

CENTRO NAZIONALE PER LA RICERCA E LA VALUTAZIONE DEI PRODOTTI IMMUNOBIOLOGICI (CRiVib)



Anna Di Lonardo e Simonetta Pulciani
Centro Nazionale per la Ricerca e la Valutazione dei Prodotti Immunobiologici, ISS

RIASSUNTO - Nel luglio 2007 è stata approvata l'istituzione del Centro Nazionale per la Ricerca e la Valutazione dei Prodotti Immunobiologici (CRiVib) con l'obiettivo di riunificare in una struttura indipendente le attività analitiche, di valutazione dei dossier di registrazione e di ricerca, svolte all'interno dell'Istituto Superiore di Sanità nel settore dei farmaci immunobiologici/biologici. Il Centro è articolato in tre Reparti (Prodotti Biologici, Vaccini Batterici, Vaccini Virali), un'Unità scientifica (Sezione Allergeni e Biotecnologici, Sezione Vaccini Influenza), una Segreteria tecnico-amministrativa del Direttore e un'Unità di Assicurazione della Qualità. Il CRiVib svolge la sua attività in collaborazione con organismi nazionali e internazionali deputati al controllo dei farmaci.

Parole chiave: farmaci; vaccini; salute pubblica

SUMMARY (*National Centre for Immunobiologicals Research and Evaluation*) - The National Centre for Immunobiologicals Research and Evaluation was approved on July 2007. Its mission is to gather several activities of the Italian National Institute of Health concerning the control, evaluation and surveillance of biological and biotechnological drugs by analytical procedures and document assessment, at national and international level. The Centre is formed by three Units (Biological Products, Bacterial Vaccines, Viral Vaccines), a Scientific Secretariat (divided in the Allergens/Biotechnology Group and Influenza Vaccine Group), a Technical Secretariat and a Quality Assurance Coordination. Furthermore, the CRiVib carries on research projects on the evaluation and standardization of immunobiological products, in collaboration with national and international organizations for drug control.

Key words: drugs; vaccines; public health

direzione.crivib@iss.it

Al fine di riunificare il più possibile in una struttura indipendente le attività analitiche, di valutazione dei dossier di registrazione e di ricerca svolte all'interno dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) nel settore dei farmaci immunobiologici/biologici, nel luglio 2007 è stata approvata dal Consiglio di Amministrazione dell'ISS l'istituzione del Centro Nazionale per la Ricerca e la Valutazione dei Prodotti Immunobiologici (CRiVib), che ha di fatto avviato le sue attività nel maggio 2008 e ha raggiunto la piena autonomia a partire da gennaio 2009.

Il contesto in cui tale struttura è collocata è rappresentato da quella parte dell'ISS che svolge da sempre attività di controllo per settori critici della sanità pubblica, ivi inclusi ovviamente i farmaci, in sintonia con l'evolversi della realtà a livello europeo. Infatti, nell'ambito dell'Unione Europea (UE), sin dagli anni '60, si è avvertita l'esigenza di regolamentare il mondo del farmaco e ciò ha portato alla prima Convenzione relativa

all'elaborazione di una Farmacopea Europea. In seguito, nel 1977 sono stati costituiti a Bruxelles i Comitati per le specialità medicinali CPMP (Committee for Proprietary of Medicinal Products) e per i prodotti veterinari CVMP (Committee for Veterinary Medicinal Products), Comitati che sono stati inglobati dal 1995 nell'EMA (European Medicines Agency), l'Agenzia europea di valutazione dei medicinali.

In tale contesto regolatorio, l'ISS ha svolto e svolge attività di consulenza per l'AIFA (Agenzia Italiana del Farmaco) e per enti internazionali quali l'EMA e l'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità). In Europa, l'attività di controllo analitico dei farmaci è svolta dai laboratori designati dai vari Paesi membri dell'UE, riuniti nel Network OMCL (Official Medicine Control Laboratories), coordinato dall'EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare). L'ISS, per le sue pregresse e attuali competenze e per la consolidata esperienza ►

nel campo del controllo dei farmaci, è stato riconosciuto come OMCL per il controllo dei medicinali in Italia. L'ISS è, inoltre, riferimento importante per l'AIFA sia per le sue potenzialità analitiche che per la competenza dei suoi esperti nel settore dei farmaci in genere. Da tutto ciò, come già evidenziato, è nata la necessità di un processo di accentramento di alcune attività, in particolare quelle relative al settore del farmaco immunobiologico/biologico, su cui l'attività del CRiVib è focalizzata. Inoltre, con la creazione di tale Centro anche l'Italia, al pari di altri Paesi europei ed extraeuropei, si è dotata di una struttura altamente specializzata con una chiara *mission* dedicata allo studio e alla valutazione della qualità del farmaco immunobiologico/biologico e delle sue proprietà.

All'interno del Centro vengono esaminati e valutati i farmaci immunobiologici/biologici, che si distinguono dai farmaci chimici per la complessità della loro struttura e del processo di produzione. Questi farmaci, estratti da materiali biologici o realizzati mediante complesse biotecnologie, richiedono metodi analitici dedicati per misurarne l'attività e rivestono un importante ruolo sia nella prevenzione di malattie, in particolare quelle infettive, che nel trattamento di numerose altre patologie. Tra i farmaci immunobiologici a maggiore diffusione possiamo citare, a titolo di esempio non esaustivo, i vaccini batterici e virali, gli anticorpi monoclonali e policlonali animali, le immunoglobuline umane ottenute da plasma, le interleuchine e gli allergeni.

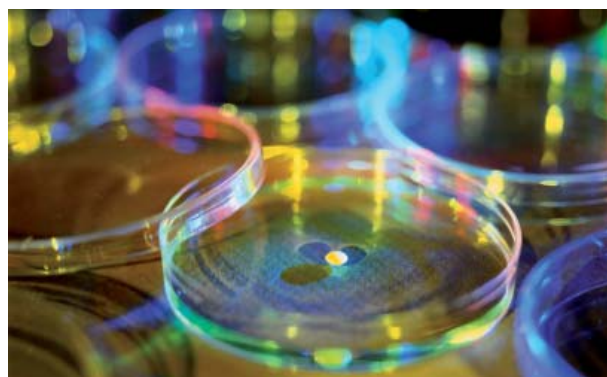
La missione principale del CRiVib è dunque quella di effettuare la valutazione, il controllo e la sorveglianza di gran parte dei farmaci biologici. Non rientrano nelle competenze del Centro alcuni emoderivati (ad esempio, albumine, fattori della coagulazione e plasma virus-inattivato) che sono competenza di un altro Dipartimento dell'ISS. Nel CRiVib, i farmaci biologici vengono valutati a livello analitico e documentale, in conformità con le normative nazionali e comunitarie vigenti, vengono effettuati - laddove previsto - controlli su ogni singolo lotto destinato alla commercializzazione, con emissione dei relativi certificati di *batch release*. Tale attività, chiamata OCABR (Official Control Authority Batch Release), viene svolta, come previsto per legge, nell'ambito del Network degli OMCL. Il CRiVib, inoltre, partecipa attivamente alla sorveglianza post-marketing, coordinata dall'AIFA, per la verifica della qualità e della stabilità dei farmaci biologici di competenza.

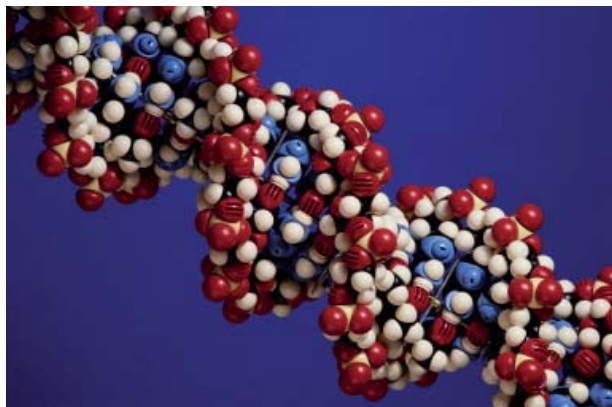
La complessità di produzione e le caratteristiche molecolari dei farmaci biologici comportano l'acquisizione di specifiche competenze nel loro controllo. Per tale motivo, il CRiVib svolge attività di ricerca finalizzata allo sviluppo di tecniche o modelli per valutare in modo appropriato la qualità, l'efficacia e la sicurezza dei farmaci biologici.

Altra area di attività del Centro è la partecipazione e/o la gestione di studi nazionali e internazionali di standardizzazione di metodi, di reagenti e di preparazione di standard, nonché l'allestimento di *proficiency test* e studi di valutazione esterna della qualità.

Il Centro contribuisce, quando richiesto, anche alla valutazione e allo studio delle reazioni avverse ai vaccini, ad alcuni emoderivati e agli altri farmaci immunobiologici di competenza. Un aspetto legato indirettamente a tale attività è quello di raccogliere dati sull'efficacia delle strategie vaccinali attraverso la sorveglianza di alcune malattie infettive, quali, ad esempio, la poliomielite e le gastroenteriti da rotavirus.

Per quanto concerne l'attività di valutazione documentale dei dossier effettuata su richiesta dell'AIFA, essa viene fornita esaminando, secondo criteri scientifici e secondo le vigenti linee guida, la documentazione inerente, prevalentemente, alla qualità (processo produttivo e composizione) dei prodotti immunobiologici/biotecnologici. L'attività di valutazione viene espletata nell'ambito di procedure a carattere nazionale, decentralizzate o di mutuo riconoscimento e centralizzate. Per quanto concerne la sicurezza dei prodotti immunobiologici, gli esperti del CRiVib, hanno il compito di valutare i processi di produzione di tutti i farmaci immunobiologici e biotecnologici per quanto concerne la loro capacità di rimuovere/inattivare potenziali agenti virali, eventualmente presenti, secondo le normative e le linee guida in vigore in Italia e in Europa.





Inoltre, il Centro gestisce l'attività degli ispettori dell'ISS (sia appartenenti al CRiVib che ad altri Dipartimenti o Centri Nazionali dell'ISS) nello svolgimento delle ispezioni presso le officine farmaceutiche per verificare il rispetto delle GMP (Good Manufacture Practice), secondo quanto stabilito nell'Accordo di collaborazione tra CRiVib e AIFA.

Tutta l'attività del CRiVib, sia quella relativa alla valutazione dei dossier che quella di tipo analitico, è condotta nell'ambito di un sistema di assicurazione della qualità, in maniera conforme alle norme ISO. Per l'attività analitica del Centro, il rispetto della norma EN ISO/IEC 17025 per i laboratori di taratura e prova è un requisito fondamentale. Per tale motivo le strutture del Centro vengono sottoposte a ispezioni (*audit*) regolari sia da parte di assicuratori di qualità interni sia da parte di autorità europee (EDQM) e internazionali (OMS).

Organizzazione strutturale del CRiVib

Il CRiVib deriva dal Gruppo di Lavoro Immunobiologici, istituito dal Presidente dell'Istituto nell'ambito del Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, a cui si sono aggiunte nuove strutture funzionali. Attualmente il Centro è articolato in tre Reparti, un'Unità scientifica, una Segreteria tecnico-amministrativa del Direttore e un'Unità di Assicurazione della Qualità.

I Reparti compresi nel Centro sono i seguenti: Vaccini Batterici (RVB), Prodotti Biologici (RPB), Vaccini Virali (RVV).

L'Unità di Assicurazione della Qualità comprende un coordinatore e tre assicuratori, ognuno responsabile della gestione del sistema di qualità per ogni singolo Reparto.

I Reparti

Il Reparto Vaccini Batterici (RVB) svolge attività di controllo, di sperimentazione, di consulenza e di ricerca sui vaccini batterici a uso umano, impiegati sia per l'immunizzazione primaria (vaccini per la prima infanzia) che per i richiami in età pediatrica e adulta. I vaccini batterici vengono controllati presso tale Reparto sia ai fini del *batch release* (vaccini destinati al mercato nazionale/UE e al mercato estero-non UE), che per la sorveglianza post-marketing, (vaccini già immessi in commercio). L'attività di consulenza consiste nell'esame dei dossier dei vaccini o di altre specialità medicinali contenenti sostanze di origine batterica relativamente alla parte della qualità (processo produttivo e composizione dei vaccini).

Il personale del Reparto partecipa ai lavori di organismi nazionali e internazionali quali OMCL Network, Gruppo 15 - Sera and Vaccine della Farmacopea Europea, Working Party su Monocyte Activation Test della Farmacopea Europea. L'attività di ricerca è dedicata allo sviluppo e validazione di metodi alternativi all'uso degli animali da impiegarsi nel controllo di stato dei vaccini batterici e alla partecipazione a studi di valutazione di preparazioni di riferimento da utilizzare nei saggi di competenza (1). Vengono anche effettuati studi sierologico-epidemiologici di malattie batteriche prevenibili da vaccinazione (2, 3). Infine, il Reparto partecipa a studi collaborativi organizzati dall'OMS e dall'EDQM per la valutazione di preparazioni di campioni di riferimento da utilizzarsi nei saggi per il controllo dei vaccini.

Il Reparto Prodotti Biologici (RPB) si occupa di garantire la qualità e la sicurezza dei prodotti emoderivati (immunoglobuline normali o iperimmuni e concentrati di C1q-inattivatore) e alcuni prodotti ottenuti con la biotecnologia. Su tali prodotti, l'attività di controllo del Reparto prevede l'esecuzione di saggi biochimici, immunochimici e biomolecolari sia per il *batch release* (immunoglobuline e C1q-inattivatore) sia per la sorveglianza post-marketing in ambito nazionale ed europeo. Inoltre, nel Reparto viene effettuata la ricerca dei marcatori virali e dei pool di plasma destinati alla produzione di tutti gli emoderivati, con relativa certificazione.

Il Reparto svolge inoltre attività di valutazione tecnica dei dossier di registrazione di emoderivati e di proteine/peptidi ricombinanti. Tale valutazione è focalizzata sia sugli aspetti di qualità che su aspetti di sicurezza microbiologica, con particolare riguardo alla sicurezza virale, esaminando le capacità dei vari pro- ►

cessi produttivi dei farmaci di interesse del CRIVIB di rimuovere/inattivare virus eventualmente presenti nel materiale di partenza utilizzato e non rilevabili con le metodiche di screening attualmente disponibili.

Inoltre, il personale dell'RPB partecipa ai lavori di organismi nazionali e internazionali quali OMCL Network, Gruppo 6B della Farmacopea Europea, Biologics Working Party dell'EMA. Per quanto riguarda l'attività di ricerca applicata, l'RPB partecipa a studi collaborativi internazionali volti allo sviluppo e alla convalida di metodiche analitiche, e alla definizione di nuovi standard o preparazioni di riferimento da utilizzare per saggi di acidi nucleici virali (NAT) e saggi immunobiologici. L'RPB sviluppa in modo autonomo e distribuisce preparazioni di riferimento calibrate in unità internazionali, da utilizzare per l'esecuzione di saggi NAT per HCV, HAV, HIV e HBV (4, 5).

Infine, il Reparto organizza studi di valutazione di qualità, in ambito nazionale e internazionale, per la verifica della *proficiency* dei laboratori che utilizzano tecniche di amplificazione genica applicate alla ricerca qualitativa e quantitativa di genomi virali (HCV, HIV e HBV). I risultati di questi studi trovano applicazione nel settore della diagnostica, dello screening delle donazioni e del controllo dei medicinali emoderivati.

Il **Reparto Vaccini Virali (RVV)** verifica la qualità dei vaccini antipolio (attenuati e inattivati). Per il vaccino attenuato di Sabin prodotto in Italia per l'esportazione, vengono effettuati controlli per il *batch release* sia sul prodotto finito (monovalente e trivalente) che sulle sospensioni madri monotipo.

Sulle sospensioni madri di sierotipo 1 e 2 viene eseguito il saggio di neurovirulenza su scimmia mediante lettura di preparati istologici del sistema nervoso centrale, per il sierotipo 3 è stato introdotto recentemente un test di biologia molecolare (MAPREC), associato a un saggio di neurovirulenza su topi transgenici per il recettore del poliovirus. Sul prodotto finito vengono eseguiti i saggi di potenza, identità e stabilità termica.

Per il vaccino inattivato di Salk, importato da altri Paesi Europei con un certificato di *batch release*, il Reparto effettua il controllo post-marketing su alcuni lotti attraverso la determinazione della quantità di antigene D dei tre sierotipi di polio.

Il Reparto partecipa a studi di *proficiency* e di standardizzazione biologica per i vaccini antipolio e antirotavirus, organizzati dall'EDQM e dall'OMS. Svolge attività di consulenza e parere sui dossier di registrazione

dei vaccini antipolio e antirotavirus, sia a valenza nazionale che europea, e partecipa a gruppi di lavoro internazionali organizzati dall'EDQM e dall'OMS.

Come laboratorio di riferimento OMS per la polio, il Reparto esegue le indagini virologiche e sierologiche (per poliovirus e altri enterovirus) sui casi di paralisi flaccida acuta in Italia e in otto Paesi del Sud-Est europeo ai fini del mantenimento dello status *polio-free*.

L'attività di sorveglianza si estende anche all'analisi delle acque reflue di alcune grandi città italiane a maggior rischio di importazione di virus selvaggi.

Dal 2008 il Reparto, in collaborazione con il Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali, coordina la rete di sorveglianza delle gastroenteriti da rotavirus in Italia per valutare l'epidemiologia molecolare dei rotavirus in età pediatrica in previsione della vaccinazione.

Infine, l'attività di ricerca è focalizzata sulla diagnostica e la messa a punto di nuovi metodi per la caratterizzazione dei virus enterici (6-10).

L'Unità scientifica

L'Unità scientifica è articolata in due Sezioni: Allergeni e Biotecnologici (USSAB) e Vaccini Influenza (USSI).

La **Sezione USSAB** svolge attività di valutazione e controllo dei farmaci immunobiologici esclusi dalle specifiche competenze dei tre Reparti, quali ad esempio allergeni, prodotti ottenuti mediante tecnologia del DNA-ricombinante.

Inoltre, partecipa a studi collaborativi coordinati dall'EDQM per la messa a punto e convalida di metodi per la valutazione della *potency* degli estratti allergenici impiegati nella diagnosi e terapia delle malattie allergiche ed esegue il monitoraggio di allergeni ambientali in diverse tipologie di ambienti indoor e di allergeni presenti negli alimenti (11-14).

Relativamente alle problematiche allergologiche, la Sezione gestisce la banca dati delle sostanze chimiche sensibilizzanti in collaborazione con il Centro Nazionale Sostanze Chimiche e con il Settore Informatico dell'ISS (14).

L'USSAB svolge, inoltre, attività di ricerca finalizzata alla valutazione della qualità degli estratti diagnostici e immunoterapeutici utilizzati nel trattamento delle patologie allergiche e alla produzione e caratterizzazione immunochimica di molecole allergeniche ricombinanti (15).



La **Sezione USSI** effettua i controlli di Stato per il *batch release* di vaccini influenzali destinati sia al mercato nazionale/UE che al mercato estero-non UE, sia stagionali che pandemici. Inoltre, la Sezione svolge attività di sorveglianza post-marketing dei vaccini influenzali per uso umano prelevati dal mercato nazionale, che vengono individuati annualmente nei programmi di vigilanza sulla produzione e commercio delle specialità medicinali. Conduce anche attività di ricerca relative alla messa a punto e/o validazione di metodi alternativi per il controllo della potenza dei vaccini influenzali, e alla ricerca finalizzata allo sviluppo e al controllo di nuovi vaccini virali e/o al potenziamento di vaccini virali già esistenti. Inoltre, partecipa a studi collaborativi europei per la calibrazione di preparazioni di riferimento per il test della potenza del vaccino influenzale.

L'Unità di Assicurazione della Qualità

L'**Unità di Assicurazione della Qualità** garantisce che tutto il Centro operi secondo specifiche normative in base a un Sistema di Gestione della Qualità (SGQ). L'Unità rivolge il suo campo di azione alle attività di controllo analitiche ai fini del *batch release* e della sorveglianza post-marketing, alle attività di farmacovigilanza e a quelle di valutazione di dossier che sono di competenza del CRiVib. Al suo interno si individuano un Responsabile/Coordinatore e tre Assicuratori della qualità. Quest'ultimi operano all'interno dei singoli Reparti e possiedono specifiche competenze acquisite con corsi di formazione pertinenti.

Il CRiVib, uniformandosi nel corso delle sue attività di controllo e valutazione alle procedure gestionali e operative stabilite dal Sistema di Assicurazione della Qualità (SAQ), assicura il proprio funzionamento e fornisce un'evidenza esterna obiettiva della qualità del lavoro svolto.

Il SAQ del CRiVib è realizzato in accordo con la normativa tecnica indicata nelle norme internazionali ISO, in particolare con la Norma UNI EN ISO 9000 e con la Norma ISO IEC EN 17025 prevista per i laboratori di taratura e di prova.

Il gruppo di Assicuratori della Qualità si occupa di garantire che tutte le attività svolte soddisfino i requisiti prestabiliti mediante definizione, applicazione e aggiornamento periodico del SAQ ed effettua attività di training sulle procedure al Personale del CRiVib. L'andamento dell'SGQ è valutato annualmente o anche quando se ne renda necessario nell'ambito delle riunioni del riesame della Direzione.

La Segreteria tecnico-amministrativa

La **Segreteria tecnico-amministrativa (STA)** si occupa della gestione dei flussi documentali del Centro e cura i rapporti con le strutture interne all'ISS e le autorità competenti in materia sanitaria nazionali (AIFA, Ministeri, ASL) e internazionali (EMEA, EDQM, OMS). Più precisamente, la STA ha il compito di ricevere e protocollare tutta la documentazione interna ed esterna all'ISS in entrata e uscita dal Centro. Dopo la valutazione da parte degli esperti del CRiVib, i pareri formulati vengano inoltrati a chi di competenza e archiviati. Inoltre, la STA si occupa di tutte le attività di gestione del personale e di natura amministrativa.

Conclusioni e prospettive future del CRiVib

La costituzione del CRiVib ha consentito la centralizzazione di gran parte delle attività scientifiche e di valutazione sui prodotti biologici, con il principale scopo di ottenere una gestione in qualità, una missione univoca e la possibilità di crescita, utilizzando un linguaggio comune per la risoluzione di problematiche omogenee tipiche delle attività in qualità del CRiVib.

La struttura, inoltre, consentirà una valutazione puntuale dei potenziali conflitti di interesse, gestendo oculatamente la provenienza dei fondi e la sua partecipazione ai progetti di ricerca - cui possono aderire anche aziende farmaceutiche - sui farmaci dei quali il Centro stesso potrebbe trovarsi a esprimere parere o a effettuare saggi analitici.

La creazione del Centro ha consentito, inoltre, di rispondere ai criteri di riferimento definiti per gli OMCL, poiché tutte le attività sono inserite in un sistema armonico e globale.

Per quanto riguarda le attività future del CRiVib, queste continueranno seguendo principalmente le tre grandi direttrici che già lo caratterizzano:

- sviluppo di metodi e di reagenti;
- ricerca nei settori di competenza anche in relazione alle problematiche emergenti nel settore e alle indicazioni e alle richieste che possono provenire da enti nazionali (AIFA, ISS) e internazionali (EDQM, EMEA, OMS);
- valutazione tecnica di dossier e di documentazione su richiesta dell'AIFA.

Tutte le attività svolte dal CRiVib hanno rilevanza e ricaduta pratica e il loro sviluppo è imprescindibile dall'interazione con le prestigiose organizzazioni nazionali e internazionali precedentemente menzionate.

Si può quindi ben comprendere il ruolo e l'importanza del CRiVib nella realtà dell'ISS ed è auspicabile che questa nuova entità, con le sue notevoli potenzialità, possa crescere, assumere nuovi compiti e dare un significativo apporto alla sanità pubblica, sia nell'attività di controllo/valutazione che in quella di ricerca. ■

Ringraziamenti

Si ringrazia tutto il personale e il Direttore del CRiVib per il prezioso contributo fornito nel descrivere le varie attività del Centro e nel verificare che il documento nel suo insieme avesse la correttezza e la chiarezza indispensabili.

Riferimenti bibliografici

1. von Hunolstein C, Gomez Miguel MJ, Pezzella C, et al. Evaluation of two serological methods for potency testing of whole cell pertussis vaccines. *Pharmeuropa Bio* 2008;1:7-18.
2. Di Giovine P, Pinto A, Broughton K, et al. Evaluation of serological methods for the detection of diphtheria anti-toxin antibody. Second annual meeting of DIPNET & Tenth International Meeting of the European Laboratory Working Group on Diphtheria. November 2008, 5-7. Larnaca (Cyprus).
3. von Hunolstein C. Relevance of diphtheria vaccine potency testing by serological models. General overview and experience from the clinics. In: *Serological Potency Tests for Diphtheria and Other Vaccines. Proceedings*. Budapest (Hungary), October 6-7, 2004. Strasbourg: Council of Europe; 2004. p. 5-10.
4. Pisani G, Marino F, Cristiano K, et al. External quality assessment for the detection of HCV RNA, HIV RNA and HBV DNA in plasma by nucleic acid amplification technology: a novel approach. *Vox sanguinis* 2008;95:8-12.
5. Pisani G, Marino F, Cristiano K, et al. Collaborative study for the calibration of HCV RNA, HBV DNA and HIV RNA reference preparations against the relative international standards. National Collaborative Study Group. *Ann Ist Super Sanità* 2007;43(1):69-76.
6. Di Lonardo G, Buttinelli C, Amato F, et al. Rapid methods for identification of poliovirus isolates and determination of polio neutralizing antibody titers in human sera. *J Virol Meth* 2002;101:189-96.
7. Buttinelli G, Donati V, Fiore S, et al. Nucleotide variation in Sabin type 2 poliovirus from an immunodeficient patient with poliomyelitis. *J Gen Virol* 2003;84:1215-21.
8. Fiore L, Plebani A, Buttinelli G, et al. Search for poliovirus long-term excretors among patients affected by agammaglobulinemia. *Clin Immunol* 2004;111:98-102.
9. Tcheremenskaia O, Marucci G, De Petris S, et al. Molecular epidemiology of rotavirus in Central and South-Eastern Europe. *J Clinical Microbiology* 2007;5:2197-204.
10. Kindberg E, Ax C, Fiore L, et al. The Ala67Thr mutation in the poliovirus receptor (CD155) is a risk factor for vaccine and wild type paralytic poliomyelitis. *J Medical Virology* 2009;81(5):933-6.
11. Iacovacci P, Afferni C, Butteroni C, et al. Comparison between the native glycosylated and the recombinant Cup a1 allergen: role of carbohydrates in the histamine release from basophils. *Clin Exp Allergy* 2002;32:1620-7.
12. van Ree R, Chapman MD, Ferreira F, et al. The CREATE project: development of certified reference materials for allergenic products and validation of methods for their quantification. *Allergy* 2008;63(3):310-26.
13. Chapman MD, Ferreira F, Villalba M, et al. CREATE consortium. The European Union CREATE project: a model for international standardization of allergy diagnostics and vaccines. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122(5):882-9.
14. Brunetto B, Binetti R, Ceccarelli F, et al. Sensitizing Agents Data Bank- BDS. *Ann Ist Super Sanità* 2008;44(1):64-74.
15. Brunetto B, Tinghino B, Braschi MC, et al. Characterization and comparison of commercially available mite extracts for *in vivo* diagnosis. *Allergy* 2009 (in press).

Siti web di riferimento

Centro Nazionale per la Ricerca e la Valutazione
dei Prodotti Immunobiologici
www.iss.it/criv

Agenzia Italiana del Farmaco
www.agenziafarmaco.it/

European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare
www.edqm.eu/en/Homepage-628.html

European Medicines Agency
www.emea.europa.eu/

International Conference on Harmonisation
www.ich.org/

Organizzazione Mondiale della Sanità
www.who.int/en/