

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

VIRUS DE PAPILOMA HUMANO:
INFECCIÓN Y ENFERMEDAD

Lorena Urbano,* Rosa Elvira Álvarez,** Claudia Patricia Acosta**

RESUMEN

El virus del papiloma humano (VPH) es el virus mas común transmitido sexualmente en el mundo. Con la aparición de la virología molecular la evidencia científica sobre la asociación entre VPH y el desarrollo de Cáncer de Cuello Uterino (CCU) es fuerte, consistente y específica. Uno de lo mayores avances en la investigación en VPH, es la introducción de la vacuna contra el virus; si bien la vacuna parece constituir un avance mayor en la prevención del CCU, en nuestra región no reemplaza la necesidad de utilizar estrategias preventivas como el tamizaje citológico.

Palabras clave: Virus del papiloma Humano, cáncer de cuello uterino, vacunas

ABSTRACT

The Human papilloma virus (HPV) is the most common sexually transmitted in the world. With the advent of molecular virology, the scientific evidence for an association between HPV and the cervical cancer (CC) development is strong, consistent and specific. One of the major advances on HPV research is the introduction of the vaccine against the virus; although this vaccine appears to be a great advance for CC prevention, it is not enough in our region particularly. The use of preventive strategies such as screening cytological.

Key words: Human Papillomavirus, uterine cervical neoplasms, vaccines

Recibido para evaluación: septiembre 10 de 2007. Aprobado para publicación: octubre 20 de 2007.

* Bióloga, Laboratorio de Genética Humana, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad del Cauca, Popayán, Colombia

** Docente, Laboratorio de Genética Humana, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad del Cauca, Popayán, Colombia.

*** Docente, Laboratorio de Genética Humana, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad del Cauca, Popayán, Colombia.

INTRODUCCIÓN

El virus del papiloma humano (*VPH*) fue descubierto por primera vez en los años 40.(1) Los papilomavirus constituyen el género *Papillomavirus* de los virus tumorales, están clasificados dentro de la familia *papovaviridae* junto con el virus SV40 y los poliomavirus. Los *VPH* son de doble cadena de ADN (DNAdc), miden 55nm de diámetro, tienen alrededor de 8000 pares de bases, poseen una cápside icosaédrica compuesta de 72 capsómeros (2). Los viriones contienen al menos dos proteínas de cápside, la mayor y la menor. La proteína de cápside mayor constituye el 80% del peso del virion y tiene un peso molecular de cerca de 56.000Da y la proteína de cápside menor tiene un peso molecular de aproximadamente 76.000Da(2). Los genes del papillomavirus están codificados en sólo una de las cadenas de ADN, y en una de tres regiones principales: la región temprana (Early: E), la región tardía (Late: L), y la región larga de control (Long Control Region: LCR) (3).

En la región temprana (E) se ubica el potencial de transformación e inmortalización de los *VPH* al contener los genes E1-E (4). La proteína codificada por el gen E1 está involucrada en la replicación del plásmido viral. E2 es un modulador importante de la transcripción y replicación viral.(5) Las proteínas E4 forman redes filamentosas citoplasmáticas, y al igual que E2 juegan algún papel en la replicación viral. La proteína E5 está localizada en la membrana celular, previniendo la acidificación de los endosomas, y estimulando la actividad transformadora del receptor del factor de crecimiento epidermal (EGF), contribuyendo a la oncogenicidad de *VPH*. (2), (6)

La clasificación de los virus papiloma se basa en diferencias en su secuencia de ácido-nucleico y en la búsqueda de asociación entre los diferentes tipos de *VPH* y condilomas, lesiones intraepiteliales y neoplasias invasivas(7). Un estudio epidemiológico basado en 11 estudios caso-control desde 1985 a 1997 realizado por la Agencia Internacional de Investigación Contra el Cáncer (IARC), permitieron identificar 15 genotipos clasificados como de alto riesgo o carcinógenos, y probables carcinógenos (8), (9). El *VPH* tipo 16 es el responsable del 50-60% de la mitad del millón de los casos de cáncer cervical que ocurren en el mundo (10). El estudio del genotipo del *VPH* que infecta el cuello uterino es importante principalmente por sus implicaciones pronósticas. Es necesario distinguir los de alto riesgo oncogénico de los de bajo riesgo, por su valor pronóstico en la prevención del cáncer de cuello uterino. Así mismo, la genotipificación del *VPH* es necesaria para estudios epidemiológicos y diagnóstico de las infecciones en pacientes individuales y en poblaciones, pues del genotipo

dependerán factores tan importantes como la gravedad de la infección, y la distribución geográfica de la misma.

ASOCIACIÓN DEL VPH CON CÁNCER DE CUELLO UTERINO

EL *VPH* es la mayor causa del cáncer de cuello uterino (CCU). La historia natural del Cáncer CCU esta relacionada con una infección persistente del *VPH* la cual precede la aparición de anormalidades citológicas (11). El ciclo vital del *VPH* se inicia con la integración del genoma viral en la capa basal de las células epiteliales, donde el virus expresa las proteínas E1 y E2, esta infección esta asociada a los procesos de replicación y transcripción del ADN viral. Las proteínas E5, E6, y E7 son capaces de inducir la proliferación de las células basales y para-basales, provocando alteraciones a nivel de las células epiteliales.(12-14) En las capas más superficiales de la epidermis se expresa las proteínas L1 y L2 que codifican la cápside y posterior ensamblaje de las partículas virales. En las lesiones en las que se localiza *VPH* de bajo riesgo (*VPH*-BR), éste se encuentra en forma episómica, aislado del genoma celular. Los *VPH* de alto riesgo (*VPH*-AR) por el contrario, se encuentran integrados en el genoma de la célula huésped o de las células neoplásicas. Éstos expresan las oncoproteínas E6 y E7 (región E, expresión temprana y los genes 6 y 7 que codifican las proteínas implicadas en los procesos de replicación, transcripción y transformación celular)(15), las que constituyen el mayor determinante en la inducción y mantenimiento del fenotipo maligno, implicado en el proceso de oncogénesis.(16, 17)

Aproximadamente el 100% de los CCU escamosos ó glandulares se asocian a la infección es por esto que *VPH* es un agente que se ha establecido como causa necesaria pero no suficiente para el desarrollo de la enfermedad. (18, 19). No hay posibilidad de desarrollo de CCU en ausencia de *VPH*. Además, se relaciona causalmente con el 90% de los cánceres anales y con el 40% de los cánceres de vulva y pene (20). La prevalencia de *VPH* en muestras cervicales de mujeres mayores de 30 años que residen en países con alta incidencia de CCU es de aproximadamente 11-40% mientras que en mujeres que residen en países con baja incidencia es de 5-10% (21).

El *VPH* es un virus de transmisión casi exclusivamente sexual (22). Existen más de 120 tipos descritos del *VPH*(23), 30 de los cuales infectan la región anogenital o la cavidad oral.(24-26). La infección del tracto respiratorio adquirida cuando el bebe atraviesa el canal vaginal de la madre infectada, en el momento del parto, puede ocasionar papillomatosis respiratoria (27). Al menos 10 de ellos están

involucrados con el desarrollo de CCU; los genotipos VPH 16-18-31-33-35-39-45-51-52-56-58-59-68-73 y 82 son considerados de alto riesgo y los genotipos HPV 6-11-42-43-44 y 55 de bajo riesgo, existe un tercer grupo intermedio “probablemente de alto riesgo” que involucra los genotipos 26, 53 y 66. (27-29)

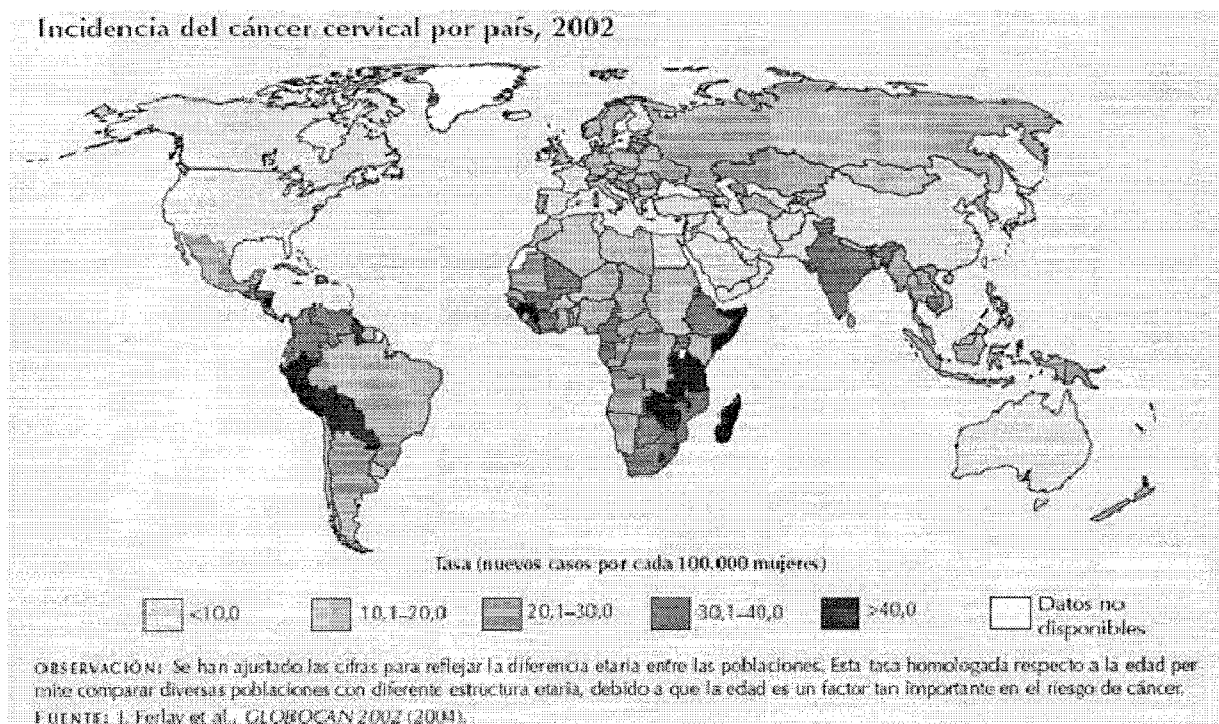
Según la Organización Panamericana de la Salud el tipo 16 es el factor viral oncogénico de alto riesgo mas prevalente para CCU y también se ha identificado que los tipos 18, 45, 58, 33 y 31 son dominantes en América Latina. (30). Los análisis sobre prevalencia por tipos virales en cáncer invasor muestran los tipos 16 y 18 como los más frecuentes a nivel mundial (31,32). En Colombia al igual que en América Latina el tipo mas frecuente después del 16 y 18 es el 58 (33). El tipo 16 tiende a persistir mucho mas tiempo que otros tipos clasificados como de alto riesgo (34).

Algunas investigaciones han demostrado que existen otros factores que acrecientan la aparición de este cáncer, entre los que se destacan el número de compañeros sexuales, el inicio precoz de la actividad sexual (35), multiparidad, (36). supresión inmune, consumo de cigarrillo, el uso de anticonceptivos orales, antecedentes personales y la coinfección de enfermedades transmitidas sexualmente como VIH y el virus herpes simples 2 (VHS-2). (37,38)

EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE CUELLO UTERINO

Los primeros estudios epidemiológicos acerca del CCU fueron conducidos por Rigoni en 1842, quien encontró que la incidencia de esta patología era mayor en mujeres casadas y viudas, que entre mujeres solteras, lo que determino un primer indicio de que el comportamiento sexual jugaba un papel importante como factor de riesgo para esta enfermedad (39). Actualmente el CCU continúa siendo un problema de salud pública, posesionándose a nivel mundial como el segundo cáncer mas común en mujeres después del cáncer de seno, con aproximadamente 490.000 casos nuevos y 270.000 muertes cada año, de estas alrededor del 83% ocurre en países en vías de desarrollo (40). La incidencia de CCU en Haití, África Central y América Latina es mayor de 40 por 100.000 mujeres, contrariamente para el Norte de Europa la tasa de incidencia es menor de 10 por 100.000 mujeres (figura 1). En América Latina y el Caribe el CCU dejó en promedio 37.600 muertes anuales con tasas de incidencia y mortalidad de 28,6 y 12,9 por 100.000 mujeres respectivamente en el año 2002 (41). En este mismo año el CCU alcanzó el primer lugar entre las neoplasias que afectan la mujer con tasas de incidencia/100.000 mujeres de 93,9; 61,1; 58,1; 44,2; 41,1; 40,6; 40,5; 39,9; 39,6; 39,6; 38,3 en Haití, Nicaragua, Bolivia, Ecuador, Paraguay, El Salvador, Méxi-

Figura 1: Incidencia mundial del cáncer de cuello uterino. Datos del 2002.



co, Perú, Honduras, Guatemala y Venezuela respectivamente. En Colombia la incidencia ajustada de CCU es de 36,8 por 100.000 mujeres considerándose como uno de los países con alto riesgo para esta patología (20). El Instituto Nacional de Cancerología durante el año 2002 encontró que en la ciudad de Bogotá, el tumor maligno mas frecuente diagnosticado en 720 casos correspondió a CCU, representando el 23,4% de todos los cánceres diagnosticados en mujeres (42). En la ciudad de Cali para el año 2002 la incidencia fue de 34 por 100.000 mujeres (20). Según la Dirección Seccional de Salud de Antioquia y el Registro poblacional de cáncer en el año 2005, se diagnosticaron 2.757 casos de CCU invasor representando el 16.5% de todos los cánceres con una mortalidad de 7,3 por 100.000 mujeres. En el Departamento del Cauca, en la última década se han registrado aproximadamente 38 muertes anuales como consecuencia de esta patología, siendo la primera causa de muerte en mujeres para esta región (43). La variación de las anteriores tasas se debe quizás a que en los países pobres los programas de tamización no se han implementado o han sido inadecuados (44), por esto la incidencia y mortalidad siguen siendo un problema de primer orden mientras que la implementación de programas adecuados de tamizaje con citología cervical en los países desarrollados ha disminuido la incidencia y mortalidad en un 75%. (45,46)

VACUNAS PROFILÁCTICAS FRENTE AL VPH

Según la Organización Panamericana de la Salud actualmente hay dos vacunas (**Gardasil® y Cervarix®**) en fase inmediata de aplicación clínica sometidas a ensayos de Fase I y II ambas están elaboradas con Virus-Like Particles (VLP) (47), del fragmento L1 de la cápside del VPH inmunogénico, no oncogénico. (48, 49)

Gardasil®

Es una vacuna recombinante tetravalente que ha sido desarrollada y comercializada por Merck Research Laboratories y por Sanofi Pasteur MSD, preparada desde partículas de virus altamente purificadas de los tipos 6, 11, 16 y 18 (50). Es la primera vacuna aprobada para el uso en mujeres entre 9-26 años, para la prevención de cáncer cervical, vulvar, vaginal, verrugas genitales y lesiones precancerosas. El esquema de vacunación recomendado tras el desarrollo clínico implica tres dosis intramusculares a los 0, 2 y 6 meses. El programa de desarrollo clínico de Gardasil® incluyó mas de 27.000 voluntarios adolescentes entre 9 y 15 años de edad y 20.541 mujeres de 16 a 26 años en 33 países. La eficacia de Gardasil® fue evaluada en 4 ensayos clínicos.

Los resultados de estos ensayos describen a los cinco años de seguimiento, una eficacia mantenida del 96% frente a la infección persistente de VPH, una protección del 100% frente a CIN 1 y una eficacia del 100% frente a CIN 2-3 con confirmación histológica (51), (52). La evidencia científica de la vacuna Gardasil® ha hecho posible que la FDA de Estados Unidos aprobara su comercialización de la vacuna tetra-10 Gardasil® en Junio de 2006 y que el Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) del CDC, recomendara la administración rutinaria de tres dosis de esta vacuna a niñas de 11-12 años, ampliando la recomendación de licencia al período entre 9 y 26 años(53), además, precisa que la vacuna debe ser administrada antes del comienzo de las relaciones sexuales. La OMS ha establecido algunas directrices para la implementación de la vacunación en los diferentes países(54).

Cervarix®

Esta vacuna bivalente ha sido desarrollada y comercializada por GlaxoSmithKline, incluye VLPs de los tipos 16 y 18(55). Utiliza como adyuvante AS04, una sal compuesta de aluminio y MPL, un lipopolisacárido al que se le ha atribuido un incremento de la respuesta inmuno-génica(56). La pauta de vacunación recomendada incluye tres dosis intramusculares a los 0, 1 y 6 meses (57). Los resultados describen una eficacia del 100% frente a la infección persistente de VPH y una protección del 100% frente a CIN. La vacuna bivalente ha mostrado resultados preliminares sugiriendo un cierto grado de protección cruzada frente a infección para los tipos 31 y 45 del VPH. (58, 59) La introducción de estas vacuna profiláctica se convierte en una estrategia de prevención para el control de esta enfermedad, teniendo en cuenta el balance costo-beneficio.(60)

Por su frecuencia y magnitud la infección por VPH se considera actualmente un problema de salud pública. La alternativa más viable es el control de la infección por el VPH mediante la detección temprana de éste y la prevención con vacunas profilácticas, las que se constituyen en una esperanza real para el control del cáncer de cuello uterino. Un diagnóstico oportuno y la aplicación de vacunas lograrán en un futuro no lejano la disminución de la morbilidad y de la mortalidad por cáncer cervical en la mayoría de los países de América latina.

REFERENCIAS

1. Álvarez, Salas. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N. 2002.

2. Mandell, B, Dolin. *Principles & Practice of Infectious Diseases*. 2002.
3. Taja-Chayeb L, Salas-Garcia M, Salcedo-Vargas M. [Molecular bases of papillomavirus and polyomavirus carcinogenesis]. *Salud Publica Mex* 1996; 38(1): 47-57.
4. Zur HH. Papillomavirus infections—a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1288(2): F55-F78.
5. Dellarole M, Sanchez IE, Freire E, Prat-Gay G. Increased Stability and DNA Site Discrimination of “Single Chain” Variants of the Dimeric beta-Barrel DNA Binding Domain of the Human Papillomavirus E2 Transcriptional Regulator. *Biochemistry* 2007;46(43): 12441-50.
6. Maufort JP, Williams SM, Pitot HC, Lambert PF. Human papillomavirus 16 E5 oncogene contributes to two stages of skin carcinogenesis. *Cancer Res* 2007 Jul 1; 67(13):6106-12.
7. Ferenczy A, Braun L, Shah KV. Human papillomavirus (HPV) in condylomatous lesions of cervix. *Am J Surg Pathol* 1981; 5(7): 661-70.
8. Munoz N, Bosch FX, de SS, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348(6):518-27.
9. Boccardo E, Villa LL. Viral origins of human cancer. *Curr Med Chem* 2007; 14(24):2526-39.
10. Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Munoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2003; 88(1): 63-73.
11. Wallin KL, Wiklund F, Angstrom T, Bergman F, Stendahl U, Wadell G, et al. Type-specific persistence of human papillomavirus DNA before the development of invasive cervical cancer. *N Engl J Med* 1999;341(22):1633-8.
12. Sekaric P, Cherry JJ, Androphy EJ. Binding of HPV 16 E6 to E6AP is not required for activation of hTERT. *J Virol* 2007 Oct 17.
13. Huang CY, Chen CA, Lee CN, Chang MC, Su YN, Lin YC, et al. DNA vaccine encoding heat shock protein 60 co-linked to HPV16 E6 and E7 tumor antigens generates more potent immunotherapeutic effects than respective E6 or E7 tumor antigens. *Gynecol Oncol* 2007 Sep 28.
14. Wentzensen N, von Knebel DM. Biomarkers in cervical cancer screening. *Dis Markers* 2007; 23(4):315-30.
15. Tian Y, Wu P, Luo AY, Xi L, Zhou JF, Ma D. [Expression and significance of Smad2/3 and HPV16 E7 in cervical intraepithelial neoplasia and cervical carcinoma]. *Ai Zheng* 2007; 26(9):967-71.
16. Concha RM. [Diagnosis and treatment of human papilloma virus]. *Rev Chilena Infectol* 2007; 24(3):209-14.
17. Boulet G, Horvath C, Vanden BD, Sahebali S, Bogers J. Human papillomavirus: E6 and E7 oncogenes. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39(11):2006-11.
18. Castellsague X, Diaz M, de SS, Munoz N, Herrero R, Franceschi S, et al. Worldwide human papillomavirus etiology of cervical adenocarcinoma and its cofactors: implications for screening and prevention. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98(5):303-15.
19. Brink AA, Snijders PJ, Meijer CJ. HPV detection methods. *Dis Markers* 2007; 23(4):273-81.
20. Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J Cancer* 2006; 118(12):3030-44.
21. Bosch FX, de SS. Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer—burden and assessment of causality. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003; (31):3-13.
22. Burchell AN, Winer RL, de SS, Franco EL. Chapter 6: Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. *Vaccine* 2006; 24 Suppl 3:S52-S61.
23. De Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur HH. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004; 324(1):17-27.
24. Gonzalez JV, Gutierrez RA, Keszler A, Colacino MC, Alonio LV, Teyssie AR, et al. Human papillomavirus in oral lesions. *Medicina (B Aires)* 2007; 67(4):363-8.
25. Smith EM, Swarnavel S, Ritchie JM, Wang D, Haugen TH, Turek LP. Prevalence of human papillomavirus in the oral cavity/oropharynx in a large population of children and adolescents. *Pediatr Infect Dis J* 2007; 26(9):836-40.
26. Partridge JM, Hughes JP, Feng Q, Winer RL, Weaver BA, Xi LF, et al. Genital human papillomavirus infection in men: incidence and risk factors in a cohort of university students. *J Infect Dis* 2007 Oct 15;196(8):1128-36.
27. Gillison ML, Shah KV. Human papillomavirus-associated head and neck squamous cell carcinoma: mounting evidence for an etiologic role for human papillomavirus in a subset of head and neck cancers. *Curr Opin Oncol* 2001; 13(3):183-8.
28. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Munoz N, Snijders PJ, Vaccarella S, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet* 2005; 366(9490):991-8.
29. Lepej SZ, Grgic I, Poljak M, Isic-Bes J, Skerk V, Vince DB, et al. Detection of human papillomavirus genotypes 16/18/45 by hybrid capture hybridisation genotyping probe in clinical specimens: the first report. *J Clin Virol* 2007; 40(2):171-2.

30. Munoz N, Bosch FX, Castellsague X, Diaz M, de SS, Iamamouda D, et al. Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective. *Int J Cancer* 2004; 111(2):278-85.
31. Pista A, Oliveira A, Barateiro A, Costa H, Verdasca N, Paixao MT. Molecular variants of human papillomavirus type 16 and 18 and risk for cervical Neoplasia in Portugal. *J Med Virol* 2007; 79(12):1889-97.
32. Schmidt-Petruschkat S. [HPV-infection]. *MMW Fortschr Med* 2007; 149(12):29-31.
33. Molano M, Posso H, Weiderpass E, van den Brule AJ, Ronderos M, Franceschi S, et al. Prevalence and determinants of HPV infection among Colombian women with normal cytology. *Br J Cancer* 2002; 87(3):324-33.
34. Franco EL, Duarte-Franco E, Ferenczy A. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. *CMAJ* 2001; 164(7):1017-25.
35. Kuzman M, Simetin IP, Franelic IP. Early sexual intercourse and risk factors in Croatian adolescents. *Coll Antropol* 2007; 31 Suppl 2:121-30.
36. Munoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith JS, et al. Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet* 2002; 359(9312):1093-101.
37. Castellsague X, Munoz N. Chapter 3: Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis—role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003; (31):20-8.
38. Smith JS, Herrero R, Bosetti C, Munoz N, Bosch FX, Eluf-Neto J, et al. Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94(21):1604-13.
39. Berkowitz RS, R.L.Barbieri. *Kistner's Gynecology and Women's Health*. 1999.
40. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55(2):74-108.
41. Lewis, Merle J. Análisis de la situación del cáncer cervicouterino en América Latina y el Caribe. 2004.
42. Pardo C. Casos nuevos de Cáncer en el Instituto Nacional de Cancerología, Colombia, 2002. *Rev.Colomb.Cancerol* 2003; 7:4-19. Ref Type: Magazine Article
43. Sierra-Torres CH, Acosta-Aragon MP, Orejuela-Aristizabal L. [Papillomavirus and factors associated with high-risk, cervical intraepithelial neoplasia in Cauca, Colombia]. *Rev Salud Publica (Bogota)* 2006; 8 Suppl 1:47-58.
44. Kahn JA, Lan D, Kahn RS. Sociodemographic factors associated with high-risk human papillomavirus infection. *Obstet Gynecol* 2007; 110(1):87-95.
45. Waxman AG. Guidelines for cervical cancer screening: history and scientific rationale. *Clin Obstet Gynecol* 2005; 48(1):77-97.
46. Lazcano-Ponce E, Alonso P, Ruiz-Moreno JA, Hernandez-Avila M. Recommendations for cervical cancer screening programs in developing countries. The need for equity and technological development. *Salud Publica Mex* 2003; 45 Suppl 3:S449-S462.
47. Ramqvist T, Andreasson K, Dalianis T. Vaccination, immune and gene therapy based on virus-like particles against viral infections and cancer. *Expert Opin Biol Ther* 2007; 7(7):997-1007.
48. Berg M, Difatta J, Hoiczky E, Schlegel R, Ketner G. Viable adenovirus vaccine prototypes: high-level production of a papillomavirus capsid antigen from the major late transcriptional unit. *Proc Natl Acad Sci US A* 2005; 102(12):4590-5.
49. Gissmann L, Muller M. Development of prophylactic HPV vaccines. *Coll Antropol* 2007; 31 Suppl 2:113-5.
50. Villa LL, Costa RL, Petta CA, Andrade RP, Ault KA, Giuliano AR, et al. Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in young women: a randomised double-blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial. *Lancet Oncol* 2005; 6(5):271-8.
51. Villa LL, Costa RL, Petta CA, Andrade RP, Paavonen J, Iversen OE, et al. High sustained efficacy of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus types 6/11/16/18 L1 virus-like particle vaccine through 5 years of follow-up. *Br J Cancer* 2006; 95(11):1459-66.
52. Villa LL, Ault KA, Giuliano AR, Costa RL, Petta CA, Andrade RP, et al. Immunologic responses following administration of a vaccine targeting human papillomavirus Types 6, 11, 16, and 18. *Vaccine* 2006; 24(27-28):5571-83.
53. National vaccination coverage among adolescents aged 13-17 years—United States, 2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2007 Aug 31; 56(34):885-8.
54. Ferguson M, Heath A, Johnes S, Pagliusi S, Dillner J. Results of the first WHO international collaborative study on the standardization of the detection of antibodies to human papillomaviruses. *Int J Cancer* 2006; 118(6):1508-14.
55. Franceschi S, Clifford GM. Fraction of cervical neoplasias due to human papillomavirus 16 and 18 in vaccine trials. *Int J Cancer* 2007; Oct 17.
56. Giannini SL, Hanon E, Moris P, Van MM, Morel S, Dessy F, et al. Enhanced humoral and memory B cellular immunity using HPV16/18 L1 VLP vaccine formulated with the MPL/aluminium salt combination (AS04) compared to aluminium salt only. *Vaccine* 2006; 24(33-34):5937-49.

57. Harper DM, Franco EL, Wheeler C, Ferris DG, Jenkins D, Schuind A, et al. Efficacy of a bivalent L1 virus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomised controlled trial. *Lancet* 2004; 364(9447):1757-65.
58. Harper DM, Franco EL, Wheeler CM, Moscicki AB, Romanowski B, Roteli-Martins CM, et al. Sustained efficacy up to 4.5 years of a bivalent L1 virus-like particle vaccine against human papillomavirus types 16 and 18: follow-up from a randomised control trial. *Lancet* 2006;367(9518):1247-55.
59. Koutsky LA, Harper DM. Chapter 13: Current findings from prophylactic HPV vaccine trials. *Vaccine* 2006; 24 Suppl 3:S114-S121.
60. Armstrong EP. Economic benefits and costs associated with target vaccinations. *J Manag Care Pharm* 2007; 13(7 Suppl B):S12-S15.