



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA  
"TOR VERGATA"**

**FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA**

**DOTTORATO DI RICERCA IN  
METODOLOGIE IN MEDICINA PREVENTIVA E TERAPIA  
XXII CICLO**

**Progetto nazionale per la PREvenzione del  
carcinoma della cervice uterina nelle GIOvani  
donne (PREGIO):  
indagine conoscitiva, prevalenza dell'infezione  
da papilloma virus umano (HPV) e fattibilità  
dell'offerta della vaccinazione anti-HPV.**

**Dott.ssa Cristina Giambi**

Tutor: Prof. ssa Elisabetta Franco

Coordinatore: Prof. Giovanni Rocchi

A.A. 2009/2010

# INDICE

<b>1. Introduzione: lesioni invasive e preinvasive della cervice uterina, infezione da HPV e vaccinazione</b>	<b>Pag.4</b>
<b>1.1 Lesioni invasive e preinvasive della cervice uterina</b>	<b>Pag.6</b>
Epidemiologia del tumore della cervice uterina	
La prevenzione del carcinoma della cervice attraverso i programmi di screening	
Classificazione delle lesioni pre-neoplastiche e neoplastiche del collo dell'utero	
<b>1.2 Infezioni da papilloma virus umano</b>	<b>Pag.11</b>
La struttura del papilloma virus	
Azione del virus e vie di trasmissione	
Storia naturale delle infezioni da HPV	
Aspetti immunologici dell'infezione da HPV	
Classificazione dei papillomavirus umani in base al rischio oncogeno	
<b>1.3 Prevalenza dell'infezione da papilloma virus umano</b>	<b>Pag.19</b>
Prevalenza in donne con cervicocarcinoma e HSIL	
Prevalenza in donne con LSIL	
Prevalenza in donne con citologia normale	
Considerazioni conclusive sui dati di prevalenza	
Dati di prevalenza europei	
Infezioni multiple	
Test molecolari per la ricerca di DNA virale dell'HPV	
<b>1.4 La realtà italiana: dati di incidenza, prevalenza e mortalità</b>	<b>Pag.30</b>
Il carcinoma della cervice uterina: incidenza e mortalità	
Prevalenza dell'infezione da HPV in donne con citologia normale e anormale	
Programmi di screening organizzato	
<b>1.5 La vaccinazione anti-HPV</b>	<b>Pag.38</b>
Razionale per la produzione di vaccini contro il papillomavirus	
Vaccini attualmente disponibili	
Endpoints e criteri per la valutazione dell'efficacia del vaccino	
Immunogenicità e durata della protezione	
Studi di Efficacia	
Estensione dell'efficacia dei vaccini dalle giovani donne alle adolescenti	
Trial clinici su donne giovani-adulte	
Considerazioni sulle strategie in donne sessualmente attive	

Cross-protezione	
Profilo di sicurezza del vaccino	
<b>1.6 Strategie vaccinali per HPV</b>	<b>Pag.53</b>
<b>2. Progetto PreGio "PREvenzione GIOvani": razionale, obiettivi e metodi</b>	
<b>2.1 Razionale ed obiettivi del progetto</b>	<b>Pag.56</b>
<b>2.2 Materiali e metodi</b>	<b>Pag.59</b>
Popolazione e disegno dello studio	
Personale, procedure e strumenti	
Studio di prevalenza di tipi oncogeni di HPV	
Offerta della vaccinazione	
Indagine CAP	
Metodi statistici	
<b>3. Risultati del progetto PreGio</b>	
<b>3.1 Partecipazione al progetto e attività effettuate</b>	<b>Pag.67</b>
Caratteristiche socio-demografiche del campione	
<b>3.2 Prevalenza delle infezioni da tipi oncogeni di papillomavirus</b>	<b>Pag.72</b>
Prevalenza di HPV oncogeni	
Descrizione del campione totale e per esito del test HPV	
Distribuzione dei tipi virali e coinfezioni	
Confronto tra i risultati del Pap test e del test HC2	
<b>3.3 Offerta della vaccinazione per l'HPV</b>	<b>Pag.81</b>
Compliance alla vaccinazione	
Confronto tra donne vaccinate e donne non vaccinate	
Reazioni avverse al vaccino	
<b>3.4 Indagine CAP</b>	<b>Pag.86</b>
Le caratteristiche del campione	
Le conoscenze circa la prevenzione del carcinoma della cervice	
Aspettative e attitudini riguardo le malattie a trasmissione sessuale e l'infezione da HPV	
<b>4. Discussione e conclusioni</b>	<b>Pag.93</b>
<b>Referenze bibliografiche</b>	<b>Pag.104</b>

# 1. Introduzione: lesioni invasive e preinvasive della cervice uterina, infezione da HPV e vaccinazione

Il carcinoma della cervice uterina (CC) è il primo cancro ad essere riconosciuto dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) come totalmente riconducibile a un'infezione. L'ipotesi di una correlazione tra infezione genitale da Papillomavirus umano (HPV) e neoplasia cervicale è stata formulata per la prima volta agli inizi degli anni 80 dal virologo tedesco Harold zur Hausen e confermata da numerose evidenze molecolari ed epidemiologiche nel corso degli anni successivi (*Walboomers et al, 1999; Bosch et al, 2002; Muñoz et al, 2004*). Grazie all'introduzione di tecniche di biologia molecolare si è dimostrata la presenza dell'HPV-DNA nella quasi totalità (99,7%) dei carcinomi della cervice uterina (*Walboomers et al, 1999*), permettendo di definire il ruolo causale e necessario di alcuni tipi di HPV nella carcinogenesi del cervicocarcinoma: si può, cioè, affermare con un elevato grado di certezza che il cancro della cervice uterina non si sviluppa in assenza di infezione persistente da HPV.

L'associazione causale tra HPV e cervicocarcinoma ha aperto nuovi fronti per il miglioramento delle metodologie di screening per il tumore del collo dell'utero e la prevenzione mediante vaccini contro l'HPV.

La figura 1.1 rappresenta schematicamente l'evoluzione della ricerca epidemiologica in tema di HPV e cervicocarcinoma, relativamente a: a) percentuale di tumori della cervice in cui è stato rilevato DNA di papilloma virus umano, espressione della sensibilità dei test diagnostici; b) metodiche utilizzate per rilevare l'HPV nei campioni citologici; c) studi epidemiologici condotti dagli anni 80 in poi.

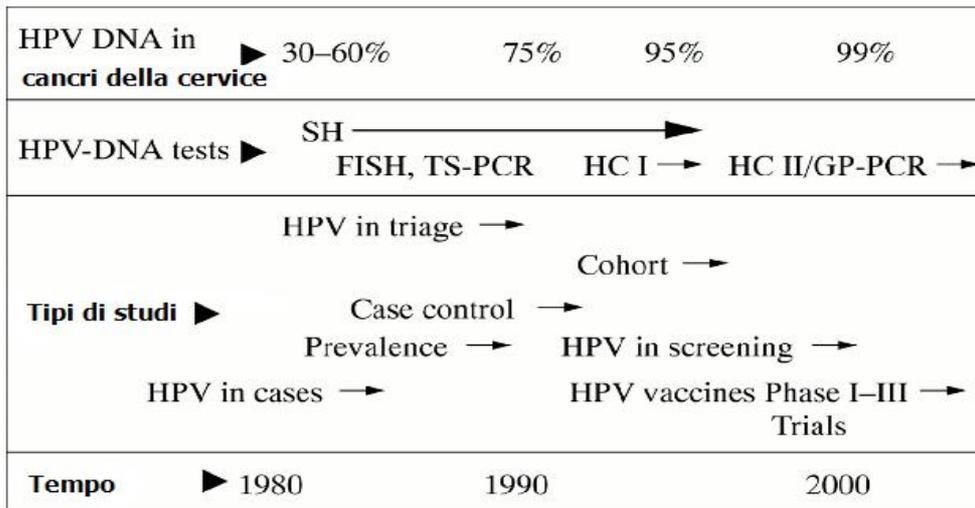


Figura 1.1: evoluzione della ricerca epidemiologica su HPV e cervicocarcinoma. FISH: filter in situ hybridisation; GP-PCR, general primer PCR; HC-I-II: hybrid capture di prima e seconda generazione; PCR: polymerase chain reaction; SH: southern blot hybridisation; TS-PCR: type specific PCR (adattata da Bosch et al, 2002)

A conferma dell'interesse e degli sforzi dedicati a questo argomento nelle ultime decadi, è stato osservato un importante incremento del numero di pubblicazioni scientifiche correlate all'HPV dagli anni 80 ad oggi (Figura 2.2).

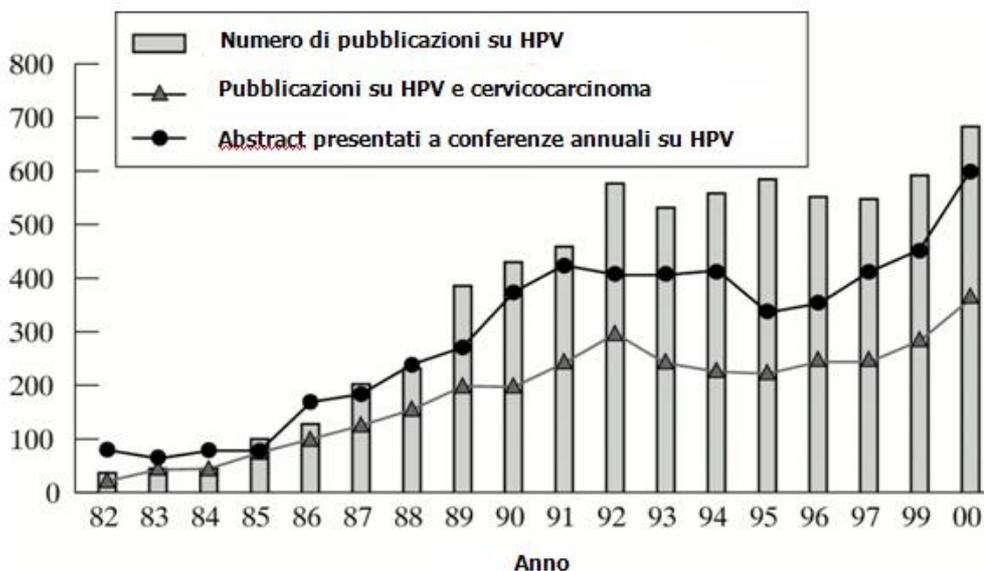


Figura 1.2: Pubblicazioni scientifiche su HPV (Medline) e abstract presentati alle principali conferenze annuali in tema di HPV (adattata da Bosch et al, 2002)

## 1.1 Lesioni invasive e preinvasive della cervice uterina

### Epidemiologia del tumore della cervice uterina

Il tumore del collo dell'utero o cervicocarcinoma è il secondo cancro più comune nella popolazione femminile a livello mondiale, con una stima di circa 493.000 nuovi casi e 274.000 decessi nel 2002 (*Ferlay et al, 2004*). Circa l'83% dei casi si verificano in paesi in via di sviluppo, dove il cancro cervicale rappresenta il 15% dei tumori femminili, con un rischio pari a 1,5% in donne di 0-64 anni. Invece, nei paesi sviluppati, il cervicocarcinoma rappresenta il 3,6% dei nuovi cancri con un rischio cumulativo nella stessa fascia di età pari a 0,8% (*Parkin et al, 2006*). Le aree con maggiore incidenza sono: Africa Sub-Sahariana, Melanesia, America Latina e Caraibica, Asia Sud-Centrale e Asia Sud-Orientale (Figura 1.3). In generale i tassi più bassi (inferiori a 15 per 100.000) sono rilevati in Nord-America, Giappone ed Europa.

Nell'Unione Europea ogni anno vengono diagnosticati 34.500 nuovi casi di tumore del collo dell'utero e 16.000 decessi attribuiti a questa malattia ([http://www.epicentro.iss.it/focus/screening/collo\\_utero09.asp](http://www.epicentro.iss.it/focus/screening/collo_utero09.asp)).

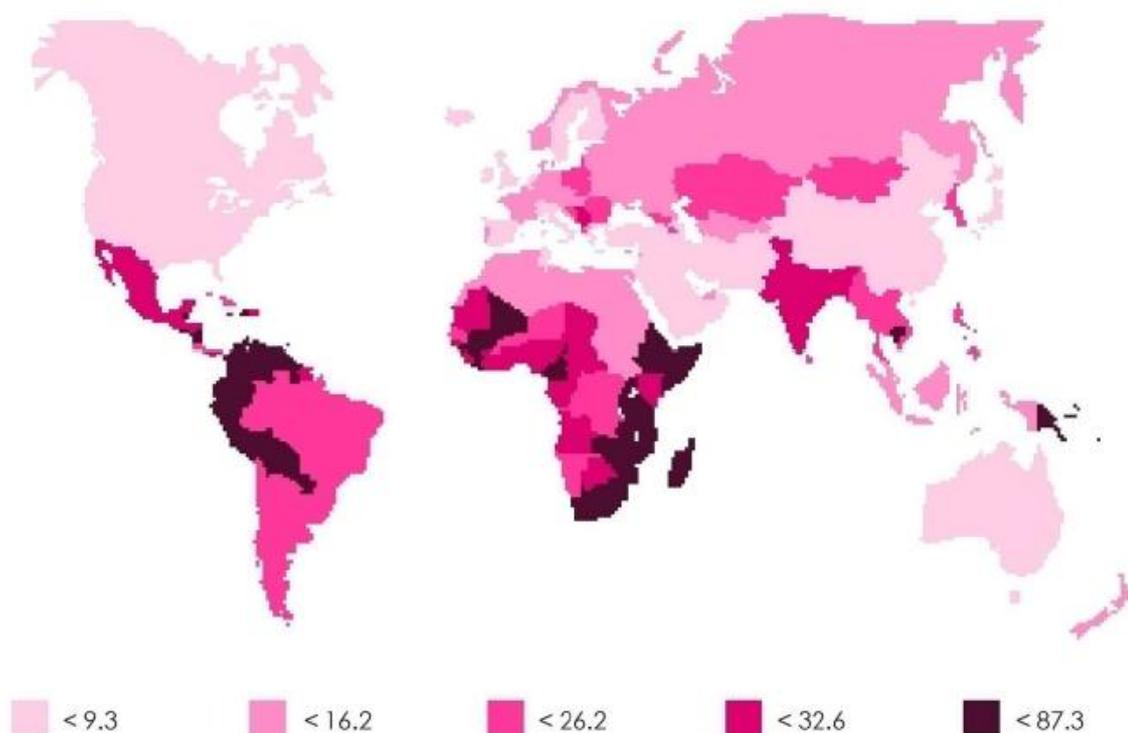
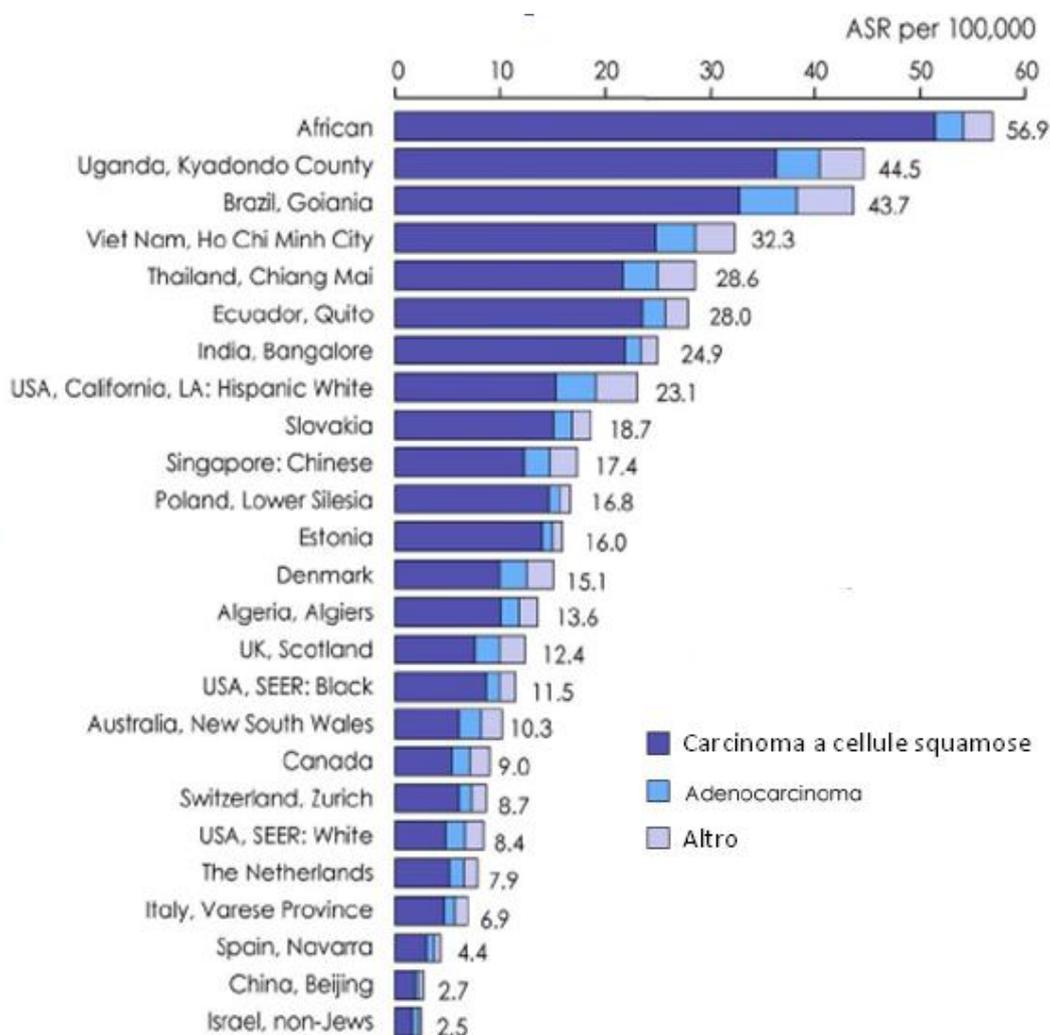


Figura 1.3: Tassi di incidenza del cervicocarcinoma standardizzati per età (tasso per 100.000) nel 2002 (adattata da *Parkin et al, 2006*)

La figura 1.4 mostra i tassi di incidenza del cervicocarcinoma standardizzati per età (ASR, Age-standardized rates) tratti da alcuni registri tumori relativi al periodo 1993-1997, per paese e per tipo istologico. La maggior parte dei tumori della cervice sono carcinomi a cellule squamose (SCC); gli adenocarcinomi (ADC) sono molto meno comuni. In generale la proporzione di casi di adenocarcinomi è molto più elevata nelle aree a bassa incidenza di cervicocarcinoma, arrivando in alcuni paesi occidentali a rappresentare il 25% del totale dei tumori del collo dell'utero. Questa è una conseguenza dei programmi di screening del tumore del collo dell'utero tramite Pap-test, meno efficaci nell'identificazione di casi di adenocarcinoma della cervice rispetto ai casi di SCC. Tale differenza è dovuta al fatto che l'adenocarcinoma si sviluppa dall'epitelio ghiandolare del canale cervicale e quindi è più difficile prelevare le cellule neoplastiche attraverso il Pap-test (*Parkin et al, 2006*).



**Figura 1.4:** Tassi di incidenza del cervicocarcinoma standardizzati per età per tipo istologico in alcuni registri tumore nel periodo 1993-1997 (adattata da *Parkin et al, 2006*)

I tassi di mortalità per cervicocarcinoma sono decisamente inferiori al tasso di incidenza; globalmente il rapporto tra mortalità e incidenza è pari al 55%, ma ci sono importanti differenze tra paesi (*Parkin et al, 2006*).

### **La prevenzione del carcinoma della cervice attraverso i programmi di screening**

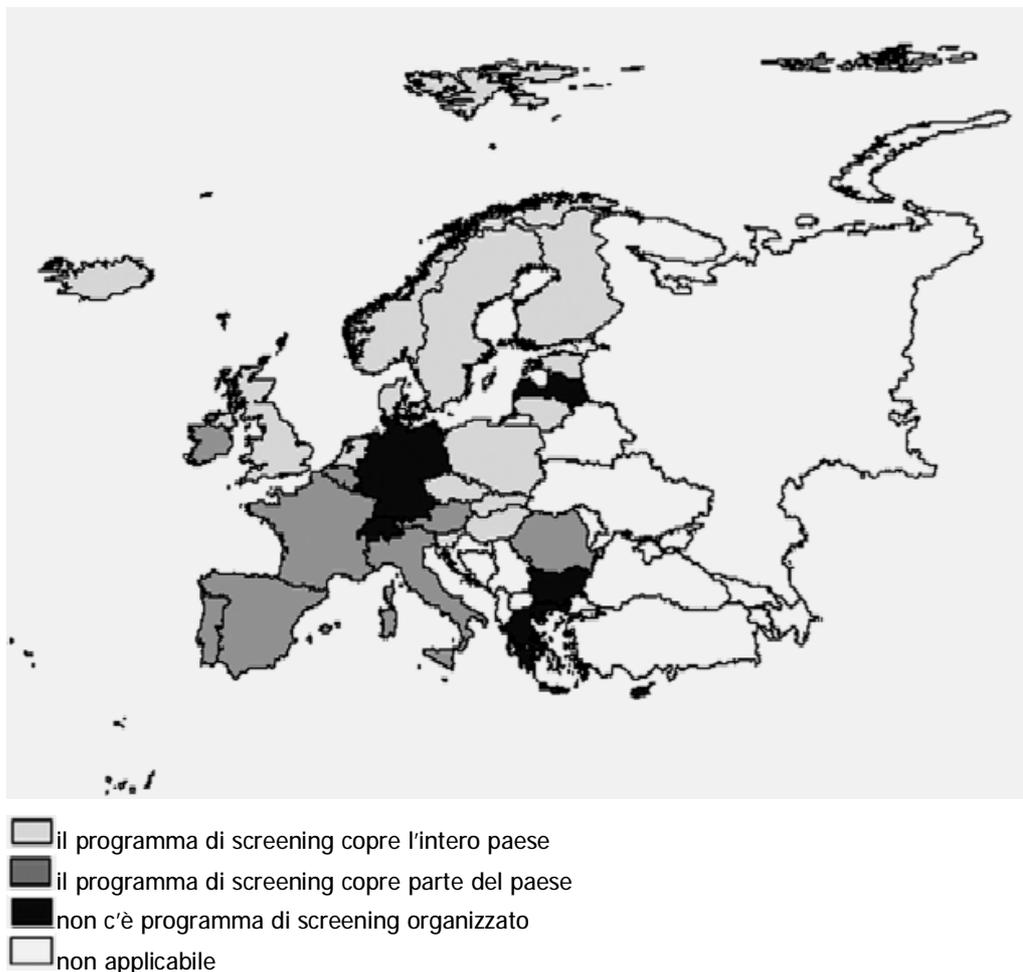
Per combattere i tumori esistono due strategie principali: prevenirne la comparsa, adottando uno stile di vita sano (prevenzione primaria), oppure diagnosticare la malattia il più precocemente possibile, prima che si manifesti a livello clinico (prevenzione secondaria). Un test di screening è un esame che consente di individuare in fase iniziale una certa malattia, nello specifico un tumore, in persone asintomatiche.

Il test impiegato da anni per lo screening del tumore della cervice uterina è il Pap test. Consiste in un prelievo, tramite una spatola e uno spazzolino, di alcune cellule di sfaldamento dal collo dell'utero, che muoiono e si staccano nel corso del normale processo di ricambio dei tessuti. Le cellule vengono strisciate su un vetrino, successivamente colorato e analizzato al microscopio alla ricerca di eventuali cellule anormali. Con l'implementazione di programmi di prevenzione secondaria del cancro della cervice uterina il tasso d'incidenza e di mortalità del cancro cervicale sono diminuiti notevolmente (*Ginsberg et al, 2009; Levi et al, 2000*). L'“Handbook” sullo screening cervicale prodotto dall'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC) nel 2005 stima che lo screening mediante pap-test ogni 3-5 anni fornisca una protezione dell'80% rispetto all'insorgenza del tumore (*De Vuyst et al, 2009; IARC Working Group, 2005*).

Riduzioni sostanziali dell'incidenza e mortalità per carcinoma cervicale a livello di popolazione si sono osservate in particolare dopo l'introduzione di programmi organizzati, che garantiscono un'elevata copertura e la qualità e continuità delle procedure diagnostiche e terapeutiche. Esempi sono rappresentati da alcuni paesi nordici (in particolare dalla Finlandia dove la riduzione di incidenza a livello di popolazione è stata del 70%) e dall'Inghilterra dopo la riorganizzazione del programma di screening.

Nel 2008, di 30 paesi Europei (Unione Europea, Svizzera, Islanda, Norvegia) quattordici paesi avevano programmi di screening cervicale con copertura dell'intera popolazione, con un tasso di partecipazione variabile dal 10 all'80%; otto paesi avevano programmi di screening organizzato con copertura di parte della popolazione del paese; otto paesi non avevano programmi di screening organizzato (*Bastos et al, 2009*) (Figura 1.5).

In Italia, i programmi di screening cervicale, attivati o in via di attuazione in gran parte delle Regioni, prevedono l'esecuzione di un Pap test ogni tre anni nelle donne tra i 25 e i 64 anni.



**Figura 1.5:** Programmi di screening cervicale nell'Unione Europea, Islanda, Norvegia e Svizzera nel 2008 (adattata da *Bastos et al, 2009*)

### **Classificazione delle lesioni pre-neoplastiche e neoplastiche del collo dell'utero**

All'inizio i risultati del Pap Test venivano comunicati in 5 classi (classificazione di Papanicolau): classe I (normalità), II (reperto infiammatorio), III (reperto sospetto, cellule atipiche), IV (reperto positivo, cellule fortemente sospette di malignità) alla V (carcinoma invasivo).

Nel 1968 Richart propose per la classe III di la classificazione istologica in CIN (Neoplasia Cervicale Intraepiteliale) a basso grado (CIN-1, displasia lieve o che coinvolge il terzo basale dell'epitelio) e CIN ad alto grado (CIN-2, displasia moderata o che coinvolge fino a 2/3 dell'epitelio, e CIN-3, displasia grave o che coinvolge i 3/3

dell'epitelio senza superamento della membrana basale).

Oggi per classificare i reperti degli esami citologici viene utilizzato un metodo standard riconosciuto a livello internazionale: il **Bethesda 2001 System**, che prende il nome dal congresso mondiale in cui tale metodo è stato condiviso (*Solomon et al, 2002*).

Tale classificazione tiene conto di tutti gli aspetti citologici, da quelli infiammatori e infettivi a quelli displastici e neoplastici, ed anche dell'adeguatezza del preparato.

Il Bethesda System raggruppa i risultati in:

- normale
- infezione
- lesioni reattive e riparative
- **lesioni intraepiteliali squamose di basso grado (LSIL)**: presenza di alterazioni delle cellule della cervice uterina di basso grado. Nella maggior parte dei casi questa lesione si risolve spontaneamente, in una minore percentuale invece evolve in HSIL.
- **lesioni intraepiteliali squamose di alto grado (HSIL)**: presenza di alterazioni delle cellule della cervice uterina di alto grado.
- **cellule squamose atipiche (ASC) di significato indeterminato (ASC-US)**, non possibile escludere HSIL (**ASC-H**): sono diagnosi di incerta interpretazione che indicano cellule atipiche a livello della superficie del collo dell'utero che non rientrano né nelle lesioni reattive né nelle LSIL. L'ASCUS esclude lesioni condilomatose o coilocitotiche, comprese queste ultime fra le LSIL.
- **carcinoma squamocellulare**
- **adenocarcinoma endocervicale in situ, adenocarcinoma**
- **cellule ghiandolari atipiche (AGC)**, suggestive di neoplasia: sono diagnosi di incerta interpretazione che indicano cellule atipiche provenienti dall'interno dell'utero.

ASCUS-LSIL-HSIL sono considerate le lesioni potenzialmente preneoplastiche.

La tabella seguente confronta le diverse classificazioni.

**Tabella 1.1:** Diverse classificazioni per descrivere le lesioni delle cellule squamose del collo dell'utero

	<b>Istologia</b>	<b>Citologia</b>
<b>Istologia classica</b>	<b>Neoplasia Cervicale Intraepiteliale (CIN)</b>	<b>Lesioni intraepiteliali di alto e basso grado (Bethesda 2001)</b>
Displasia lieve	CIN 1	LSIL
Displasia moderata	CIN 2	HSIL
Displasia severa	CIN 3	HSIL
Carcinoma in situ		

## 1.2 Infezioni da papilloma virus umano

### La struttura del papillomavirus

I papilloma virus sono piccoli virus a DNA che infettano uomini e animali e sono specie-specifici. I Papillomavirus sono costituiti da un genoma circolare, contenente i geni necessari alla replicazione, e rivestiti da un capsido proteico a geometria icosaedrica formato dal ripetersi di due proteine (L1 e L2), per una dimensione di circa 55 nanometri. Il genoma dell'HPV (Muñoz et Al, 2006), costituito da circa 8000 paia di basi, è diviso in tre regioni e codifica per otto diverse proteine (Figura 1.6):

- una regione precoce "Early" costituita da geni responsabili della trascrizione e replicazione (E1 e E2) e della trasformazione (E4-E7);
- un regione tardiva "Late" che codifica per le proteine del capsido (L1 e L2);
- una regione di controllo (LCR) che contiene elementi regolatori per la trascrizione e la replicazione.

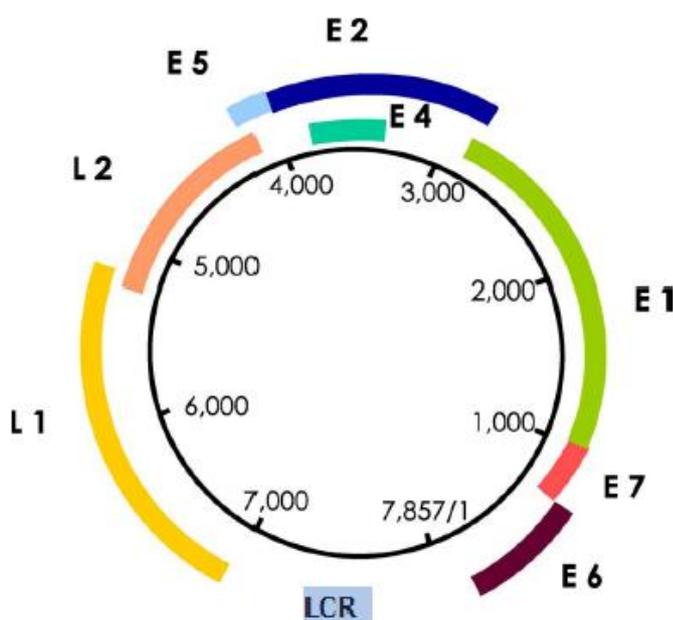


Figura 1.6: rappresentazione schematica del genoma dell'HPV (adattata da Muñoz et al, 2006)

Il gene L1 determina variazioni nella proteina del capsido virale ed è il gene più conservato del genoma. Per questo, la definizione tassonomica degli HPV in tipi, sottotipi e varianti si basa proprio sulla sequenza del gene L1, che differisce rispettivamente nel 10%, 2-10% e 2% della sequenza stessa (de Villiers et A. 2004).

I geni E1 ed E2 per le proteine precoci sono importanti nella fase di replicazione del virus. La E2 agisce nella regolazione trascrizionale, ma sono altre due le proteine prodotte ad essere importanti nel processo di cancerogenesi:

- la proteina E6, attraverso un'altra proteina associata (ubiquitina protein legasi), media il legame alla proteina cellulare p53, che ne comporta una rapida degradazione e ne annulla quindi le proprietà di attivatore-repressore trascrizionale (che si attiva in caso di danno del DNA per bloccare il ciclo cellulare). Possiede inoltre altre attività di interazione con proteine e funzioni cellulari;
- l'E7 è una piccola fosfoproteina, che viene fosforilata dalla caseina chinasi II e si lega alla pRb (proteina del retinoblastoma), alla p107 e alla p130. Queste interazioni portano a una destabilizzazione di queste proteine ed al rilascio del fattore trascrizionale E2F. L'E7 è anche in grado di inattivare gli inibitori chinasi ciclina dipendenti p21 e p27.

Nel processo di cancerogenesi, sebbene sia necessaria la continua espressione degli oncogeni virali E6 ed E7, i meccanismi di tale processo non sono ancora del tutto chiari. Sembra importante l'integrazione del genoma virale che, se avviene attraverso rottura del DNA circolare virale in regioni regolatorie come la E2, potrebbe portare a una sovraespressione delle oncoproteine E6 e E7, non più "regolate" da tale gene.

### **Azione del virus e vie di trasmissione**

L'infezione da HPV è molto comune, soprattutto nelle giovani donne sessualmente attive. Il virus si trasmette per via sessuale, attraverso il contatto tramite cute o mucose.

L'infezione si instaura quando il virus, per soluzioni di continuità degli strati superficiali della mucosa, riesce ad infettare i cheratinociti dello strato basale dell'epitelio squamoso stratificato genitale, presumibilmente attraverso microscopiche lacerazioni della mucosa. E' presumibile che i microtraumi che avvengono durante i rapporti sessuali favoriscano la trasmissione.

Nelle cellule dello strato basale avviene la replicazione virale del genoma virale, il cui numero di copie è amplificato approssimativamente fino a 50-100 copie per cellula. L'amplificazione iniziale del genoma è seguita da una fase di mantenimento. Nelle cellule dello strato basale sono espressi solamente alcuni geni virali non strutturali (E6 ed E7), mentre l'espressione degli altri geni virali e l'assemblaggio virale avviene negli strati più superficiali degli epitelii squamosi e delle mucose. All'interno del compartimento sovrabasale, le cellule supportano l'amplificazione del genoma virale, l'espressione dei geni capsidici, l'assemblamento della progenie virale e l'incapsidamento finale del DNA di

HPV per generare nuovi virus, e ciò avviene all'interno delle cellule completamente differenziate. I virioni maturi sono rilasciati insieme alle cellule superficiali desquamate (Figura 1.7).

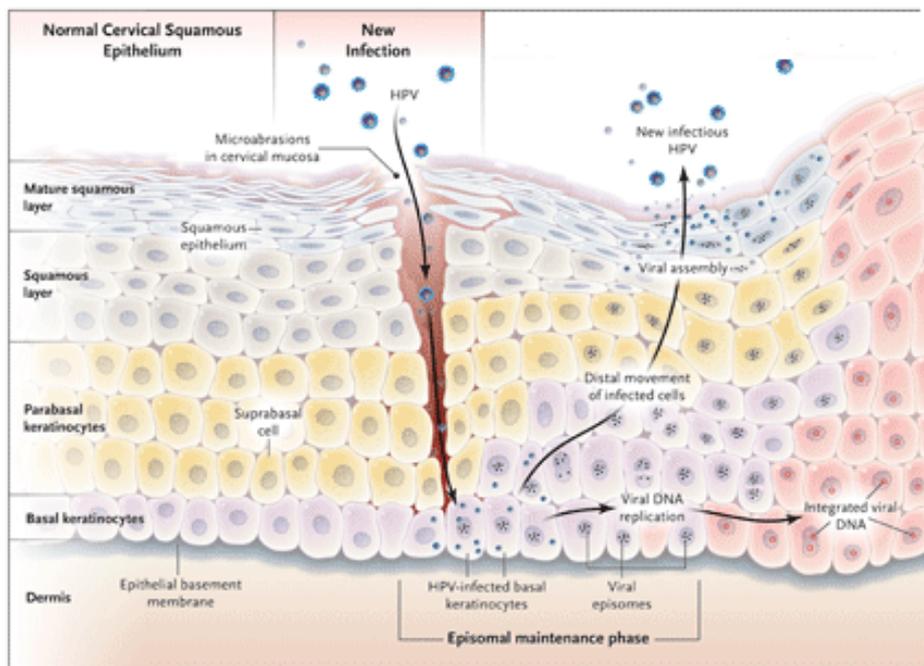


Figura 1.7: ciclo replicativo dell'HPV nell'epitelio squamoso (adattata da Khan, 2009)

A causa della comune via di trasmissione, i tipi di HPV tendono ad essere trasmessi insieme spiegando l'alta proporzione di co-infezioni (20-50%) (Shiffman et al, 2007; Spinillo et al, 2009).

La trasmissione attraverso contatti genitali non penetrativi è rara ma possibile (Trottier et al, 2006), così come la trasmissione verticale da madre a neonato (Smith et al, 2004). L'uso del condom riduce il rischio di trasmissione, ma non è completamente protettivo (Winer et al, 2003).

### Storia naturale delle infezioni da HPV

Alcuni modelli suggeriscono che fino all'80% delle donne sessualmente attive contraggono l'infezione nel corso della vita sessuale con un picco di prevalenza nelle giovani donne fino ai 25 anni di età (Carozzi, 2007; Frazer et al, 2006). Numerosi studi concordano nel ritenere la giovane età, il numero dei partner sessuali e la giovane età al primo rapporto sessuale i fattori di rischio più rilevanti per l'acquisizione dell'infezione da HPV. Altri fattori di rischio presi in considerazione sono il fumo e l'uso di contraccettivi orali (Baseman et al, 2005; Trottier et al, 2006).

La maggior parte (60-90%) delle infezioni da HPV, incluse quelle da tipi oncogeni, sono generalmente transitorie e si risolvono spontaneamente entro 16-24 mesi (*Baseman et al, 2005; Bosch et al, 2008; Ronco, 2007*).

Questo dato di una clearance di oltre il 50% in un anno si ritrova consistentemente nella letteratura. Tuttavia, la durata dell'infezione può essere in alcuni casi molto lunga. Le infezioni che hanno persistito più a lungo hanno una maggiore probabilità di persistere ulteriormente. Alcuni dati indicano una maggiore persistenza all'aumentare dell'età (*Ronco, 2007*).

Complessivamente l'elevata prevalenza e la breve durata della maggior parte dei casi indicano che l'infezione da HPV è un evento estremamente comune e, nella grande maggioranza dei casi, privo di conseguenze. Però, sebbene avvenga raramente, gli studi sulla storia naturale del carcinoma cervicale hanno mostrato che l'infezione da tipi di HPV oncogeni può portare allo sviluppo di lesioni intraepiteliali di basso e alto grado. Le lesioni di alto grado se non trattate possono progredire verso il cervicocarcinoma.

Solo un terzo circa delle donne con infezione da HPV manifesta un'anomalia citologica (*Shiffman et al, 2007, Ronco, 2007*). Solo il 25% delle donne infettate da HPV ad alto rischio svilupperanno una CIN e solo l'1% di queste un cancro invasivo (*Nath et al, 2009*). Per questo si può dire che il cervicocarcinoma rappresenta un esito raro di un'infezione comune.

Le lesioni displastiche sono più frequentemente localizzate in prossimità della giunzione squamo-colonnare, la zona della cervice uterina di transizione tra l'epitelio squamoso che riveste l'esocervice e le pareti vaginali e l'epitelio colonnare che riveste l'endocervice. A conferma dell'importanza della giunzione sta il fatto che le infezioni da HPV di tipo oncogeno sono rilevate in maniera pressoché simile in campioni vaginali e cervicali, eppure il cancro cervicale è il secondo tumore femminile a livello mondiale, mentre il tumore della vagina è molto raro (*Shiffman et al, 2007*).

Sia i tipi ad alto e a basso rischio oncogeno possono causare LSIL della cervice uterina, mentre nella maggior parte delle HSIL, carcinoma in situ e cancro invasivo si rilevano HPV ad alto rischio oncogeno. La teoria di una progressione continua della lesione preneoplastica da basso grado a moderato e alto grado fino al carcinoma invasivo è stata messa in discussione ed ha condotto molti ricercatori a concludere che LSIL e HSIL rappresentano processi dell'infezione da HPV differenti (*Baseman et al, 2005*). Le LSIL sembrano rappresentare manifestazioni transitorie dell'infezione da HPV, mentre le HSIL rappresentano il vero precursore del cancro.

Gli autori concordano nel ritenere indispensabili quattro fasi per lo sviluppo del carcinoma invasivo: trasmissione del papilloma virus, persistenza dell'infezione, sviluppo di lesioni intraepiteliali fino all'invasione della membrana basale (*Schiffman et al, 2007*).

Al momento non c'è un consenso unanime sul concetto di infezione "persistente", poiché gli intervalli tra follow up variano negli studi disponibili tra i 6 e i 24 mesi. In molti studi essa è definita come persistenza della positività per lo stesso tipo di HPV in due prelievi citologici effettuati a sei mesi di distanza. Oltretutto alcuni studi di coorte con follow up fino a 10 anni hanno mostrato che la re-infezione con lo stesso tipo di HPV, sebbene occasionale, è possibile. Pertanto non è chiaro se le infezioni si risolvono completamente con la clearance del virus oppure se il virus rimane in stato latente nell'epitelio basale in cui si replica a livelli estremamente bassi (*Baseman et al, 2005; Shiffman et al, 2007*).

L'HPV è una causa necessaria ma non sufficiente per lo sviluppo del CC. Altri cofattori sono necessari per la persistenza dell'infezione e la progressione verso lesioni neoplastiche. C'è consenso unanime nel considerare l'età di acquisizione dell'infezione (maggiore è l'età, maggiore è la possibilità che l'infezione persista) e il tipo di HPV (in particolare HPV 16) fattori di rischio per la persistenza dell'infezione (*Nielsen et al 2010; Maucort-Boulch D et al, 2009; Trottier et al, 2006*).

Alcuni autori hanno rilevato un'associazione tra uso di contraccettivi orali e persistenza dell'infezione da HPV (*Muñoz et al, 2006; Nielsen et al 2010*). L'uso di contraccettivi orali favorisce l'ectropion cervicale (estroflessione della mucosa endocervicale verso la vagina) che potrebbe facilitare l'esposizione della giunzione squamo-cellulare a potenziali agenti carcinogeni. Alternativamente, l'uso di estrogeni e progesterone potrebbe mantenere l'infezione aumentando la proliferazione cellulare e la trascrizione del papilloma virus.

Uno studio caso-controllo multicentrico (*Moreno et al, 2002*) della IARC su oltre 3.500 donne ha rilevato che il rischio di SCC e carcinoma in situ in donne positive per HPV aumentava di tre volte se avevano usato contraccettivi orali per almeno cinque anni. Gli autori ipotizzano un ruolo degli estro-progestinici nel processo di carcinogenesi, piuttosto che nell'infezione o persistenza dell'infezione da HPV.

Non è ancora chiaro il ruolo sulla persistenza dell'infezione da HPV della carica virale, del fumo e della copresenza di altre infezioni sessualmente trasmesse (es. Chlamydia, herpes simplex virus), essendo stati pubblicati lavori con risultati contrastanti (*Nielsen et al 2010; Maucort-Boulch D et al, 2009; Trottier et al, 2006; Muñoz et al, 2006*).

Relativamente al fumo, il parere è unanime nel considerare il fumo un fattore di rischio per il cancro cervicale. Meno chiaro il suo ruolo nella persistenza dell'infezione. Gli studi

hanno portato infatti risultati discordanti. Nielsen (*Nielsen et al 2010*) conclude il suo lavoro affermando che probabilmente il fumo ha un ruolo nella progressione di un'infezione persistente a cancro piuttosto che nelle fasi iniziali della carcinogenesi (acquisizione dell'HPV e persistenza dell'infezione).

Comunque, non tutte le infezioni persistenti progrediscono a lesioni precancerose di alto grado e non tutte le lesioni di alto grado progrediscono a cancro. E' riportato che uno-due terzi di donne con HSIL sviluppano il cancro se non trattate (*Baseman et al, 2005*).

L'età media di diagnosi di cervicocarcinoma è 50 anni, mentre l'età media di diagnosi di HSIL è circa 30 anni, suggerendo che lo sviluppo di cancro invasivo è un processo lento che avviene nel corso di decenni (*Baseman et al, 2005; Shiffman et al, 2007*). Il tempo tra infezione da HPV e lesione precancerosa è più breve (spesso entro i 5 anni) rispetto al tempo che intercorre tra HSIL e cancro, oltre i 10 anni (*Shiffman et al, 2007*). Il periodo che passa tra HSIL non trattata e cancro invasivo non può essere indagato per ragioni etiche.

Lo sviluppo relativamente lento del cancro, dal momento dell'iniziale infezione, ha contribuito al successo dei programmi di screening citologico/colposcopico.

### **Aspetti immunologici dell'infezione da HPV**

La trasmissione mucosale del papilloma virus umano da persona a persona e la successiva diffusione locale da cellula a cellula durante i normali processi di desquamazione (senza effetto citopatico o lisi cellulare) rendono complesso il contenimento immunologico delle infezioni e modesto il ruolo dell'immunità umorale. Pertanto è prevalentemente la risposta cellulare a determinare un contenimento efficace dell'infezione e delle lesioni displastiche/neoplastiche ad essa associate.

La **risposta umorale anticorpale** elimina le particelle virali libere, prevenendo l'ancoraggio del virus alle cellule epiteliali. Essa è principalmente diretta contro gli epitopi conformazionali del capsido maggiore L1 presenti sulla superficie esterna della particella virale intatta ed è tipo-specifica, cioè specifica per ogni tipo di HPV (*Carozzi, 2007*). L'immunità umorale è generata in circa il 60% degli individui infettati (*Wright Jr et al, 2008*), limitata nel tempo (<36 mesi), non protettiva (*Buonaguro FM, 2008*) e in ogni caso il titolo degli anticorpi neutralizzanti è basso (*Buonaguro FM, 2008; Carozzi, 2007*). Quindi, teoricamente, una re-infezione con lo stesso genotipo è possibile.

L'**immunità cellulo-mediata** è importante per eliminare le cellule infette e per la generazione della memoria immunitaria. Pertanto è associata con la regressione della

lesione e la protezione contro un'ulteriore infezione con lo stesso genotipo. Particolarmente rilevante è l'immunità cellulo-mediata diretta contro i prodotti degli oncogeni virali E6 e E7, la cui espressione è responsabile delle lesioni croniche a evoluzione verso il carcinoma cervicale (*Buonaguro FM, 2008; Carozzi, 2007*).

Persistenza e progressione virale sono state prevalentemente associate a due componenti: a) il tipo di HPV, ed in particolare le proprietà intrinseche delle loro proteine oncogene E6/E7 di interagire con gli oncosoppressori p53/pRb; e b) la proprietà dei genotipi virali di evadere al risposta immunitaria.

Relativamente al primo punto, la maggiore attività oncogena dei genotipi ad alto rischio è correlata alla maggiore efficienza delle proteine virali di legare e frammentare le proteine oncosoppressive p53 e pRb, che di norma, inibendo le chinasi ciclino-dipendenti, rallentano il ciclo cellulare in corso di danno genotossico permettendo in una fase G1 prolungata la riparazione del DNA prima della sua replicazione. La rimozione/riduzione del pool intracellulare degli oncosoppressori comporta l'accumulo di mutazioni e alterazioni genomiche con graduale progressione neoplastica (*Buonaguro FM, 2008*).

Relativamente alla capacità dei tipi virali ad alto rischio di evadere il sistema immunitario, i geni virali E6 e E7 stimolano le cellule epiteliali capaci di sopprimere la risposta immune locale e, inoltre, il virus ha imparato a esprimere i suoi geni solo nelle cellule terminali differenziate che hanno finito di dividersi. Di conseguenza, le proteine virali sono espresse in grandi quantità solo nelle cellule superficiali dell'epitelio, mentre le cellule negli strati profondi esprimono solo bassi livelli di geni virali. Questo meccanismo di replicazione permette al virus di nascondere se stesso, usando i normali meccanismi di differenziazione dell'epitelio infettato e rende difficile l'induzione di un'efficiente e durevole risposta immunitaria all'iniziale infezione virale. Per tale motivo, un'infezione progressiva con un tipo di HPV ad alto rischio potrebbe non garantire l'immunità nei confronti di un'infezione successiva (*Carozzi, 2007*).

### **Classificazione dei papillomavirus umani in base al rischio oncogeno**

Ad oggi sono stati identificati oltre 100 tipi di HPV che infettano l'uomo e, tra questi, circa 40 sono risultati associati a patologie del tratto ano-genitale, sia benigne che maligne.

I tipi oncogeni di HPV, infatti, oltre ad essere responsabili della totalità di CC, sono responsabili di circa il 40% dei tumori dei genitali esterni (vulva, vagina e pene) e il 90% dei tumori dell'ano. Recenti acquisizioni sottolineano un ruolo causale anche in neoplasie di distretti anatomici non ginecologici quali, la cavità orale e il tratto digestivo superiore.

Le stime delle proporzioni dei nuovi casi di tumore attribuibili all'infezione da HPV a livello mondiale sono riportate in tabella 1.2 (Parkin et al, 2006; Parkin, 2006).

**Tabella 1.2:** Incidenza annuale di neoplasie attribuibili a infezione da HPV nei Paesi sviluppati e in via di sviluppo (adattata da Parkin, 2006)

	Frazione attribuibile ad HPV (%)	Paesi Sviluppati			Paesi in via di sviluppo		
		Totale neoplasie	Neoplasie attribuibili ad HPV	% di tutti i tumori	Totale neoplasie	Neoplasie attribuibili ad HPV	% di tutti i tumori
Cervice	100	83.400	83.400	1,7	409.400	409.400	7,0
Pene	40	5200	2100	0,0	21.100	8400	0,1
Vulva,Vagina	40	18.300	7300	0,1	21.700	8700	0,1
Ano	90	14.500	13.100	0,3	15.900	14.300	0,2
Bocca	3	91.200	2700	0,1	183.100	5500	0,1
Orofaringe	12	24.400	2900	0,1	27.700	3300	0,1

I vari tipi di HPV attivi soprattutto a livello genitale sono classificati in tipi a basso e alto rischio oncogeno sulla base del rischio di sviluppare il cervicocarcinoma.

Muñoz e coll (Muñoz et al, 2003) hanno stilato una classificazione epidemiologica dei tipi di HPV in base al rischio oncogeno sulla base dei dati ottenuti da 11 studi caso-controllo condotti tra il 1985 e il 1997 in 9 paesi (Marocco, Mali, Colombia, Brasile, Paraguay, Perù, Thailandia, Filippine, Spagna) che hanno coinvolto 1918 donne con SCC istologicamente confermato e 1928 controlli. Tale classificazione è stata prodotta calcolando la prevalenza di uno specifico tipo di HPV nei pazienti e nei controlli e il relativo odds ratio aggiustato per età e paese di provenienza (95% IC).

Tale classificazione (tabella 1.3) ha identificato 15 tipi ad alto rischio oncogeno e 12 tipi a basso rischio oncogeno; tre tipi (26, 53, 66) sono stati classificati come a probabile alto rischio poiché rilevati in un terzo dei malati e in nessuno dei controlli (Muñoz et al, 2003; Baseman et al, 2005).

**Tabella 1.3:** classificazione dei tipi di HPV in base al rischio oncogeno (dati da Muñoz et al, 2003)

Rischio oncogeno	Tipi di HPV
Alto rischio	16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,68,73,82
Probabile alto rischio	26,53,66
Basso rischio	6,11,40,42,43,44,54,61,70,72,81,CP6108

### 1.3 Dati di prevalenza dell'infezione da papilloma virus umano

#### Prevalenza in donne con cervicocarcinoma e HSIL

Una meta-analisi pubblicata nel 2007 (*Smith et al, 2007*), che ha incluso 130 studi sul cancro invasivo della cervice uterina, ha rilevato la presenza dell'infezione di HPV nell'**87%** dei casi di cervicocarcinoma, variando dall'86% in Europa, Asia e Nord America al 94% in Africa (figura 1.8).

Questo dato (87%) risulta inferiore alla prevalenza del 96-100% precedentemente riscontrata da altri autori (*Muñoz et al, 2004; Walboomers et al, 1999*). Tale differenza è presumibilmente legata alle metodiche utilizzate per l'identificazione del DNA dell'HPV (*Smith et al, 2007; Clifford et al, 2003*), infatti Muñoz e Walboomers hanno utilizzato il gold standard delle tecniche disponibili all'epoca, mentre nella meta-analisi di Smith, che ha analizzato 130 lavori per un totale di 14595 casi di carcinoma (di gran lunga superiore agli studi precedenti), sono stati presi in considerazione molti studi che hanno utilizzato metodiche con sensibilità sub-ottimale.

Da questa metanalisi gli 8 tipi di HPV identificati più frequentemente risultano in ordine decrescente: 16,18,31,33,35,45,52,58.

A conferma dei risultati di precedenti studi e meta-analisi (*Muñoz et al, 2004; Clifford et al, 2003*), i tipi di HPV 16 e 18 sono responsabili del 70% dei tumori della cervice (da 65% nell'America Centrale e Meridionale a 76% in America del Nord): in particolare HPV 16 è il tipo più comune (dal 52% in Asia al 58% in Europa) e HPV 18 è il secondo tipo più comune (da 13% in America del Sud e Centrale a 22% in America del Nord).

Gli altri tipi di HPV più frequentemente rilevati nel cervicocarcinoma, dopo il 16 e il 18, sono il 31,33,35,45,52 e 58 in tutti i continenti, eccetto in Europa dove l'HPV 56 è l'ottavo tipo più comune al posto dell'HPV 52. HPV 58 e 52 sono maggiormente presenti in Asia rispetto agli altri continenti (figura 1.8a).

Gli 8 tipi di HPV identificati più frequentemente (16,18,31,33,35,45,52,58) sono responsabili dell'**87,4%** dei tumori della cervice uterina, con un range variabile dal 90,6% nell'Africa del Nord all'**84,9%** nell'America Centrale e Meridionale (*Muñoz et al, 2004*).

La stessa meta-analisi ha analizzato 7094 casi di **HSIL**, rilevando una **positività per HPV pari all'85%** (di poco inferiore alla prevalenza in CC) con una variabilità compresa tra 78% (Asia) e 88% (Europa). La prevalenza per HPV 16 e 18 nelle HSIL è del 52%.

La distribuzione per tipo di HPV delle HSIL è sovrapponibile a quella dei CC: le due distribuzioni si differenziano per il fatto che nelle HSIL l'HPV 18 è sottorappresentato e che, ad eccezione dell'America Centrale e Meridionale, l'HPV 45 non compare tra gli otto tipi di HPV più comuni (figura 1.8b). Confrontando i casi di HSIL con i casi di SCC, la prevalenza di HPV 16, 18 e 45 risulta significativamente più elevata nelle lesioni invasive.

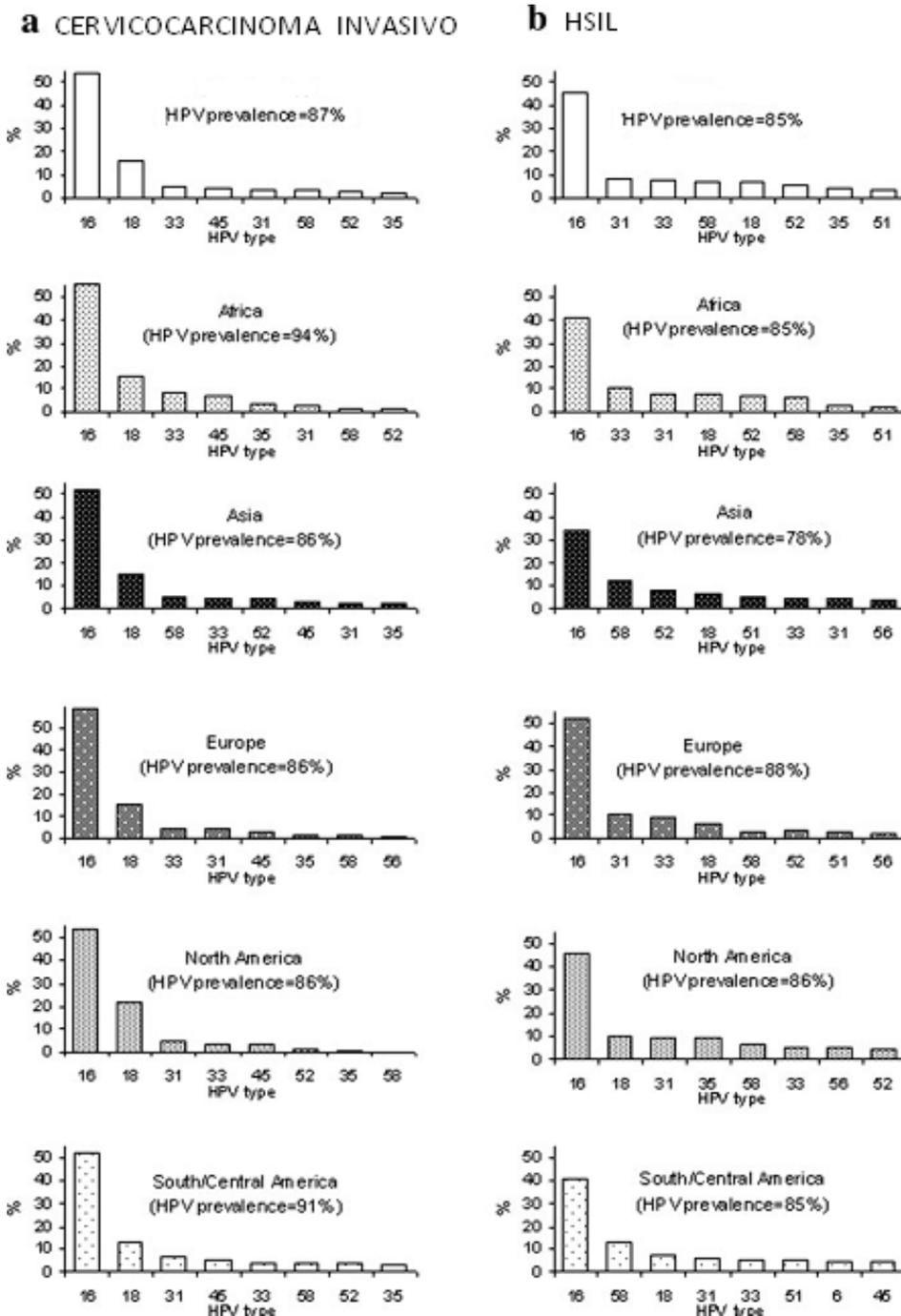
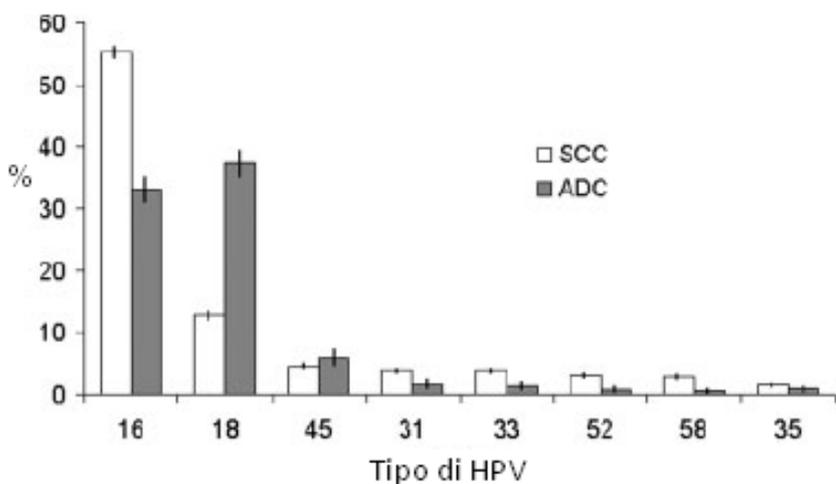


Figura 1.8: metanalisi di studi internazionali: prevalenza tipo specifica dell'infezione da HPV nei cancri invasivi e nelle HSIL (adattata da *Smith et al, 2007*).

La stessa metanalisi ha esaminato i dati anche per tipo istologico, osservando una positività per HPV più elevata nei SCC (90%) rispetto agli ADC (85%). I dati si riferiscono a 9494 carcinomi a cellule squamose e 1949 adenocarcinomi/carcinomi adenosquamosi. Anche la distribuzione dei tipi di HPV è risultata diversa per tipo istologico (Figura 1.9). L'HPV 16 risulta significativamente sottorappresentato nei casi di ADC (33%) rispetto ai casi di SCC (55%); al contrario l'HPV 18 è stato rilevato più frequentemente negli ADC (37%) rispetto ai SCC (13%).



**Figura 1.9:** metanalisi di studi internazionali: prevalenza tipo specifica dell'infezione da HPV in 9494 carcinomi a cellule squamose e 1949 adenocarcinomi/carcinomi adenosquamosi (adattata da *Smith et al, 2007*).

### Prevalenza in donne con LSIL

Una meta-analisi di 53 studi (*Clifford et al, 2005*) ha analizzato 8308 casi di LSIL; la maggioranza di questi studi si riferiscono a Europa (49%) e Nord-America (29%), solo il 3% degli studi riguardano l'Asia o l'Africa.

Il 71% delle LSIL sono risultate positive per HPV con un'ampia variabilità tra i continenti: 59% in Africa, 67-68% in Europa, America Centrale/Meridionale e Asia e 80% in Nord America.

Se consideriamo i singoli studi è emersa una variabilità tra il 29% e il 100%; ad esempio i tre studi più estesi che includono oltre 1000 casi ciascuno hanno rilevato il DNA dell'HPV nel 55%, 73% e 92% delle LSIL valutate (*Clifford et al, 2006*).

Delle 5910 LSIL positive per HPV, l'HPV 16 è risultato il tipo più comune (26%), seguito dal 31 (12%), 51 (11%), 53 (10%), 56 (10%), 52 (9%), 18 (9%), 66 (9%) e 58 (8%). HPV 16 è risultato il tipo più comune in tutte le regioni (dal 16,3% in Africa a circa il 30% in Europa e Asia), per il resto la distribuzione dei tipi di HPV ha mostrato un'ampia variabilità tra regioni.

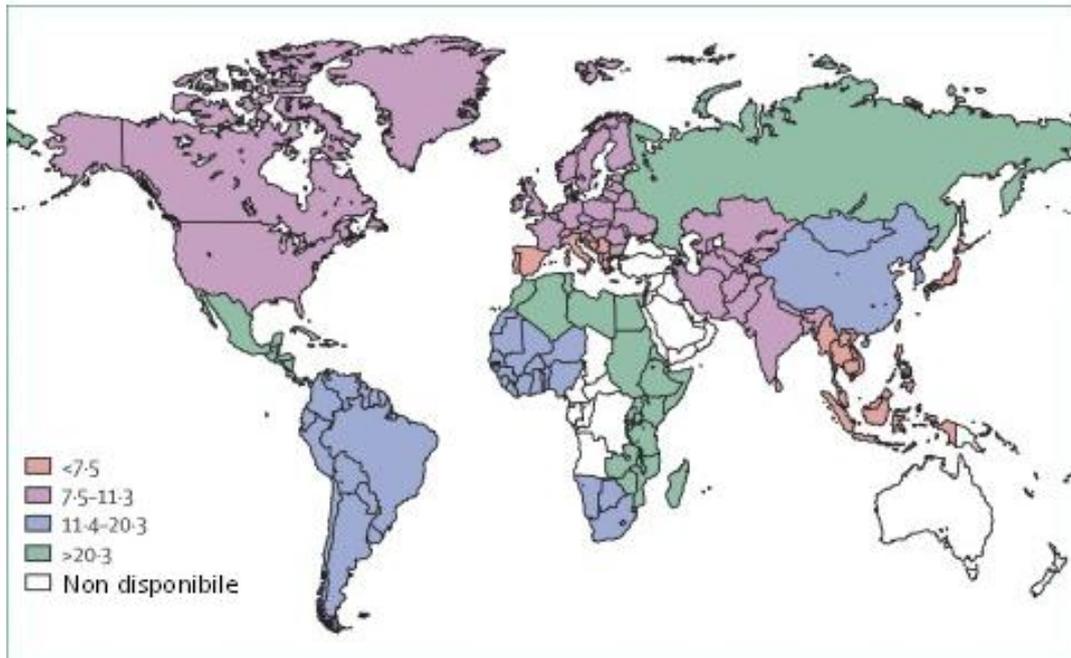
### **Prevalenza in donne con citologia normale**

A livello mondiale si stima una **prevalenza dell'infezione da HPV pari a circa il 10% in donne con citologia normale**, con ampie differenze regionali e maggior prevalenza in Africa (*Clifford GM et al, 2005; de Sanjose S et al, 2007*).

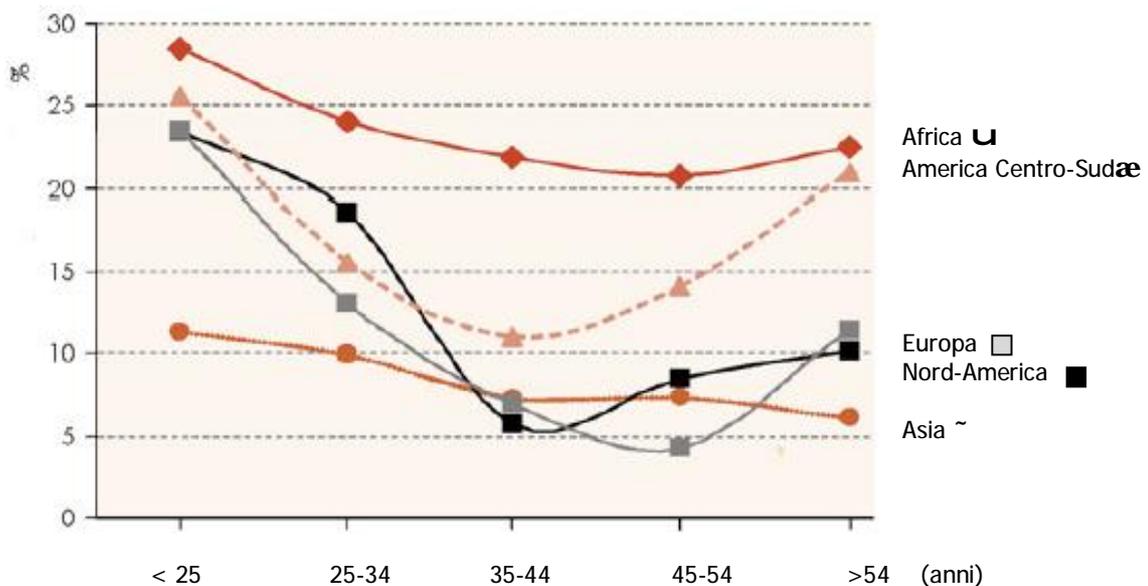
Facendo una meta-analisi di 78 studi pubblicati tra il 1995 e il 2005 che ha considerato oltre 150.000 donne (*de Sanjose S et al, 2007*), de Sanjosè S e coll hanno stimato una prevalenza a livello mondiale in donne con citologia normale pari al 10,4 % (95% CI 10,2-10,7) con prevalenza maggiore nei paesi meno sviluppati (15,5%) rispetto ai più sviluppati (10,0%). Di seguito sono riportate le stime per regione (figura 1.10): Africa 22.1% (20.9-23.4), America Centrale e Messico 20.4% (19.3-21.4), America del Nord 11.3% (10.6-12.1), Europa 8.1% (7.8-8.4), e Asia 8.0% (7.5-8.4).

**La prevalenza è maggiore nelle donne con meno di 25 anni (in media 16,9%):** oltre tale età la prevalenza diminuisce con l'aumentare delle età. Un secondo picco nella fascia di età 35-44 o 45-54 è stato rilevato in tutti i continenti eccetto che in Asia in cui il tasso di prevalenza diminuisce progressivamente con l'età (figura 1.11).

Non è chiaro a cosa sia dovuto il secondo picco della prevalenza dell'infezione da HPV in donne con citologia normale nel periodo peri-menopausale. Tre possibili motivazioni potrebbero essere alla base di questo andamento: l'acquisizione di nuove infezioni da HPV dovute a modifiche dello stile di vita in queste fasce di età; la riattivazione di infezioni latenti a seguito dell'invecchiamento del sistema immunitario; un effetto di coorte. L'intervallo di circa 10 anni (figura 1.11) tra il secondo incremento della prevalenza in Nord-America (35-44 anni) e in Europa (45-54 anni) depone a favore di un fattore comportamentale piuttosto che un fattore biologico legato alla menopausa o alla senescenza (*Bosch et al, 2008*).



**Figura 1.10:** Stima della prevalenza di HPV DNA nel mondo in base ai risultati di una meta-analisi che ha incluso 157879 donne con citologia normale (adattata da *de Sanjose S et al, 2007*).



**Figura 1.11:** Prevalenza di HPV in donne con citologia normale, per area geografica e fascia di età (adattata da *Bosch, 2008*).

Quarantotto degli studi esaminati presentavano informazioni relative al tipo di HPV presente. I cinque tipi più comuni sono risultati l'HPV 16,18,31,58 e 52 rappresentando il 50% delle infezioni. HPV 16 e 18 sono i tipi più rappresentati, come per le lesioni precancerose o le lesioni invasive, ma con un contributo relativo (32%) sostanzialmente

inferiore rispetto a tutti i tipi di HPV coinvolti e una prevalenza globale del 2,5% e 0,9% rispettivamente (figura 1.12).

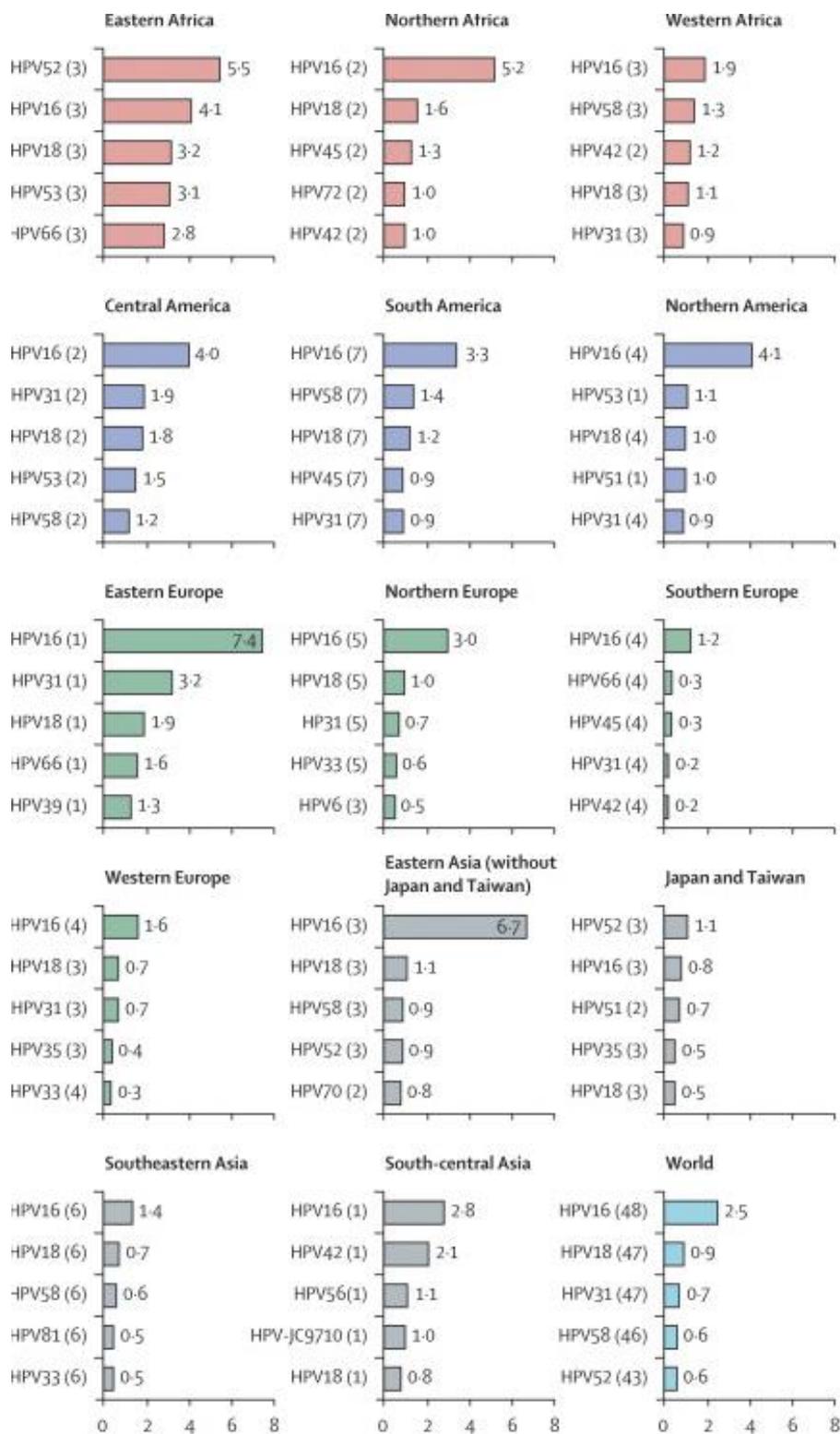


Figura 1.12: Prevalenza dei 5 tipi più frequenti di HPV in donne con citologia normale, per regione (adattata da *de Sanjose S et al, 2007*). (In parentesi è indicato il numero degli studi con informazioni sul tipo di HPV).

Da tali dati, gli autori hanno stimato che globalmente 291 milioni di donne oltre i 15 anni (su un totale di 2.250.462.452) hanno un'infezione da HPV e che il 23% di tali infezioni è attribuito ad HPV 16 e l'8,5% ad HPV 18.

### Considerazioni conclusive sui dati di prevalenza

La figura 1.13, tratta da una review di Clifford e coll (*Clifford et al, 2006*), mette in evidenza l'importanza del tipo di HPV per il rischio di progressione verso il cancro invasivo. La figura mostra, infatti, come HPV 16, 18 e 45 sono più frequenti nei cancri invasivi rispetto alle HSIL e i primi due anche rispetto alle LSIL. Numerosi altri tipi, invece, sono riscontrati più comunemente nelle LSIL rispetto alle lesioni invasive, in alcuni casi anche oltre 10 (HPV 39,51 e 56) o 30 volte (HPV 53 e 66).

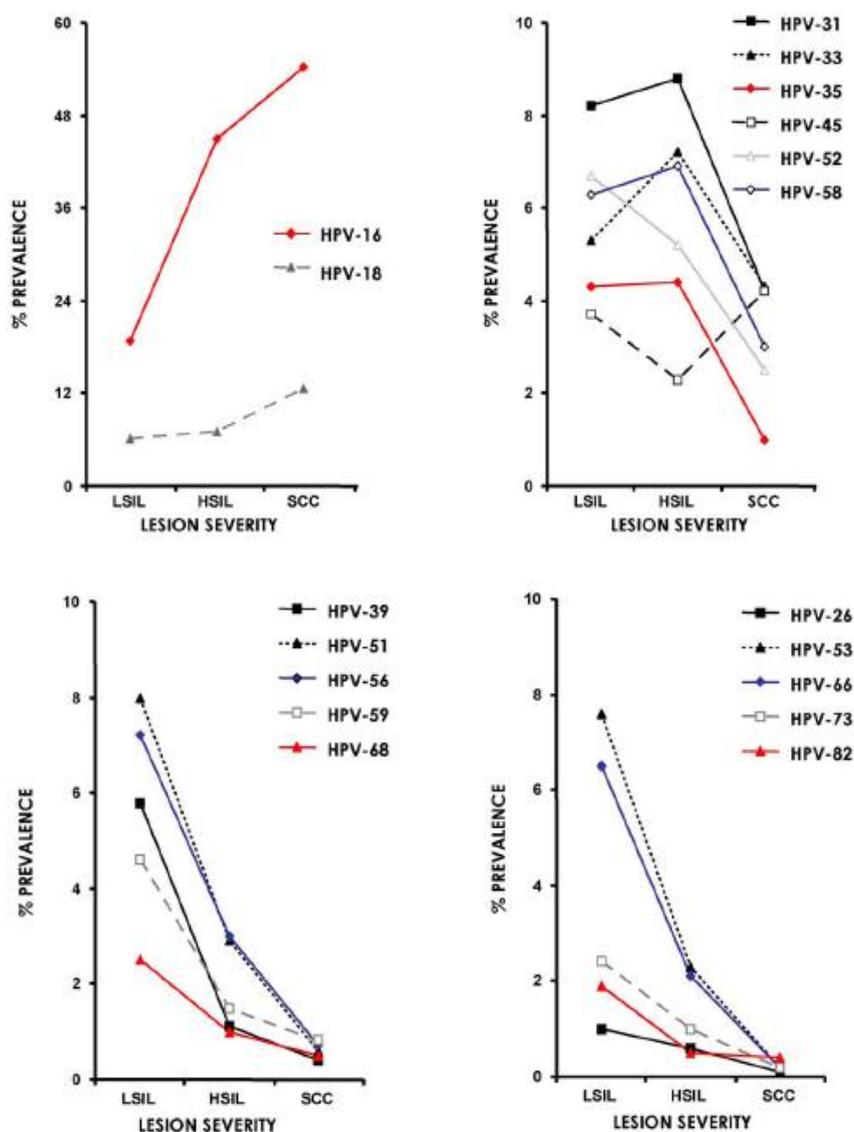


Figura 1.13: Prevalenza dei tipi di HPV in casi di cervicocarcinoma a cellule squamose (SCC), lesioni intraepiteliali ad alto grado (HSIL) e basso grado (LSIL) (adattata da: *Clifford et al, 2006*).

Nella tabella 1.4 sono schematizzati i dati desunti dalle meta-analisi sopra descritte, in termini di prevalenza di infezioni da HPV e prevalenza di HPV 16 e 18 in donne con cervicocarcinoma, HSIL, LSIL e citologia normale. E' evidente come la prevalenza dell'infezione da HPV diminuisca dall'87% nei casi di cervicocarcinoma al 10% in donne con citologia normale, così come il contributo di HPV 16 e 18, rilevati nel 70% dei cervicocarcinomi, nel 52% delle HSIL e nel 3% delle donne senza anomalie citologiche.

**Tabella 1.4:** Prevalenza dell'infezione da HPV e prevalenza di HPV 16 e 18 in donne con cancro invasivo, HSIL, LSIL e citologia normale.

	Proporzione di casi positivi per HPV	Proporzione di casi attribuibili a HPV 16-18	Referenza bibliografica
Cervicocarcinoma invasivo	87% (86-64%)	70%	<i>Smith et al, 2007</i>
HSIL	85% (78-88%)	52%	<i>Smith et al, 2007</i>
LSIL	71% (59-80%)	33%	<i>Clifford et al, 2005, De Vuyst et al, 2009</i>
Citologia normale	10% (22-8%)	3% (32% delle donne positive per HPV)	<i>de Sanjose S et al, 2007</i>

E' quindi evidente che l'infezione da HPV 16 e 18 persiste e progredisce in lesioni cancerose più frequentemente rispetto alle infezioni da altri tipi di HPV. Analoga riflessione potrebbe essere fatta per l'HPV 45 che è presente nello 0,4% delle donne con citologia normale (11° tipo più comune) (*de Sanjose S et al, 2007*), ma rientra tra i 5 tipi di HPV più comunemente identificati nei cancri invasivi (*Smith et al, 2007*).

### Dati di prevalenza europei

Un articolo pubblicato nel 2009 riporta dati di prevalenza dell'infezione da HPV nella popolazione generale femminile dell'Unione Europea (UE), ottenuti selezionando gli studi più recenti ed esaustivi condotti in Europa, in particolare 18 studi condotti in 14 paesi (*De Vuyst et al, 2009*). Da tale lavoro emerge un'importante variabilità tra gli stati europei, con un tasso grezzo di prevalenza dell'infezione da HPV che va dal 3% in Spagna e Grecia al 15% in Danimarca, UK, Irlanda, Francia e Belgio. Le infezioni da HPV 16 e/o 18 rappresentano il 29,8% (range 19-43%) e il 12% (range 0-22%) delle donne positive per HPV ad alto rischio.

Standardizzando per età, i tassi di prevalenza di infezioni da HPV ad alto rischio oncogeno variano da 1,7% in Spagna al 12,5% in Belgio in donne di 30-64 anni (figura 1.14). Come riportato in altri studi, i lavori in cui è stato usato il test HC2 riportano una prevalenza lievemente più alta rispetto a quelli in cui sono state usate metodiche basate sulla PCR,

probabilmente a causa di una cross-reaione con HPV a basso rischio caratteristica del test HC2, da cui la presenza di alcuni risultati falsi positivi.

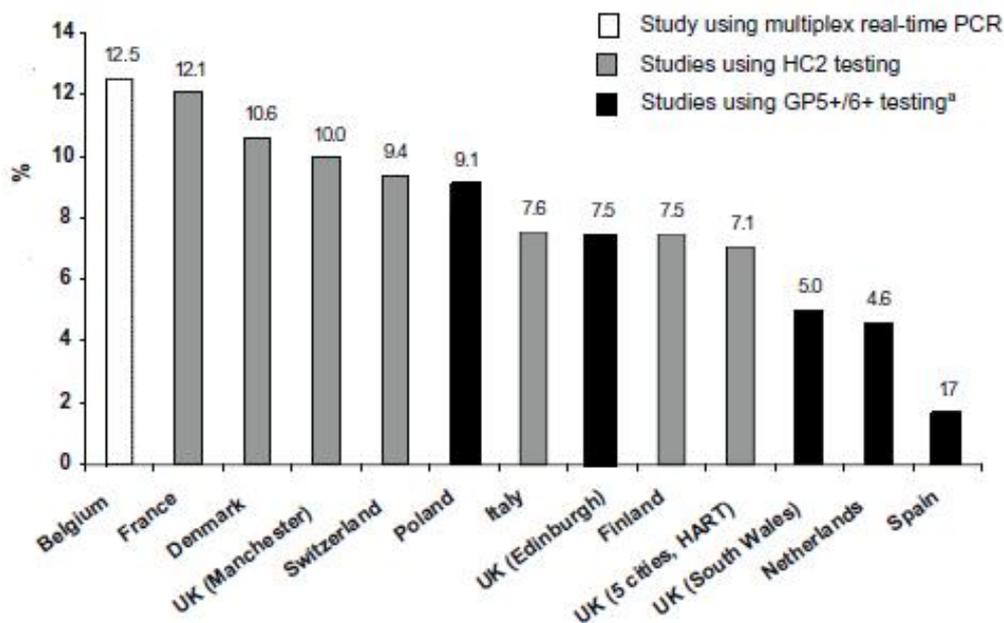


Figura 1.14: Tassi di prevalenza standardizzati per età di HPV ad alto rischio in donne di 30-64 anni per paese (adattata da: *De Vuyst et al, 2009*).

Nei lavori considerati non sono state escluse le donne con anomalie citologiche, assumendo che rappresentano una piccola proporzione delle donne, fornendo una stima più realistica dell'impatto dell'infezione da HPV nella popolazione generale femminile.

Aggiornando i dati europei di esaustive meta-analisi condotte dallo stesso gruppo di lavoro (*Smith et al, 2007*), è emerso che **HPV 16 e/o 18 rappresentano il 33, 52 e 76% in donne con LSIL, HSIL e CC rispettivamente** (*De Vuyst et al, 2009*).

### Infezioni multiple

La presenza di co-infezioni è comune sia in donne con citologia normale che anormale; è infatti osservata nel **20-50% delle donne positive per HPV** (*Shiffman et al, 2007; Spinillo et al, 2009*). Le infezioni multiple sono descritte più frequentemente nelle giovani donne (*Menegazzi et al, 2009*), in pazienti con anomalie citologiche e in pazienti HIV positive (*Gargiulo et al, 2009*).

Il significato clinico, virologico ed epidemiologico delle infezioni multiple da papilloma virus è ancora discusso; in particolare ci sono dati discordanti circa il potenziale ruolo delle co-infezioni nel determinare il rischio e la storia naturale delle lesioni cervicali precancerose.

In alcuni studi, infatti, tali infezioni sono associate ad un più alto rischio di neoplasia cervicale intraepiteliale (*Gargiulo et al, 2009*), mentre altri studi non hanno evidenziato un

maggior rischio di CIN o cancro invasivo nelle donne con infezioni multiple rispetto a quelle con infezioni singole (*Sandri et al, 2009*).

### **Test molecolari per la ricerca di DNA virale dell'HPV**

Il ruolo eziologico dell'HPV nella comparsa dei tumori cervicali, il fatto che la totalità degli stessi è attribuibile ad infezione da HPV e che la persistenza dell'infezione è necessaria per lo sviluppo delle lesioni intraepiteliali hanno suggerito l'applicazione di test molecolari per la ricerca di HPV (test HPV) ad alto rischio oncogeno in ambito di screening.

I metodi molecolari si basano su tecniche in grado di mettere in evidenza il DNA virale e possono fornire informazioni sulla presenza di HPV ad alto e basso rischio oncogenico e/o di uno specifico sottotipo. Diverse sono le tecniche utilizzabili: Southern blot, ibridazione in situ, ibridazione in soluzione (Hybrid capture), amplificazione genica.

La descrizione dei singoli metodi esula dagli scopi di questa relazione.

Nel 2007 sono stati pubblicati i risultati di due trial randomizzati controllati che hanno paragonato la performance del test HPV con quella del Pap test tradizionale nell'ambito dello screening del cervicocarcinoma. Il trial olandese (*Bulkmans et al, 2007*), che ha coinvolto oltre 17.000 donne, ha dimostrato che il test HPV aumenta la capacità diagnostica di lesioni CIN3+ del 70% (95%CI 15-151,  $p=0,007$ ) rispetto al Pap test, mentre dopo 5 anni da un test HPV negativo si osserva una riduzione delle stesse lesioni del 55% (28-72,  $p=0,001$ ) rispetto alle donne con precedente Pap test negativo. Dati analoghi sono stati osservati per le lesioni CIN2. La somma delle lesioni diagnosticate dalle due strategie in due episodi di screening (arruolamento nello studio e rescreeing a cinque anni) è sovrapponibile. Questo dimostra che non vi è una sovradiagnosi significativa dovuta al test per l'HPV, ossia che tra le lesioni diagnosticate in più dal test HPV all'arruolamento non ve ne erano di destinate a regredire spontaneamente. Pertanto la maggiore sensibilità del test HPV osservata negli studi trasversali può essere interamente resa come anticipazione della diagnosi rispetto al Pap test tradizionale, se si seguono adeguati protocolli di gestione delle donne HPV positive.

Il trial svedese (*Naucner et al, 2007*) riporta un incremento di sensibilità per lesioni CIN2+ del 51% (95% CI 13-102) all'arruolamento e, dopo 4 anni da un test HPV negativo, una riduzione di lesioni CIN2+ del 42% (95% CI 4-64) e di CIN3+ del 47% (95% CI 2-71). Analogamente a quanto riportato nello studio olandese, anche in questa casistica non si è osservata alcuna sovradiagnosi.

In Italia è stato condotto un trial multicentrico di grandi dimensioni (New Technologies for Cervical Cancer Screening, NTCC), con circa 100.000 donne arruolate, sulla performance del test HPV (*Ronco et al, 2010*). I dati relativi all'arruolamento in NTCC hanno prodotto risultati sovrapponibili a quelli dei trial citati: il test HPV ha una sensibilità nettamente superiore rispetto al Pap test sia nelle donne di età compresa tra i 25 ed i 34 anni che in quelle di età superiore. Lo studio ha inoltre messo in evidenza che con l'utilizzo del triage citologico dopo test HPV positivo si mantiene il guadagno in sensibilità riportando la specificità a valori sostanzialmente simili al braccio convenzionale. Le due fasi del trial randomizzato hanno mostrato un numero significativamente inferiore di casi di tumore nel gruppo di donne sottoposto a test HPV rispetto al gruppo che ha utilizzato il Pap test nei due round di screening (7 vs 18,  $p=0,028$ ), indicando che lo screening basato su Test HPV è più efficace della citologia nel prevenire il cancro cervicale, perché il test HPV rileva precocemente le lesioni ad alto grado e perché le donne con HPV negativo all'arruolamento sono protette dalla malattia per un tempo più lungo rispetto ai tre anni previsti per il Pap test.

Questi risultati supportano l'uso del test HPV DNA nello screening primario a prolungati intervalli, riservando alla citologia il triage delle donne HPV positive, per le donne di età superiore ai 35 anni; nelle donne più giovani (25-34 anni) il test HPV può comportare, invece, una sovradiagnosi di CIN 2+ suscettibili a regressione spontanea. Lo studio NTCC è stato condotto entro programmi di screening organizzati e ha arruolato più del 70% delle donne chiamate a sottoporsi ai controlli. Questo ci suggerisce che i risultati sono applicabili alla pratica di routine.

## 1.4 La realtà italiana: dati di incidenza, prevalenza e mortalità

### Il carcinoma della cervice uterina: incidenza e mortalità

In Italia, i dati sull'incidenza e mortalità del carcinoma della cervice (*AIRT Working Group, 2006*) sono desumibili dai 21 registri tumori distribuiti sull'intero territorio nazionale, che per gli anni 1998-2002 sono riferiti al 25% della popolazione italiana, pari a circa 15 milioni di abitanti. La percentuale di popolazione cui i dati dei registri si riferiscono varia per area geografica, essendo rispettivamente del 37% al Nord, 25% al Centro ed 11% al Sud Italia.

In base ai dati dei registri tumori, negli anni 1998-2002 sono stati diagnosticati, ogni anno, circa 3.500 nuovi casi di carcinoma della cervice, pari ad una stima di **incidenza annuale di 9,8 casi ogni 100.000 donne di qualunque età**. L'incidenza annuale per area geografica varia da circa 4 a 10 casi per 100.000 donne, senza un chiaro trend geografico.

Il tumore della cervice rappresenta l'1,6% di tutti i tumori diagnosticati tra le donne. Nel corso della vita, il rischio cumulativo di avere una diagnosi di tumore della cervice è del 6,2 per 1000 (1 caso ogni 163 donne).

Come mostrato in figura 1.15, mentre la prevalenza dell'infezione da HPV decresce con l'età, il tasso di incidenza del cervicocarcinoma aumenta all'aumentare dell'età (*Ronco, 2007; AIRT Working Group, 2006*).

In particolare, l'incidenza annuale del carcinoma della cervice uterina è di circa 15/100.000 nelle donne tra 45 e 74 anni, mentre supera questa soglia nelle donne tra 75 e 84 anni (Figura 1.16).

Come osservato in tutte le nazioni dove sono attivi programmi di screening del carcinoma della cervice, la riduzione dell'incidenza è principalmente a carico dei carcinomi a cellule squamose, che negli anni 1998-2002 hanno rappresentato il 66% del totale dei casi con conferma istologica afferenti ai Registri Tumori. Stanno invece aumentando in proporzione gli adenocarcinomi, che originano dall'epitelio del canale cervicale ed hanno minori probabilità di essere identificati precocemente con il Pap-test. Attualmente viene diagnosticato un adenocarcinoma ogni carcinoma squamo cellulare.

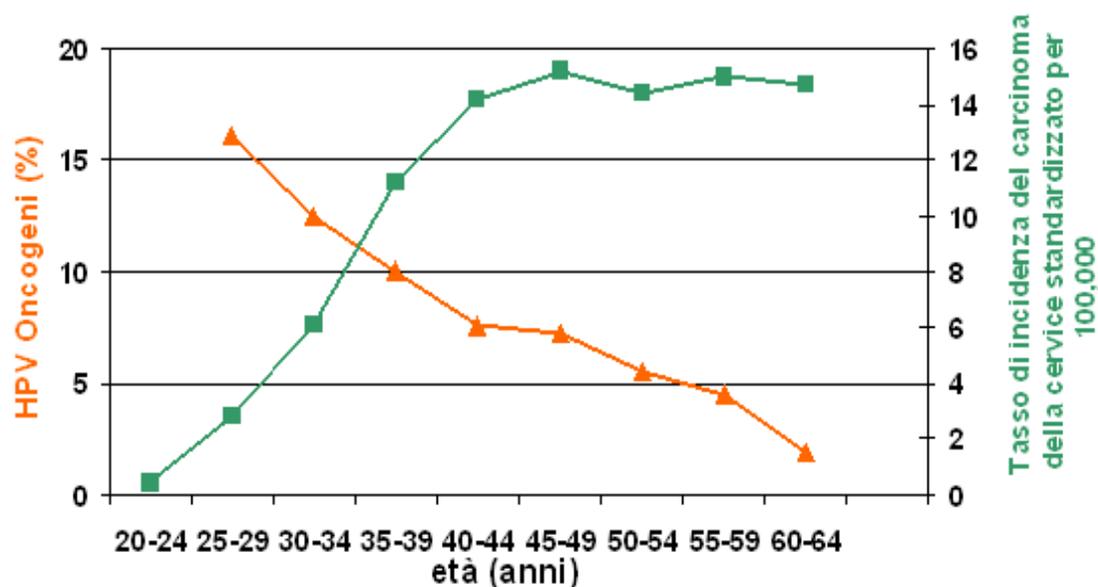


Figura 1.15. Prevalenza dei tipi di HPV ad alto rischio oncogeno e tasso di incidenza annuale del carcinoma della cervice uterina per fascia di età in Italia (tratta dall'Intesa tra il governo, le Regioni e le Province autonome concernente "Strategie per l'offerta attiva del vaccino contro l'infezione da HPV in Italia" del 20 dicembre 2007.).

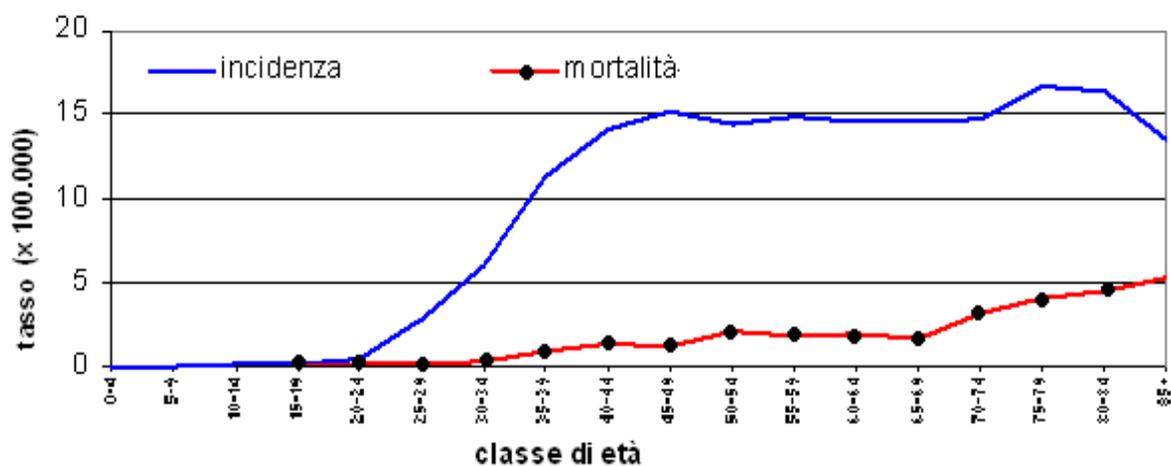


Figura 1.16. Tassi di incidenza e mortalità da carcinoma della cervice uterina per classi di età, Italia 1998-2002 (adattata da AIRT Working Group, 2006)

A questi dati, si aggiungono ogni anno 7.600 lesioni precancerose di alto grado al collo dell'utero, 28.400 di basso grado, 43.200 ASCUS (Giorgi Rossi, 2008).

Nelle aree coperte da registri tumori, la sopravvivenza a 5 anni per le pazienti con diagnosi di CC negli anni 1995-99, è stata complessivamente del 66%, più elevata al Centro-Nord (65-68%) rispetto al Sud (55%).

La sopravvivenza relativa varia con l'età, ed è maggiore nelle donne più giovani, passando dall'80% nella fascia di età 15-44% al 37% oltre i 75 anni di età.

I livelli di sopravvivenza, in progressivo miglioramento negli anni 80, si sono mantenuti sostanzialmente stabili negli anni 90.

Per quanto riguarda il rischio di decesso, i dati dei Registri Tumori mostrano che nel 2002 sono morte per carcinoma della cervice 567 donne, ed altre 1.756 sono morte per tumore dell'utero non altrimenti specificato. I tumori con sede specificata rappresentano una quota rilevante (circa il 65%) dei decessi complessivi per tumori dell'utero; **il tasso di mortalità annuale per carcinoma della cervice corretto per misclassificazione è di 3 decessi per 100.000 donne, pari a circa 1000 decessi per anno.**

Il rischio cumulativo di decesso per tumore della cervice nell'arco della vita è di 0,8 per 1000 donne. Come osservato per l'incidenza, anche la mortalità aumenta all'aumentare dell'età (figura 1.17).

Per avere informazioni sull'andamento nel tempo della mortalità, sono stati analizzati i dati ISTAT dal 1987 al 2002, riferiti a tutti i decessi da tumori maligni dell'utero: i tassi standardizzati di mortalità mostrano un andamento di costante riduzione su tutto il territorio nazionale, pur essendo maggiore la mortalità al Sud rispetto al Centro-Nord (*AIRT Working Group, 2006*).

### **Prevalenza dell'infezione da HPV in donne con citologia normale e anormale**

I dati disponibili su donne di età compresa tra 15 e 73 anni, afferite a controlli ginecologici di routine o a programmi di screening, mostrano una prevalenza del 7-26% (*Agarossi et al, 2009; Broccolo et al, 2009; Centurioni MG et al, 2005; De Francesco et al, 2005; Martinelli et al, 2007; Masia et al, 2009; Ripabelli G et al, 2010; Ronco et al, 2006; Ronco et al, 2005*). Questi valori si pongono a livello intermedio in Europa, ma superiore a quelli di altri paesi dell'Europa meridionale (3% in Spagna, 2,5% in Grecia) (*Ronco et al, 2007; De Vuyst et al, 2009*).

Diversi studi di prevalenza italiani su donne con citologia normale sono mostrati in tabella 1.5. Nell'interpretazione dei dati bisogna tenere conto di vari fattori, primi fra tutti l'età della popolazione in studio, il tipo di test utilizzato per rilevare il DNA virale e le modalità di arruolamento delle donne (le popolazioni afferenti a programmi di screening organizzato sono presumibilmente più rappresentative della popolazione generale rispetto ai campioni di donne afferenti a centri specialistici per screening volontario).

Il tipo di HPV più comunemente riscontrato è l'HPV 16, in accordo con quanto riportato nella letteratura internazionale, seguito da HPV 31. Alcuni studi hanno messo in luce una variabilità regionale dei tipi di HPV prevalenti. Ad esempio, in un campione di 536 donne della Sardegna Meridionale il genotipo di più frequente riscontro è stato HPV 52 (*Meloni et al, 2009*); in uno studio di prevalenza condotto a Catania, HPV 56 è risultato il secondo tipo ad alto rischio più comune dopo HPV 16 (*Agodi et al, 2009*).

Infezioni multiple sono riportate nel 15-48% dei casi (tabella 1.5).

Nelle donne con citologia anormale (tabella 1.6), la prevalenza raggiunge valori più elevati (34-68%), aumentando proporzionalmente alla gravità delle lesioni: 24-56% in caso di ASCUS, 42-72% in caso di LSIL e 73-95% in HSIL e oltre (*Agarossi et al, 2009; Broccolo et al, 2009; Masia et al, 2009; 2010; Ronco et al, 2006; Agodi et al, 2009*).

I dati certamente più rappresentativi a livello italiano derivano dal trial randomizzato NTCC (Nuove tecnologie per lo screening del cancro cervicale) (*Ronco, 2007*). Questi dati riguardano il Centro e il Nord Italia e donne in età di screening. In tale ambito oltre 45.000 donne di 25-60 anni, aderenti a 9 programmi di screening organizzato (Torino, Trento, Padova, Verona Soave, Bologna, Imola, Ravenna, Firenze e Viterbo) sono state testate con Hybrid Capture 2, che individua 12 tipi di HPV a rischio medio-alto. Nei dati sulla prima fase di reclutamento la proporzione di positive era complessivamente il 9,0% e diminuiva con l'età in modo praticamente lineare dal 16% nella fascia 25-29 al 4,5% nella fascia 55-60 (figura 1.16). Questo trend corrisponde all'andamento tipico dei paesi sviluppati, in particolare in Europa e in Nord America.

E' da notare tuttavia che in alcuni studi si osservava un secondo picco in età post-menopausale (*Bosch et al, 2008*). Tale picco non è stato riscontrato nel trial NTCC, ma è stato descritto in altri lavori italiani (*Agarossi et al, 2009; Agodi A, 2009*).

La grandissima maggioranza delle infezioni da HPV è regredita spontaneamente, in accordo con la letteratura: nello studio NTCC in un gruppo di donne di età 25-34 anni positive ad HC2 ma con citologia normale, il 60% si era negativizzato dopo un anno.

Inoltre solo una parte delle donne con infezione da HPV presenta alterazioni morfologicamente identificabili delle cellule cervicali: nello studio NTCC il 61% delle donne di età 25-34 positive ad HC2 e il 71% di quelle di età 35-60 presentava citologia normale.

Al contrario, solo una parte delle donne con ASCUS o LSIL presentava infezione da HPV, in particolare da tipi a rischio medio-alto: il 45% delle donne di età 25-34 anni con citologia ASCUS/AGUS, il 72% di quelle con LSIL e il 92% di quelle con HSIL+ era positivo

al test HC2, mentre nelle donne di età 35-60 le proporzioni corrispondenti erano il 24%, 42% e il 78% rispettivamente.

Tra i tipi ad alto rischio, il tipo HPV 16 resta il tipo più frequente anche in donne con citologia anormale (*Agarossi et al, 2009; Agodi et al, 2009; Broccolo et al, 2009; Gargiulo et al, 2007; Masia et al, 2009; 2010; Menegazzi et al, 2009; Ronco et al, 2006; Sandri et al, 2009*); in generale la proporzione di casi attribuibili a HPV 16 aumenta con l'aumentare della gravità della lesione istologica (tabella 1.6).

Uno studio di prevalenza condotto a Torino su circa 1000 donne (*Ronco et al, 2005*) ha mostrato un profilo differenziato per donne nubili (con livelli elevati fino ai 35-44 anni e una successiva discesa molto pronunciata) e sposate (con una livelli molto più bassi in giovane età e una successiva diminuzione molto modesta) suggerendo che la riduzione complessiva nella popolazione sia largamente spiegata da modifiche di comportamento con l'età. Tuttavia, una riduzione si osservava anche nella sposate e potrebbe essere dovuta all'immunità acquisita (*Ronco et al, 2007*).

Uno studio condotto su 268 prelievi cervicali di donne con diagnosi di cervicocarcinoma afferiti all'Istituto Europeo di Oncologia ha descritto la distribuzione di tipi di HPV in donne italiane con cervicocarcinoma (*Sideri et al, 2009*). La maggior parte (96%) dei casi di CC era rappresentata da SCC. Il 93,7% dei campioni è risultato positivo per DNA di HPV ad alto rischio e il 70,5% per HPV 16 o 18, senza alcuna differenza tra Nord, Centro e Sud Italia. Questi dati confermano quanto già descritto in letteratura per altri paesi (*Muñoz et al, 2004; Clifford et al, 2003*).

La positività per HPV 16 o 18 risultata invece associata con età più bassa e stadio precoce della neoplasia: HPV 16/18 sono stati riscontrati più frequentemente nelle donne con età  $\leq 35$  anni ( $p=0,035$ ) e i tipi di HPV non 16/18 sono stati osservati nei tumori a stadio più avanzato ( $p=0,018$ ). Ulteriori studi si ritengono necessari per indagare tali associazioni.

Tabella 1.5: Studi di prevalenza in donne con citologia normale condotti in Italia											
	Referenza bibliografica	Area	Età, anni	Modalità arruolamento	Numero donne	HPV test	Donne positive per HR-HPV %	Donne positive per HPV 16 (nelle HPV positive) %	Donne positive per HPV 18 (nelle HPV positive) %	Tipi di HPV più comuni (ordine decrescente)	Infezioni multiple (nelle HPV positive) %
1	Agarossi et al, 2009	Italia	15-73 (media 38)	Accesso volontario per screening cervicale o visite ginecologiche routinarie presso centri privati	9.764	HC2	14,8	29,1	10,1	16,31,18	22,2
2	Ronco et al. Lancet Oncol 2006	Centro Nord Italia	25-34 mediana 30	Screening cervicale organizzato	6.002	HC2	14	-	-	-	-
3	Ronco et al. J Natl Cancer Inst 2006	Centro Nord Italia	35-60 (media 45)	Screening cervicale organizzato	16.706	HC2	7,1	-	-	-	-
4	Masia et al, 2009	Sardegna	18 – 46+	Accesso volontario per screening cervicale o consulenza ginecologiche presso strutture pubbliche	864	PCR	20,3	36,7	24,1	-	-
5	Ronco et al, 2005	Torino	25-70	Screening cervicale organizzato	1013	PCR	7,1	36,1	1,4	16, 66, 45, 31	15,3
6	De Francesco et al, 2005	Brescia	18-63 (media 40)	Accesso volontario per visite ginecologiche di routine presso struttura pubblica	1500	HC1	6,6 (HR,LR)	27	<0,001	16, 31,6,58, 33,53,45	-
7	Ripabelli et al, 2010	Molise	18-63 (mediana 34)	Accesso volontario per screening cervicale presso strutture pubbliche	299	PCR	22,1	22,2	4,5	16,53,66, 52, 59, 58, 73	48.5
8	Centurioni et al, 2005.	Genova	media 51	Accesso volontario per screening cervicale presso struttura pubblica	503	PCR	15,9 (generic)	57,5	36,3	-	23,7
9	Martinelli et al, 2007	Puglia	16-60 (media 36)	Arruolamento volontario	1082	PCR	26,4	26	11	-	-
10	Broccolo F et al, 2009	Monza	20-65 (mediana 50)	Accesso volontario per visite ginecologiche di routine presso struttura pubblica (tutte citologia normale)	125	PCR	25,6	-	-	16, 31	26

Tabella 1.6: Studi di prevalenza in donne con citologia anormale condotti in Italia														
							Citologia anormale		ASCUS/AGUS		LSIL		HSIL+	
	Referenza bibliografica	Area	Età, anni	Modalità arruolamento	Donne con citologia anormale N(%)	HPV test	Donne positive per HR-HPV %	Donne positive per HPV 16 (nelle HPV positive) %	Donne positive per HR-HPV %	Donne positive per HPV 16 (nelle HPV positive) %	Infezioni multiple (nelle HPV positive) %	Donne positive per HPV 16 (nelle HPV positive) %	Infezioni multiple (nelle HPV positive) %	Donne positive per HPV 16 (nelle HPV positive) %
1	Agarossi et al, 2009	Italia	15-73	Accesso volontario per screening cervicale o visite ginecologiche routinarie presso centri privati	616 (6,3)	HC2	66,7	34,1	43,1	36,2	71,3	27,8	94,5	56,5
2	Ronco et al. Lancet Oncol 2006	Centro Nord Italia	25-34	Screening cervicale organizzato	530 (8,8)	HC2	60,6	-	45	-	72		92	
3	Ronco et al. J Natl Cancer Inst 2006	Centro Nord Italia	35-60	Screening cervicale organizzato	904 (5,4)	HC2	33,6	-	24,1	-	42,1		77,8	
4	Masia et al, 2009	Sardegna	18-46+	Accesso volontario per screening cervicale o consulenza ginecologiche presso strutture pubbliche	105	PCR	48,1	-	36,2	-	63,9		73,3	
5	Broccolo et al, 2009	Monza	20-65	Accesso volontario per visite ginecologiche di routine presso struttura pubblica	472	PCR	61	39,9	56,2	28,8	49,5	34,3	77,8	49,2
6	Agodi et al, 2009	Catania	15-60	Accesso volontario ad un servizio di colposcopia in struttura pubblica	123	PCR	68,2	48,8	-	-	66,7 CIN1	48,4	74,1 CIN2-3	50,0

## Programmi di screening organizzato

Dal 1996 le linee-guida italiane raccomandano alle Regioni l'implementazione di programmi organizzati di screening con invito attivo e sistemi di valutazione e assicurazione di qualità. Esse raccomandano l'utilizzo del Pap test come test di screening, da effettuare ogni tre anni per le donne tra 25 e 64 anni. Le Linee Guida Europee e la Commissione oncologica Nazionale raccomandano inoltre che tali programmi di screening raggiungano l'85% delle donne nella fascia di età target.

L'estensione dei programmi organizzati di screening è notevolmente aumentata negli ultimi anni. Secondo i dati dell'Osservatorio Nazionale Screening (*Ronco et al, 2009*), nel 2007 il 72% delle donne italiane tra 25 e 64 anni viveva in aree in cui erano attivi programmi di screening organizzato della cervice, rispetto al 16% nel 1998. L'adesione all'invito resta tuttavia limitata (39,8% nel 2007) ed è variabile tra le differenti aree geografiche, con un trend in decremento da Nord a Sud (47% al Nord, 40% al Centro, 27% al Sud).

Tuttavia molte donne effettuano il Pap-test pur non aderendo a programmi di screening organizzato. Dallo studio Passi 2008 (*PASSI 2008*) risulta infatti che il 75% delle donne in età da screening ha eseguito un Pap-test a scopo preventivo negli ultimi 3 anni (il 38% attraverso programmi di screening organizzato, il 37% come prevenzione individuale), con un evidente gradiente territoriale.

Il Ministero della Salute ha introdotto il test HPV nei protocolli per la cervice uterina. Le Linee guida emanate nel 2006 (*Ministero della Salute, 2006*) prevedono l'utilizzo del test HPV nel triage delle diagnosi citologiche di ASC-US e nel monitoraggio delle pazienti post-trattamento.

Sulla base dei risultati delle ultime evidenze scientifiche (*Bulkmans et al, 2007; Naucler et al, 2007; Ronco et al, 2010*), il Centro nazionale per la prevenzione ed il controllo delle malattie del Ministero della Salute ha preso in considerazione l'ipotesi di modificare le linee guida, inserendo il test HPV come test primario di screening e il pap-test come triage in caso di positività per il DNA virale. Il GISCI (Gruppo Italiano Screening del Cervicocarcinoma) condivide tale posizione che prevede l'introduzione del test HPV nello screening primario all'interno di applicazioni controllate con l'obiettivo di testarlo nella pratica ([http://www.gisci.it/documenti/documenti\\_gisci/documento\\_hpv.pdf](http://www.gisci.it/documenti/documenti_gisci/documento_hpv.pdf)).

Recentemente, inoltre, la Regione Abruzzo ha deliberato l'adozione del HPV DNA test come test di I livello nel proprio programma di screening ([http://www.registri-tumori.it/PDF/ConvegnoCosenza2010/Angeloni\\_Cosenza.pdf](http://www.registri-tumori.it/PDF/ConvegnoCosenza2010/Angeloni_Cosenza.pdf)).

## 1.5 La vaccinazione anti-HPV

### Razionale per la produzione di vaccini contro il papillomavirus

L'individuazione dell'HPV come causa del carcinoma cervicale e altre malattie implica che con lo sviluppo di un vaccino efficace possa essere possibile prevenire l'infezione, offrendo un'opportunità senza precedenti per la prevenzione del CC in tutto il mondo.

Tradizionalmente vaccini profilattici, che generano anticorpi specifici neutralizzanti i virus, hanno rappresentato un modo efficace di controllo delle malattie virali. Il tropismo tissutale e la complessa biologia del papilloma virus lo differenzia dalla maggior parte degli altri microrganismi verso i quali la vaccinazione ha avuto successo.

Gli anticorpi neutralizzanti sono la pietra miliare della maggior parte dei vaccini profilattici e i vaccini approvati fino ad ora erano diretti contro agenti infettivi in grado di determinare una malattia sistemica tale da renderli accessibili agli anticorpi neutralizzanti presenti nel sangue.

Il ciclo vitale di HPV, come abbiamo detto, è esclusivamente intraepiteliale e solo l'epitelio squamoso differenziato è capace di consentire il ciclo infettivo completo e la produzione di particelle infettanti. In un'infezione naturale non c'è una viremia, le particelle del virus sono rilasciate dalla superficie delle mucose lontano dai vasi linfatici e vascolari e i livelli serici di anticorpi neutralizzanti sono bassi. Inoltre, le particelle virali complete sono assemblate nelle cellule degli strati superficiali, senza infiammazione e citolisi, lontano dalla maggior parte delle cellule che presentano gli antigeni e dai macrofagi. Come risultato, le particelle virali e le proteine del loro capsido sono poco esposte nei linfonodi drenanti e nella milza, dove iniziano le risposte anticorpali.

Quindi uno dei quesiti iniziali principali era se vaccini che generano anticorpi neutralizzanti potevano fornire una protezione dall'infezione. I risultati ottenuti in infezioni sostenute da papillomavirus animali mostravano molto chiaramente che gli anticorpi neutralizzanti erano protettivi (*Carozzi, 2007*).

La produzione di anticorpi contro la proteina L1 del capsido richiede però la struttura terziaria o nativa della proteina. Poiché i papillomavirus non possono crescere in coltura la generazione di strutture native è stata per lungo tempo problematica. La soluzione si è avuta osservando che se il gene L1 viene espresso attraverso un Baculovirus ricombinante, la proteina L1 viene prodotta in grandi quantità e si auto-assembla in una particella simile al virus (virus-like particle, VLP) o capsido vuoto che è geometricamente e antigenicamente

quasi identico al virione nativo (*Kirnbauer et al, 1992; Rose et al, 1994*). Le VLP non contengono DNA e nemmeno virus vivo o attenuato.

I meccanismi di protezione dei vaccini VLP non sono al momento realmente conosciuti. Tutti i dati disponibili mostrano che L1 VLP inducono alti livelli di IgG seriche neutralizzanti e i risultati degli studi vaccinali sia in animali sia nei trial clinici, supportano l'idea che questa attività sia cruciale per la protezione. Le IgG sono la principale classe d'immunoglobuline presenti nel muco cervicale e allo stato attuale un'ipotesi è che la protezione sia fornita dalle IgG seriche che possono trasudare attraverso l'epitelio cervicale, particolarmente a livello della giunzione squamo-colonnare, in concentrazione sufficientemente elevata da legare le particelle virali e prevenire l'infezione. I livelli di IgG sistemiche sono sostanzialmente più alte di quelle nelle secrezioni cervicali ed è possibile che i siti potenziali di infezione sugli epitelii superficiali mucosali o cutanei possano avere accesso agli anticorpi circolanti. L'infezione si instaura quando il virus viene a diretto contatto con i cheratinociti nello strato basale dell'epitelio genitale. I microtraumi che possono avvenire durante i rapporti sessuali, potrebbero incrementare la probabilità di questa esposizione e in tale scenario il sito di una potenziale infezione potrebbe avere un accesso più diretto alle IgG sistemiche. L'erosione superficiale dell'epitelio porterebbe probabilmente a un'essudazione serica e il rapido accesso delle IgG seriche alle particelle virali. Inoltre, la superficie della cervice e l'epitelio vaginale superiore sono bagnate nel muco cervicale e le immunoglobuline dominanti nel muco cervicale sono IgG trasudate dalla superfici endo-cervicale e squamo-colonnare. C'è quindi l'evidenza di un rapido e facile accesso degli anticorpi serici alle particelle del virus che possono spiegare la straordinaria efficacia dei vaccini VLP (*Carozzi, 2007*).

Tutto questo ha portato allo sviluppo di due vaccini profilattici.

### **Vaccini attualmente disponibili**

Sarebbe desiderabile per un vaccino HPV avere la capacità di prevenire tutti i casi di carcinoma cervicale. Comunque, sebbene i 15 tipi di HPV oncogeni siano dal punto di vista filogenetico strettamente correlati gli uni agli altri, gli epitopi immuno-dominanti nelle L1-VLP inducono anticorpi neutralizzanti che sono prevalentemente tipo-specifico.

E' stato quindi necessario, almeno per la prima generazione dei vaccini, focalizzare gli sforzi sui tipi di HPV associati più frequentemente ai carcinomi cervicali.

Due tipi di vaccini profilattici (bivalente e quadrivalente) sono al momento disponibili: il vaccino quadrivalente Gardasil e il vaccino bivalente Cervarix, autorizzati in Europa rispettivamente nel settembre 2006 e nel settembre 2007.

Ambedue i vaccini sono indicati contro le lesioni invasive e pre-invasive della cervice uterina provocate da HPV 16 e 18, responsabili del 70% dei cervicocarcinomi. Il vaccino quadrivalente protegge anche contro HPV 6 e 11, responsabili del 90% dei condilomi genitali. Sia il Cervarix che il Gardasil prevedono la somministrazione di tre dosi di vaccino per via intramuscolare (i.m.), a 0-1-6 mesi e 0-2-6 mesi rispettivamente.

La tabella 1.7 mostra le caratteristiche dei due vaccini.

Tabella 1.7: Caratteristiche dei vaccini preventivi contro il papillomavirus umano.

	Cervarix	Gardasil
<b>Ditta produttrice</b>	Merck & Co	GlaxoSmithKline
<b>Tipi di HPV</b>	16,18	16,18,6,11
<b>Antigene per dose</b>	20 µg HPV 16 L1 20 µg HPV 18 L1	40 µg HPV 16 L1 20 µg HPV 18 L1 40 µg HPV 11 L1 20 µg HPV 6 L1
<b>Tecnologia di produzione</b>	L1 prodotte con il sistema di espressione del vettore Baculovirus su una linea cellulare Hi-5 con tecnologia di DNA ricombinante	L1 prodotte da cellule di lievito ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ) con tecnologia di DNA ricombinante
<b>Adiuvante</b>	AS04 contenente: 500 µg idrossido di alluminio 50 µg monofosforil-lipideA	alluminio idrossifosfato solfato amorfo (225 µg Alluminio)
<b>Indicazioni</b>	prevenzione delle lesioni precancerose della cervice uterina e del CC causati da HPV 16 e 18	prevenzione delle lesioni genitali precancerose (della cervice uterina CIN2/3, vulva VIN2/3 e vagina VaIN2/3), del CC e delle lesioni genitali esterne (condilomi acuminati) causati da HPV 6, 11, 16 e 18
<b>Via di somministrazione</b>	i.m. (0,5 ml)	i.m. (0,5 ml)
<b>Schedula</b>	0,1,6 mesi	0,2,6 mesi
<b>Fascia di età per cui è autorizzato</b>	10-25 anni	9-26 anni
<b>Studi di efficacia</b>	in donne di 15-25 anni	in donne di 16-26 anni
<b>Studi di immunogenicità</b>	in bambine e donne di 10- 25 anni	in bambini e adolescenti di 9-15 anni

### Endpoints e criteri per la valutazione dell'efficacia del vaccino

La valutazione dei vaccini può essere divisa in tre stadi: sviluppo, autorizzazione e post-autorizzazione. I trials clinici sull'uomo sono classificati in tre fasi: fase I, II e III. Negli studi clinici in fase I, il vaccino viene testato su un piccolo numero di adulti sani (circa 20) per

valutarne le proprietà, la tollerabilità e i parametri farmacologici e clinici; fondamentalmente gli studi della fase I servono per valutarne la sicurezza. Gli studi della fase II coinvolgono un numero più ampio di soggetti e hanno lo scopo di ottenere informazioni preliminari sulla capacità del vaccino di produrre l'effetto desiderato (l'immunogenicità) nella popolazione target e la sicurezza. Gli studi clinici della fase III sono quelli su cui si basa la licenza e devono produrre dati sufficienti per poter dimostrare che il nuovo prodotto è sicuro ed efficace per l'obiettivo programmato.

Gli *endpoints* principali di tutti i vaccini sono l'immunogenicità (risposta B e T), la tollerabilità (reazioni locali e sistemiche), la sicurezza (eventi negativi nel breve e nel lungo periodo) e la protezione fornita contro la malattia (efficacia).

Nel caso specifico possono essere considerati tre tipi di endpoints: clinici, virologici e immunologici (Carozzi, 2007).

Ci sono tre *endpoints* virologici per valutare l'efficacia dei vaccini: infezioni incidenti, infezioni persistenti e presenza di genotipi specifici in una lesione clinica. Essendo l'infezione persistente (definita come la individuazione dello stesso tipo di HPV-DNA in campioni di cellule cervicali prelevati a distanza di 6-12 mesi) condizione indispensabile allo sviluppo di cancro, essa è stata presa quale **end-point primario** nei trial clinici. Un'alta percentuale di donne sessualmente attive, sono, almeno in via transitoria, infettate da uno o più HPV, ma poiché la malattia clinica indotta da HPV avviene in una piccola frazione degli individui infettati, la stima dell'efficacia del vaccino non può essere basata solo sulla protezione contro l'infezione. La misurazione di specifici genotipi è importante per determinare se i vaccini proteggono contro alcuni o tutti i genotipi HPV inclusi o persino contro altri genotipi non inclusi.

Nel caso di HPV, non è conosciuto un correlato sierologico di protezione, cioè un titolo anticorpale considerato protettivo contro l'infezione, ma i titoli anticorpali (*end-points* immunologici) potrebbero essere comunque usati come un surrogato di protezione.

La possibilità di indurre la produzione di elevati titoli di anticorpi neutralizzanti mediante vaccinazione è un punto cruciale poiché gli HPV non determinano viremia e rimangono localizzati a livello cervicale, perciò la disponibilità di anticorpi neutralizzanti a livello cervico-vaginale, la cui concentrazione è direttamente correlata con quella sierica (per meccanismi di trasudazione), rappresenta il miglior sistema di protezione poiché consente di evitare che le particelle virali infettino le cellule della zona di transizione (Gabutti, 2009; Lizioli, 2009).

Gli *end-points* clinici con cui si valuta l'efficacia di un vaccino, incidenza della malattia, non sono applicabili nel caso del carcinoma cervicale sia per ragioni pratiche (il carcinoma

cervicale compare dopo molti anni dall'infezione iniziale) che etiche. In linea di principio, l'efficacia dei vaccini HPV dovrebbe essere misurata in termini di casi di cancro invasivo cervicali dovuti ai tipi vaccinali prevenuti nei riceventi il vaccino rispetto ai riceventi il placebo. E' evidente che, visti gli ovvi problemi etici di un approccio di tale tipo, si sia stabilito di trovare un risultato di efficacia che rappresenti un surrogato accettabile.

Poiché molti dati mostrano come l'individuazione e il trattamento della neoplasia cervicale intraepiteliale di alto grado (C12/3) riduce l'incidenza e la mortalità del carcinoma cervicale, l'individuazione di CIN2/3 accompagnata dall'individuazione di HPV-DNA è attualmente considerato un *end-point* intermedio. Il gruppo di esperti del WHO non considera CIN-1 un appropriato *end-point* per valutazioni di efficacia del vaccino, in quanto la sua diagnosi ha una riproducibilità molto scarsa ed esso non è un obbligato precursore del carcinoma (a causa dell'alta percentuale di regressione spontanea).

### **Immunogenicità e durata della protezione**

La misurazione di specifiche immunoglobuline seriche contro L1 VLP, nei soggetti vaccinati e non vaccinati, è il principale parametro usato nei trials per monitorare la risposta immune indotta dai vaccini. Come detto, non è stato individuato un correlato sierologico di protezione per il vaccino contro l'HPV.

Negli studi clinici di entrambi i vaccini (su donne di 10-25 anni per il Cervarix e 9-26 anni per il Gardasil), oltre il 99,5% delle donne inizialmente sieronegative ha sierconvertito per HPV 16 e 18, un mese dopo la terza dose. Le medie geometriche dei titoli delle IgG indotte dal vaccino (GMT) erano ben oltre i titoli osservati dopo un'infezione naturale, 10-80 volte (*Adams et al, 2009; Carozzi, 2007*).

Nel gruppo più giovane (bambine 10-14 anni per il Cervarix e bambine/bambini di 9-15 anni per il Gardasil) le GMT sono risultate circa 2 volte maggiori di quelle delle donne più grandi (RCP dei due prodotti).

Allo stato attuale ci sono solo poche informazioni disponibili sulla durata a lungo termine della risposta immunitaria indotta dal vaccino, che è stata studiata in donne di 15-25 anni per il Cervarix e 16-26 anni per il Gardasil. Le medie geometriche dei titoli delle IgG indotte dal vaccino sia per HPV-16 che HPV-18 hanno raggiunto il picco al 7° mese ed hanno quindi iniziato a diminuire fino a raggiungere un plateau dal 18-24° mese fino alla fine del periodo di follow-up (durato 5 anni per il Gardasil e 6,4 per il Cervarix). Al termine del periodo di follow-up le GMT sia per HPV-16 che per HPV-18 erano ancora uguali o superiori ai titoli

osservati in donne che avevano contratto precedentemente l'infezione ma nelle quali essa era stata eliminata (*Olsson et al, 2007; Gabutti, 2009*).

Risultati simili (sebbene con GMT inferiori, come atteso) sono stati ottenuti in donne più grandi con follow up a circa due anni: fino a 45 anni per il Gardasil (Future III, *RCP Gardasil*) e 55 anni per il Cervarix (*Gabutti, 2009; Schwarz et al, 2007; Schwarz et al, 2009*). **Ad oggi non è indicata una dose di richiamo.**

Nel 2009 Mark H. Einstein e coll (*Einstein et al, 2009*) hanno pubblicato un confronto testa a testa tra i due vaccini in commercio per valutare l'immunogenicità e la sicurezza dopo tre dosi in donne tra i 18 e i 45 anni. Dallo studio è emerso che il Cervarix induce titoli di anticorpi neutralizzanti nel siero significativamente più elevati di Gardasil in tutte le fasce di età ( $p < 0,0001$ ). La media geometrica dei titoli anticorpali è risultata 2-5 volte più elevata per HPV 16 e 7-9 volte per HPV 18 nelle donne vaccinate con Cervarix rispetto a quelle vaccinate con Gardasil. Nelle donne vaccinate con Cervarix appaiono significativamente più elevati anche i titoli anticorpali nelle secrezioni cervico-vaginali e la popolazione di linfociti B memoria. Tali dati supportano l'ipotesi che la durata protettiva di Cervarix sia più lunga nel tempo. E' interessante la capacità del sistema adiuvante AS04 di determinare un'attivazione linfocitaria più efficace rispetto al sale amorfo di alluminio.

### **Studi di Efficacia**

Entrambi i vaccini sono stati valutati in trials clinici randomizzati (RCT), con un braccio di controllo con placebo. L'analisi *according to protocol* (ATP) è volta a valutare l'efficacia teorica del vaccino ed analizza i dati relativi alle donne che risultano negative per i tipi di HPV contenuti nel vaccino al momento dell'arruolamento e fino ad un mese dopo aver ricevuto la terza dose e che non hanno violato il protocollo di studio (hanno cioè ricevuto tutte e tre le dosi di vaccino o il placebo come previsto).

L'analisi *intention to treat* (ITT) valuta l'efficacia del vaccino quando utilizzato nella realtà, includendo nell'analisi i dati relativi a tutte le donne arruolate, purché abbiano ricevuto almeno una dose di vaccino o placebo, indipendentemente dalla positività per i tipi di HPV contenuti nel vaccino e dalla loro aderenza al protocollo di studio.

Dai dati pubblicati dei trial in fase II e in fase III, entrambi i vaccini mostrano un'efficacia elevata del 99-100% verso le lesioni cervicali sostenute da HPV 16 e 18 nelle donne naive ai tipi di HPV contenuti nel vaccino. Il vaccino quadrivalente mostra, nella stessa popolazione, un'efficacia elevata anche verso i condilomi genitali e le lesioni vulvari.

L'efficacia risulta notevolmente inferiore nell'analisi ITT.

Dal momento che la vaccinazione contro l'HPV è raccomandata in età prepubere, si può presumere che nella realtà la vaccinazione di massa rivolta alle dodicenni potrà avere un'efficacia compresa tra quella dell'analisi ITT e ATP (*Di Mario et al, 2007*).

### Vaccino quadrivalente

L'efficacia di Gardasil è stata valutata in donne di età compresa tra 16 e 26 anni, in 4 studi clinici di Fase II e III, randomizzati, in doppio cieco, controllati con placebo (figura 1.17).

Studio	Vaccino	Popolazione arruolata	Follow up (mesi)	Popolazione analizzata		Esiti	Efficacia vaccinale (%; 95% IC)				
				ATP	ITT		ATP (tipi vacc.)	ITT (tipi vacc.)	ITT HPV16	ITT HPV18	ITT (tutti i tipi)
Villa 2005	Tettravalente (Merck)	552	36	468	526	Les. genit. esterne CIN	NA	NA	-	-	-
							NA	100% (32, 100)	-	-	-
Villa 2006	Tettravalente (Merck)	241 nel follow up CIN1-3*	24	468	526**	Condilomi	100% (<0, 100)	100% (<0, 100)	-	-	-
			100%	100%	-	-	-	(30.8, 100)			
FUTURE I 2007	Tettravalente (Merck)	5455	30	4550	5455	Condilomi	100% (92, 100)	76% (61, 86)	73%*** (31, 91)	89%*** (20, 100)	51% (32, 65)
						VIN/VaIN <sup>***</sup>	100% (49, 100)	62% (<0, 89)	-	-	26% (<0, 63)
						grado 2-3 CIN2	100% (81, 100)	30% (<0, 56)	46%° (25, 61)	76%° (47, 90)	13% (<0, 34)
						CIN3	100% (76, 100)	12% (<0, 44)	-	-	-9% (<0, 22)
						AIS	100% (15, 100)	83% (<0, 100)	-	-	83% (<0, 100)
FUTURE II 2007	Tettravalente (Merck)	12167	36	10565	12167	CIN2	100% (86, 100)	57% (38, 71)	42%° (22, 56)	79%° (49, 93)	22% (3, 38)
		CIN3	97%	45%	-	-	21% (79, 100)	23% (23, 61)	-	-	<0, 38)
						AIS <sup>oo</sup>	100% (<0, 100)	28% (<0, 82)	-	-	37% (<0, 84)

\*Include CIN2 CIN3 adenocarcinoma in situ e carcinoma invasivo; \*\*dati combinati follow up iniziale + esteso; \*\*\*dati di efficacia riportati per tutte le lesioni esterne insieme (condilomi e VIN/VaIN); °dati di efficacia riportati insieme per i CIN2+ (CIN2, CIN 3 e adenocarcinoma in situ); °°AIS Adenocarcinoma in situ  
<sup>\*\*\*</sup>VIN/VaIN neoplasia intraepiteliale vulvare/vaginale.

Figura 1.17: Dati di efficacia riportata in 4 studi sul vaccino quadrivalente (adattata da *Di Mario et al, 2007*)

Gli studi condotti includevano un totale di 20.541 donne (informazioni riportate sul RCP del vaccino quadrivalente) che sono state arruolate e vaccinate senza effettuare uno screening preliminare per la presenza di una infezione da HPV (*FUTURE II Study Group, 2007; Garland et al, 2007*). La durata mediana di follow up per i protocolli combinati è stata di **3,6 anni**.

Nelle donne che avevano ricevuto il ciclo vaccinale completo e che erano negative per gli HPV contenuti nel vaccino (PPE *Per-protocol Efficacy*), l'efficacia di Gardasil verso CIN 1,2,3 o adenocarcinomi in situ correlati a HPV 6, 11, 16, 18, è stata del 96,0% (95%IC: 92,3-98,2) (figura 1.18); verso VIN2/3 e VaIN 2/3 correlate a HPV 6, 11, 16, 18, è stata

rispettivamente del 100% (95% IC: 67,2-100) e del 100% (95% IC: 55,4-100); verso i condilomi genitali correlati a HPV 6, 11, 16, 18, è stata del 99,0% (95% IC: 96,2-99,9).

L'efficacia di Gardasil verso l'infezione persistente (definita a 12 mesi) è stata del 100,0% (95% IC:93,9-100,0) verso HPV 16 e del 100,0% (95% IC:79,9-100,0) verso HPV 18, dopo un follow-up sino a 4 anni (valore medio di 3,6 anni).

	Gardasil	Placebo	% di efficacia a 2 anni (95% IC)	Gardasil	Placebo	% di efficacia*** al termine dello studio (95% IC)
	Numero di casi	Numero di casi		Numero di casi	Numero di casi	
	Numero di individui*	Numero di individui*		Numero di individui*	Numero di individui*	
CIN 2/3 o AIS correlati ad HPV 16/18	0 8487	53 8460	100,0 (92,9 - 100,0)	2** 8493	112 8464	98,2 (93,5,- 99,8)
CIN 3 correlate ad HPV 16/18	0 8487	29 8460	100 (86,5 - 100,0)	2** 8493	64 8464	96,9 (88,4,- 99,6)
AIS correlati ad HPV 16/18	0 8487	6 8460	100 (14,8 - 100,0)	0 8493	7 8464	100 (30,6-100,0)

\*Numero di individui con almeno una visita di follow-up dopo il 7° mese  
 \*\*sulla base dell'evidenza virologica, il primo caso di CIN 3 in una paziente cronicamente infetta con HPV 52 è probabile sia correlato causalmente all'HPV 52. Solamente in 1 degli 11 campioni è stato riscontrato HPV 16 (al mese 32,5) e non è stato rilevato nel tessuto raccolto ed esaminato durante la LEEP (Loop Electro-Excision Procedure). Nel secondo caso di CIN 3 osservato in una paziente infettata da HPV 51 al giorno 1 (in 2 su 9 campioni), l'HPV 16 è stato riscontrato in una biopsia al Mese 51 (in 1 su 9 campioni) e l'HPV 56 è stato rilevato in 3 su 9 campioni al Mese 52 su tessuto raccolto ed esaminato durante la LEEP.  
 \*\*\*I pazienti sono stati seguiti per un periodo sino a 4 anni (mediana 3,6 anni)  
 Nota: I valori percentuali e gli intervalli di confidenza sono stati normalizzati rispetto al tempo di follow-up per persona.

Figura 1.18: Analisi di efficacia di Gardasil verso le lesioni di alto grado del collo dell'utero nella popolazione PPE (tratta dal RCP del prodotto)

Nella popolazione *intention to treat* (ITT) l'efficacia di Gardasil verso CIN (1, 2, 3) o AIS correlati a HPV 16, 18, è stata del 51,8% (95%IC: 41,1-60,7) (figura 1.19).

L'efficacia verso VIN 2/3 correlate a HPV 6, 11, 16, 18, è stata del 73,3% (95% IC: 40,3-89,4), verso VaIN 2/3 correlate a HPV 6, 11, 16, 18, è stata dell'85,7% (95% IC: 37,6-98,4) e verso i condilomi genitali correlati a HPV 6, 11, 16, 18, è stata dell'80,3% (95% IC: 73,9-85,3) nei protocolli combinati al termine dello studio.

	Gardasil	Placebo	% di efficacia** a 2 anni (95% IC)	Gardasil	Placebo	% di efficacia** al termine dello studio (95% IC)
	Numero di casi	Numero di casi		Numero di casi	Numero di casi	
	Numero di individui*	Numero di individui*		Numero di individui*	Numero di individui*	
CIN 2/3 o AIS correlati ad HPV 16 o HPV 18	122 9831	201 9896	39,0 (23,3 - 51,7)	146 9836	303 9904	51,8 (41,1-60,7)
CIN 3 correlate ad HPV 16/18	83 9831	127 9896	34,3 (12,7 - 50,8)	103 9836	191 9904	46,0 (31,0-57,9)
AIS correlati ad HPV 16/18	5 9831	11 9896	54,3 (< 0 - 87,6)	6 9836	15 9904	60,0 (< 0-87,3)

\*Numero di individui con almeno una visita di follow-up dopo 30 giorni dal Giorno 1  
\*\*La percentuale di efficacia è calcolata sulla base dei protocolli combinati. L'efficacia per CIN 2/3 o AIS correlati ad HPV 16/18 si basa sui dati estratti dai protocolli 005 (solo endpoints correlati al tipo 16), 007, 013 e 015. I pazienti sono stati seguiti per un periodo fino a 4 anni (mediana 3,6 anni).  
Nota: i valori percentuali e gli intervalli di confidenza sono stati normalizzati rispetto al tempo di follow-up per persona.

**Figura 1.19:** Efficacia di Gardasil verso le lesioni di alto grado del collo dell'utero nella popolazione ITT modificata che includeva donne indipendentemente dallo stato per HPV al basale (tratta dal RCP del prodotto)

#### *Vaccino bivalente*

L'efficacia di Cervarix è stata valutata in donne di età compresa tra 15 e 25 anni, in due studi clinici di fase II e III, randomizzati, in doppio cieco, controllati con placebo.

Lo studio di Fase III (*Paavonen et al, 2007; Paavonen et al, 2009*), Papilloma TRIal against Cancer In young Adults (PATRICIA), ha arruolato donne senza tener conto della citologia basale, dello stato sierologico e di HPV DNA.

Nella popolazione ATP (nessuna violazione al protocollo) è stata rilevata un'efficacia del 92,9% verso sviluppo di CIN2/3 associate a HPV 16/18, in donne che all'arruolamento erano negative sia per la ricerca del DNA virale per i tipi 16/18 sia per anticorpi anti-HPV (analisi primaria). Il tempo medio di follow up è stato di 6,4 anni dopo la terza dose.

Parecchie lesioni classificate CIN2+ contenevano diversi tipi oncogeni. E' stata condotta un'ulteriore analisi per determinare l'efficacia del vaccino nei confronti delle lesioni con probabile associazione causale all'HPV-16 e/o all'HPV-18. Quest'analisi post-hoc ha stabilito un'associazione causale di un tipo di HPV con la corrispondente lesione sulla base della presenza del tipo di HPV presente nei campioni citologici precedenti al rilevamento della lesione. Sulla base di questa assegnazione di caso clinico, l'analisi ha escluso 6 casi di CIN2+ che non sono stati considerati come causalmente associati alle infezioni da HPV-16 o 18 acquisite durante lo studio, pertanto l'efficacia verso lesioni correlate ad HPV16/18 è risultata pari al 98,1%(95%CI:88,4-100,0) (figura 1.20).

	N	HPV-16 or HPV-18 DNA in lesion				HPV-16 or HPV-18 DNA in lesion and in preceding cytology samples (HPV type assignment algorithm)*			
		n	Event rate (96-1% CI)†	Vaccine efficacy (96-1% CI)	p value	n	Event rate (96-1% CI)†	Vaccine efficacy (96-1% CI)	p value
<b>ATP-E</b>									
<b>CIN2+</b>									
<b>HPV-16/18‡</b>									
Vaccine	7344	4	0.02 (0.01 to 0.06)	92.9% (79.9 to 98.3)	<0.0001	1	0.01 (0.00 to 0.03)	98.1% (88.4 to 100)	<0.0001
Control	7312	56	0.32 (0.24 to 0.42)	..	..	53	0.30 (0.22 to 0.40)	..	..
<b>HPV-16</b>									
Vaccine	6303	2	0.01 (0.00 to 0.05)	95.7% (82.9 to 99.6)	<0.0001	0	0.00 (0.00 to 0.03)	100% (91.0 to 100)	<0.0001
Control	6165	46	0.31 (0.22 to 0.42)	..	..	45	0.30 (0.22 to 0.41)	..	..
<b>HPV-18</b>									
Vaccine	6794	2	0.01 (0.00 to 0.05)	86.7% (39.7 to 98.7)	0.0013	1	0.01 (0.00 to 0.04)	92.3% (45.7 to 99.9)	0.0009
Control	6746	15	0.09 (0.05 to 0.16)	..	..	13	0.08 (0.04 to 0.14)	..	..
<b>CIN3+</b>									
<b>HPV-16/18‡</b>									
Vaccine	7344	2	0.01 (0.00 to 0.04)	80.0% (0.3 to 98.1)	0.0221	0	0.00 (0.00 to 0.02)	100% (36.4 to 100)	0.0038
Control	7312	10	0.06 (0.03 to 0.11)	..	..	8	0.05 (0.02 to 0.09)	..	..
<b>HPV-16</b>									
Vaccine	6303	2	0.01 (0.00 to 0.05)	67.2% (-97.1 to 97.2)	0.1749	0	0.00 (0.00 to 0.03)	100% (8.8 to 100)	0.0146
Control	6165	6	0.04 (0.01 to 0.09)	..	..	6	0.04 (0.01 to 0.09)	..	..
<b>HPV-18</b>									
Vaccine	6794	0	0.00 (0.00 to 0.02)	100% (-19.3 to 100)	0.0307	0	0.00 (0.00 to 0.02)	100% (-170.5 to 100)	0.1236
Control	6746	5	0.03 (0.01 to 0.07)	..	..	3	0.02 (0.00 to 0.06)	..	..

N=number of evaluable women in each group. n=number of evaluable women reporting at least one event in each group. ATP-E=according-to-protocol cohort for efficacy. TVC-E=total vaccinated cohort for efficacy. \*In cases with several HPV types, the lesion was assigned to the HPV types found in the lesion if the same types were found in at least one of the two preceding cytology samples. †Number of cases divided by sum of follow-up period (per 100 woman years); follow-up period started on day after third vaccine dose for the ATP-E cohort and day after first vaccine dose for the TVC-E. ‡Women were infected with one or both HPV types (thus, number of women with a HPV-16-associated lesion and number with a HPV-18-associated lesion might not equal number of women with a HPV-16/18-associated lesion).

**Table 1: Vaccine efficacy against cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or more (CIN2+) and grade 3 or more (CIN3+) associated with human papillomavirus (HPV)-16/18 in women who were DNA negative and seronegative at baseline for the corresponding HPV type**

**Figura 1.20:** Efficacia di Cervarix verso CIN2+ associate a HPV 16/18 nella popolazione ATP nell'analisi primaria e nell'analisi post-hoc (adattata da *Paavonen et al, 2009*)

Nella popolazione totale in studio (total vaccinated cohort, TVC), che comprendeva anche le donne che non avevano aderito strettamente al protocollo (purché avessero ricevuto almeno una dose di vaccino), l'efficacia del vaccino è stata valutata anche includendo nell'analisi le donne che avevano all'arruolamento evidenza di infezione, pregressa o in corso, da HPV (indipendentemente dal tipo). Quest'analisi ha mostrato un'efficacia pari al 52,8% verso le lesioni CIN2+ da HPV 16 e 18 e al 30,4% verso CIN2+ da ogni tipo di HPV (figura 1.21) e può considerarsi indicativa dell'efficacia attesa nei programmi vaccinali di catch up.

La stessa analisi è stata effettuata su un gruppo della TVC che includeva solo le donne che all'arruolamento erano DNA-negative per i 14 tipi di HPV studiati (16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) e sieronegative per HPV 16 e 18; tale popolazione (TVC-naive) è rappresentativa delle giovani donne prima del debutto sessuale. Come mostrato in figura 1.22, l'efficacia è risultata pari al 98,4% verso le lesioni CIN2+ da HPV 16 e 18 e al 70,2% verso CIN2+ da ogni tipo di HPV.

	N	n	Vaccine efficacy (96-1% CI)	p value		N	n	Vaccine efficacy (96-1% CI)	p value
<b>TVC</b>					(Continued from previous column)				
<b>CIN2+</b>					<b>HPV-31/33/45/52/58</b>				
HPV-16/18 DNA in lesion					Vaccine	5449	15	68.2% (40.5 to 84.1)	<0.0001
Vaccine	8667	82	52.8% (37.5 to 64.7)	<0.0001	Control	5436	47	--	--
Control	8682	174	--	--	<b>Irrespective of HPV DNA in lesion</b>				
<b>HPV-31/33/45/52/58</b>					Vaccine	5449	33	70.2% (54.7 to 80.9)	<0.0001
Vaccine	8667	95	31.5% (9.1 to 48.5)	0.0046	Control	5436	110	--	--
Control	8682	139	--	--	<b>CIN3+</b>				
<b>Irrespective of HPV DNA in lesion</b>					HPV-16/18 DNA in lesion				
Vaccine	8667	224	30.4% (16.4 to 42.1)	<0.0001	Vaccine	5449	0	100% (64.7 to 100)	<0.0001
Control	8682	322	--	--	Control	5436	13	--	--
<b>CIN3+</b>					<b>Irrespective of HPV DNA in lesion</b>				
HPV-16/18 DNA in lesion					Vaccine	5449	3	87.0% (54.9 to 97.7)	<0.0001
Vaccine	8667	43	33.6% (-1.1 to 56.9)	0.0422	Control	5436	23	--	--
Control	8682	65	--	--	<b>Reduction in number of colposcopy referrals†</b>				
<b>Irrespective of HPV DNA in lesion</b>					Vaccine	5449	354	26.3% (14.7 to 36.4)	<0.0001
Vaccine	8667	77	33.4% (9.1 to 51.5)	0.0058	Control	5436	476	--	--
Control	8682	116	--	--	<b>Reduction in number of cervical excision procedures</b>				
<b>Reduction in number of colposcopy referrals*</b>					Vaccine	5449	26	68.8% (50.0 to 81.2)	<0.0001
Vaccine	8667	1107	10.4% (2.3 to 17.8)	0.0055	Control	5436	83	--	--
Control	8682	1235	--	--	<b>N=number of evaluable women in each group. n=number of evaluable women reporting at least one event in each group. *In the total vaccinated cohort (TVC), 1107 women were referred for 2458 colposcopies in the vaccine group and 1235 were referred for 2723 colposcopies in the control group. †In the total vaccinated naive cohort (TVC-naive), 354 women were referred for 656 colposcopies in the vaccine group and 476 were referred for 916 colposcopies in the control group. In the TVC analysis, women were included regardless of their HPV DNA or serostatus at month 0.</b>				
<b>Reduction in number of cervical excision procedures</b>					<b>Table: Vaccine efficacy against cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or more (CIN2+), or grade 3 or more (CIN3+), colposcopy referrals, and cervical excision procedures associated with human papillomavirus (HPV)-16/18, five non-vaccine oncogenic types, and irrespective of HPV DNA in lesion</b>				
Vaccine	8667	180	24.7% (7.4 to 38.9)	0.0035					
Control	8682	240	--	--					
<b>TVC-naive</b>									
<b>CIN2+</b>									
HPV-16/18 DNA in lesion									
Vaccine	5449	1	98.4% (90.4 to 100)	<0.0001					
Control	5436	63	--	--					

Figura 1.21: Efficacia di Cervarix verso CIN2+ nella coorte totale delle vaccinate (TVC) e nella popolazione naive (TVC-naive), includendo nell'analisi le donne che all'arruolamento presentavano evidenza di progressa o corrente infezione da HPV (adattata da Paavonen et al, 2009).

### Estensione dell'efficacia dei vaccini dalle giovani donne alle adolescenti

Per ambedue i vaccini sono stati condotti studi clinici che hanno confrontato l'immunogenicità del vaccino in bambini e adolescenti (10-14 anni per il Cervarix e 9-15 anni per il Gardasil) all'immunogenicità misurata nelle ragazze più grandi per cui erano disponibili dati di efficacia. Quasi tutti i soggetti (99,1-100%) hanno sierconvertito ad entrambi i tipi di HPV 16 e 18 dopo la terza dose con medie geometriche anticorpali (GMT) almeno 2 volte maggiori di quelle delle ragazze più grandi (Block et al, 2007).

Sulla base di tale bridging di immunogenicità, è estrapolata l'efficacia dei due vaccini anche nel gruppo di ragazze più piccole.

### Trial clinici su donne giovani-adulte

Uno studio condotto da Schwarz e coll (*Schwarz et al, 2009*) su 437 donne di 26-55 anni ha rilevato una buona immunogenicità del vaccino bivalente in questa fascia di età con un tasso di sierconversione del 100% e sieropositività mantenuta fino al 24° mese, termine del follow up. Le GMT sono risultate inferiori rispetto al gruppo 15-25, come atteso, ma con un trend sovrapponibile (picco al 7° mese e plateau al 24° mese). Al 24° mese è stato raggiunto un plateau sovrapponibile a quello raggiunto nelle donne più giovani negli studi di efficacia con follow up a 6,4 anni. Unica eccezione è rappresentata dagli anticorpi contro l'HPV 18 nel gruppo di 46-55 anni, che a 24 mesi è risultato inferiore a plateau sopra discusso ma comunque superiore al livello anticorpale indotto dall'infezione naturale (figura 1.22).

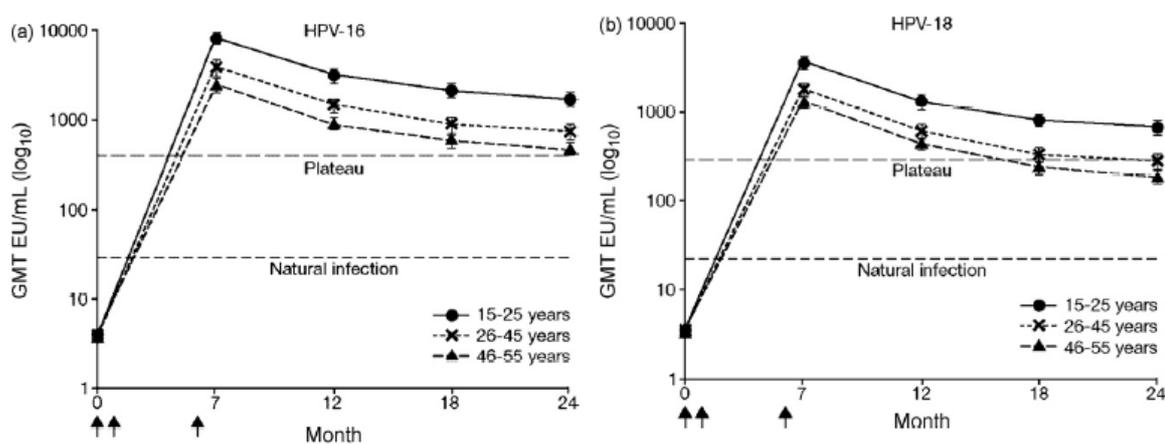


Figura 1.22: Andamento dei livelli anticorpali verso HPV 16 e 18 nel siero di donne di 15-55 anni (adattata da Schwarz et al, 2009)

Oltretutto alti livelli anticorpali sono stati rilevati fino al 24° mese anche nel muco cervicale ed è stata riscontrata una correlazione positiva tra anticorpi sierici e cervicali, indicando una trasudazione delle immunoglobuline G dal siero al sito dell'infezione.

Pertanto si può ipotizzare un'efficacia elevata del vaccino contro lesioni da HPV 16 e 18 anche nelle donne di 26-55 anni naive a HPV 16/18. In questo gruppo di donne, la percentuale di donne sieronegative ad HPV 16/18 è risultata pari al 66%.

Per quanto riguarda il vaccino tetravalente, è stato effettuato uno studio (FUTURE III) randomizzato, in doppio cieco, controllato (*Muñoz et al, 2009; RCP Gardasil*) per valutare l'immunogenicità, la sicurezza e l'efficacia del vaccino in oltre 3800 donne di 24-45 anni di età, con durata mediana del follow- di 2,2 anni.

Oltre il 97% delle donne sieronegative convertirono verso i 4 tipi di HPV con titoli anticorpali paragonabili a donne più giovani per HPV 16 e lievemente più bassi per HPV 18,6 e 11.

Nella popolazione per protocollo (complessivamente il 67% delle donne era naïve, negative alla PCR e sieronegative, per tutti e 4 i tipi di HPV all'arruolamento) l'efficacia di Gardasil verso l'incidenza combinata di infezione persistente, condilomi genitali, lesioni della vulva e della vagina, CIN di qualunque grado, AIS, e cancri del collo dell'utero, correlati ai tipi di HPV 6, 11, 16 o 18, è stata del 90,5% (95% IC: 73,7 – 97,5); dell'83,1% (95% IC: 50,6 – 95,8) considerando solo le lesioni/infezioni persistenti correlate ad HPV 16 e 18.

Nella popolazione ITT, l'efficacia del vaccino quadrivalente verso l'incidenza combinata di infezione persistente/lesioni correlate all'HPV tipi 6, 11, 16 o 18 è risultata 30,9% (95% IC: 11,1 – 46,5). Nessuna efficacia statisticamente significativa (22,6% con 95% IC: -2,9 – 41,9) di Gardasil è stata dimostrata considerando solo HPV tipi 16 o 18.

Inoltre, in entrambi gli studi (*Muñoz et al, 2009; Schwarz et al, 2009*) le donne inizialmente sieropositive hanno mostrato una risposta immune più alta rispetto alle donne negative al baseline.

### **Considerazioni sulle strategie in donne sessualmente attive**

Olsson e coll (*Olsson et al, 2008; Olsson et al, 2009*) hanno valutato l'efficacia vaccinale in donne di 16-26 anni con evidenza di pregressa infezione da uno o più tipi di HPV contenuti nel vaccino (HPV sieropositive e DNA sieronegative). In questo gruppo (che rappresentava il 15% di un campione di oltre 18.000 donne), l'efficacia vaccinale verso lesioni cervicali o ano-genitali esterne da un HPV contenuto nel vaccino (a cui erano sieropositive ma DNA negative) all'arruolamento è risultata del 100%, con 95%CI pari a 28,7-100 e 39,5-100 rispettivamente.

Secondo alcuni autori (*Adams et al, 2009; Wright Jr et al, 2008*), che hanno pubblicato review sull'argomento, la maggior parte delle donne sessualmente attive beneficerebbero della vaccinazione contro l'HPV, in vista delle seguenti considerazioni:

- l'efficacia del vaccino in donne adulte naïve verso i tipi contenuti nel vaccino è elevata come nelle donne più giovani;
- nelle donne più adulte la sieroconversione è elevata e a due anni di follow up i titoli anticorpali rimangono elevati;
- i titoli anticorpali indotti dalla vaccinazione potrebbero proteggere dalle infezioni e re-infezioni, anche in vista del secondo picco di infezione da HPV riscontrato in età perimenopausale;

- il rischio di re-infezione è stato documentato;
- il rischio di persistenza dell'infezione aumenta con l'età;
- il vaccino si è dimostrato efficace anche in donne HPV sieropositive e DNA sieronegative (*Olsson et al, 2008*);
- i dati presenti in letteratura indicano che la proporzione di donne sessualmente attive che sono HPV-DNA positive oppure HPV-sieropositive per HPV 16 o 18 è ≤ 20-30% (*Wright Jr TC et al, 2008*);
- nei trial clinici solo l'1% delle donne è risultato DNA positivo sia per HPV 16 e 18 e quindi non beneficerà certamente del vaccino.

### **Cross-protezione**

L'immunità umorale indotta dai vaccini VLP è fondamentalmente tipo-specifica, ma occorre considerare che c'è una non trascurabile omologia nella sequenza aminoacidica della proteina L1 tra i tipi di HPV strettamente correlati: HPV 16/31, HPV 31/33, HPV 18/45.

Nel trial di fase III di Cervarix c'è l'evidenza che il vaccino bivalente sia parzialmente cross-protettivo contro lesioni CIN 2+ associate a HPV 31, 33 e 45 (*Paavonen et al, 2009*). Nella popolazione per protocollo è stata riscontrata un'efficacia vaccinale verso CIN2+ associate ai 12 tipi (31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) non contenuti nel vaccino pari al 54% (95%CI: 34.0-68.4) in donne DNA negative al baseline per i corrispondenti tipi di HPV.

Anticorpi cross-reattivi sono stati rilevati anche per il vaccino quadrivalente (*Brown et al, 2009*). Un'efficacia del 32,5% (95%CI:6-51,9) è stata riscontrata verso 10 tipi non contenuti nel vaccino (31,33,35,39,45,51,52,56,58,59) in donne DNA negative per i tipi testati di HPV. Considerando i tipi di HPV singolarmente, la significatività statistica è stata riscontrata per HPV 31.

Questi dati sulla cross-protezione sono importanti poiché i ceppi HPV 45, 31 e 33 sono associati a circa il 12% dei cancri della cervice; considerando che HPV 16 e 18 sono associati al 70% dei CC, questi cinque genotipi insieme sono responsabili di oltre l'80% dei CC. Inoltre HPV 16, 18 e 45 sono responsabili di oltre il 90% degli adenocarcinomi (*Piccoli et al, 2009*).

Dati più certi su questo punto si avranno da trial con largo potere statistico, poiché la prevalenza d'infezioni con questi tipi di virus nella popolazione è bassa.

Un'altra importante questione riguarda in particolare l'HPV 16, di cui, oltre al tipo principale, sono state identificate delle varianti; evidenze strutturali e sperimentali mostrano che gli

anticorpi neutralizzanti, rivolti contro gli epitopi *wild-type* di HPV 16, neutralizzano in maniera efficiente anche le varianti conosciute di L1 HPV 16 (Carozzi, 2007).

### **Profilo di sicurezza del vaccino**

Nei trial clinici condotti, entrambi i vaccini sono stati ben tollerati. Le reazioni più frequenti associate significativamente alla vaccinazione sono la febbre e le reazioni locali nella sede di iniezione (dolore, gonfiore e arrossamento nel sito d'iniezione). Come riportato nei RCP dei prodotti, queste reazioni hanno avuto una frequenza  $\geq 10\%$ .

La maggior parte degli effetti collaterali erano rappresentati da reazioni locali nel sito di iniezione, riportate dal 60-84% delle donne vaccinate con Gardasil (Block et al, 2007; Einstein et al, 2009; Olsson et al, 2007; Olsson et al, 2009; FUTURE II, 2007) e da oltre il 70% delle vaccinate con Cervarix (Carozzi, 2007; Einstein et al, 2009; Descamps et al, 2009). Tra le reazioni locali la più segnalata è il dolore nel sito di iniezione, per lo più di intensità lieve-moderata. La febbre è riportata nel 9-14% dei casi (Block et al, 2007; Carozzi, 2007; Einstein et al, 2009; Olsson et al, 2007).

Come per tutti i farmaci, sono state segnalate raramente anche reazioni di possibile natura allergica (broncospasmo e orticaria). In casi molto rari ( $<0,2\%$ ) il ciclo vaccinale è stato interrotto per una reazione avversa grave (FUTURE II, 2007).

Non sono stati effettuati studi specifici sul vaccino in donne in gravidanza; nelle donne che durante lo studio hanno presentato una gravidanza, non sono state riportate differenze significative nella tipologia di anomalie o nella proporzione di gravidanze con esito negativo nelle donne che avevano ricevuto il vaccino ed in quelle che avevano ricevuto il placebo. I dati ottenuti non sono comunque sufficienti per raccomandarne l'uso in gravidanza.

Nello studio di Einstein e coll (Einstein et al, 2009) che hanno effettuato un confronto testa a testa tra i due vaccini in commercio in termini di immunogenicità e reattogenicità, l'incidenza di sintomi riferiti (sia locali che sistemici) è risultata generalmente più alta nelle donne immunizzate con Cervarix. In ogni caso, comunque, tale differenza non ha influenzato la compliance al ciclo vaccinale con tre dosi, che è risultata simile tra i due vaccini ( $\geq 84\%$ ).

## 1.5 Strategie vaccinali per HPV

Nell'Agosto 2006 l'OMS (*WHO 2006*) ha pubblicato una guida per l'introduzione dei vaccini anti-HPV, che riporta che in base alle evidenze disponibili le pre-adolescenti tra 9-13 anni di età rappresentano il target primario della vaccinazione. La somministrazione prima dell'inizio dei rapporti sessuali è infatti vantaggiosa perché, come dimostrato dagli studi di efficacia, induce una protezione elevata prima di un eventuale contagio con HPV.

L'OMS ha evidenziato, quindi, l'importanza di identificare in ogni nazione la strategia più appropriata per offrire il vaccino in questa popolazione.

Le ragazze tra 14 e 26 anni di età vengono considerate come target secondario di vaccinazione, e viene sottolineata la necessità di maggiori dati di costo-efficacia, sia per questa popolazione che per i giovani maschi. Inoltre, nella guida OMS viene riportato come la vaccinazione in questa fascia di età avrà probabilmente un impatto di salute più limitato, ed è importante che non faccia deviare le risorse destinate alla vaccinazione delle pre-adolescenti.

Gli Stati Uniti sono stati la prima nazione a aver introdotto la vaccinazione su larga scala. Negli USA la vaccinazione di routine, con 3 dosi, è infatti raccomandata per le ragazze di 11-12 anni, con possibilità di anticiparla fino a 9 anni. Il catch-up è raccomandato per le ragazze di 13-26 anni mai vaccinate o che non hanno completato il ciclo vaccinale (*Markovitz et al, 2007; ACIP Provisional Recommendations for HPV vaccine, 2009*). Dal 2009 è previsto anche l'uso del vaccino bivalente.

Il Programma Vaccinale Australiano per l'HPV, avviato nell'Aprile del 2007, prevede la vaccinazione delle ragazze di 12-13 anni nel primo anno di scuola secondaria; nei primi due anni del programma era previsto un programma di catch up diretto alle ragazze di 13-18 anni tramite la scuola e alle ragazze tra 18-26 anni tramite i medici di base, che si è concluso nel 2009 (*Australian Government, 2007*).

In Europa, il vaccino quadrivalente è stato approvato nel settembre 2006 e il bivalente nel settembre 2007. Nell'ambito del progetto VENICE (Vaccine European New Integrated collaboration Effort, available at <http://venice.cineca.org/>), un network europeo che si occupa di vaccinazioni, sono state condotte varie survey per monitorare l'introduzione del vaccino in Europa. Secondo gli ultimi risultati disponibili, a dicembre 2008 il vaccino per l'HPV era stato introdotto nel calendario vaccinale di 15 paesi europei e in altri 7 il vaccino era raccomandato pur non essendo inserito nel programma nazionale (*Lévy-Bruhl et al, 2009*). Nella figura 1.23 sono riportate le caratteristiche delle strategie vaccinali dei 15

paesi che hanno introdotto la vaccinazione contro l'HPV. La situazione è in continuo cambiamento; un'ulteriore survey è in corso.

<b>Details of HPV vaccination introduction to immunisation schedules (countries with catch-up vaccination).</b>				
Countries	Date of decision	Target group for routine vaccination		Catch-up
		Gender	Age	
France	March 2007	Female	14 y	15-23 y (or having started sexual life < 1y ago)
United Kingdom	October 2007	Female	12-13 y	13-18 y
Portugal	November 2007	Female	13 y	17 y (2009-2011)
Italy	December 2007	Female	11 y	According to regions
Denmark	January 2008	Female	12-14 y	F born in 1993-1995 (13-15 y in 2008) October 2008/end 2010
Luxembourg	March 2008	Female	12 y	13-18 y
Netherlands	November	Female	12 y	13-16 y
<b>- Details of HPV vaccination introduction to immunisation schedules (countries without catch-up vaccination).</b>				
Countries	Date of decision	Target group for routine vaccination		
		Gender	Age	
Austria	November 2006	Both	Females before sexually actives; boys, young males	
Germany	March 2007	Female	12-17 y	
Spain	October 2007	Female	1 Cohort between 11 and 14 y differing according to region	
Belgium	November 2007	Female	10-13 y	
Greece	January 2008	Female	12-15 y	
Ireland	August 2008	Female	12-13 y	
Norway	December 2008	Female	12 y	
Romania	2008	Female	10-11 y	

**Figura 1.23:** Stato di introduzione del vaccino per l'HPV in Europa a dicembre 2008 (adattata da Lévy-Bruhl et al, 2009) Strategie vaccinali in Europa a dicembre 2008 (adattata da Lévy-Bruhl et al, 2009)

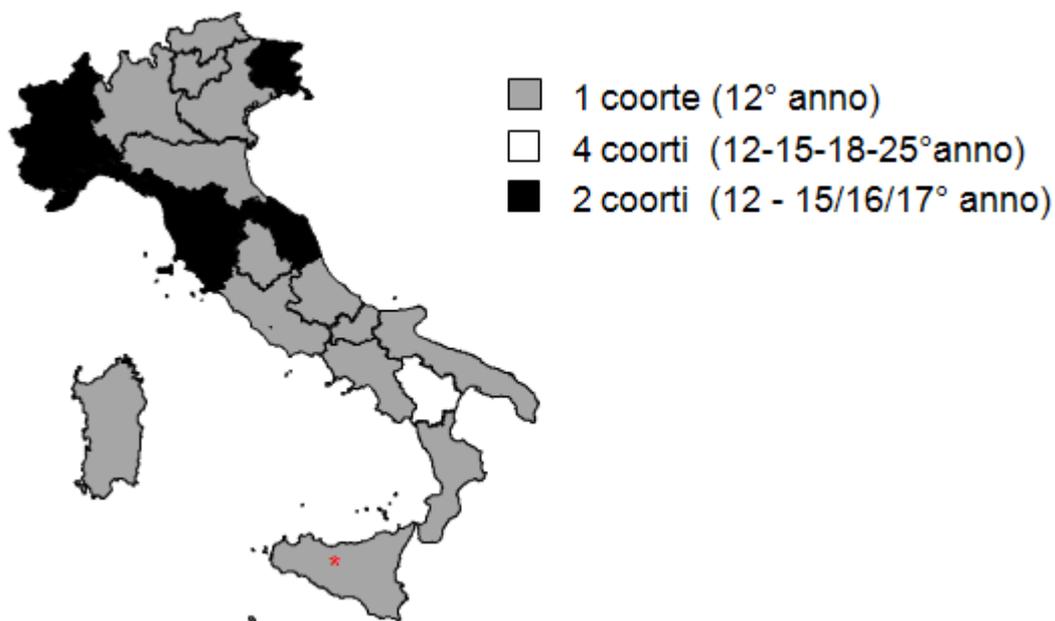
In Italia, nel Dicembre 2007 l'Intesa tra il Ministero della Salute e le Regioni e Province autonome ha delineato la strategia per l'offerta attiva su scala nazionale del vaccino contro l'infezione da HPV. In accordo con le raccomandazioni dell'OMS (*WHO 2006*), il target primario della campagna di vaccinazione contro l'HPV è rappresentato dalle ragazze nel dodicesimo anno di vita. La scelta delle ragazze dodicenni, oltre a garantire la massima efficacia vaccinale per l'assenza pressoché totale di pregressi contagi, permette di rivolgersi a ragazze che frequentano la scuola dell'obbligo facilitando l'offerta attiva anche a gruppi a rischio di deprivazione sociale, di sfruttare le occasioni di contatto con le strutture vaccinali degli adolescenti, già target di altri interventi vaccinali, di facilitare la comunicazione con le famiglie e approfittare dell'influenza genitoriale importante per programmi relativi a tematiche sensibili quali le malattie a trasmissione sessuale (*Intesa Stato-Regioni del 20/12/2007; Parere CSS dell'11/01/2007*).

Le Regioni hanno iniziato la campagna per la vaccinazione anti-HPV in una finestra temporale tra Luglio 2007 e Novembre 2008 (*ISS/CNESPS e Gruppo Sanità Pubblica del Coordinamento Interregionale della Prevenzione*).

Secondo una ricognizione effettuata dal Reparto Epidemiologia delle Malattie Infettive del CNESPS dell'Istituto Superiore di Sanità e dal Gruppo Sanità Pubblica del Coordinamento

Interregionale della Prevenzione, tutte le Regioni e PA prevedono l'offerta attiva e gratuita per le dodicenni. Cinque regioni offrono il vaccino gratuitamente e attivamente ad una seconda coorte di età compresa: Friuli Venezia Giulia alle ragazze nel 15° anno; Valle D'Aosta, Piemonte, Liguria e Toscana nel 16°. La Regione Marche ha in programma di offrire il vaccino anche alle ragazze nel 17° anno. Infine la Basilicata offre il vaccino a quattro coorti: 12enni, 15enni, 18enni e 25enni (figura 1.24).

Quasi tutte le Regioni prevedono il pagamento agevolato per altre fasce d'età, fuori dal target dell'offerta attiva e gratuita.



\*informazioni tratte dai documenti regionali

**Figura 1.24:** Strategie vaccinali per l'HPV nelle Regioni italiane: coorti con offerta attiva e gratuita (dati CNESPS/ISS e Gruppo Sanità Pubblica del Coordinamento Interregionale della Prevenzione aggiornati a marzo 2010).