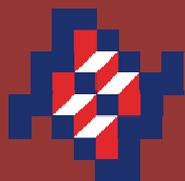
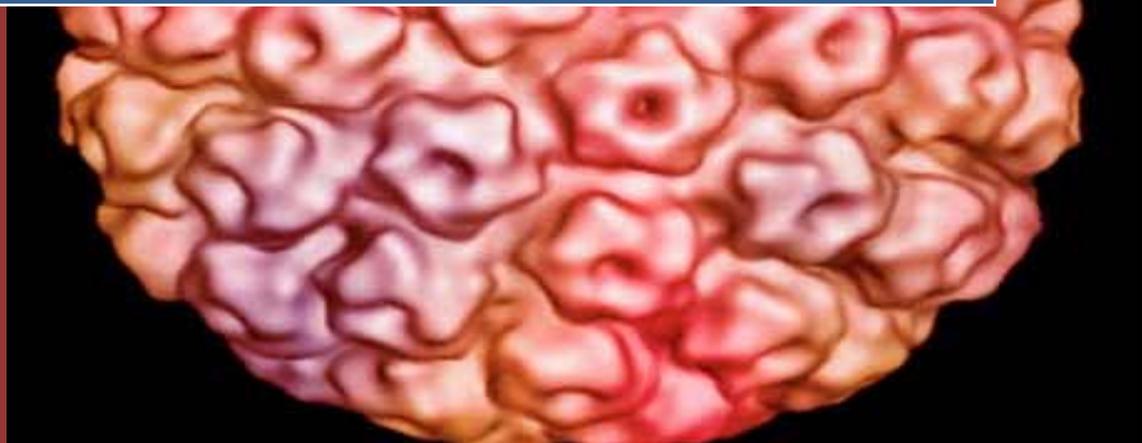


2012

Seguimiento del esquema
ampliado de vacuna contra el
VPH



Instituto Nacional
de Salud Pública

17/07/2012

Contenido

Resumen ejecutivo

- Planteamiento del problema
- Consideraciones generales de las vacunas contra VPH
- Resultados de los ensayos de vacunas profilácticas contra VPH
- Inmunogenicidad de las vacunas contra VPH
- Antecedentes de vacunación con periodicidad de las dosis de 0, 2 y 60 meses
- Conclusiones y recomendaciones del Strategic Advisory Group of Experts (SAGE)
- Vacunación contra VPH en México. El reto de países con ingresos medios
- Recomendación del grupo asesor de vacunación contra VPH en México
- Escenarios de prevención de cáncer cervical en México
- Hipótesis
- Objetivos
- Metodología
- Selección de la población de estudio
- Criterios de inclusión
- Recolección de muestras serológicas
- Envío de Muestras serológicas
- Estrategias de reclutamiento
- Obtención de información
- Aplicación de vacunas y Seguimiento
- Procedimientos Programados
- Vacunación
- **1 er Informe de Avances 2012**
- **Logística, Obtención de Muestras Mes 21**
- **Cronograma de determinación**
- **2do Informe de Avances**
- **Informe Final del Periodo 2012**

Resumen Ejecutivo:

El consejo nacional de vacunación aprobó en septiembre de 2009 la política de vacunación contra VPH en niñas de 9 años con un esquema extendido de 0, 6 y 60 meses, bajo el siguiente fundamento:

- La inducción de anticuerpos por la vacuna es más alta que la producida por exposición natural al virus
- La respuesta inmune de las niñas de 9 a 11 años de edad es similar a la obtenida después de tres dosis en mujeres entre los 16 y los 26 años de edad
- La administración de la tercera dosis será en el momento en el que se requiere la máxima protección, es decir, alrededor del inicio de relaciones sexuales

Por esta razón, comisionó al Instituto Nacional de Salud Pública para monitorear los niveles de anticuerpos en mujeres vacunadas contra VPH para determinar no inferioridad del esquema extendido en niñas de 9 años en comparación con el esquema tradicional con 3 dosis en mujeres entre 18 y 24 años. Para tal efecto, se conformará una cohorte centinela para evaluar niveles de inmunogenicidad en 3 grupos de edad y estratificadas por el tipo de vacuna. La hipótesis que se plantea es que en niñas de 9 años a las que se les aplica un esquema ampliado de vacunación de VPH (0-6-60), presentan niveles de inmunogenicidad contra anticuerpos de VPH que no son inferiores a los que presentan mujeres adultas a las que han sido aplicado el esquema tradicional (0-1/2-6).

Planteamiento del problema

El cáncer cervical es reflejo de enorme inequidad social de las mujeres que lo sufren¹. En los países con elevada incidencia y mortalidad por tumores que son prevenibles, se han observado grandes disparidades en cuanto al acceso a la atención y tratamiento oportuno, que reflejan en gran medida las enormes desigualdades entre sus ciudadanos². En la prevención y control del cáncer cervical se han identificado diversas dimensiones de inequidad, la primera de ellas es el acceso desigual a los servicios de salud en mujeres pobres³.

Adicionalmente, se ha documentado una mala calidad y escasa infraestructura en programas de prevención y control del cáncer cervical en áreas rurales⁴. En el momento actual, la prevención primaria con vacunación contra virus de papiloma humano (VPH) es inaccesible por el elevado costo^{5,6}; y finalmente, existe una inequidad de género⁷, no sólo porque la enfermedad es propia de las mujeres, sino porque en muchas poblaciones, se privilegia la salud de los hombres en detrimento de las mujeres⁸.

Durante los últimos 25 años en México se han presentado oficialmente más de 100,000 muertes por cáncer cervical y partir del año 2006, se constituyó como la segunda causa de muerte por tumores malignos en la mujer, después del cáncer de mama. A pesar de que existe una disminución significativa de la mortalidad por cáncer cervical a partir de la década de los 90s, en gran medida atribuido a la disminución de las tasas de natalidad⁹, persiste en México un elevado incremento en el número de casos por cáncer cervical en áreas rurales, a lo que hay que dar una respuesta de prevención y control inmediata. Por esta razón deben de implementarse acciones inmediatas para enfrentar la agenda inconclusa, dar una respuesta innovadora a las miles de mujeres mexicanas que actualmente sufren neoplasia cervical.

Consideraciones generales de las vacunas contra VPH

Los tipos de VPH 16 y 18 son responsables de alrededor del 70% de los casos de cáncer cervical invasor¹⁰, así como de una alta proporción de cáncer anogenital¹¹ y un menor porcentaje de neoplasias en cuello y cabeza¹².

Recientemente se han introducido en los programas de inmunización de varios países de ingresos altos y en algunos de ingresos medios, dos vacunas para la profilaxis de las infecciones por VPH con los tipos 16 y 18¹³:

- ⇒ Cervarix. Vacuna bivalente, con dos proteínas antigénicas no infecciosas, para VPH 16 y 18.
- ⇒ Gardasil. Vacuna tetravalente, con cuatro proteínas antigénicas para VPH 16, 18, 6 y 11, las dos últimas para la prevención de verrugas genitales y/o papilomatosis respiratoria recurrente.

Resultados de los ensayos de vacunas profilácticas contra VPH

Existen diversos hallazgos claves respecto a la efectividad de las vacunas profilácticas contra VPH^{14,15,16}, entre ellos se encuentran:

1. Eficacia del 100% para la prevención de lesiones relacionadas a VPH 16-18, en mujeres antes de que inicien su vida sexual o que estén libres de la infección.
2. En mujeres con infección prevalente al VPH 16/18, la aplicación de vacunas no ha evidenciado un efecto¹⁷.
3. Buena persistencia de anticuerpos durante 7 años¹⁸
4. Aceptable perfil de seguridad¹⁹

A este respecto, los resultados de los ensayos clínicos que se han desarrollado en más de 40 áreas geográficas a nivel mundial²⁰, han referido que las vacunas contra VPH son altamente eficaces contra infección persistente por VPH a los 6 y 12 meses²¹, contra cualquier tipo de neoplasia intraepitelial cervical²²; en vacunas tetravalentes, también han sido eficientes contra lesiones genitales externas²³, contra enfermedad pre-invasiva en vulva y vagina (100%) y en un 99% en la prevención de verrugas genitales. Actualmente, sin embargo, existen diversas controversias que serán

dilucidadas en el futuro. Una de ellas es en la vacuna bivalente contra 16 y 18, sus patrocinadores han referido un mayor nivel de anticuerpos cuando se utiliza adyuvante AS04, revelado en un estudio de comparación²⁴. Lo que ha sugerido un mayor nivel de inmunogenicidad²⁵, cuyo impacto, en comparación con la vacuna tetravalente, no es conocido y posiblemente, no se conocerá a mediano plazo. Sin embargo, el estudio concluye que estudios de seguimiento a largo plazo podrán dar evidencia de esa posible diferencia.

El programa de Gardasil ha incluido la inmunización de hombres, teniendo como objetivos la prevención de la enfermedad y la reducción de la transmisibilidad de la infección. En relación con esta vacuna tetravalente contra los VPH 6, 11, 16 y 18, se ha documentado la utilidad para prevenir otro tipo de lesiones, entre ellas cánceres anogenitales, que incluyen el vulvar, vaginal y potencialmente contra cáncer anogenital en hombres que tienen sexo con hombres²⁶. Asimismo, se ha documentado la posible prevención de otras enfermedades, como la papilomatosis respiratoria recurrente²⁷, una pequeña fracción prevenible de cáncer orofaríngeo²⁸ así como también NIC de bajo grado, NIVA bajo grado y LGE.

Actualmente, se han iniciado líneas de investigación de VPH asociado a cáncer de piel²⁹ y existen nuevos desarrollos tecnológicos con nuevas generaciones de vacunas polivalentes contra VPH, que incluirán una protección contra 9 genotipos³⁰.

Una limitación del uso de vacunas contra VPH es que éstas no tienen impacto cuando se administran en sujetos que cursan con infecciones de los tipos de VPH contenidos en la vacuna. Recientemente, sin embargo, se ha documentado que mujeres con seropositividad a VPH 16 y 18 en ausencia de infección clínica por VPH (ADN de VPH negativo), pueden beneficiarse con el uso de la vacuna³¹.

Inmunogenicidad de las vacunas contra VPH

Con respecto a la inmunogenicidad de las vacunas no se ha identificado una correlación de protección inmunológica en los vacunados, es decir, no se conoce el nivel mínimo requerido de anticuerpos que se correlacionen con protección clínica, lo que se ha establecido es la correlación entre presencia de anticuerpos y efecto profiláctico. Sin embargo, la inmunogenicidad se ha relacionado con la edad, y los niveles de anti-VPH en el mes séptimo con un esquema de tres dosis son estadísticamente más altos en las adolescentes menores de 12 años, en comparación con las adolescentes y mujeres de más edad³².

En los estudio de inmunogenicidad llevados a cabo en los ensayos clínicos de vacunas contra VPH, es consistente la observación de mayor pico de anticuerpos en el séptimo mes del inicio de la vacunación³³. Posteriormente, se produjo un descenso paulatino de las GMTs (títulos medios geométricos de IgG) y al llegar al mes 24 se estabilizaron, manteniéndose constantes hasta el mes 60³⁴.

La existencia de una respuesta inmunitaria de memoria se puso en evidencia en los sujetos previamente seropositivos frente a un VPH 16-18, cuando se les administró la vacuna y se observó un aumento considerable del título de anticuerpos frente a dicho VPH³⁵. Por otra parte, y más importante aún, es el hecho de que a un subconjunto de individuos (aproximadamente 80 sujetos), se les administró una dosis extra (cuarta dosis) de vacuna a los 60 meses de la primera vacunación y se detectó una rápida y vigorosa respuesta inmunitaria de memoria frente a los cuatro tipos de VPH incluidos en la vacuna, que excedió los niveles de GMTs observados al séptimo mes de iniciada la vacunación³⁶.

Para la vacuna bivalente la inmunogenicidad en mujeres de 10 a 17 años de edad se estableció en dos ensayos clínicos realizados en niñas y adolescentes de esta edad, todos los sujetos seroconvirtieron para ambos tipos de VPH, 16 y 18, después de la tercera dosis (en el mes 7), con unos GMTs al menos 2 veces más elevados en comparación con mujeres vacunadas de 15 a 25 años³⁷.

Se conoce que la respuesta inducida de anticuerpos por la vacuna es mucho más alta que la que ocurre con la infección natural y que la respuesta inmune de las niñas de 9 a 11 años después de dos dosis de vacuna es similar o mayor, a la obtenida después de tres dosis en mujeres de 16 a 26 años de edad, para las cuales se ha probado la eficacia de la vacuna³⁸.

Con estos antecedentes y desde la perspectiva de los servicios de salud, un esquema inicial con dos dosis y una tercera extendida tiene ventajas en su administración, ya que es más sencilla la organización de las estrategias para completar un esquema inicial de dos dosis, con una tercera a los 60 meses, debido a que se contará con el apoyo de la SEP para elaborar un registro de mujeres que estudian en escuelas oficiales.

Antecedentes de vacunación con periodicidad de las dosis de 0, 2 y 60 meses

El National Advisory Committee on Immunization (NACI) en Canadá ha identificado la inmunogenicidad de dos dosis de vacuna y actualmente desarrolla una intervención en tres provincias de Canadá: British Columbia, Quebec y Nova Scotia que plantea el esquema con vacunación a los 0, 2 y 60 meses³⁹. Esta iniciativa es una de las 10 más relevantes que se implementan sobre la vacuna contra VPH en Canadá. Los argumentos para este tipo de intervención son los siguientes:

- La inducción de anticuerpos por la vacuna es más alta que la producida por exposición natural al virus
- La respuesta inmune de las niñas de 9 a 11 años de edad es similar a la obtenida después de tres dosis en mujeres entre los 16 y los 26 años de edad
- De acuerdo con estudios puente, nada indica que la vacuna será menos efectiva si se administra bajo un esquema extendido. Las intervenciones que se realizan regionalmente en Canadá son para determinar la inmunogenicidad y eficacia con este esquema.
- La administración de la tercera dosis será en el momento en el que se requiere la máxima protección, es decir, alrededor del inicio de relaciones sexuales.
- Una dosis administrada a los cinco años de la primera vacunación, tuvo una respuesta de anticuerpos más alta que la obtenida durante la vacunación primaria, esta respuesta también ha sido observada con la vacuna contra la hepatitis B⁴⁰.

Conclusiones y recomendaciones del Strategic Advisory Group of Experts (SAGE)

Las siguientes son las conclusiones y recomendaciones del Strategic Advisory Group of Experts (SAGE) sobre inmunizaciones, de la Organización Mundial de la Salud, en la reunión de noviembre de 2008⁴¹

- La introducción de la vacuna profiláctica contra el virus del papiloma humano (VPH) puede ser de gran beneficio en el ámbito mundial.
- Por la magnitud del cáncer cervical y otras enfermedades relacionadas a la infección con VPH, se recomienda que la vacunación contra el VPH debe ser incluida en los programas nacionales de inmunización, considerando que la prevención del cáncer cervical constituye un problema de salud pública prioritario.
- La introducción de las vacunas debe ser factible, sostenible y su financiamiento debe ser asegurado, por lo que el costo efectividad de las estrategias debe ser considerado.
- La vacunación es más eficaz en las mujeres que no han estado expuestas al VPH, por lo que el grupo blanco primario pueden ser las niñas y adolescentes entre los 9 y los 13 años de edad. Las decisiones finales deben basarse en los datos de edad de inicio de las relaciones sexuales y la factibilidad de facilitar la vacuna en escuelas, servicios de salud y la comunidad.
- Es recomendable la vacunación de adolescentes de mayor edad como segundo grupo prioritario para la vacunación, en el caso de que sea económicamente factible, sostenible y costo – efectivo, y que además no sea causa de menor inversión de recursos para vacunar al primer grupo prioritario y la proporción de adolescentes de mayor edad no expuestas al VPH sea significativa.

- Actualmente no se recomienda vacunar a los varones.
- Los estudios piloto en varios países sugieren que las estrategias basadas en la administración de la vacuna en las escuelas es factible.
- Deben utilizarse estrategias que sean compatibles con la infraestructura de abasto, la capacidad de la red de frío y que además sean costo efectivas y sostenibles para alcanzar la más alta cobertura posible.
- Si la introducción se realiza por fases, deben ser privilegiadas las adolescentes con menor probabilidad de tener acceso al tamizaje de cáncer cervical en la vida adulta.
- La vacunación debe ser introducida como parte de estrategias coordinadas de prevención del cáncer cervical y otras enfermedades relacionadas a la infección con VPH, como educación para reducir las conductas que incrementan el riesgo de infectarse, para la detección del cáncer cervical, así como para el diagnóstico y tratamiento de las lesiones precursoras y del cáncer. Sin embargo, la vacunación no debe ser retrasada en países donde una o más de esas intervenciones no puede ser implementada al tiempo de la introducción de la vacuna.
- Las recomendaciones para el tamizaje del cáncer cervical deben seguir siendo las mismas en las mujeres vacunadas.
- Después de la introducción de la vacunación debe:
 - Medirse la cobertura por edad y por municipio, y los registros deberán mantenerse por periodos prolongados.
 - Vigilarse los efectos indeseados y la seguridad de la vacuna
 - Considerarse el establecimiento de vigilancia centinela para el monitoreo del impacto de la vacunación sobre la prevalencia de la infección por VPH, la incidencia de anomalías cervicales, lesiones precursoras, condilomas acuminados, así como la incidencia y mortalidad por cáncer cervical.

Vacunación contra VPH en México: El reto de países con ingresos medios

Las vacunas contra VPH se encuentran disponibles comercialmente, pero ningún país en Latinoamérica las ha introducido en el esquema de vacunación universal, aun cuando la OMS ha recomendado su aplicación basada en los resultados de los estudios clínicos y en consideración al costo social y económico de la enfermedad. Y a pesar de que existe una fuerte presión de la industria farmacéutica en países con ingresos medios para incorporarla como una política de salud. La región de Latinoamérica tiene una incidencia y mortalidad por cáncer cervical entre 3 y 10 veces mayor que países industrializados⁴² y el PIB es un criterio recomendado de la OMS para implementar políticas de inmunización contra VPH; consecuentemente el PIB y el presupuesto en salud son considerablemente más bajos en Latinoamérica y no hay una justificación para implementar programas de vacunación poblacional contra VPH, ante un costo muy elevado. Un análisis de costo efectividad de vacuna de VPH en México, determinó que las estrategias de prevención secundaria son más costo efectivas para mujeres adultas, con la utilización de Papanicolaou y captura de híbridos. Para que la vacunación contra VPH sea costo-efectiva, deberá tener un costo no mayor de 18 USD por dosis⁴³.

Actualmente existen políticas de instrumentación de nuevas estrategias de prevención y control de cáncer cervical en México, con alternativas de prevención acordes al grupo de edad, que se han iniciado, a iniciativa del gobierno federal, en áreas marginadas. Estos abordajes son creativos, porque son un intento para integrar en los modelos de prevención del cáncer cervical, a las madres (mujeres adultas) e hijas, de acuerdo con su nivel de prevención primario o secundario.

Recomendación del grupo asesor de vacunación contra VPH en México.

Lineamiento oficial

- Se recomienda iniciar un esquema de vacunación contra VPH a los 0, 2 y 60 meses.
- Este esquema incrementará la cobertura de prevención primaria en niñas entre 10 y 11 años.
- La vacunación debe integrarse a otras acciones de prevención y control del cáncer cervicouterino

Escenarios de prevención de cáncer cervical en México:

- Existen dos escenarios de la prevención de cáncer cervical en México.
 - Prevención primaria del CACU.

Sin duda el futuro inmediato será la prevención primaria a través de vacunas profilácticas contra VPH, cuya intervención – como política pública – será focalizada en un estrato de edad, en el caso de la recomendación del grupo asesor externo, en niñas de 9 años.

- Población en riesgo: Niñas de 9 años (1.4 millones)

De acuerdo a los modelos probabilísticos que el grupo de investigación ha implementado, para evaluar el costo efectividad de la vacuna profiláctica contra VPH, para que eventualmente haya un efecto poblacional, se necesitaría aplicarla al menos con una cobertura de 35 % en el estrato de edad que se constituye como población blanco. Los modelos de referencia, han establecido un impacto en la disminución de la incidencia y mortalidad al menos en 2 o tres generaciones de mujeres (20 – 25 años). Con la adopción de un esquema de

aplicación de vacuna de VPH en México, se desarrollan las condiciones para implementar un estudio de Fase IV en mujeres vacunadas contra VPH.

Sin dejar de considerar que la prevención secundaria se constituye como el desafío actual en México y que existe la necesidad de incorporar el desarrollo tecnológico en las pruebas de detección oportuna de cáncer, combinando Pap más la prueba de ADN de VPH de alto riesgo. Esta intervención es más costo-efectiva en mujeres mayores de 35 años (17.5 millones).

Hipótesis

Niñas de 9 y 10 años a las que se les aplica un esquema ampliado de vacunación de VPH (0-6-60), presentan niveles de inmunogenicidad contra anticuerpos de VPH que no son inferiores a los que presentan niñas de 9 años y mujeres adultas a las que se ha sido aplicado el esquema tradicional (0-1/2-6).

Objetivos

Monitorear los niveles de inmunidad inducida por la vacunación contra VPH con dos esquemas de vacunación:

- Esquemas
 - Ampliado (0, 6, 60 meses)
 - Tradicional (0, 2, 6).

Metodología

Diseño de estudio:

Conformación de una cohorte centinela de mujeres vacunadas contra VPH en tres grupos de comparación:

1. Mujeres de 9 y 10 años con esquema extendido de vacunación (0-6-60)
2. Mujeres de 9 y 10 años con esquema tradicional de vacunación (0-1/2-6)
3. Mujeres entre 18 y 24 años con esquema tradicional de vacunación (0-1/2-6)

Selección de la población de estudio.

A una fracción poblacional de mujeres se les invitará a participar en el estudio de forma proporcional combinando estrategias del ámbito escolar y comunitario.

Se reclutaran por conveniencia a un total de 2450 mujeres. Para fines del estudio se clasificarán de acuerdo al tipo de vacuna aplicada, (tetravalente y bivalente), así como por grupo de edad y esquema de vacunación.

Conformación de grupos para la evaluación.

Se conformarán dos grupos de participantes clasificadas de acuerdo al tipo de vacuna aplicada:

a) Vacuna Bivalente

Será conformado por un total de 2000 mujeres. De las cuales 1500 tendrán una edad de 9 a 10 años; y 500 de 18 a 24 años. Del primer grupo de edad, a 1000 de ellas se les aplicará la vacuna bajo el esquema ampliado de 0, 6, 60 meses. A 500 de este grupo de edad se aplicará la vacuna de acuerdo al esquema tradicional de 0, 1, 6 meses. A todas las mujeres del grupo de edad de 18 a 24 años, se les aplicará el esquema tradicional de 0, 1, 6 meses.

b) Vacuna Tetravalente:

Participarán un total de 450 mujeres. El grupo de 9 a 10 años será conformado por 300 mujeres, y del grupo de 18 a 24 años de edad, estará integrado por un total de 150 mujeres.

El esquema de vacunación será conformado de la siguiente forma: Del grupo de mujeres de 9 a 10 años, a 150 de ellas se les aplicará la vacuna en esquema ampliado de 0, 6, 60 meses, y a las 150 restantes se les aplicará la vacuna bajo el esquema tradicional de 0, 2, 6 meses. Al grupo de mujeres de 18 a 24 años se hará bajo el esquema tradicional de 0, 2 y 6 meses.

El esquema de vacunación será asignado de acuerdo al número de registro y/o ubicación geográfica.

Criterios de Inclusión, exclusión y eliminación

Inclusión

- Mujeres de 18 a 24 años de edad que acepten participar por escrito mediante la firma del Consentimiento Informado antes de su reclutamiento.
- Mujeres de 9 a 10 años de edad que acepten participar por escrito mediante la firma del asentimiento y cuyo padre/madre/tutor previamente hayan firmado un consentimiento informado para participar en el estudio.

Exclusión:

- Aplicación previa de vacuna contra VPH
- Mujeres embarazadas o que planeen embarazarse en los próximos 8 meses.
- Enfermedades autoinmunes
- Mujeres con antecedentes de Síndrome de Guillain Barré.
- Administración previa de inmunoglobulinas y/o cualquier producto sanguíneo en los 6 meses previos a la primer dosis de vacunación.

Eliminación Durante el Estudio

- Embarazo en la fase de vacunación del estudio.
- Administración de cualquier vacuna de VPH distinta a la recibida inicialmente.

Recolección de muestras serológicas.

Para la medición de la reacción inmunológica de la vacuna, a las mujeres de edades de 9 a 10 años de ambos grupos de vacuna se recolectarán un total de 3 muestras serológicas en los meses 7, 21 y 61 posterior a la aplicación de la primera dosis de vacuna. En cambio a las mujeres del grupo de edad de 18 a 24 años, se recolectarán 4 tomas serológicas en total. En los meses 0, 7, 21 y 61 meses. (Ver figura)

Estimación del tamaño de muestra

A partir de la fórmula para estimar un riesgo relativo

$$n = \left\{ z_{1-\alpha/2} \sqrt{2\bar{P}(1-\bar{P})} + z_{1-\beta} \sqrt{P_1(1-P_1) + P_2(1-P_2)} \right\}^2 / (P_1 - P_2)^2$$

Donde

P1 = Probabilidad anticipada de disminución de anticuerpos en la población expuesta a la vacuna

P2 = Probabilidad de persistencia elevada de anticuerpos.

RR = Riesgo Relativo anticipado = P1 / P2

100α% Nivel de significancia

100(1-β)% Potencia del estudio

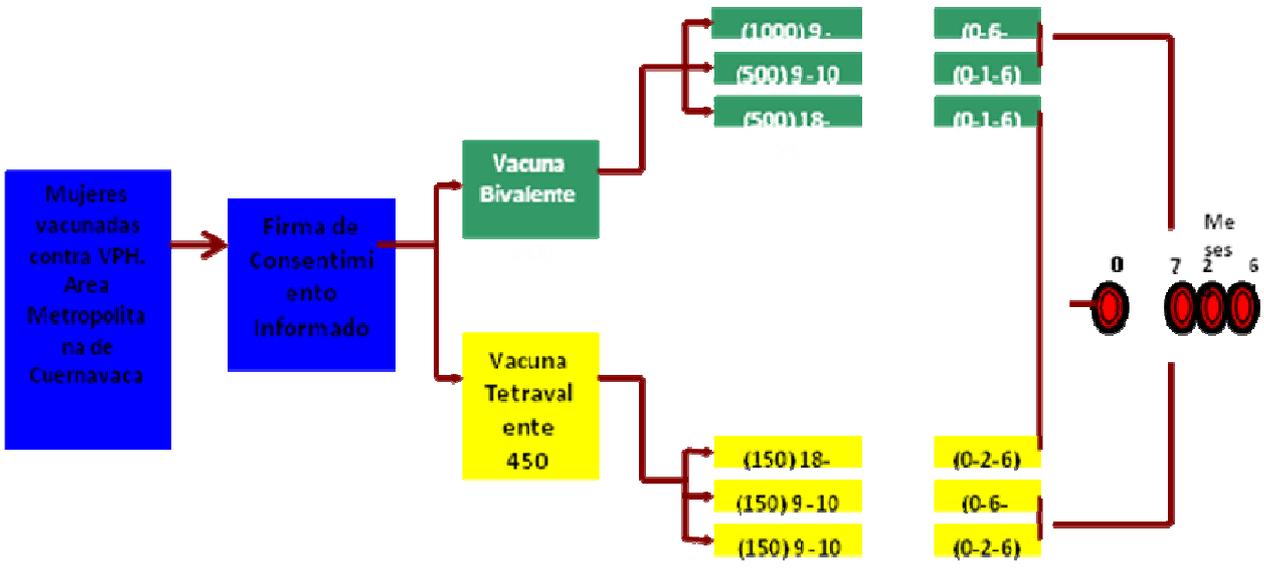
ε = Precisión relativa

Necesidad de monitorear 2000 mujeres por 5 años

100α%	100(1-β)%	P2	RR	n
5	90	0.04	1.75	1212
			2	739
			2.25	509
		0.05	1.75	955
			2	582
			2.25	400
		0.1	1.5	918
			1.75	442
			2	266

Envío de Muestras Serológicas

Las muestras serológicas del brazo de Cervarix se enviarán para su procesamiento los meses 0, 7, 21 y 61



Estrategias de reclutamiento

A una fracción poblacional de mujeres vacunadas contra VPH se les invitará a participar en el estudio, en forma proporcional combinando estrategias del ámbito escolar y comunitario.

Obtención de información.

Se aplicará un cuestionario de aceptabilidad de vacuna contra VPH, adaptado al utilizado por Simet y cols⁴⁴. Y que ha sido modificado entre poblaciones de la región y constituye una colaboración entre la Universidad de Indiana y el Instituto Nacional de Salud Pública⁴⁵.

Aplicación de vacunas y seguimiento

Análisis de Anticuerpos anti-VLP16; 18.

Ensayo de ELISA

Se trabajará con 10 muestras por ensayo por duplicado. Se incubarán las placas (NUNC MaxiSorp® F96) con 80 ng/pozo de VLP de cada genotipo toda la noche a 4°C y se bloquearán por 2 h a 37°C con leche 5% en PBS1X-Tween 0.5%. Se diluirán las muestras de suero 1:10, 1:30, 1:90 y 1:270 en leche 5%-Tween 0.5%-PBS y se incubará por 1 h a 37°C. La reacción antígeno-anticuerpo se revelará incubando con anti-humano peroxidasa 1: 30,000 por 1 h a 37°C y agregando el sustrato (TMB 0.1%-H₂O₂ 0.003% en Acetato de Sodio 0.1M pH 6.0). Se detendrá la reacción con H₂SO₄ 1M y leerá la densidad óptica (D.O.) de cada pozo a 450 nm. Todos los pasos necesitarán de 4 lavados con NaCl 9% Tween 0.5%. La positividad para anti-VLP de cada genotipo será calculada de acuerdo al punto de corte previamente determinado con suero de mujeres vírgenes (D.O. media a 450_{nm} de la dilución 1:90 + 2 desviaciones estándar).

Inmunoensayo competitivo Luminex (cLIA)

- a. Se emplearán inmunoensayos específicos de tipo, inmunoanálisis competitivo basado en Luminex (cLIA), con estándares específicos de tipo, para evaluar la inmunogenicidad de cada tipo de la vacuna. Este ensayo mide los anticuerpos neutralizantes aptos para medición de epítopes específicos y de Ig G total.
- b. Para cada tipo del VPH se utilizará una metodología basada en serología múltiple del VPH basado en ensayo inmunoenzimático de captura de la glutatión S-transferasa (GST) ^{xxxiii} (25). Los antígenos virales serán expresados en *Escherichia coli* como proteínas de fusión con un NH₂-terminal y un dominio GST COOH-terminal derivado de antígeno SV40. Glutatión-caseína se acoplará a esferas fluorescentes de poliestireno (Luminex). La unión de los antígenos (es decir, proteínas de fusión GST) a diversas cuentas se verificarán con un anticuerpo monoclonal común contra el COOH-terminal del péptido. Los Anticuerpos expuestos a los antígenos de esferas fluorescentes serán cuantificados en el Analizador Luminex, que también identificará el antígeno por el cambio de coloración de las esferas. Se determinará la cantidad de anticuerpos como la mediana de intensidad del color de fluorescencia R-ficoeritrina (IFM) de al menos 100 esferas. Los valores del IFM se dicotomizarán como positivo y negativo.

Inmunoensayo Múltiple de igG para VPH

El ensayo de IgG para VPH 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58 se desarrollará en una placa pre-humedecida de 96 pozos con microfiltros (Millipore, Billerica, MA). Se construirá una curva estándar 18 de 12 puntos, iniciando con un suero de referencia, una dilución 1:100 y 3 diluciones subsecuentes dobles (1:200, 1:400 y 1:800), 4 controles y 16 muestras ya probadas y en diluciones de 1:50 y 1:500 se agregarán a la placa por duplicado.

Se agregarán Microesferas de VLP's de los tipos 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58 a cada pozo a 5,000 microesferas de VLP's por tipo de VPH. Las placas

serán cubiertas con aceite y se incubarán de 15 a 60 minutos. Posteriormente los filtros de las placas serán lavados dos veces con PBS-Triton X-100 1% y resuspendidas en 7.5 µg/µl de un anticuerpo monoclonal de ratón (clone HP6043; Biotrend, Destin, FL) acoplado con Phycoeritrina que se une igualmente a la IgG humana. Las placas se cubrirán con aceite y se incubarán por un periodo adicional de 15 a 60 minutos.

Después de un segundo periodo de incubación, las placas se lavarán dos veces y se analizarán en un Bioplex 200 (Bio-Rad, Hercules, CA). En el análisis del diseño del experimento de la incubación primaria y secundaria de 15 a 60 minutos se observará si hubo menos del 7% de diferencia de títulos de anticuerpo. La correlación de las unidades de intensidad de fluorescencia media a mMU/ml de IgG VLP- específico se hará por diluciones seriales del suero de referencia e interpolación de los datos de intensidad de fluorescencia media a través de un algoritmo de 4 parámetros de curva adecuada.

Especificidad Analítica. La prueba de especificidad se desarrollará removiendo la respuesta de anticuerpo VPH específico en el suero humano a través de la pre-incubación de muestras de suero con VLP's de VPH. El recombinante IsdB también será probado, con un antígeno no-específico derivado de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* de expresión similar a la empleada en la producción de VLP's. Las muestras de suero serán incubadas con 2.5 µg de un solo tipo de VLP o antígeno IsdB, 22.5µg de múltiples tipos de VLP's (2.5µg por tipo de VPH), o PBS durante 1 hrs, previo al desarrollo del protocolo arriba descrito.

FLUJOGRAMA DEL ESTUDIO

PROCEDIMIENTOS	VISITAS						
	VISIT A 1 Día 0	VISIT A 2 Mes 1/2	VISIT A 3 Mes 6	VISIT A 4 Mes 7	VISITA 5 Mes 21	VISITA 6 Mes 60	VISIT A 7 Mes 61
Obtención de Consentimiento/ asentimiento informado	X						
Revisión de criterios de inclusión/exclusión/eliminación	X	X	X	X	X	X	X
Historia médica/examen físico	X	X	X	X	X	X	X
Prueba de Embarazo (mujeres de 18 a 24 años de edad)	X	X	X			X	
Obtención de muestra serológica para mediciones de anticuerpos	X (mujeres 18 a 24 años de edad)			X	X		X
Vacunación	X	X	X			X	
Seguimiento clínico	X	X	X	X	X	X	X

Procedimientos Programados

Intervalos entre las visitas del estudio. De ser necesario se puede programar cualquier visita dentro del rango de tiempo permitido de acuerdo a la vacuna aplicada.

a) VACUNA BIVALENTE

- Visita mes 1: Podrá programarse 21 a 62 días posteriores a la visita Día 0.
- Visita Mes 6: Podrá programarse 161 a 216 días posteriores a la visita Día 0.
- Visita Mes 7: El intervalo entre la visita mes 6 y mes 7 deberá ser un mínimo de 3 semanas y un máximo de 7 semanas desde la vacunación previa.
- Visita Mes 21, 60 y 61 (esquema de vacunación 0, 1, 6): Podrá programarse en el mes indicado +/- 4 semanas.
- Visita Mes 61 (esquema de vacunación 0, 6, 60) El intervalo entre la visita mes 60 y mes 61 deberá ser un mínimo de 3 semanas y un máximo de 7 semanas desde la vacunación previa.

b) VACUNA TETRAVALENTE:

- Visita mes 2: Podrá programarse en el mes indicado +/- 3 semanas.
- Visita mes 6, 21, 60 y 61 (esquema de vacunación 0, 2, 6): Podrá programarse en el mes indicado +/- 4 semanas.
- Visita Mes 7 y 61 (esquema de vacunación 0, 6, 60): El intervalo entre la visita mes 6/60 y mes 7/61 deberá ser un mínimo de 3 semanas y un máximo de 7 semanas desde la vacunación previa.

Recolección y manipulación de las muestras obtenidas.

Muestra de orina para prueba de embarazo: Deberá realizarse de acuerdo las especificaciones de los fabricantes; antes de la vacunación de las mujeres de 18 a 24 años de edad.

Muestra serológica: Se obtendrán muestras serológicas de todas las participantes en los meses 7, 21 y 61; para las mujeres de 18 a 24 años se obtendrá una muestra adicional en la visita día 0 (Para la vacuna bivalente únicamente se obtendrán muestras de 100 participantes). Se obtendrá una muestra de 10 ml; se alicuotará para obtener un mínimo de 2.5 a 3.0 ml de suero la cual será enviado para análisis por el patrocinador y lo que resta aproximadamente de .5 a 1 ml como suero de retención la cual será almacenada en el laboratorio 7 del INSP.

Todas las muestras deberán almacenarse en un congelador a una temperatura de -20°C hasta su envío correspondiente.

Vacunación.

La vacuna será administrada como una inyección intramuscular de 0.5 ml, preferentemente en el músculo deltoides del brazo no dominante.

1er INFORME DE AVANCES

BRAZO CERVARIX

Vacunación y obtención de muestras serológicas

La aplicación de la vacuna y obtención de muestras serológicas se llevó a cabo mediante dos esquemas con su intervalo de tiempo establecido

VACUNA	ESQUEMA TRADICIONAL	ESQUEMA MODIFICADO	RECOLECCIÓN DE MUESTRA SEROLÓGICA
CERVARIX	Día 0, mes 1, mes 6	Día 0, mes 6, mes 60	Mes 7, mes 21, mes 61.

28

Status de Vacunas Programadas

VISITAS PROGRAMADAS POR PROTOCOLO

Visita 1 Día 0	Visita 2 Mes 1/2	Visita 3 Mes 6	Visita 4 Mes 7	Visita 5 Mes 21	Visita 6 Mes 60	Visita 7 Mes 61
Visita Concluida	Visita Concluida	Visita Concluida	Visita Concluida	Visita Concluida	Visita Pendiente	Visita Pendiente

VISITA MES 21 (VISITA CONCLUIDA)

Procedimiento	Toma de muestra serológica
Fecha de Inicio	Se inicia visita el 20 de Julio 2011
Fecha de Término	19 de Septiembre, 2011
Se obtuvieron un total de 1765 muestras serológicas	

BRAZO GARDASIL

Vacunación y obtención de muestras serológicas

La aplicación de la vacuna y obtención de muestras serológicas se llevó a cabo mediante dos esquemas con su intervalo de tiempo establecido

VACUNA	ESQUEMA TRADICIONAL	ESQUEMA MODIFICADO	RECOLECCIÓN DE MUESTRA SEROLÓGICA
GARDASIL	Día 0, mes 2, mes 6	Día 0, mes 6, mes 60	Mes 7, mes 21, mes 61.

Status de visitas programadas

VISITAS PROGRAMADAS POR PROTOCOLO

Visita 1 Día 0	Visita 2 Mes 2	Visita 3 Mes 6	Visita 4 Mes 7	Visita 5 Mes 21	Visita 6 Mes 60	Visita 7 Mes 61
Visita Concluida 450 participantes enroladas: 18-24 años: 150 9-10 años: 300	Visita Concluida 18-24 años: 149 9-10 años: 150	Visita Concluida 18-24 años: 143 9-10 años: 298	Visita Concluida 18-24 años: 145 9-10 años: 295	Visita Pendiente	Visita Pendiente	Visita Pendiente

2012

Logística, obtención de Muestras
mes 21

Seguimiento de participantes

El seguimiento de participantes se llevará a cabo mediante dos etapas:

- Etapa activa
- Etapa pasiva.

BRAZO CERVARIX

Las actividades correspondientes a visita mes 21 se llevaron a cabo en el periodo comprendido de julio-septiembre 2011.

Las actividades programadas para el año 2012 será realizar el seguimiento de participantes mediante la etapa pasiva.

Etapa pasiva (visitas no programadas)

Esta etapa incluye el periodo en donde no se tienen programadas visitas presenciales en el protocolo sin embargo para asegurar el seguimiento y la retención de las participantes se llevarán a cabo las siguientes estrategias:

Contactos telefónicos y/o visitas domiciliarias anuales para actualización de datos y verificación del estado de salud de la participante, programación de citas médicas y/o psicológicas a solicitud de las participantes

Se deberá tomar en cuenta que ocasionalmente se deberán realizar gestiones para referencia a citas médicas de especialidad

BRAZO GARDASIL

Las actividades correspondientes a la visita mes 21 están programadas para el periodo de septiembre-octubre 2012, de acuerdo a los periodos ya establecidos.

El seguimiento de participantes se llevará a cabo mediante la etapa activa.

Etapa activa (visitas programadas)

El seguimiento se realizará a través de un equipo de trabajo multidisciplinario, mediante llamadas telefónicas a participantes para recordar y agendar las visitas programadas de acuerdo al protocolo.

Cuando no se contacten vía telefónica o por renuencia, se realizarán visitas domiciliarias.

Para localización de participantes se coordinará la comunicación con centros de salud, instituciones educativas y con ayudantes Municipales, así como se reforzará la búsqueda con apoyo de la geo-referenciación.

En el caso de la población participante que aún se encuentra en escuelas se acudirá a las mismas para solicitar el apoyo de la dirección para la programación de citas así como solicitar la asignación de área para llevar a cabo los procedimientos de obtención de muestras serológicas.

Cabe señalar que dicho procedimiento se realizará en las escuelas siempre y cuando se cumpla con un área adecuada.

Actividades a realizar en la visita mes 21

Historia médica

Deberá efectuarse un examen médico dirigido por los detalles de la historia y registrar cualquier condición preexistente o signos y/o síntomas en la participante antes del inicio del estudio, en el expediente clínico.

Examen físico

Se efectuará un examen físico de las participantes, incluyendo signos vitales y somatometría. La información recolectada será registrada en el expediente clínico.

Evaluación de eventos adversos serios post-vacunación a corto y mediano plazo.

El periodo estándar para la valoración y registro de los Eventos Adversos Serios comenzará con la recepción de la primer dosis de vacuna (es decir con la aplicación de la vacuna mes 0) y continuará durante todo el periodo de estudio (mes 61).

Obtención de muestras serológicas

Una vez aplicada la segunda o tercer dosis de vacunación (visita mes 6); es necesario informar a la participante y/o padres y/o tutores la importancia que representa para el estudio, la obtención de las muestras serológicas ya que como parte del objetivo primordial del estudio es la valoración de los anticuerpos generados por la vacunación.

Para asegurar la confidencialidad de las participantes, todas las muestras deberán ser etiquetadas correctamente registrando únicamente el número de identificación asignado a la participante.

Se obtendrá un total de 10 ml de sangre durante las visitas programadas (mes 21 y 61) para la obtención de las mismas; una vez obtenida la muestra serológica y realizado el etiquetado correspondiente, la enfermera deberá tener especial cuidado (no destapar los tubos ya que esto favorece a la contaminación de las muestras, no agitar ni mezclar el tubo con sangre) al momento del traslado de las mismas al laboratorio del Centro Médico Cuauhtémoc para su procesamiento y almacenamiento.

Todas las muestras permanecerán a temperatura ambiente por lo menos media hora posterior a la toma de la misma para dar seguimiento al proceso de obtención de suero el cual será almacenado en un vial específico que permita la expansión durante la congelación, previamente etiquetado y posteriormente congelado a una temperatura aproximada de -20°C (alternativamente, también es aceptable a una temperatura aproximada de -70°C a -80°C).

Cronograma de Determinación

VISITA		MES 7		ENVÍO DE MUESTRA SEROLÓGICA	
FECHAS DE INICIO Y TERMINO TIEMPO ÓPTIMO ESTABLECIDO PARA LA ATENCIÓN DE LAS VISITAS PARTICIPANTES PROGRAMADAS POR VISITA/ <u>ATENDIDAS</u>	2-jul-2011		15-oct-2011		VISITA CONCLUIDA
	3 semanas posteriores a la visita mes 6 hasta un máximo de 7 semanas				
	Total de participantes	Rango de edad	PROCEDIMIENTO		
	145 mujeres	18-24 años	Muestra serológica		
	295 mujeres	9-10 años	Muestra serológica		

VISITA		MES 21		ENVÍO DE MUESTRA SEROLÓGICA	
FECHAS DE INICIO Y TERMINO TIEMPO ÓPTIMO ESTABLECIDO PARA LA ATENCIÓN DE LAS VISITAS PARTICIPANTES PROGRAMADAS POR VISITA (Sujeto a modificaciones de acuerdo a la continuación de las participantes)	3-sep-2012		19-nov-2012		El envío de muestras serológicas correspondiente al mes 21 se realizará al inicio del mes de diciembre (05 de diciembre, 2012)
	Todas las visitas podrán ser programadas en el mes indicado +/- 4 semanas				
	Total de participantes	Rango de edad	PROCEDIMIENTO		
	145 mujeres	18-24 años	Muestra serológica		
	295 mujeres	9-10 años	Muestra serológica		

2012

2do INFORME DE AVANCES DEL PERIODO

VACUNA BIVALENTE

Objetivos de esta etapa

- Evaluación de los eventos adversos presentados en las participantes
- Evaluación de adherencia al protocolo

VISITAS PROGRAMADAS POR PROTOCOLO

Visita 1 Día 0	Visita 2 Mes 1/2	Visita 3 Mes 6	Visita 4 Mes 7	Visita 5 Mes 21	Visita 6 Mes 60	Visita 7 Mes 61
12 Nov-30 Nov. 09	03 Marzo- 09 Junio 10	31 Mayo- 18 Nov. 10	05 Jul-15 Dic. 10	20 Jul-19 Sept. 11	19 Sep. 02 Dic. 2014	10 Oct. 20 ene 2015
Visita Concluida (Información enviada)	Visita Concluida (Información enviada)	Visita Concluida (Información enviada)	Visita Concluida (Información enviada)	Visita Concluida (Información descrita a continuación)	Visita Pendiente	Visita Pendiente

En la actualidad se está realizando contacto vía telefónica y/o visita domiciliaria, para recabar y actualizar información acerca del estado de salud y datos de localización de la participante.

A continuación se muestran los resultados de los contactos realizados:

Fecha estimada de contacto: Septiembre a Noviembre 2012.
Inicio de Contactos: 04 Septiembre 2012.

TIPO DE CONTACTO		INTENTOS DE CONTACTOS EFECTIVOS			TOTAL	SUJETOS NO CONTACTADOS			TOTAL
Telefónico	Visita Domiciliaria	1er.	2do.	Más de 3		1er.	2do.	Más de 3	
129	5 (Pendiente Programación)	58	9	15	82	33	8	6	47

EVENTOS ADVERSOS DETECTADOS DURANTE LOS CONTACTOS

TIPO	EVOLUCIÓN
Lesión intraepitelial de bajo grado	En remisión
2 ptes. Refieren Poliquistosis ovárica	Ambos Activos
Enfermedad ácido-péptica	Activa
Aborto espontaneo	Resuelto
Infección de Vías Urinarias	Resuelto
Intoxicación alimentaria	Resuelto
Infección vías respiratorias altas	Resuelto
Gastroenteritis bacteriana	Resuelta
Litiasis renal	Activa
Colitis nerviosa	Activa
Verrugas vulgares	Resuelta

VACUNA TETRAVALENTE

Objetivos de esta etapa

- Recolección de muestras serológicas del mes 21
- Evaluación de los eventos adversos presentados en las participantes
- Evaluación de adherencia al protocolo

VISITAS PROGRAMADAS

VISITAS PROGRAMADAS POR PROTOCOLO						
Visita 1 Día 0	Visita 2 Mes 2	Visita 3 Mes 6	Visita 4 Mes 7	Visita 5 Mes 21	Visita 6 Mes 60	Visita 7 Mes 61
10-31 Enero 2011	Feb. 14 Marzo 30 2011	16 Junio 26 Ago. 2011	07 Julio 03 Octubre 2011	05 Sep. 19 nov12	17Nov15 02 Feb. 16	08Dic15 22 Mar 2016
Visita Concluida 450 participantes enroladas: 18-24 años: 150 9-10 años: 300	Visita Concluida 18-24 años: 149 9-10 años: 150	Visita Concluida 18-24 años: 143 9-10 años: 298	Visita Concluida 18-24 años: 145 9-10 años: 295	Visita en Proceso	Visita Pendiente	Visita Pendiente

VISITA MES 21 EN PROCESO

Inicio de visita Mes 21	05 Septiembre (Utilizado los periodos de ventana establecidos)
Procedimiento	Toma de muestra serológica
Ventana Máxima para realizar el procedimiento	19 Noviembre 2012

CALENDARIO DE CITAS PROGRAMADAS Y STATUS DE LA VISITA

SEMANAS SEPTIEMBRE	03-07	10-14	17-21	24-28
PROGRAMADAS	55	135	96	68
CONFIRMADAS	40	75	Pendiente llamar para confirmar	
ASISTIERÓN A TOMA DE MUESTRAS SEROLÓGICAS	21	30		
TOTAL MUESTRAS SEMANAS OCTUBRE	51			
	01-05	08-12	15-19	22-26
PROGRAMADAS	64	17		
CONFIRMADAS	Datos pendientes, debido a que la visita está en proceso			
ASISTIERÓN A TOMA DE MUESTRAS SEROLÓGICAS				

EMBARAZOS DETECTADOS DURANTE LA VISITA

TIPO	EVOLUCIÓN
Embarazo de 24 Semanas de Gestación	Activo
Embarazo de 14 Semanas de Gestación	Activo
Embarazo de 38 Semanas de Gestación	Activo

EVENTOS ADVERSOS DETECTADOS DURANTE LA VISITA

TIPO	EVOLUCIÓN
Alergia alimentaria + Apendicetomía	Resuelto
Foliculitis Axilar derecha	Resuelto
Candidiasis vaginal	Resuelto
Neoplasia maxilar benigna	Resuelta
Gastritis + Colitis	Activo

INFORME FINAL DEL PERIODO
OCTUBRE 2011 - OCTUBRE 2012

Vacuna Bivalente

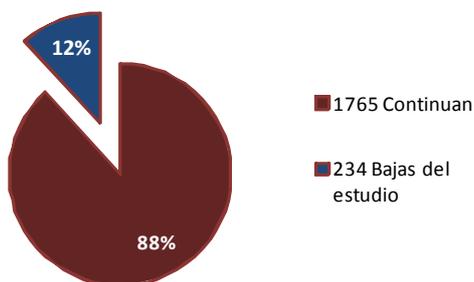
Adherencia al Protocolo

Actualmente se está llevando a cabo el seguimiento de las participantes realizando un contacto anual mediante las estrategias de seguimiento y retención.

Fecha de inicio del seguimiento: Septiembre 2012

Contactos realizados a la fecha (12 de octubre 2012) 701 contactos

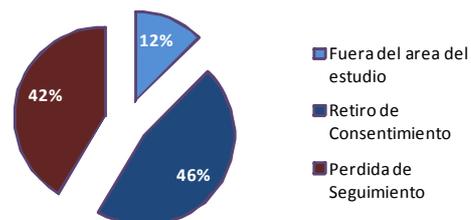
Pacientes Enrolados



Inicialmente se enrolaron 2000 participantes a la fecha continúan 1765 participantes y se han dado de baja el estudio 234 participantes.

De las 234 participantes se han registrado 29 bajas del estudio debido a que las participantes ya no viven en el estado. Se ha perdido el seguimiento a 97 de las participantes y 108 han retirado su consentimiento informado.

Motivos de Baja del Estudio

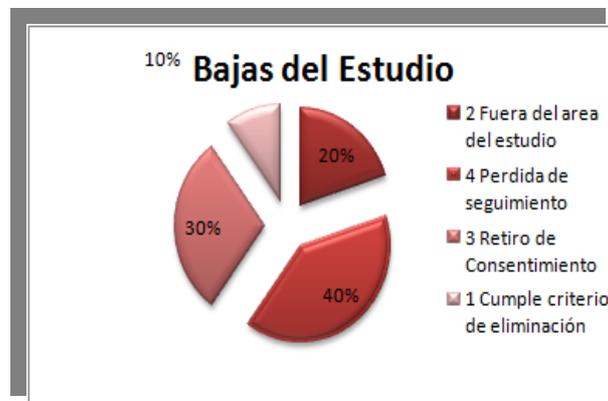
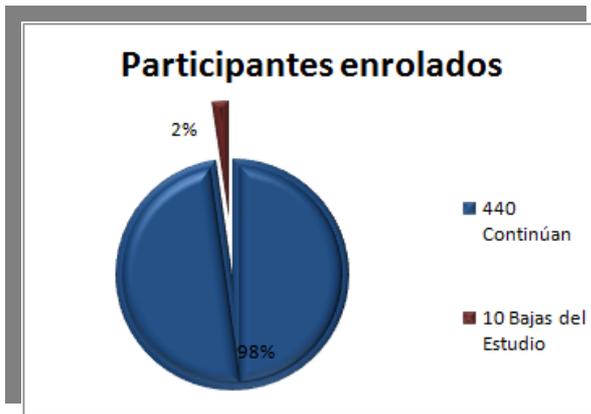


Vacuna Tetravalente

Adherencia al protocolo

Toma de muestra serológica

Actualmente se está realizando la toma de muestra serológica en participantes de la vacuna tetravalente correspondiente a la visita mes 21, la cual inicio el día 06 de septiembre del presente. A la fecha (12 de octubre 2012) se han visitado un total de 360 participantes, teniendo como periodo de ventana hasta el 19 de noviembre de 2012.



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 Newmann SJ, Garner EO. Social inequities along the cervical cancer continuum: a structured review. *Cancer Causes Control*. 2005 Feb;16(1):63-70.
- 2 Chu KC, Miller BA, Springfield SA. Measures of racial/ethnic health disparities in cancer mortality rates and the influence of socioeconomic status. *J Natl Med Assoc*. 2007 Oct;99(10):1092-100, 1102-4.
- 3 Ward E, Jemal A, Cokkinides V, Singh GK, Cardinez C, Ghafoor A, Thun M. Cancer disparities by race/ethnicity and socioeconomic status. *CA Cancer J Clin*. 2004 Mar-Apr;54(2):78-93.
- 4 Palacio-Mejía LS, Rangel-Gómez G, Hernández-Avila M, Lazcano-Ponce E. Cervical cancer, a disease of poverty: mortality differences between urban and rural areas in Mexico. *Salud Publica Mex*. 2003;45 Suppl 3:S315-25.
- 5 Tsu VD, Levin CE. Making the case for cervical cancer prevention: what about equity? *Reprod Health Matters*. 2008 Nov;16(32):104-12.
- 6 Goldie SJ, O'Shea M, Diaz M, Kim SY. Benefits, cost requirements and cost-effectiveness of the HPV16,18 vaccine for cervical cancer prevention in developing countries: policy implications. *Reprod Health Matters*. 2008 Nov;16(32):86-96.
- 7 Loxton D, Powers J, Schofield M, Hussain R, Hosking S. Inadequate cervical cancer screening among mid-aged Australian women who have experienced partner violence. *Prev Med*. 2008 Nov 5. [Epub ahead of print]
- 8 Gerend MA, Barley J. Human Papillomavirus Vaccine Acceptability Among Young Adult Men.. *Sex Transm Dis*. 2008 Sep 30. [Epub ahead of print]
- 9 Lazcano-Ponce E, Palacio-Mejia LS, Allen-Leigh B, Yunes-Diaz E, Alonso P, Schiavon R, Hernandez-Avila M. Decreasing cervical cancer mortality in Mexico: effect of Papanicolaou coverage, birthrate, and the importance of diagnostic validity of cytology. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008 Oct;17(10):2808-17.
- 10 Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ; International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med*. 2003 Feb 6;348(6):518-27.
- 11 Paavonen J. Human papillomavirus infection and the development of cervical cancer and related genital neoplasias. *Int J Infect Dis*. 2007 Nov;11 Suppl 2:S3-9.
- 12 Campisi G, Panzarella V, Giuliani M, Lajolo C, Di Fede O, Falaschini S, Di Liberto C, Scully C, Lo Muzio L. Human papillomavirus: its identity and controversial role in oral oncogenesis, premalignant and malignant lesions (review). *Int J Oncol*. 2007 Apr;30(4):813-23.
- 13 McIntyre PB, Brotherton JM, Burgess MA, Kemp AS. More data from Australia on sensitivity to HPV vaccine. *BMJ*. 2009 Jan 9;338:b26.
- 14 Perez G, Lazcano-Ponce E, Hernandez-Avila M, García PJ, Muñoz N, Villa LL, Bryan J, Taddeo FJ, Lu S, Esser MT, Vuocolo S, Sattler C, Barr E. Safety, immunogenicity, and efficacy of quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, 18) L1 virus-like-particle vaccine in Latin American women. *Int J Cancer*. 2008 Mar 15;122(6):1311-8.

- 15 Joura EA, Leodolter S, Hernandez-Avila M, Wheeler CM, Perez G, Koutsky LA, Garland SM, Harper DM, Tang GW, Ferris DG, Steben M, Jones RW, Bryan J, Taddeo FJ, Bautista OM, Esser MT, Singhs HL, Nelson M, Boslego JW, Sattler C, Barr E, Paavonen J. Efficacy of a quadrivalent prophylactic human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like-particle vaccine against high-grade vulval and vaginal lesions: a combined analysis of three randomised clinical trials. *Lancet*. 2007 May 19;369(9574):1693-702.
- 16 Paavonen J, Jenkins D, Bosch FX, Naud P, Salmerón J, Wheeler CM, Chow SN, Apter DL, Kitchener HC, Castellsague X, de Carvalho NS, Skinner SR, Harper DM, Hedrick JA, Jaisamrarn U, Limson GA, Dionne M, Quint W, Spiessens B, Peeters P, Struyf F, Wieting SL, Lehtinen MO, Dubin G; HPV PATRICIA study group. Efficacy of a prophylactic adjuvanted bivalent L1 virus-like-particle vaccine against infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: an interim analysis of a phase III double-blind, randomised controlled trial. *Lancet*. 2007 Jun 30;369(9580):2161-70.
- 17 Hildesheim A, Herrero R, Wacholder S, Rodriguez AC, Solomon D, Bratti MC, Schiller JT, Gonzalez P, Dubin G, Porras C, Jimenez SE, Lowy DR; Costa Rican HPV Vaccine Trial Group. Effect of human papillomavirus 16/18 L1 viruslike particle vaccine among young women with preexisting infection: a randomized trial. *JAMA*. 2007 Aug 15;298(7):743-53.
- 18 Giuliano AR, Lazcano-Ponce E, Villa L, Nolan T, Marchant C, Radley D, Golm G, McCarroll K, Yu J, Esser MT, Vuocolo SC, Barr E. Impact of baseline covariates on the immunogenicity of a quadrivalent (types 6, 11, 16, and 18) human papillomavirus virus-like-particle vaccine. *J Infect Dis*. 2007 Oct 15;196(8):1153-62.
- 19 Reisinger KS, Block SL, Lazcano-Ponce E, Samakoses R, Esser MT, Erick J, Puchalski D, Giacoletti KE, Singhs HL, Lukac S, Alvarez FB, Barr E. Safety and persistent immunogenicity of a quadrivalent human papillomavirus types 6, 11, 16, 18 L1 virus-like particle vaccine in preadolescents and adolescents: a randomized controlled trial. *Pediatr Infect Dis J*. 2007 Mar;26(3):201-9.
- 20 Schiller JT, Castellsagué X, Villa LL, Hildesheim A. An update of prophylactic human papillomavirus L1 virus-like particle vaccine clinical trial results. *Vaccine*. 2008 Aug 19;26 Suppl 10:K53-61.
- 21 Kovács K, Varnai AD, Bollmann M, Bankfalvi A, Szendy M, Speich N, Schmitt C, Pajor L, Bollmann R. Prevalence and genotype distribution of multiple human papillomavirus infection in the uterine cervix: a 7.5-year longitudinal study in a routine cytology-based screening population in West Germany. *J Med Virol*. 2008 Oct;80(10):1814-23.
- 22 Sigurdsson K, Sigvaldason H, Gudmundsdottir T, Sigurdsson R, Briem H. The efficacy of HPV 16/18 vaccines on sexually active 18-23 year old women and the impact of HPV vaccination on organized cervical cancer screening. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2008 Nov 22:1-9.
- 23 Rambout L, Hopkins L, Hutton B, Fergusson D. Prophylactic vaccination against human papillomavirus infection and disease in women: a systematic review of randomized controlled trials. *CMAJ*. 2007 Aug 28;177(5):469-79.
- 24 Dessy FJ, Giannini SL, Bougelet CA, Kemp TJ, David MP, Poncelet SM, Pinto LA, Wettendorff MA. Correlation between direct ELISA, single epitope-based inhibition ELISA and pseudovirion-based neutralization assay for measuring anti-HPV-16 and anti-HPV-18 antibody response after

- vaccination with the AS04-adjuvanted HPV-16/18 cervical cancer vaccine. *Hum Vaccin*. 2008 Nov-Dec;4(6):425-34.
- 25 Petäjä T, Keränen H, Karppa T, Kawa A, Lantela S, Siitari-Mattila M, Levänen H, Tocklin T, Godeaux O, Lehtinen M, Dubin G. Immunogenicity and safety of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine in healthy boys aged 10-18 years. *J Adolesc Health*. 2009 Jan;44(1):33-40.
 - 26 Gillison ML, Chaturvedi AK, Lowy DR. HPV prophylactic vaccines and the potential prevention of noncervical cancers in both men and women. *Cancer*. 2008 Nov 15;113(10 Suppl):3036-46.
 - 27 Chesson HW, Forhan SE, Gottlieb SL, Markowitz LE. The potential health and economic benefits of preventing recurrent respiratory papillomatosis through quadrivalent human papillomavirus vaccination. *Vaccine*. 2008 Aug 18;26(35):4513-8.
 - 28 Andrews E, Seaman WT, Webster-Cyriaque J. Oropharyngeal carcinoma in non-smokers and non-drinkers: A role for HPV. *Oral Oncol*. 2008 Nov 20.
 - 29 Feltkamp MC, de Koning MN, Bavinck JN, Ter Schegget J. Betapapillomaviruses: Innocent bystanders or causes of skin cancer. *J Clin Virol*. 2008 Dec;43(4):353-60.
 - 30 Tovar JM, Bazaldua OV. New quadrivalent HPV vaccine developments. *Postgrad Med*. 2008 Nov;120(4):14-6.
 - 31 Paavonen J; Future II Study Group. Baseline demographic characteristics of subjects enrolled in international quadrivalent HPV (types 6/11/16/18) vaccine clinical trials. *Curr Med Res Opin*. 2008 Jun;24(6):1623-34.
 - 32 Giuliano AR, Lazcano-Ponce E, Villa L, Nolan T, Marchant C, Radley D, Golm G, McCarroll K, Yu J, Esser MT, Vuocolo SC, Barr E. Impact of baseline covariates on the immunogenicity of a quadrivalent (types 6, 11, 16, and 18) human papillomavirus virus-like-particle vaccine. *J Infect Dis*. 2007 Oct 15;196(8):1153-62. Epub 2007 Sep 17.
 - 33 Reisinger KS, Block SL, Lazcano-Ponce E, Samakoses R, Esser MT, Erick J, Puchalski D, Giacoletti KE, Sings HL, Lukac S, Alvarez FB, Barr E. Safety and persistent immunogenicity of a quadrivalent human papillomavirus types 6, 11, 16, 18 L1 virus-like particle vaccine in preadolescents and adolescents: a randomized controlled trial. *Pediatr Infect Dis J*. 2007 Mar;26(3):201-9.
 - 34 Joura EA, Kjaer SK, Wheeler CM, Sigurdsson K, Iversen OE, Hernandez-Avila M, Perez G, Brown DR, Koutsky LA, Tay EH, Garcia P, Ault KA, Garland SM, Leodolter S, Olsson SE, Tang GW, Ferris DG, Paavonen J, Lehtinen M, Steben M, Bosch X, Dillner J, Kurman RJ, Majewski S, Muñoz N, Myers ER, Villa LL, Taddeo FJ, Roberts C, Tadesse A, Bryan J, Lupinacci LC, Giacoletti KE, Lu S, Vuocolo S, Hesley TM, Haupt RM, Barr E. HPV antibody levels and clinical efficacy following administration of a prophylactic quadrivalent HPV vaccine. *Vaccine*. 2008 Dec 9;26(52):6844-51. Epub 2008 Oct 16.
 - 35 Villa LL, Ault KA, Giuliano AR, Costa RL, Petta CA, Andrade RP, Brown DR, Ferenczy A, Harper DM, Koutsky LA, Kurman RJ, Lehtinen M, Malm C, Olsson SE, Ronnett BM, Skjeldestad FE, Steinwall M, Stoler MH, Wheeler CM, Taddeo FJ, Yu J, Lupinacci L, Railkar R, Marchese R, Esser MT, Bryan J, Jansen KU, Sings HL, Tamms GM, Saah AJ, Barr E. Immunologic responses following administration of a vaccine targeting human papillomavirus Types 6, 11, 16, and 18. *Vaccine*. 2006 Jul 7;24(27-28):5571-83.

- 36 Olsson SE, Villa LL, Costa RL, Petta CA, Andrade RP, Malm C, Iversen OE, Høye J, Steinwall M, Riis-Johannessen G, Andersson-Ellstrom A, Elfgren K, von Krogh G, Lehtinen M, Paavonen J, Tamms GM, Giacoletti K, Lupinacci L, Esser MT, Vuocolo SC, Saah AJ, Barr E. Induction of immune memory following administration of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus (HPV) types 6/11/16/18 L1 virus-like particle (VLP) vaccine. *Vaccine*. 2007 Jun 21;25(26):4931-9.
- 37 Schwarz TF, Leo O. Immune response to human papillomavirus after prophylactic vaccination with AS04-adjuvanted HPV-16/18 vaccine: improving upon nature. *Gynecol Oncol*. 2008 Sep;110(3 Suppl 1):S1-10.
- 38 Block SL, Nolan T, Sattler C, Barr E, Giacoletti KE, Marchant CD, Castellsagué X, Rusche SA, Lukac S, Bryan JT, Cavanaugh PF Jr, Reisinger KS; Protocol 016 Study Group. Comparison of the immunogenicity and reactogenicity of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in male and female adolescents and young adult women. *Pediatrics*. 2006 Nov;118(5):2135-45.
- 39 Morris SK, Nguyen CK. The human papillomavirus vaccine in Canada. *Can J Public Health*. 2008 Mar-Apr;99(2):114-6.
- 40 Stanley M. Prospects for new human papillomavirus vaccines. *Curr Opin Infect Dis*. 2010 Feb;23(1):70-5.
- 41 Human papillomavirus and HPV vaccines: a review. *Bulletin of the World Health Organization* 2007;85:719–726.
- 42 Parkin DM, Almonte M, Bruni L, Clifford G, Curado MP, Piñeros M. Burden and trends of type-specific human papillomavirus infections and related diseases in the latin america and Caribbean region. *Vaccine*. 2008 Aug 19;26 Suppl 11:L1-15.
- 43 Reynales-Shigematsu et al. Cost-Effectiveness Analysis of a Quadrivalent Human Papilloma Virus Vaccine in Mexico. *Archives of Medical Research* 40 (2009) 503-513
- 44 Bair RM, Mays RM, Sturm LA, Zimet GD. Acceptability of the human papillomavirus vaccine among Latina mothers. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2008 Dec;21(6):329-34.
- 45 Winkler JL, Wittet S, Bartolini RM, Creed-Kanashiro HM, Lazcano-Ponce E, Lewis-Bell K, Lewis MJ, Penny ME. Determinants of human papillomavirus vaccine acceptability in Latin America and the Caribbean. *Vaccine*. 2008 Aug 19;26 Suppl 11:L73-9.