hargreaves AJ. Reduced tubulin tyrosination as an early marker of mercury toxicity in differentiating N2a cells. *Toxicol In Vitro.* 2007 Oct;21(7):1258-61. Epub 2007 Apr 14. PubMed PMID: 17553660.

39. Yole M, Wickstrom M, Blakley B. Cell death and cytotoxic effects in YAC-1 lymphoma cells following exposure to various forms of mercury. *Toxicology*. 2007 Feb 28;231(1):40-57. Epub 2006 Nov 25. Erratum in: *Toxicology*. 2008 Jan 14;243(1-2):244-5. PubMed PMID: 17210217.
40. Havarinasab S, Björn E, Ekstrand J, Hultman P. Dose and Hg species determine the T-helper cell activation in murine autoimmunity. *Toxicology*. 2007 Jan 5;229(1-2):23-32. Epub 2006 Sep 24. PubMed PMID: 17084957.
41. Agrawal A, Kaushal P, Agrawal S, Gollapudi S, Gupta S. Thimerosal induces TH2 responses via influencing cytokine secretion by human dendritic cells. *J Leukoc Biol*. 2007 Feb;81(2):474-82. Epub 2006 Nov 1. PubMed PMID: 17079650.
42. M Waly, H Olteanu, R Banerjee, S-W Choi, J B Mason, B S Parker, S Sukumar, S Shim, a Sharma, J M Benzecry, V-a Power-Charnitsky, R C Deth (2004). Activation of methionine synthase by insulin-like growth factor-1 and dopamine: a target for neurodevelopmental toxins and thimerosal. *Molecular psychiatry* 9 (4) p. 358-370
43. S. Havarinasab, P. Hultman (2006). Alteration of the spontaneous systemic autoimmune disease in (NZB NZW)F1 mice by treatment with thimerosal (ethyl mercury). *Toxicology and Applied Pharmacology* 214 (1) p. 43-54
44. S Makani, S Gollapudi, L Yel, S Chiplunkar, S Gupta (2002). Biochemical and molecular basis of thimerosal-induced apoptosis in T cells: a major role of mitochondrial pathway. *Genes and immunity* 3 (5) p. 270-278
45. Thomas M Burbacher, Danny D Shen, Noelle Liberato, Kimberly S Grant, Elsa Cernichiari, Thomas Clarkson (2005). Comparison of blood and brain mercury levels in infant monkeys exposed to methylmercury or vaccines containing thimerosal. *Environmental health perspectives* 113 (8) p. 1015-1021
46. Tatjana Orct, Maja Blanua, Maja Lazarus, Veda Marija Varnai, Krista Kostial (2006). Comparison of organic and inorganic mercury distribution in suckling rat. *Journal of Applied Toxicology* 26 (6) p. 536-539
47. Johanna Qvarnström, Lars Lambertsson, Said Havarinasab, Per Hultman, Wolfgang Frech (2003). Determination of methylmercury, ethylmercury, and inorganic mercury in mouse tissues, following administration of thimerosal, by species-specific isotope dilution GC-inductively coupled plasma-MS. *Analytical Chemistry* 75 (16) p. 4120-4124
48. S. Havarinasab, L. Lambertsson, J. Qvarnström, P. Hultman (2004). Dose-response study of thimerosal-induced murine systemic autoimmunity. *Toxicology and Applied Pharmacology* 194 (2) p. 169-179
49. Henri Alexandre, V. Delsinne, J. J. Goval, a. Van Cauwenberge (2003). Effect of taxol and okadaic acid on microtubule dynamics in thimerosal-arrested primary mouse oocytes: A confocal study. *Biology of the Cell* 95 (6) p. 407-414
50. T Ueha-Ishibashi, Y Oyama, H Nakao, C Umabayashi, Y Nishizaki, T Tatsuishi, K Iwase, K Murao, H Seo (2004). Effect of thimerosal, a preservative in vaccines, on intracellular Ca<sup>2+</sup> concentration of rat cerebellar neurons. *Toxicology* 195 (1) p. 77-84
51. Damani K. Parran, Angela Barker, Marion Ehrich (2005). Effects of thimerosal on NGF signal transduction and cell death in neuroblastoma cells. *Toxicological Sciences* 86 (1) p. 132-140
52. E a Nelson, R Y Gottshall (1967). Enhanced toxicity for mice of pertussis vaccines when preserved with Merthiolate. *Applied microbiology* 15 (3) p. 590-593
53. T. Ueha-Ishibashi, Y. Oyama, H. Nakao, C. Umabayashi, S. Hirama, Y. Sakai, S. Ishida, Y. Okano (2005). Flow-cytometric analysis on cytotoxic effect of thimerosal, a preservative in vaccines, on lymphocytes dissociated from rat thymic glands. *Toxicology in Vitro* 19 (2) p. 191-198
54. I Anundi, J Högborg, a H Stead (1979). Glutathione depletion in isolated hepatocytes: its relation to lipid peroxidation and cell damage. *Toxicology* 45 (1) p. 45-51

55. S. Havarinasab, B. Heggqvist, E. Bjorn, K. M. Pollard, P. Hultman (2005). Immunosuppressive and autoimmune effects of thimerosal in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* 204 (2) p. 109-121
56. J Song, Y Y Jang, Y K Shin, M Y Lee, C Lee (2000). Inhibitory action of thimerosal, a sulfhydryl oxidant, on sodium channels in rat sensory neurons. *Brain research* 864 (1) p. 105-113
57. Henry Welch, D Ph, Albert C Hunter. Method for Determining the Effect of Chemical Antisepsis on Phagocytosis. 30 p. 129-137
58. Michelle L. Humphrey, Marsha P. Cole, James C. Pendergrass, Kinsley K. Kinningham (2005). Mitochondrial mediated thimerosal-induced apoptosis in a human neuroblastoma cell line (SK-N-SH). *NeuroToxicology* 26 (3) p. 407-416
59. Jonathan J Abramson, Anthony C Zable, Terence G Favero, Guy Salama (1995). Muscle Sarcoplasmic Reticulum Thimerosal Interacts with the Ca<sup>2+</sup> Release Channel Ryanodine Sarcoplasmic Reticulum.
60. M Hornig, D Chian, W I Lipkin (2004). Neurotoxic effects of postnatal thimerosal are mouse strain dependent. *Molecular psychiatry* 9 (9) p. 833-845
61. Author Manuscript, Membrane Damage (2007). NIH Public Access 74 (2) p. 361-368
62. Chung-Ren Jan, Bang-Ping Jiann, Yih-Chau Lu, Hong-Tai Chang, Chia-Cheng Yu, Wei-Chung Chen, Jong-Khing Huang (2003). Oxidation by thimerosal increases calcium levels in renal tubular cells. *Pharmacology & toxicology* 93 (3) p. 123-127
63. T. Ueha-Ishibashi, T. Tatsuishi, K. Iwase, H. Nakao, C. Umabayashi, Y. Nishizaki, Y. Nishimura, Y. Oyama, S. Hiram, Y. Okano (2004). Property of thimerosal-induced decrease in cellular content of glutathione in rat thymocytes: A flow cytometric study with 5-chloromethylfluorescein diacetate. *Toxicology in Vitro* 18 (5) p. 563-569
64. M Montero, M J Barrero, F Torrecilla, C D Lobatón, a Moreno, J Alvarez (2001). Stimulation by thimerosal of histamine-induced Ca<sup>2+</sup> release in intact HeLa cells seen with aequorin targeted to the endoplasmic reticulum. *Cell calcium* 30 (3) p. 181-190
65. P Donoso, P Aracena, C Hidalgo (2000). Sulfhydryl oxidation overrides Mg<sup>2+</sup> inhibition of calcium-induced calcium release in skeletal muscle triads. *Biophysical journal* 79 (1) p. 279-286
66. G. Kerst, H. Brousos, R. Schreiber, R. Nitschke, M. J. Hug, R. Greger, M. Bleich (2002). The oxidant thimerosal modulates gating behavior of KCNQ1 by interaction with the channel outer shell. *Journal of Membrane Biology* 186 (2) p. 89-100
67. M D Bootman, C W Taylor, M J Berridge (1992). The thiol reagent, thimerosal, evokes Ca<sup>2+</sup> spikes in HeLa cells by sensitizing the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor. *The Journal of biological chemistry* 267 (35) p. 25113-25119
68. H. Alexandre, V. Delsinne, J. J. Goval (2003). The thiol reagent, thimerosal, irreversibly inhibits meiosis reinitiation in mouse oocyte when applied during a very early and narrow temporal window: A pharmacological analysis. *Molecular Reproduction and Development* 65 (4) p. 454-461
69. Yunju Jin, Dong Kwan Kim, Lee Yong Khil, Uhtaek Oh, Jun Kim, Jiyeon Kwak (2004). Thimerosal decreases TRPV1 activity by oxidation of extracellular sulfhydryl residues. *Neuroscience Letters* 369 (3) p. 250-255
70. R Mihai, T Lai, G Schofield, J R Farndon (1999). Thimerosal increases the responsiveness of the calcium receptor in human parathyroid and rMTC6D23 cells. 26 p. 95-101
71. Kyung Jin Woo, Tae-jin Lee, Jae Hoon Bae, Byeong-churl Jang, Dae-kyu Song, Jae-we Cho, Seong-il Suh, Jong-wook Park, Taeg Kyu Kwon (2006). Thimerosal Induces Apoptosis and G<sub>2</sub> / M Phase Arrest in Human Leukemia Cells. 666 (January) p. 657-666

72. Michelle L. Herdman, Aileen Marcelo, Ying Huang, Richard M. Niles, Sanjit Dhar, Kinsley Kelley Kiningham (2006). Thimerosal induces apoptosis in a neuroblastoma model via the cJun N-terminal kinase pathway. *Toxicological Sciences* 92 (1) p. 246-253
73. Westphal GA, Asgari S, Schulz TG, Bünger J, Müller M, Hallier E. Thimerosal induces micronuclei in the cytochalasin B block micronucleus test with human lymphocytes. *Arch Toxicol.* 2003 Jan;77(1):50-5. Epub 2002 Nov 6. PubMed PMID: 12491041.
74. Seunghwan Lee, Md Firoz Mian, Hu Jang Lee, Chung Boo Kang, Jong Shu Kim, Sung Ho Ryu, Pann Ghill Suh, Euikyung Kim (2006). Thimerosal induces oxidative stress in HeLa S epithelial cells. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 22 (2) p. 194-199
75. S. J. James, William Slikker, Stepan Melnyk, Elizabeth New, Marta Pogribna, Stefanie Jernigan (2005). Thimerosal neurotoxicity is associated with glutathione depletion: Protection with glutathione precursors. *NeuroToxicology* 26 (1) p. 1-8
76. Geert Bultynck, Karolina Szlufcik, Nael Nadif Kasri, Zerihun Assefa, Geert Callewaert, Ludwig Missiaen, Jan B Parys, Humbert D E Smedt (2004). Thimerosal stimulates Ca<sup>2+</sup> flux through inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor type 1, but not type 3, via modulation of an isoform-specific Ca<sup>2+</sup>-dependent intramolecular interaction. 96 p. 87-96
77. Euikyung Kim, Jung Hwan Kim, Hyeon Soo Kim, Sung Ho Ryu, Pann Ghill Suh (2002) Thimerosal stimulates focal adhesion kinase and cytoskeletal changes by redox modulation. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research* 1593 (1) p. 9-15
78. Hong-Tai Chang, Chung-Shin Liu, Chiang-Ting Chou, Ching-Hong Hsieh, Chih-Hung Chang, Wei-Chuan Chen, Shiuh-Inn Liu, Shu-Shong Hsu, Jin-Shyr Chen, Bang-Ping Jiann, Chung-Ren Jan (2005) Thimerosal-induced cytosolic Ca<sup>2+</sup> elevation and subsequent cell death in human osteosarcoma cells. *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society* 52 (4) p. 328-33
79. Edwin C Thrower, Herve Duclohier, Edward J A Lea, Ge Molle, Alan P Dawson (1996) thiol reagent thimerosal on channel activity. 66 p. 61-66
80. Vandana Jain, Emma McWilliams, Michael Young (2003) Thiomersal enhances the binding of histamine to the H1 receptor, but not histamine-stimulated inositol phosphate formation. *The Journal of pharmacy and pharmacology* 55 (4) p. 545-549
81. Samuel R Goth, Ruth a Chu, Jeffrey P Gregg, Gennady Cherednichenko, Isaac N Pessah (2006) Uncoupling of ATP-mediated calcium signaling and dysregulated interleukin-6 secretion in dendritic cells by nanomolar thimerosal. *Environmental health perspectives* 114 (7) p. 1083-1091

## Anexo 5. Características de los estudios incluidos

<p><b>Andrews 2004</b> Diseño de estudio: Estudio de cohorte País: Reino unido Población: Niños con al menos 2 años de seguimiento, nacidos entre 1988 y 1997, correspondiente a la población bajo control por <i>general practitioners (GPs)</i> (National Statistics database) 103.043 niños fueron incluidos Intervención/exposición: Numero de dosis DTP/DT a los 3 y 4 meses y acumulacion de dosis. Cada dosis contiene 50 ug de timerosal (25 ug de etilmercurio) Control: Sin exposición Comentarios:</p>
<p><b>Barile 2012</b> Diseño de estudio: Estudio de cohorte País: EEUU Población: Exposición total a timerosal: timerosal administrado por medio de inmunoglobulinas y vacunas, en el periodo prenatal a las madres, y hasta los 7 meses de edad. Intervención/exposición: No vacunados Comentarios: NO se encontró asociación entre vacunas con timerosal y autismo.</p>
<p><b>Croen 2008</b> Diseño de estudio: Estudio de casos y controles País: Estados Unidos (California) Población: cohorte de niños nacidos entre 1995 y 1999. Intervención/exposición: IgG anti Rh en madres RH(con timerosal) y vacuna antiinfluenza (tb con timerosal) durante el embarazo de la madre Control: Sin exposición Comentarios: Riesgo de autismo no se asoció con recibir timerosal antenatal OR 1 (0,65 a 1,6). 1 madre en los casos y 3 en los controles recibieron vacuna con timerosal. La principal fuente de timerosal antental fue el uso de Rhlg</p>
<p><b>Dorea 2014</b> Diseño de estudio: Estudio transversal País: Brasil Población: Todos los niños bajo 5 años en una comunidad rural formada como resultado de la construcción de represa hidroeléctrica (Itapuã) y reubicación de personal por faenas mineras (Bom Futuro). Intervención/exposición: Exposición a timerosal y otras fuentes mercurio</p>
<p><b>Fombonne 2006</b> Diseño de estudio: Estudio transversal País: Canadá Población: 27.749 niños nacidos entre 1987 y 1998 asistentes a 55 escuelas en Montreal. Intervención/exposición: Exposición acumulada a timerosal acumulada a los 2 años de edad, estimado de acuerdo al uso de vacunas con timerosal</p>

Control: Sin grupo control  
Comentarios: Mediante análisis de regresión múltiple, se evaluó la relación que existía entre las distintas cohortes de niños y su exposición a timerosal (calculada por las vacunas que les correspondía por programa a dicha cohorte). La mayor prevalencia de enfermedades del espectro autista se encontraron en la cohorte sin exposición a vacunas con timerosal ((82,7 de 10000; IC 95%:62 a 108 de 10000) comparado con la cohorte expuesta a timerosal (59,5 de 10000; IC 95%: 49,6 a 70,8 de 10000), con un OR: 1,39; IC 95%: 1,01 a 1,92; P < 0,05). Cuando la exposición a timerosal se utilizó como una variable continua, no se encontraron diferencias significativas (P 0,11)

**Gallagher 2008**

Diseño de estudio: Estudio transversal

País: Estados Unidos

Población: Datos provenientes de base de datos NHANES de 1824 niños (85 niños con necesidades especiales de educación como proxy de developmental disabilities y 1739 niños "normales")

Intervención/exposición: vacuna con timerosal Hepatitis B (3 dosis)

Control: sin vacuna

Comentarios: Regresión logística: Probabilidad de tener necesidad especiales de educación como proxy de trastornos del desarrollo= OR= 8,63 (IC 95% 3,24- 22,28) entre los expuestos y los no expuestos, población masculina. En niñas, el OR= 0,27 (0,10-0,72)

**Gallagher 2010**

Diseño de estudio: Estudio transversal

País: Estados Unidos

Población: 79883 casos de base de datos de vacunación de representación nacional.

Intervención/exposición: vacuna hepatitis B durante el primer mes de vida

Control: sin vacuna

Comentarios: Riesgo de desarrollar autismo entre niños que recibieron vacuna vs los que no OR ajustado = 3,002 p < 0.031

**Geier 2003a**

Diseño de estudio: Estudio de cohorte

País: EEUU

Población: niños. Cohorte nacida en los años 1984,1985 y 1990–1994

Intervención/exposición: vacunas (con timerosal) difteria, tetanos, y pertussis acelular (DTaP)

Control: Inmunización libre de timerosal

Comentarios: Se describe un mayor riesgo de autismo, retardo mental y problemas del lenguaje tras exposición a timerosal. Sin embargo los denominadores no están descritos haciendo imposible el uso de la información.

**Geier 2003b**

Diseño de estudio: Estudio de cohorte

País: EEUU

Población: niños. Cohorte nacida en los años 1984,1985 y 1990–1994

Intervención/exposición: vacunas (con timerosal) difteria, tetanos, y pertussis acelular

<p>(DTaP)  Control: Inmunización libre de timerosal  Comentarios: Geier 2003a, 2003b y 2003c corresponden al mismo estudio.</p>
<p><b>Geier 2003c</b>  Diseño de estudio: Estudio de cohorte  País: EEUU  Población: niños. Cohorte nacida en los años 1984,1985 y 1990–1994  Intervención/exposición: vacunas (con timerosal) difteria, tetanos, y pertussis acelular (DTaP)  Control: Inmunización libre de timerosal  Comentarios: Geier 2003a, 2003b y 2003c corresponden al mismo estudio.</p>
<p><b>Geier 2004 (16)</b>  Diseño de estudio: Estudio de cohorte  País: EEUU  Población: niños. Cohorte nacida en los años 1981-1985 y 1990–1996  Intervención/exposición: vacunas (con timerosal) difteria, tetanos, y pertussis acelular (DTaP); difteria, tetanos, y pertussis células enteras (DTwcP); difteria, tetanos, pertussis células enteras, Haemophilus influenza Tipo b (DTwcPH); Haemophilus influenza Tipo b (Hib); hepatitis B.  Control: Inmunización libre de timerosal</p>
<p><b>Geier 2005</b>  Diseño de estudio: Estudio de cohorte  País: Estados unidos  Población: Cohorte de niños nacidos entre 1992 y 1997  Intervención/exposición: Vacunas con timerosal:hepatitis B; Haemophilus Influenzae Tipo b (Hib); Difteria-Tétanos-Pertussis (células enteras o acelular)  Control: Sin grupo control  Comentarios: Primera parte: re-análisis de Geier 2003. Este análisis presenta problemas de unidad de análisis, la incidencia de autismo se calcula sobre el número de dosis en lugar de sobre la población expuesta. Segunda parte: Análisis de otra cohorte. Se presentan los outcomes pero no hay información respecto de la exposición, haciendo imposible el uso de la información</p>
<p><b>Geier 2007</b>  Diseño de estudio: Estudio de casos y controles  País: Estados unidos  Población: Casos: Pacientes caucásicos no judíos con trastornos del espectro autista. Rh negatividad  Controles: Niños de mujeres Rh-negativas  Comentarios: Casos fueron más frecuentemente Rh negativos que controles</p>
<p><b>Geier 2008</b>  Diseño de estudio: Estudio de casos y controles  País: Estados Unidos  Casos: Niños caucásicos nacidos entre 1987-2001 con trastornos del desarrollo Rh negatividad</p>

<p>Controles: Niños caucásicos nacidos entre 1987-2001 sin trastornos del desarrollo Comentarios: Casos fueron más frecuentemente Rh negativos que controles</p>
<p><b>Geier 2013</b> Diseño de estudio: Estudio de cohorte País: EEUU Población: Exposición a vacunas con timerosal, bases de datos VAERS Y VSD Intervención/exposición: Diphtheria-Tetanus-acellular-Pertussis (DTaP) Control: Thimerosal-free DTaP vaccine</p>
<p><b>Heron 2004</b> Diseño de estudio: Estudio de cohorte País: Reino Unido Población: 12956 niños de la región de Avon Intervención/exposición: vacunas con timerosal (DPT/DT) antes de los 6 meses Control: sin vacunas Comentarios: Aunque es un estudio de cohorte, los autores no reportan los datos de número de eventos por grupo, sino los OR ajustados, considerando los confundentes y el tiempo de exposición calculado de acuerdo a las dosis y seguimiento de los niños.</p>
<p><b>Hviid 2003</b> Diseño de estudio: Estudio de cohorte País: Dinamarca Población: Niños nacidos entre 1991 y 1996 Intervención/exposición: vacunas con timerosal (pertussis) Control: vacunas sin timerosal Comentarios:</p>
<p><b>Madsen 2003</b> Diseño de estudio: estudio ecológico País: Dinamarca Población: niños con diagnóstico de enfermedad del espectro autista entre 2 y 10 años 1971-2000 Intervención/exposición: vacunas con timerosal Control: vacunas sin timerosal Comentarios: Se observó la incidencia de autismo entre el periodo 1971 y 2000. Dinamarca tuvo vacunas con timerosal hasta 1992. La incidencia de autismo (tomada de la base de datos de enfermedades psiquiátricas danesa) se observó entre los años 1969 y 2000. La incidencia de autismo se mantuvo estable hasta 1990 y de ahí se produjo un aumento progresivo del diagnóstico en todos los grupos etarios (2-4, 5-6 y 7-9 años) hasta 1999. NO se observó una correlación entre la incidencia de autismo/autismo-like disorders y la exposición a timerosal. La incidencia mayor fue en la cohorte de niños que nacieron después del año 1992, no expuestos a timerosal.</p>
<p><b>Majewska 2010</b> Diseño de estudio: Casos y controles País: Polonia Casos: Niños autistas de ambos sexos de 3-4 y 7-9 años Controles: Niños sanos de las mismas edades</p>

Comentarios:
<p><b>Marques 2009</b>  Diseño de estudio: Estudio transversal  País: Brasil  Población: Niños de distintas edades  Intervención/exposición: Exposición a mercurio (vacunas + lactancia materna)  Comentarios: Se realizaron varios modelos de regresión múltiple para evaluar la relación entre la exposición post natal a mercurio (concentración de mercurio en muestras del pelo de los niños) y la evaluación del desarrollo a través del test de Gesell a los 6 meses: R= -0.333, p= 0.002 - A los 36 meses r= -0.172, p=0.122; a los 60 meses, r=-0.803, p=0.010). Por lo tanto hubo una correlación negativa estadísticamente significativa entre los niveles de mercurio y el test de desarrollo de Gesell a los 6 y 60 meses</p>
<p><b>Marques 2010</b>  Diseño de estudio: Estudio de casos y controles  País: Brasil  Población: Lactantes de 6 meses  Intervención/exposición: Madres vacunadas con Td (con timerosal) durante embarazo  Control: Madres no vacunadas</p>
<p><b>Miles 2007</b>  Diseño de estudio: Estudio de casos y controles  País: EEUU  Población: Niños y adultos derivados a clínica de autismo  Intervención/exposición: Rh negativo materno; exposición antenatal a Rh Ig (con timerosal)  Control: Pacientes con Síndrome Down y donantes de sangre.  Comentarios: La exposición a madre Rh (-) o que haya recibido Rh Ig (con timerosal) no se asoció a mayor presencia de autismo.</p>
<p><b>Mrozek-Budzyn 2011</b>  Diseño de estudio: Estudio de casos y controles  País: Polonia  Casos: 96 pacientes con dg de autismo  Control: 192 pareados por año de nacimiento, género y experiencia del médico.  Intervención/exposición: vacunas con timerosal  Comentarios:</p>
<p><b>Mrozek-Budzyn 2012</b>  Diseño de estudio: Estudio de casos y controles  País: Polonia  Casos: Pacientes con diagnóstico de autismo  Control: Pareados por año de nacimiento, género y experiencia del médico.  Intervención/exposición: vacunas con timerosal  Comentarios: Probablemente mismo estudio que Mrozek-Budzyn 2011</p>
<p><b>Pichichero 2002</b>  Diseño de estudio: Estudio de casos y controles  País: EEUU</p>

<p>Población: Muestras sanguíneas de Lactantes de 2 y 6 meses  Casos: Lactantes de 2 y 6 meses que recibieron vacunas con timerosal  Control: Lactantes de 2 y 6 meses que recibieron vacunas sin timerosal  Comentarios: La administración de vacunas con timerosal parece no elevar la concentración sanguínea de mercurio sobre valores seguros para lactantes. El etilmercurio parece eliminarse rápidamente desde la sangre hacia las deposiciones después de la administración de las vacunas.</p>
<p><b>Price 2010</b>  Diseño de estudio: Estudio de casos y controles  País: EEUU  Población: Niños de 6 a 12 años en 3 organizaciones "managed-care"  Intervención/exposición: 256 niños con ASD, preseleccionados por datos en ficha.  Control: 752 niños sin ASD pareados por año de nacimiento, género y organización sanitaria  Comentarios: No se encontró asociación entre la exposición pre- y postnatal a mercurio y el riesgo de autismo</p>
<p><b>Schechter 2008</b>  Diseño de estudio: Estudio transversal  País: EEUU  Población: Niños con diagnóstico de ASD previo y posterior al retiro de timerosal en vacunas  Comentarios: Se comparó prevalencia de registros de niños nacidos entre 1989 y 2003 con registros posteriores. El aumento de incidencia a lo largo de los años se ha mantenido de manera sostenida pese a la reducción en la exposición a timerosal.</p>
<p><b>Stajich 2000</b>  Diseño de estudio: Serie de casos  País: EEUU  Población: Recién nacidos de pretérmino y término en UCI neonatal  Intervención/exposición: Colocación de vacuna hepatitis B (contiene timerosal) en RN pretérmino y de término  Control: No hay control  Comentarios: Se describe aumento de niveles de mercurio en sangre postvacunación con vacuna que contiene timerosal. Medición de niveles basales y post-vacunación.</p>
<p><b>Stehr-Green 2003</b>  Diseño de estudio: Estudio ecológico  País: EEUU, Suecia, Dinamarca  Población: Pacientes con autismo vs dosis acumulativas de etilmercurio  Comentarios: Se comparan incidencia de autismo y dosis acumulativa de etilmercurio de las vacunas hasta los 2 años. En EEUU se ve paralelo entre ambos fenómenos, en Suecia y Dinamarca se ve ascenso sostenido de incidencia de autismo incluso después de eliminación de timerosal en las vacunas.</p>
<p><b>Tozzi 2009</b>  Diseño de estudio: Estudio de cohorte</p>

País: Italia

Población: Lactantes menores de 1 año vacunas con esquema italiano

Intervención/exposición: 697 niños con dosis "alta" de timerosal (vacuna DTaP con timerosal más hepatitis B que contiene timerosal)

Control: 706 niños con dosis "baja" de timerosal (vacuna DTaP sin timerosal más hepatitis B que contiene timerosal)

Comentarios:

***Verstraeten 2003***

Diseño de estudio: Estudio de cohorte

País: EEUU

Población: Niños nacidos entre Enero 1992-Diciembre 1998

Intervención/exposición: Vacunas con timerosal

Control: Vacunas sin timerosal

Comentarios: Se encontró asociación significativa con retraso del lenguaje y tics. No se encontró asociación con autismo. Se presentan los outcomes pero no la información respecto de la exposición, lo que hace imposible el análisis de la información.

***Young 2008***

Diseño de estudio: Estudio de cohorte

País: EEUU

Población: Niños nacidos entre 1990–1996

Intervención/exposición: vacunas con timerosal

Control: No exposición

Comentarios: Aumento de autismo, trastornos del espectro autista, tics, trastorno de déficit atencional y problemas emocionales con dosis mayores de mercurio. Los datos entregados no permiten el re-análisis de la información