

Četverovalentno cjepivo protiv humanih papilomavirusa (HPV)

Mario POLJAK¹, *prof. dr. sc., dr. med., specijalist mikrobiolog*
Snježana ŽIDOVEC LEPEJ², *viši znanstveni suradnik, dr. sc., dipl. ing.*

¹Institut za mikrobiologiju i imunologiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Ljubljani, Slovenija

²Klinika za infektivne bolesti »Dr. Fran Mihaljević«, Zagreb, Hrvatska

Ključne riječi

HPV
humani papilomavirusi
cjepiva

Key words

HPV
human papillomaviruses
vaccine

Primljeno: 2006–12–22

Received: 2006–12–22

Prihvaćeno: 2006–12–29

Accepted: 2006–12–29

Pregledni članak

Humani papilomavirusi (HPV) su iznimno heterogena grupa DNA virusa koja ima vrlo važnu ulogu u etiologiji različitih benignih i malignih novotvorina pločastog epitela. Prevencija HPV infekcije postiže se primjenom rekombinantnog cjepiva koje sadrži virusima-slične čestice (viral-like particles, VLP) te u cijepjenih osoba potiče sintezu neutralizirajućih protutijela specifičnih za pojedine virusne genotipove. VLP su prazne, neinfektivne virusne kapside koje ne sadrže DNA i koje su morfološki identične nativnim virusima što ih čini odličnim kandidatima za proizvodnju profilaktičkih cjepiva. Klinička ispitivanja faze I i II dokazala su dobru podnošljivost VLP-cjepiva protiv HPV-a, njihovu sposobnost indukcije visokog titra neutralizirajućih protutijela (50–100 puta veći titar u usporedbi s prirodnom infekcijom) kao i vrlo veliku učinkovitost u zaštiti od uspostave perzistentne HPV infekcije te posljedične pojave bolesti.

Kliničko ispitivanje faze III završeno je za samo jedno cjepivo protiv HPV-a tj. za četverovalentno cjepivo koje sadrži VLP genotipova HPV-6, HPV-11, HPV-16 i HPV-18 proizvođača tvrtke Merck Sharpe & Dohme (Gardasil[®], Silgard[®]). Do siječnja 2007. g. četverovalentno cjepivo protiv HPV-a odobreno je u 52 zemlje (po žurnom postupku) uključujući SAD, 25 članica Europske Unije, Meksiko, Australiju, Novi Zeland, Peru i Brazil. Cjepivo je trenutno u postupku registracije u još približno pedesetak država. Literaturni podatci pokazuju da su tijekom dosadašnje primjene cjepiva najčešće zabilježene vrlo blage nuspojave, uglavnom lokalne reakcije na mjestu cijepjenja.

Quadrivalent vaccine against human papillomaviruses (HPV)

Review article

Human papillomaviruses (HPV) are remarkably heterogeneous group of DNA viruses that are causally involved in the etiology of different benign and malignant neoplastic lesions of the anogenital, oropharyngeal and cutaneous epithelium. The prevention of HPV infection can be achieved by the induction of genotype-specific neutralizing antibodies triggered by recombinant L1 viral-like particle (VLP) vaccines. VLP are attractive candidates for prophylactic vaccines as they are empty, non-infectious, DNA-free viral capsids morphologically indistinguishable from the native viruses. Phase I and II trials have shown that the VLP-based HPV vaccines are well tolerated, that they induce high titers of neutralizing antibodies (50–100 fold greater than during natural infection), and protect with a very high efficacy against a persistent HPV infection and HPV-related clinical disease.

Until now only one HPV vaccine completed phase III trials. The vaccine produced by Merck Sharpe & Dohme (Gardasil[®], Silgard[®]), is a quadrivalent vaccine with HPV-6, HPV-11, HPV-16, and HPV-18 VLPs. Until January 2007, the quadrivalent HPV vaccine has been approved in 52 countries (all under accelerated review schedules) including the US, all 25 European Union member countries, Mexico, Australia, Canada, New Zealand, Peru and Brasil. Additional applications are currently under review with regulatory agencies in more than 50 countries around the world. According to the published data, the vaccine has been associated with minimal adverse reactions, the most common of which being local reactions.

Uvod

Humani papilomavirusi (HPV) su vrlo heterogena grupa DNA virusa koje povezujemo s nastankom brojnih benignih i malignih novotvorina pločastog epitela. Temeljem homolognosti nukleotidnih sekvenci, HPV klasificiramo u različite genotipove. Do danas je dobro definirano čak 95 genotipova i 4 podtipa HPV-a. Petnaest tzv. visokorizičnih genotipova HPV-a (najvažniji su genotipovi HPV-16 i HPV-18) je odgovorno za nastanak više od 99 % karcinoma vrata maternice, više od 80 % karcinoma anusa, više od 60 % karcinoma penisa, vagine i vulve kao i približno 20 % karcinoma usne šupljine (uglavnom karcinom tonzila). Dvanaest tzv. niskorizičnih genotipova HPV-a (najvažniji su genotipovi HPV-6 i HPV-11) odgovorno je za nastanak više od 95 % genitalnih bradavica (*condylomata acuminata*) i laringealnih papiloma [1, 2].

Princip djelovanja cjepiva protiv HPV

Obzirom na to da je dugotrajna perzistentna infekcija s ovim virusima nužan (iako nedovoljan) etiološki čimbenik nastanka novotvorina povezanih s HPV-om (uključujući i karcinom vrata maternice), primjena cjepiva protiv HPV-a mogla bi spriječiti pojavu karcinoma vrata maternice i ostalih novotvorina povezanih s ovom grupom virusa. Prema dosadašnjim istraživanjima najbolji kandidati za cjepiva temelje na primjeni virusima-sličnih čestica (engl. *viral-like particles*, *VLP*) koje potiču sintezu protutijela specifičnih za bjelančevine ovojnice HPV-a [3–16]. VLP ne sadrže virusnu DNA, ne mogu zaraziti humane stanice, u stanicama se ne mogu razmnožavati i ne mogu uzrokovati bolesti. Cijepljenjem se potiče sinteza neutralizirajućih protutijela specifičnih za HPV razreda IgG koja se izlučuju iz seruma u matriks sluznice i sprječavaju ulazak HPV-a u stanice domaćina. Anti-HPV protutijela su strogo znakovita za pojedine genotipove HPV-a tj. ona nas mogu zaštititi samo od zaraze s genotipovima koji su uključeni u cjepivo. Uprkos opisanoj znakovitosti anti-HPV protutijela, novija preliminarna istraživanja pokazuju da ipak postoji i određena križna reaktivnost protutijela specifičnih za pojedine genotipove HPV-a [15]. Primjerice, protutijela specifična za HPV-18 štite od incidentne infekcije ne samo s genotipom HPV-18 već pružaju i djelomičnu zaštitu od infekcije s vrlo srodnim genotipom HPV-45 te protutijela specifična za HPV-16 štite od incidentne infekcije ne samo s genotipom HPV-16 već pružaju i djelomičnu zaštitu od infekcije s vrlo srodnim genotipom HPV-31 [15]. Za sada nije poznato da li će opisana križna reaktivnost protutijela spriječiti nastanak karcinoma vrata maternice prouzročenog s HPV-45 u osoba cijepljenih s VLP HPV-18 te nastanak karcinoma vrata maternice prouzročenog s HPV-31 u osoba cijepljenih s VLP HPV-16.

Četverovalentno cjepivo protiv HPV – pregled objavljenih rezultata učinkovitosti cjepiva

Unatoč razvoju više profilaktičkih cjepiva protiv HPV-a, za sada je samo jedno cjepivo završilo fazu III kliničkog ispitivanja. Radi se o četverovalentnom cjepivu tvrtke Merck Sharp & Dohme (MSD), koje sadrži VLP genotipova HPV-6, HPV-11, HPV-16 i HPV-18. To cjepivo je također trenutno jedino profilaktičko HPV cjepivo odobreno za uporabu u humanoj medicini. Jedna doza četverovalentnog cjepiva sadrži 20–40 µg bjelančevina virusne ovojnice (bjelančevina L1) četiri klinički najvažnijih genotipova HPV-a (HPV-6, HPV-11, HPV-16 i HPV-18) u obliku VLP-a dobivenih tehnologijom rekombinantne DNA na modelu kvašćevih gljivica. Cjepivo je adsorbirano na amorfni aluminijev hidroksifosfat sulfat kao adjuvant. Cjepivo je vrlo stabilno u širokom rasponu temperature [10]. Temeljem preporuka nadležne Europske agencije za lijekove (EMA), u državama EU četverovalentno se cjepivo primjenjuje za sprječavanje nastanka novotvorina povezanih s infekcijom navedenim genotipovima HPV-a: karcinoma vrata maternice, cervikalne displazije teškog stupnja (CIN 2/3), displastičnih promjena vulve teškog stupnja (VIN 2/3) i genitalnih bradavica. Indikacija temelji na dokazu učinkovitosti cjepiva u odraslih žena u dobi od 16–26 g. i dokazu imunogeničnosti cjepiva u djece i adolescenata oba spola u dobi od 9–15 g. Za sada ne postoje podaci o kliničkoj učinkovitosti cjepiva tj. prevenciji pojave promjena epitela kao i novotvorina povezanih s HPV-om u muškaraca.

Učinkovitost četverovalentnog cjepiva je potvrđena u četiri placebo kontrolirana, randomizirana, dvostruko-slijepa klinička ispitivanja faze II i III u kojima je bila uključena 20541 žena u dobi od 16–26 godina (3–7). Period praćenja ispitanica u ovim istraživanjima bio je do 5 godina od uključanja. U žena koje su unutar godinu dana od uključanja u istraživanje primile sve tri doze cjepiva i koje prethodno nisu bile zaražene s HPV-6, HPV-11, HPV-16 i HPV-18, učinkovitost »per-protocol« ili PPT analiza je pokazala da je četverovalentno cjepivo spriječilo nastanak sljedećih novotvorina:

a) 100 % (interval pouzdanosti 92,9–100 %) s HPV-16 i HPV-18 povezanih CIN 2/3 i neinvazivnog karcinoma vrata maternice. U grupi od 8487 žena koje su cijepljene četverovalentnim cjepivom nisu zabilježili niti jedne navedene promjene dok je u čak 53 od 8460 žena koje su primile placebo otkriven ili CIN 2/3 ili neinvazivan karcinom vrata maternice.

b) 100 % (interval pouzdanosti 55,5%–100%) s HPV-16 i HPV-18 povezanih displastičnih promjena vulve (VIN 2/3) i neinvazivnog karcinoma vulve i vagine. U grupi od 7769 žena koje su primile četverovalentno cjepivo nije bilo navedenih promjena u niti jedne ispitanice dok je u 10 od 7741 žene koje su primile placebo otkriven ili VIN 2/3 ili neinvazivni karcinom vulve.

c) 99% (interval pouzdanosti 93,7–100%) s HPV-om genotipa 6 i 11 povezanih genitalnih bradavica. U grupi žena koje su primile četverovalentno cjepivo u jedne od 7897 ispitanica otkrivene su genitalne bradavice dok je u grupi žena koje su primile placebo čak 91 od 7899 ispitanica imalo genitalne bradavice [3–7].

Uz četiri opisana istraživanja, pri registraciji ovog cjepiva vrlo je važnu ulogu imalo i dvostruko slijepo, randomizirano istraživanje [8] koje je uspoređivalo imunogeničnost cjepiva u 483 dječaka u dobi od 10–15 godina te u 482 djevojčice u dobi od 10–15 godina u odnosu na imunogeničnost u 465 adolescentica i žena u dobi od 16–23 godine. Naime, upravo na rezultatima tog kliničkog istraživanja temelje indikacije Američke uprave za hranu i lijekove (Food and Drug Administration, FDA) i EMEA o cijepljenju djece i adolescenata u dobi od 9–15 godina. Mjesec dana nakon završetka cijepljenja uspješno je serokonvertiralo 99% ispitanika u sve tri grupe [8]. Geometrijska sredina titra protutijela specifičnih za HPV u dječaka i djevojčica u dobi od 10–15 godina bila je veća ili jednaka titru u adolescentica i žena u dobi od 16–23 godine [8]. Rezultati imunogeničnosti cjepiva u dječaka i djevojčica u dobi od 10–15 godina bili su temelj procjene o kliničkoj učinkovitosti cjepiva protiv HPV-a u toj populaciji.

Trajanje zaštite nakon završetka cijepljenja s četverovalentnim cjepivom za sada nije poznato ali obzirom na rezultate nedavno objavljenog istraživanja, klinička učinkovitost traje najmanje 5 godina nakon cijepljenja [9].

U cijepljenih osoba koje su prije samog cijepljenja bile pozitivne na HPV DNA (osobe koje su trenutno zaražene HPV-om) i/ili u osoba koje su bile anti-HPV pozitivne (preboljela HPV infekcija), nije bilo dokaza o zaštiti od nastanka bolesti prouzročenih genotipom HPV-a s kojim su osobe bile zaražene ali su ispitanici bili zaštićeni od pojave kliničkih bolesti prouzročenih s preostalim genotipovima HPV-a koje sadrži cjepivo.

Četverovalentno cjepivo protiv HPV-a – nuspojave

Literaturni podatci pokazuju da je u pet opisanih kliničkih istraživanja zbog nuspojava isključeno 0,2% ispitanika [3–9]. Slično kao i kod drugih cjepiva, najčešće opisane nuspojave bile su vrlo često: povišena tjelesna temperatura, glavobolja, eritem, bol i oteklina na mjestu primjene cjepiva, često: krvarenje i svrbež na mjestu primjene cjepiva, crvenilo, urtrikarija, vrlo rijetko: bronhospazam. Većina neželjenih učinaka cjepiva na mjestu primjene bila je statistički značajno veća u skupini cijepljenih ispitanika u odnosu na one koji su primili placebo što je uobičajeno za većinu cjepiva. Suprotno tome, razlika između učestalosti težih nuspojava (sistemskih) u

skupini cijepljenih ispitanika i onih koji su primili placebo nije bila statistički značajna [3–9].

Četverovalentno cjepivo protiv HPV-a – stanje registracijskih postupaka

U lipnju 2006. g., FDA je odobrila primjenu četverovalentnog cjepiva u SAD-u. U rujnu 2006 g. je u centraliziranom postupku EMEA odobrila primjenu istog četverovalentnog cjepiva u EU tj. ono se od tada može primjenjivati u svim zemljama članicama EU. Do kraja 2006. g. četverovalentno je cjepivo bilo odobreno za uporabu u 52 države (u svima po ubrzanom postupku), i trenutno je u postupku registracije u još približno pedesetak država. Četverovalentno cjepivo je u SAD-u odobreno za uporabu u djevojčica i žena u dobi od 9–26 godina. Ubrzo nakon što je FDA odobrila cjepivo protiv HPV-a, 50 vodećih privatnih američkih osiguravajućih tvrtki odlučilo je u potpunosti snositi troškove cijepljenja za svoje osiguranike. Troškove cijepljenja protiv HPV-a ostale djece u SAD-u (uglavnom siromašni i bez zdravstvenog osiguranja) od 01.11.2006. podmirit će zaklada Vaccines for Children Program. Cijepljenje protiv HPV-a je uključeno u kalendar cijepljenja za 2007 [11] i u nekim državama SAD je cijepljenje uvjet za upis u školu. Preporuke za uporabu cjepiva je nedavno izdalo više različitih američkih stručnih udruga, među njima i American Cancer Society [12].

EMEA preporuča cijepljenje u svrhu prevencije karcinoma vrata maternice, CIN 2/3, VIN 2/3 i genitalnih bradavica ali bez detaljnije definicije spola i dobi osoba koje je potrebno cijepiti. EMEA samo navodi da indikacija za cijepljenje temelji na dokazu učinkovitosti cjepiva u odraslih žena u dobi od 16–26 godina i dokazu imunogeničnosti cjepiva u djece u dobi od 9–15 godina kao i adolescenata oba spola. EMEA također navodi da za sada ne postoje podatci o kliničkoj učinkovitosti cjepiva u muškaraca.

U Sloveniji smo sa cijepljenjem započeli 19. 12. 2006. Za sada troškove cijepljenja u Sloveniji ne podmiruje zdravstveno osiguranje, a cijena jedne doze cjepiva iznosi 108 €. Od 25 članica EU, za sada je cijepljenje protiv HPV uključeno u kalendar cijepljenja za 2007. samo u Austriji. U Kanadi je cijepljenje protiv HPV službeno preporučeno relativno širokom krugu djevojčica i žena od 9 do 26 godina, uključujući i predhodno i trenutno zaražene s HPV, kao i žene s neurednim nalazom PAP-a testa [13]. Troškove cijepljenja za preporučene skupine u cjelosti pokriva država.

U Australiji je cijepljenje također preporučeno vrlo širokom krugu djevojčica i žena od 12 do 26 godina. Djevojčice od 12–13 godina cijepile se u sklopu redovitog programa cijepljenja, dok će za ostale djevojčice i žene do 26 godina država pokriti sve troškove cijepljenja u prve dvije godine.

Četverovalentno cjepivo protiv HPV-a – koga i kako cijepimo?

Osnovno cijepljenje protiv HPV-a s četverovalentnim cjepivom provodi se s tri doze prema shemi 0., 2., 6. mjeseci. Cjepivo apliciramo intramuskularno u deltoidni dio nadlaktice ili u gornji anterolateralni dio prepone. Potrebno je naglasiti da, poput drugih cjepiva, cjepivo protiv HPV-a neće u potpunosti zaštititi sve cijepjene osobe. Idealno vrijeme za cijepljenje je prije zaraze s četiri spomenuta genotipa HPV-a tj. prije prvih spolnih odnosa i nije neposredno vezano s dobi. Obzirom na to da cjepivo štiti samo od bolesti uzrokovanih genotipovima HPV-6, HPV-11, HPV-16 i HPV-18 (približno 70 % karcinoma vrata maternice i 90 % genitalnih bradavica) ali ne i od zaraze drugim genotipovima HPV-a koji uzrokuju slične bolesti, cijepljenje protiv HPV-a postojećim cjepivom ne zamjenjuje dosadašnje rutinske postupke u svrhu prevencije karcinoma vrata maternice. Stoga je i u cijepljenih žena potrebno provoditi PAP-a testove u jednakom opsegu i na jednak način kao i u necijepjenih žena.

Cjepivo protiv HPV-a nema terapijski učinak. Stoga cjepivo nije indicirano za liječenje karcinoma vrata maternice, cervikalne displazije, displastičnih promjena vulve i genitalnih bradavica i ne primjenjuje se u svrhu sprječavanja napredovanja navedenih displastičnih promjena.

Dvovalentno cjepivo protiv HPV-a

Osim opisanog četverovalentnog cjepiva protiv HPV-a, u završnoj fazi kliničkog ispitivanja nalazi se i dvovalentno cjepivo protiv HPV-a tvrtke Glaxo Smith Kline (GSK) s ciljem zaštite od zaraze s genotipovima HPV-16 i HPV-18 [14–16]. Cjepivo sadrži adjuvant AS04 koji bi trebao osigurati visoku imunogeničnost cjepiva [16]. Nadamo se da će obećavajući rezultati dobiveni u fazi II. kliničkih ispitivanja koja su provedena na približno tisuću žena [14–16], biti potvrđeni i u fazi III. kliničkog ispitivanja koje je u tijeku.

Zaključak

Po trenutno objavljenim rezultatima istraživanja i glede na vrlo brzu registraciju HPV cjepiva u više od pedeset država na svijetu možemo zaključiti da je četverovalentno cjepivo protiv HPV-a učinkovito i sigurno. Četverovalentno cjepivo protiv HPV-a je radi svoje koncepcije (cjepivo protiv karcinoma vrata maternice i genitalnih bradavica) nedvojbeno važna, kako znanstvena tako i misaona, prekretnica u medicini. Nadajmo se da ćemo znati primjereno odgovoriti na taj izazov.

Literatura

- [1] zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer* 2002;2:342–50.

- [2] de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology*;324:17–27.
- [3] Koutsky LA, Ault KA, Wheeler CM, Brown DR, Barr E, Alvarez FB, Chiacchierini LM, Jansen KU; Proof of Principle Study Investigators. A controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine. *N Engl J Med*. 2002;347:1645–51.
- [4] Villa LL, Costa RL, Petta CA, Andrade RP, Ault KA, Giuliano AR, Wheeler CM, Koutsky LA, Malm C, Lehtinen M, Skjeldestad FE, Olsson SE, Steinwall M, Brown DR, Kurman RJ, Ronnett BM, Stoler MH, Ferenczy A, Harper DM, Tamms GM, Yu J, Lupinacci L, Raikar R, Taddeo FJ, Jansen KU, Esser MT, Sings HL, Saah AJ, Barr E. 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;6:271–8.
- [5] Villa LL, Ault KA, Giuliano AR, Costa RL, Petta CA, Andrade RP, Brown DR, Ferenczy A, Harper DM, Koutsky LA, Kurman RJ, Lehtinen M, Malm C, Olsson SE, Ronnett BM, Skjeldestad FE, Steinwall M, Stoler MH, Wheeler CM, Taddeo FJ, Yu J, Lupinacci L, Raikar R, Marchese R, Esser MT, Bryan J, Jansen KU, Sings HL, Tamms GM, Saah AJ, Barr E. Immunologic responses following administration of a vaccine targeting human papillomavirus Types 6, 11, 16, and 18. *Vaccine* 2006;24:5571–83.
- [6] Anonimno. Povzetek glavnih značilnosti zdravila Silgard. Merck Sharp & Dohme, Ljubljana, 2006.
- [7] Mao C, Koutsky LA, Ault KA, Wheeler CM, Brown DR, Wiley DJ, Alvarez FB, Bautista OM, Jansen KU, Barr E. Efficacy of human papillomavirus-16 vaccine to prevent cervical intraepithelia neoplasia: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol* 2006; 107:18–27.
- [8] Block SL, Nolan T, Sattler C, Barr E, Giacoletti KE, Marchant CD, Castellsague X, Rusche SA, Lukac S, Bryan JT, Cavanaugh PF Jr, Reisinger KS; Protocol 016 Study Group. Comparison of the immunogenicity and reactogenicity of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in male and female adolescents and young adult women. *Pediatrics* 2006;118:2135–45.
- [9] Villa LL, Costa RL, Petta CA, Andrade RP, Paavonen J, Iversen OE, Olsson SE, Hoyer J, Steinwall M, Riis-Johannessen G, Andersson-Ellstrom A, Elfgren K, Krogh G, Lehtinen M, Malm C, Tamms GM, Giacoletti K, Lupinacci L, Raikar R, Taddeo FJ, Bryan J, Esser MT, Sings HL, Saah AJ, Barr E. 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; 95:1459–66.
- [10] Shank-Retzlaff ML, Zhao Q, Anderson C, Hamm M, High K, Nguyen M, Wang F, Wang N, Wang B, Wang Y, Washabaugh M, Sitrin R, Shi L. Evaluation of the thermal stability of Gardasil. *Hum Vaccin* 2006;2:147–54
- [11] Centers for Diseases Control and Prevention. Recommended Immunization Schedules for Persons Aged 0–18 Years – United States, 2007. *MMWR* 2007;55:Q1–Q4.
- [12] Saslow D, Castle PE, Cox JT, Davey DD, Einstein MH, Ferris DG, Goldie SJ, Harper DM, Kinney W, Moscicki AB, Noller KL, Wheeler CM, Ades T, Andrews KS, Doroshenko MK, Kahn KG, Schmidt C, Shafey O, Smith RA, Partridge EE, Garcia F. American Cancer Society Guideline for Human Papillomavirus (HPV) Vaccine Use to Prevent Cervical Cancer and Its Precursors. *CA Cancer J Clin* 2007;57:7–28.
- [13] Public Health Agency of Canada. National Advisory Committee on Immunization Statement on Human Papillomavirus Vaccine. *CCDR* 2007; 33: 1–32.

- [14] Harper DM, Franco EL, Wheeler C, Ferris DG, Jenkins D, Schuind A, Zahaf T, Innis B, Naud P, De Carvalho NS, Roteli-Martins CM, Teixeira J, Blatter MM, Korn AP, Quint W, Dubin G; GlaxoSmithKline HPV Vaccine Study Group. 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;364:1757–65.
- [15] Harper DM, Franco EL, Wheeler CM, Moscicki AB, Romanowski B, Roteli-Martins CM, Jenkins D, Schuind A, Costa Clemens SA, Dubin G; HPV Vaccine Study group. 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;367:1247–55.
- [16] Giannini SL, Hanon E, Moris P, Van Mechelen M, Morel S, Dessy F, Fourneau MA, Colau B, Suzich J, Losonksy G, Martin MT, Dubin G, Wettendorff MA. 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;24:5937–49.