

HPV, ruolo dello screening e nuove prospettive di prevenzione: il vaccino

S. BANDIERA, R. MORELLO, I. IOZZA, S.G. VITALE, A. ALOISI,
M.G. MATARAZZO, G. RACITI, G. GIUNTA, A. CIANCI

RIASSUNTO: HPV, ruolo dello screening e nuove prospettive di prevenzione: il vaccino.

S. BANDIERA, R. MORELLO, I. IOZZA, S.G. VITALE, A. ALOISI,
M.G. MATARAZZO, G. RACITI, G. GIUNTA, A. CIANCI

Il papilloma virus umano (HPV, dall'inglese Human Papilloma Virus) è un virus a DNA, appartenente alla famiglia dei Papovaviridae, che si replica esclusivamente su cute e mucose. In Italia la prevalenza dell'infezione varia tra il 7 ed il 16%: ogni anno vengono diagnosticati circa 3.500 nuovi casi di carcinoma della cervice e circa 1.000 donne muoiono a causa di questa patologia. Studi epidemiologici affermano che circa il 75% della popolazione sessualmente attiva venga a contatto con il papilloma virus durante il corso della propria vita. Sono conosciuti più di 100 tipi virali, ognuno identificato con un numero, distinti in base al loro potenziale oncogeno: i tipi a basso rischio oncogeno (6 e 11) sono responsabili di lesioni benigne (condilomi genitali), mentre i tipi ad alto rischio (16 e 18), sono responsabili di lesioni precancerose, sia di basso che di alto grado. Dal momento che l'HPV è presente nel 99,7% di tutti i casi di cancro della cervice uterina, l'infezione persistente determinata da tipi ad alto rischio di HPV è considerata uno step necessario allo sviluppo tumorale. Pertanto l'American Cancer Society raccomanda lo screening del carcinoma della cervice uterina, mediante Pap Test, a partire dai 21 anni di età o dopo 3 anni dall'inizio dei primi rapporti sessuali. Il carcinoma della cervice uterina è il primo cancro ad essere riconosciuto dall'Organizzazione Mondiale della Sanità come totalmente riconducibile ad un'infezione: quella da tipi oncogeni da HPV. L'EMA (European Medicines Agency) ha autorizzato il 20 ottobre 2006 il primo vaccino (vaccino quadrivalente) che previene le lesioni causate da HPV 16 e 18 (responsabili del 70% circa dei carcinomi della cervice) e 6 e 11 (responsabili di circa il 90% circa dei condilomi genitali). Il vaccino non ha però alcun effetto terapeutico su tali virus, e sulle loro conseguenze una volta che essi siano già presenti nell'organismo (tumore della cervice uterina e lesioni condilomatose) (23).

SUMMARY: HPV, role of screening and new strategy of prevention: the vaccine.

S. BANDIERA, R. MORELLO, I. IOZZA, S.G. VITALE, A. ALOISI,
M.G. MATARAZZO, G. RACITI, G. GIUNTA, A. CIANCI

The human papillomavirus (HPV) is a DNA virus and belongs to the Papovaviridae virus family. Papillomaviruses are epitheliotropic viruses and are present in the skin and mucosa. In Italy, the prevalence of HPV anogenital infections ranges from 7 to 16%. About 3.500 cases of cervical cancer occur yearly. Deaths related to cervical cancer are around 1.000 per year. Epidemiological studies suggest that 75% of all sexually active people will become infected with HPV at some point during their lifetime. More than 100 types of HPV have been described and are divided into low-risk (HPV 6, 11) which are responsible for warts, and high-risk (HPV 16, 18) which are responsible for squamous intraepithelial lesions (precancerous lesions) and cervical cancer. Because HPV is present in 99,7% of cervical cancer, infection with high-risk types of HPV is a necessary step to develop cervical cancer. The American Cancer Society recommends that women should begin cervical screening within three years after the first sexual intercourse, or at 21 years old. Screening should take place yearly with traditional cytology (Pap test). Cervical cancer is the first cancer that World Health Organization recognizes as completely related to an infection: to HPV oncogenic genotypes infection. The European Medicines Agency (EMA) recently licensed the first vaccine for prevention of lesions due to HPV 16, 18 (causing approximately 70% of HPV-related cancers), 6 and 11 (causing approximately 90% of genital warts). The vaccine does not have any therapeutic effect on viruses and on their consequences (cervical cancer and genital warts).

KEY WORDS: HPV - Carcinoma della cervice - Vaccino.
HPV - Cervix cancer - Vaccine

Introduzione

Il papilloma virus umano (HPV, dall'inglese Human Papilloma Virus) è un virus a DNA che si replica esclusivamente nella cute e nelle mucose. Appartiene

alla famiglia dei *Papovaviridae* (1). A tutt'oggi sono stati identificati più di 120 genotipi di HPV che infettano l'uomo. Il virus, una volta infettata la cellula epiteliale, si replica e differenzia all'interno di questa, ma non ne determina la lisi (virus non litico) (2). L'infezione da papilloma virus umano rappresenta la più comune e diffusa infezione a trasmissione sessuale negli Stati Uniti. Si calcola che attualmente 20 milioni di americani ne siano infetti e più di 5,5 milioni di nuovi casi vengono diagnosticati annualmente (3). In Italia la prevalenza dell'infezione rilevata tra le donne di età compresa tra i 17-70 anni è tra il 7 e il 16% e ogni anno vengono diagnosticati circa 3.500 nuovi casi di carcinoma della cervice e circa 1.000 donne muoiono a causa di questa patologia. Studi epidemiologici affermano che circa il 75% della popolazione sessualmente attiva venga a contatto con il papilloma virus durante il corso della propria vita. Pertanto, quasi tutti gli uomini e le donne sessualmente attivi sono a rischio di contrarre tale infezione e le malattie ad essa correlate (11). Sebbene le adolescenti tra i 15 e i 24 anni rappresentino solo il 25% della popolazione sessualmente attiva, circa il 50% delle malattie sessualmente trasmissibili colpiscono questa fascia di età. Questi numeri sottolineano la facilità della trasmissione sessuale dell'HPV in adolescenza e la necessità di una prevenzione accurata. Scopo della nostra ricerca è stato quello di revisionare la letteratura scientifica e le attuali linee guida nazionali e internazionali riguardo il papilloma virus umano, l'efficacia del vaccino nella prevenzione primaria e il ruolo della citologia nella prevenzione secondaria delle infezioni da HPV.

Materiali e metodi

È stata effettuata una ricerca sul PUBMED dal 1997 al 2008, utilizzando parole chiave come: "HPV vaccine", "HPV infection", "human papillomavirus knowledge", "cervical cancer", "HPV vaccine; efficacy; meta-analysis", "prevention of cervical cancer", "Gardasil", "vaccines: virus like particles", "genital warts", "cervical dysplasia". Sono stati privilegiati gli studi referenziati più recenti, studi osservazionali e revisioni e sono stati selezionati gli articoli ritenuti più rilevanti.

Discussione

L'HPV infetta le cellule basali attraverso microabrasioni dell'epitelio squamoso della mucosa vaginale, spesso determinate dai rapporti sessuali (1). L'HPV infetta anche i genitali esterni e la regione anale. Il virus può anche essere trasmesso attraverso un contatto interumano, non legato ai rapporti sessuali, con oggetti,

con le mani. L'infezione è stata anche riscontrata in donne virgo e ciò supporta l'esistenza di una via di trasmissione alternativa. In rari casi la trasmissione avviene per via verticale durante il passaggio del prodotto del concepimento attraverso il canale da parto ed è responsabile dell'insorgenza di una papillomatosi laringea del neonato che può essere fatale (3). Tale infezione è generalmente sostenuta da un ceppo virale a basso rischio oncogeno, HPSV-11 (12). La rarità di questa modalità di trasmissione non giustifica comunque la necessità di effettuare il taglio cesareo nelle donne con condilomi genitali o con citologia atipica (3). Oltre alla promiscuità sessuale, fattori di rischio sono anche la presenza di condilomi genitali recidivanti e di infezioni da *herpes simplex virus*. Infatti l'*herpes simplex*, determinando uno stato flogistico e la distruzione della barriera epiteliale, permette l'accesso diretto all'HPV alle cellule dell'epitelio basale (13).

Un altro importante fattore di rischio è rappresentato dall'età, in quanto l'infezione è più frequente tra le ragazze sessualmente attive al di sotto dei 25 anni, per la maggiore tendenza alla promiscuità e per il mancato utilizzo del *condom*. Inoltre, le adolescenti sono più suscettibili alle infezioni da HPV rispetto alle giovani donne adulte per motivi di carattere biologico, in quanto in queste ultime è presente un epitelio squamoso, mentre nelle adolescenti c'è la prevalenza dell'epitelio colonnare e metaplastico. In età prepubere la giunzione squamocollare è infatti spostata nell'esocervice e solo dopo la pubertà l'epitelio colonnare gradualmente si trasforma in squamoso pluristratificato. Durante questo processo di metaplasia squamosa si formano delle aree di epitelio di transizione, ghiandole e cellule metaplastiche, che permettono la replicazione dell'HPV. Non solo questa rapida proliferazione cellulare supporta la replicazione dell'HPV, ma si determinano mutazioni genetiche virus - indotte nell'epitelio squamoso metaplastico che, se l'infezione persiste, possono portare a lesioni intraepiteliali squamose di alto grado (3). La regressione dell'infezione o lo sviluppo di una patologia HPV- correlata dipende sicuramente dalla risposta immunitaria dell'ospite. Il più importante fattore di rischio per lo sviluppo del cancro della cervice uterina è l'*infezione persistente* con genotipi HPV ad alto rischio oncogeno, soprattutto HPV-16 e -18. Altri fattori di rischio per lo sviluppo del cancro invasivo della cervice uterina sono rappresentati dal fumo di sigaretta, dal consumo di alcolici, dal prolungato uso di contraccettivi orali, da concomitanti infezioni da *C. trachomatis* ed *Herpes Simplex Virus*. La maggior parte delle infezioni regredisce spontaneamente negli individui immunocompetenti, probabilmente in relazione al fatto che il virus non è citolitico e non si diffonde in maniera sistemica. L'HIV o le immunodeficienze farmaco- indotte sono infatti correlati

a infezioni permanenti e a manifestazioni cliniche HPV-correlate. Numerosi studi sottolineano l'importanza dell'uso del *condom* nella prevenzione delle infezioni persistenti: basandoci sulla meta-analisi di 20 studi possiamo affermare che il rischio di sviluppo di sequele HPV-correlate è ridotto dall'uso del *condom* (2, 3). È ben noto che il papilloma virus è responsabile dello sviluppo di condilomi genitali e lesioni precancerose e cancerose della cervice (carcinoma squamoso della cervice), oltre che del cancro della vagina, della vulva, del pene, dell'ano. Il virus è anche associato all'insorgenza di cancro faringeo e cutaneo. I virus appartenenti alle specie A7 e A9 sono quelli più frequentemente associati al cancro del tratto anogenitale. Tali virus infettano la mucosa genitale e possono infettare anche l'epitelio squamoso orofaringeo. I tipi a basso rischio oncogeno (6 e 11) sono responsabili di lesioni benigne, come condilomi genitali e atipie cellulari di basso grado. Mentre i tipi ad alto rischio (16 e 18), sono responsabili di lesioni precancerose sia di basso che di alto grado, forme, queste ultime, che evolvono in cancro invasivo. L'HPV-16, il genotipo più frequente, appartiene alla specie A9 così come HPV 31-33-35-52-58-67; gli HPV 18-39-45-59-68 appartengono alla classe A7 (1). Il periodo di incubazione per lo sviluppo di sintomi clinicamente apprezzabili è altamente variabile. I condilomi genitali possono manifestarsi dopo mesi dall'infezione, mentre lo sviluppo del cancro della cervice richiede diversi anni. Inoltre in molti casi l'infezione da HPV è asintomatica e rilevabile solo effettuando il test dell'HPV-DNA. Negli individui in buona salute, più del 75% delle infezioni regredisce entro i primi 30 mesi spontaneamente; ciò è dovuto al fatto che i tipi virali a basso rischio non determinano infezioni persistenti ed al fatto che il virus viene eliminato dal sistema immunitario prima di sviluppare un effetto patogeno (1).

Cancro della cervice uterina

Il cancro della cervice è la seconda neoplasia più frequente nella donna (al primo posto c'è il cancro della mammella), con più di 500.000 nuovi casi diagnosticati annualmente (1). Negli Stati Uniti l'*American Cancer Society* stima più di 10.000 casi ogni anno. Dal momento che l'HPV è presente nel 99,7% di tutti i casi di cancro della cervice uterina, l'infezione persistente determinata da tipi ad alto rischio di HPV, come i tipi 16, 18, 31, 33 e 45, è considerata uno step necessario allo sviluppo tumorale. Le proteine virali, espresse durante l'infezione attiva, inducono proliferazione delle cellule basali, alterazione del rapporto nucleo-citoplasma, coilocitosi, figure mitotiche anomale. Tali alterazioni configurano il quadro della SIL: *Squa-*

mous Intraepithelial Lesions. Lo sviluppo di una L-SIL (*low-SIL*) e successivamente di una H-SIL (*high-SIL*) è la *conditio sine qua non* allo sviluppo del cancro invasivo. Tuttavia bisogna precisare che la maggior parte delle SIL di basso grado e alcune SIL di alto grado possono regredire spontaneamente. Poiché la maggior parte delle L-SIL regredisce spontaneamente nelle giovani adolescenti, in base alle linee guida è consigliabile un periodo di osservazione attraverso esame citologico e colposcopico prima del trattamento (3). In uno studio longitudinale condotto su adolescenti e giovani donne con infezione da HPV, solo il 25% di queste ha sviluppato una L-SIL entro 36 mesi dall'inizio dell'infezione. Inoltre la L-SIL è spesso transitoria, nella maggior parte dei casi regredisce spontaneamente in 3 anni e solo il 3% evolve in H-SIL. Bisogna sottolineare che questi numeri sono molto diversi da quelli riscontrati nelle donne adulte, nelle quali il 25-30% delle L-SIL progredisce verso una SIL di alto grado (2). Meno del 40% delle SIL di alto grado regredisce e costituisce un'importante lesione precancerosa, (in generale, il periodo di incubazione dall'infezione da HPV all'insorgenza del carcinoma *in situ* oscilla tra 7 e 12 anni) (21). Pertanto, quando viene diagnosticata una H-SIL è necessario intervenire precocemente. Attualmente grazie a questa strategia di intervento meno dell'1,5% delle lesioni squamose intraepiteliali di alto grado progredisce in cancro della cervice nell'arco di 2 anni.

Screening e linee guida terapeutiche per adolescenti e giovani donne

L'*American Cancer Society* raccomanda lo screening del carcinoma della cervice uterina a partire dai 21 anni di età o dopo 3 anni dall'inizio dei primi rapporti sessuali. Lo screening si avvale della tradizionale citologia (Pap-test). Dopo 3 iniziali Pap-test consecutivi normali, lo striscio può essere effettuato ogni 2 anni. Dopo i 30 anni il Pap-test può essere eseguito ogni 3 anni. L'HPV-DNA test è attualmente disponibile come metodica di screening in donne di età superiore ai 30 anni. L'utilità di tale test in adolescenza è limitato dal momento che molte giovani donne sono HPV positive. Le nuove guide linea in caso di adolescenti con quadro citologico di L-SIL prevedono che vengano seguite e rivalutate mediante ripetizione di Pap test a 6 mesi o mediante test dell'HPV-DNA a 12 mesi. Se il quadro citologico si normalizza, un ulteriore Pap test dovrebbe essere ripetuto 6 mesi più tardi. Se il quadro depone per un quadro di ASCUS, si procederà alla colposcopia. Alternativamente si eseguirà il test per HPV-DNA a 12 mesi dalla diagnosi di L-SIL. Se l'adolescente è positiva per HPV-DNA ad alto rischio, è rac-

comandata la colposcopia (3). Il carcinoma della cervice uterina è il primo cancro ad essere riconosciuto dall'Organizzazione Mondiale della Sanità come totalmente riconducibile ad un'infezione: quella da tipi oncogeni da HPV (22).

L'EMA (*European Medicines Agency*) ha autorizzato il 20 ottobre 2006 il primo vaccino (vaccino quadrivalente) che previene le lesioni causate dagli HPV-16 e -18 (responsabili del 70% circa dei carcinomi della cervice) e 6 e 11 (responsabili di circa il 90% circa dei condilomi genitali). Il vaccino non ha però alcun effetto terapeutico su tali virus, e sulle loro conseguenze (tumore della cervice uterina e lesioni condilomato-se) (23).

Il vaccino può essere somministrato a tutte le donne, che presumibilmente non abbiano avuto un contatto con i 4 tipi di HPV contenuti nel vaccino. Per questa ragione è preferibile una sua somministrazione in età adolescenziale, tra i 9 ed i 13 anni, quando c'è la migliore finestra vaccinale con la migliore risposta anticorpale, comunque prima che inizi l'attività sessuale, in modo da prevenire il contagio. In molti Paesi si è ipotizzato di somministrarlo all'età di 11-12 anni. La somministrazione dopo i 26 anni di età non è raccomandata, se non in pazienti virgo.

Esiste anche un vaccino bivalente per l'HPV 16 e 18. Il vaccino quadrivalente è costituito da una miscela di particelle *virus-like* derivate dalle proteine del capsido L1 dei tipi di HPV 6, 11, 16, 18, ed è ottenuto mediante tecniche di ricombinazione genica. Queste particelle attivano l'immunità umorale dell'ospite con intensità decine di volte superiore a quella dell'infezione naturale ma senza alcun rischio di infezione. Il ciclo vaccinale consiste in tre dosi somministrate per via intramuscolare a 0, 2 e 6 mesi dalla prima somministrazione.

Tra i 9 e 15 anni la vaccinazione ha indotto un'elevata risposta immunitaria, superiore a quella osservata nelle ragazze tra i 16 e i 26 anni. A distanza di un mese dalla terza dose, infatti, il 99-100% delle vaccinate presentava anticorpi circolanti verso i tipi di HPV contenuti nel vaccino. Nelle donne tra i 16 e i 26 anni non infettate dai tipi di HPV contenuti nel vaccino, l'efficacia nel prevenire le lesioni precancerose è stata del 95%. La stima di efficacia clinica nel totale delle donne partecipanti, incluse le donne con infezione da HPV (27% del totale) e quelle che non avevano completato il ciclo vaccinale, è stata invece del 46%.

La persistenza degli anticorpi è stata dimostrata per i 4 anni successivi alla vaccinazione ma non è disponibile un follow-up superiore a 4 anni. Riguardo alle ragazze e donne tra 14 e 26 anni restano inoltre aperte alcune questioni, quali la diminuita efficacia nella popolazione sessualmente attiva, in cui sono presenti donne già infettate con tipi di HPV presenti nel vacci-

no e la limitata esperienza circa l'effetto del vaccino in gravidanza.

L'efficacia vaccinale è del 100% nelle donne non esposte e del 71% in quelle esposte in precedenza al virus, secondo un recente studio pubblicato su *Lancet* che ha seguito 18.000 donne per 3 anni. Il vaccino è stato classificato in classe H-RR, e ne è stata prevista la distribuzione attraverso il SSN e la gratuità per le adolescenti nel corso del dodicesimo anno di vita. È stata scelta l'età di 11 anni compiuti, in quanto questa età è compresa nella finestra di massima risposta immunogenica al vaccino (9-13 anni), ma anche per la concomitanza con altre vaccinazioni, il che può aumentare l'adesione alla proposta vaccinale. Inoltre è altamente probabile che non sia iniziata l'attività sessuale con il rischio di acquisizione del virus, e che non vi sia rischio di gravidanza in atto. Va tenuto presente comunque che il vaccino non è attivo contro le infezioni da HPV in atto. Almeno altri 13 genotipi di HPV, oltre ai due contenuti nel vaccino, possono indurre danni cellulari fino alla trasformazione tumorale. La somministrazione del vaccino potrebbe determinare pressione selettiva su altri tipi di HPV; i tipi virali prevalenti potrebbero subire mutazioni nel tempo; la capacità infettante dei singoli tipi virali può mutare spontaneamente nel tempo. L'osservazione di circa 12.000 persone vaccinate con vaccino quadrivalente ed il confronto con 9.000 persone che hanno ricevuto un placebo ha mostrato che il vaccino ha un buon profilo di sicurezza. Le reazioni associate alla vaccinazione sono state febbre e reazioni locali nella sede di iniezione con frequenza > 10%. Sono state raramente segnalate anche reazioni di possibile natura allergica (brucosismo, orticaria). La frequenza di orticaria, tuttavia, è stata inferiore nel gruppo dei vaccinati rispetto al gruppo che aveva ricevuto il placebo (rispettivamente, 0.06%, vs 0.18%).

Conclusioni

In considerazione del positivo profilo di tollerabilità e dell'avvenuta approvazione da parte della *Food and Drug Administration* (FDA) della formulazione vaccinale tetravalente nonché della raccomandazione dell'*Advisory Committee on Immunization Practices* (ACIP) all'utilizzo del vaccino stesso, si apre quindi la strada ad una possibile prevenzione primaria del carcinoma della cervice, da affiancare alle politiche di screening. Dal momento che il vaccino non ha scopo terapeutico, l'attenzione sui tumori del collo dell'utero, sulle lesioni preneoplastiche non deve essere mai sospesa: vaccinata o non vaccinata, la donna deve comunque attenersi alle linee guida di prevenzione secondaria mediante PAP-test (22).

Bibliografia

1. LA TORRE G, DE WAURE C, CHIARADIA G, MANNOCCI A, RICCIARDI W. *HPV vaccine efficacy in preventing cervical HPV infection: A systematic review and meta-analysis*. *Vaccine* 25 (2007) 8352-8358.
2. FRAZER IH. *HPV vaccines and the prevention of cervical cancer*. *Update on cancer therapeutics* 3 (2008) 43-48.
3. MOSCICKI AB. *Impact of HPV infection in adolescent population, review article*. *Journal of Adolescent Health* 37 (2005) S3-S9.
4. RONCO G, GHISSETTI V, SEGNAN N, et al. *Prevalence of human papillomavirus infection in women in Turin, Italy*. *Eur J Cancer* 2005; 41: 297- 305.
5. CENTURIONI MG, PUPPO A, MERLO DF, et al. *Prevalence of human papillomavirus cervical infection in an Italian asymptomatic population*. *BMC Infectious Disease* 2005; 5:77.
6. SÁLFA MC, BOCCI C, LILLO F, et al. *Epidemiologia dell'infezione cervico-vaginale da Human Papillomavirus (HPV) in donne afferenti ad un programma organizzato per la prevenzione del cervicocarcinoma*. Abstract accettato alla IX Conferenza Nazionale di Sanità Pubblica. Parma 13-15, ottobre 2005.
7. VERTERAMO R, PIERANGELI A, CALZOLARI E, et al. *Direct sequencing of HPV DNA detected in gynaecologic outpatients in Rome, Italy*. *Microbes Infect* 2006; 8: 2517-21.
8. KOUTSKY L. *Epidemiology of genital human papilloma virus infections*. *Am J Med* 1997; 102: 3-8.
9. WEINSTOCK H, BERMAN S, CATES W Jr. *Sexually transmitted disease among American youth: incidence e prevalence estimates, 2000*. *Perspect Sex Reprod Health* 2004, 36: 6-10.
10. SHIFFMAN M, HJAER SK. *Chapter 2: natural history of anogenital human papilloma virus infection and neoplasia*. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003;31: 14-9.
11. GILES M, GARLAND S. *A study of women's knowledge regarding human papillomavirus infection, cervical cancer and human papillomavirus vaccines*. *Australian and New Zeland Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2006; 46: 311-315.
12. TASCA RA, CLARKE RW. *Recurrent respiratory papillomatosis*. *Arch Dis Chil* 2006; 91 (8, Aug): 689-91.
13. MOSCICKI AB, HILLS N, SHIBOSKI S, et al. *Risk for incident human papillomavirus infection and low grade squamous intraepithelial lesion development in young femals*. *JAMA* 2001; 285:2995-3002.
14. KEVIN A. Ault. *Human Papillomavirus vaccines and the potential for cross-protection between related HPV types*. *Gynecologic oncology* 107 (2007) S31-S33.
15. MUNOZ N, CASTELLSAGUE X, BERRINGTON DE GONZALEZ A, GISSMANN L. *HPV in the aetiology of human cancer*. *Vaccine* 2006;24(S3):1-10.
16. SHUYAMA K, CASTILLO A, AGUAYO F, SUN Q, KHAN N, KORIYAMA C, et al. *Human papillomavirus in high- and low-risk areas of oesophageal squamous cell carcinoma in China*. *Br J Cancer* 2007;96(10, May):1554-9.
17. KOSHIOL JE, SCHROEDER JC, JAMIESON DJ, MARSHALL SW, DUERR A, HEILIG CM, et al. *Time to clearance of human papilloma virus infection by type and human immunodeficiency virus serostatus*. *Int J Cancer* 2006;119(7): 1623-9.
18. BOSCH FX, DE SS. *The epidemiology of human papilloma virus infection and cervical cancer*. *Dis Markers* 2007;23(4):213-27.
19. World Health Organizazion. *Viral cancer. Human Papillomvirus*. Available from http://www.who.int/vaccine_research/diseases/viral_cancer/en/index3.html
20. MOSCICKI AB, HILLS N, SHIBOSKI S, et al. *Regression of low-grade squamous intra-epithelial lesions in young women*. *Lancet* 2004;364:1678-83.
21. YLITALO N, JOSEFSSON A, MELBYE M, et al. *A prospective study showing long-term infection with human papillomavirus 16 before the development of cervical carcinoma in situ*. *Cancer Res* 2000;60:6027-32.
22. AIFA-Ministero della salute. *Il vaccino anti HPV, aggiornamento del 2007*.
23. EMEA. *Relazione di valutazione pubblica europea (EPAR). Gardasil*. EMEA/H/C/703. Available from <http://www.emea.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/gardasil/070306it1.pdf>.
24. Ministero della salute. *Consiglio superiore di sanità. Sessione XLVI. Sezioni congiunte II e III seduta dell'11 gennaio 2007*.
25. *Note e raccomandazioni della SIGO (Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia)*.