

## RELACIÓN ENTRE EL HERPES SIMPLE TIPO 2 Y LAS LESIONES PREINVASIVAS DE CUELLO UTERINO

Yenddy Carrero<sup>1</sup>, Diana Callejas<sup>2</sup>, Jesús Estévez<sup>3</sup>, Jennifer Gotera<sup>1</sup>, José Núñez<sup>4</sup>, Ricardo Atencio<sup>2</sup>, Leticia Porto<sup>2</sup>, Francisca Monsalve<sup>5</sup>

### RESUMEN

**Objetivos:** Determinar la presencia y relación del virus herpes simple tipo 2 (VHS-2) en mujeres con diferentes grados de lesiones preinvasivas de cuello uterino. **Materiales y métodos:** Se estudiaron 176 mujeres con lesiones preinvasivas de cuello uterino y 40 mujeres como grupo control con cuello uterino sano, que asistieron a la consulta ginecológica en diferentes centros de salud, durante los años 2002-2005 en Maracaibo-Venezuela. A las pacientes se les tomó un hisopado del exocervix y una biopsia dirigida del sitio de la lesión por colposcopia. La determinación de VHS-2 se realizó a través de inmunofluorescencia directa. **Resultados:** La presencia de infección por VHS-2 fue 44/176 (25%). El mayor número de VHS-2 se obtuvo en las pacientes con grado de lesión tipo NIC II (66,7%). El mayor porcentaje de infección por VHS-2 se determinó en las pacientes que iniciaron sus relaciones sexuales entre los 15 y 20 años (34,5%), las relaciones sexuales diarias (50%), así como relaciones de tipo orogenital fueron consideradas las conductas de mayor riesgo para adquirir la infección. **Conclusiones:** No se evidenció una relación directa entre VHS-2 y la presencia de cáncer. Los factores de riesgo asociados con la infección son similares a otras ITS, y están ligados con la conducta sexual y hábitos propios del individuo.

**Palabras clave:** Virus herpes simple tipo 2; Neoplasia intraepitelial del cuello uterino; Inmunofluorescencia directa, Enfermedades de transmisión sexual (fuente: DeCS BIREME).

### ABSTRACT

**Objectives:** To determine the presence and relationship of type 2 herpes simplex virus (HSV-2) in women with different degrees of pre-invasive cervical lesions. **Materials and methods:** 176 women with pre-invasive cervical lesions and 40 healthy controls were studied. These women were regular clients of gynecology outpatient clinics in different health centers during the 2002-2005 period in Maracaibo, Venezuela. Subjects underwent an exo-cervical smear and a colposcopy-oriented biopsy of the lesion site. HSV-2 determination was performed using direct immunofluorescence. **Results:** HSV-2 infection was detected in 44/176 women (25%). The highest figures for HSV-2 were obtained in women with ICN II lesions (66,7%). The highest frequencies of HSV-2 infections were found in women starting sexual life between 15 and 20 years of age (34,5%). Daily intercourse (50%), as well as oral sex, was considered as the most risky behavior for acquiring the infection. **Conclusions:** No direct relationship between HSV-2 and cancer was evidenced. Risk factors associated with this infection are similar to those for other sexually transmitted diseases, and they are linked with sexual behavior and individual habits.

**Key words:** Herpes simplex virus type 2; Cervical intraepithelial neoplasia; Direct immunofluorescence; Sexually transmitted diseases (source: DeCS BIREME).

### INTRODUCCIÓN

El cáncer cervical es considerado hoy en día la neoplasia más frecuente en la población femenina, aproximadamente 1,6% de las mujeres, a nivel mundial, desarrollan esta afección. Anualmente mueren 273 mil mujeres como consecuencia de la enfermedad. De ese total, 80% son mujeres que viven en países pobres o en desarrollo<sup>1,2</sup>. La evidencia epidemiológica sugiere,

desde hace varios años, que el cáncer cervical se comporta como una enfermedad de transmisión sexual, por lo que sus factores de riesgo tienden a ser similares a los de este grupo de enfermedades, a saber: el inicio de relaciones sexuales a temprana edad, múltiples compañeros sexuales, bajo nivel socioeconómico, y antecedentes de infecciones de transmisión sexual (ITS), como son las causadas por el virus de papiloma humano (VPH)<sup>3,4</sup> y el virus de herpes simple tipo 2 (VHS-2).

<sup>1</sup> Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia. Zulia, Venezuela.

<sup>2</sup> Laboratorio Regional de Referencia Viroológica, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Zulia, Venezuela.

<sup>3</sup> Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Zulia, Venezuela.

<sup>4</sup> Departamento de Ginecología y Obstetricia, Hospital "Manuel Noriega Trigo", Instituto Venezolano de los Seguros Sociales. Zulia, Venezuela.

<sup>5</sup> Cátedra de Virología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Zulia, Venezuela.

Se ha planteado que el VHS-2 puede ser un potencial cofactor en la génesis del cáncer cervical, sin embargo, la evidencia al respecto es aún controversial<sup>5,6</sup>.

Las infecciones por VHS-2 son generalmente asintomáticas, por lo que en muchos de los casos son transmitidas sin que el infectado tenga conocimiento de ello, además, la carencia de herramientas de diagnóstico adecuadas para discernir las reacciones antigénicas cruzadas entre VHS-1 y VHS-2, originan serias dificultades en el esclarecimiento de la epidemiología de VHS-2<sup>7</sup>.

A nivel mundial el VHS-2 ha mostrado un incremento de 30% en las últimas dos décadas. El porcentaje de pacientes seropositivos comienza a incrementarse durante la adolescencia desde 15% a más de 50% en la edad adulta<sup>7</sup>. En el Perú se ha determinado que la seroprevalencia de VHS-2 es de 20,5 a 21,5% en mujeres y de 7,1 a 7,7% en varones de población general<sup>8,9</sup>; pero es mucho mayor en población urbana de bajos recursos económicos donde la prevalencia en mujeres es de 42,5% y en varones 20,7%<sup>9</sup>.

Recientes estudios han demostrado que el VHS-2 en coinfección con otro virus como el virus del papiloma humano (VPH), se convierte en potencial factor de riesgo en el desarrollo de procesos neoplásicos<sup>10</sup>; sugiriendo que la interacción biológica entre los dos agentes infecciosos podría conllevar al desarrollo del cáncer cervical<sup>11</sup>. Los otros estudios, por el contrario, no han podido demostrar una relación directa entre VHS-2 y cáncer cervical. Aunque la evidencia es contradictoria, el potencial de riesgo asociado con la interrelación entre el VHS-2 y la aparición de cáncer cervical requiere de mayores estudios que esclarezcan esta probable asociación. A pesar de esto existen evidencias que el VHS-2 es un potencial cofactor de riesgo asociado con cáncer cervical<sup>12</sup>.

En tal sentido, se decidió llevar a cabo este estudio con el objeto de determinar la presencia del VHS-2 en un grupo de pacientes con lesiones preinvasivas de cuello uterino a fin de conocer la relación entre este virus con otros factores de riesgo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron 176 mujeres con lesiones preinvasivas de cuello uterino y 40 mujeres voluntarias sanas como grupo control, sin discriminar edad, raza y paridad, las cuales asistieron a la consulta de atención ginecológica de diversos centros dispensadores de salud durante el periodo 2002 al 2005 en la ciudad de Maracaibo,

Estado Zulia, Venezuela. Es importante señalar que el bajo número de pacientes control se debe al tipo de muestra empleada por tanto se hace difícil la captación de pacientes sanas voluntarias que deseen participar.

A cada una de las pacientes se le realizó una historia clínica previo consentimiento informado para participar en el estudio, el cual fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia y del Fondo Nacional para la Ciencia y la Tecnología, Caracas, Venezuela (FONACIT).

Tanto a las pacientes objeto de estudio como las de control se les realizó un examen ginecológico, que consistió en la exploración colposcópica del exocérvix a fin de visualizar la presencia de alguna atipia celular, en tales casos se realizó una biopsia en donde se tomó un fragmento, que fue colocado en formalina al 10% incluido en parafina, para la realización de cortes de seis micras y teñidos con hematoxilina-eosina para identificar los cambios histopatológicos y determinar el tipo de lesión.

Para la determinación de VHS-2 se tomó una muestra del sitio de la lesión usando un hisopo estéril, la cual fue extendida en una lámina portaobjeto, fijada inmediatamente en acetona fría y congelada a -70 °C hasta su posterior procesamiento, usando el método de inmunofluorescencia directa (IFD), (IMAGEN™ Herpes Simplex Virus Type 1 and 2, Dako Diagnostics Ltd) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se consideraron positivas aquellas muestras que mostraron fluorescencia intracelular y gránulos citoplasmáticos de color verde manzana visualizados en el microscopio de epifluorescencia (OLYMPUS, BX-MAX 50, NY USA), con objetivo de 200X y 500X.

Los resultados fueron dispuestos en tablas de frecuencias y analizados a través de la prueba chi cuadrado ( $\chi^2$ ) y la prueba exacta de Fischer para determinar diferencias entre los grupos estudiados, según correspondía. Se consideró toda probabilidad menor de 0,05 ( $p < 0,05$ ) como significativa y se usó como índice de confianza el 95%.

## RESULTADOS

La prevalencia general en la población estudiada de infección por VHS-2 fue de 25% (44/176). En la tabla 1 se muestra los factores asociados en la infección por VHS-2 en mujeres con lesiones preinvasivas de cuello uterino, donde el promedio de edad de las mujeres infectadas fue de 32,7 años  $\pm$  9,1 DS con un rango de edad entre 15 y 56 años.

El mayor porcentaje de infección por VHS-2 se determinó en las pacientes que iniciaron sus relaciones sexuales entre los 15 y 20 años (34,5%) con una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,01$ ) con respecto al grupo de 21-25 años. El mayor número de casos de VHS-2 positivos se observó en todas las pacientes que refirieron tener hasta más de tres compañeros sexuales (37,5%), con diferencias entre los grupos con lesión que tenían uno ( $p < 0,0001$ ) y dos compañeros ( $p < 0,001$ ), así mismo, el grupo sin lesión de la misma categoría ( $p < 0,001$ ). La presencia de VHS-2 se detectó en 50% de las pacientes que manifestaron tener relaciones sexuales diarias y se obtuvo una diferencia de los grupos con lesión que manifestaron tener relaciones ocasionales y diarias ( $p < 0,01$ ).

Las relaciones sexuales semanales resultaron estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ) con respecto a la dia-

ria u ocasional; mientras que las pacientes control que manifestaron no tener relaciones sexuales actualmente fueron diferentes ( $p < 0,01$ ) respecto a los que manifestaron relaciones ocasionales, mensuales y semanales.

El tipo de relación que prevaleció para adquirir la infección por VHS-2 fue la orogenital (42,8%), se obtuvieron diferencias en las pacientes con lesión que manifestaron tener relaciones por vía genital y ano-genital con respecto a las de tipo orogenital y mixta ( $p < 0,05$ ).

En la tabla 2 se muestra la presencia del VHS-2 y su relación con el tipo de lesión encontrada. De 176 biopsias estudiadas, se determinaron 112 casos para NICI, diferente del grupo NICII ( $p < 0,0001$ ) y NICIII ( $p < 0,05$ ), con 24 casos cada uno. El VHS-2 estuvo presente en los diferentes grados de lesiones menos en carcinomas, con mayor porcentaje en las pacientes diagnosticadas

**Tabla 1.** Factores asociados con la infección por VHS-2 en mujeres con lesiones preinvasivas de cuello uterino. Maracaibo-Venezuela, 2002-2005

Factores asociados	Pacientes con lesiones			Pacientes sin lesiones		
	Total	Positivo a HVS-2 n	(%)	Total	Positivo a HVS-2 n	(%)
<b>Grupo etario</b>						
15-20	16	4	(25,0)	0	0	-
21-25	32	12 <sup>h</sup>	(37,5)	4	4 <sup>b</sup>	(100)
26-30	24	4	(16,6)	4	0	-
31-35	32	0 <sup>ai</sup>	-	28	12	(42,9)
>35	72	24	(33,3)	4	0	-
<b>Edad 1.ª relación sexual</b>						
15-20	116	40 <sup>c</sup>	(34,5)	28	12	(42,9)
21-25	44	4 <sup>i</sup>	(0,9)	8	4	(50,0)
26-30	8	0	-	4	0	-
>30	8	0	-	0	0	-
<b>N.º de compañeros sexuales</b>						
1	68	4 <sup>di</sup>	(5,9)	32	12	(37,5)
2	76	28	(36,8)	8	4	(50,0)
>2	32	12	(37,5)	0	0	-
<b>Frecuencia de relaciones sexuales</b>						
Sin relación actual	8	0 <sup>l</sup>	-	8	8 <sup>f</sup>	(100)
Ocasional	116	36	(31,0)	4	0	-
Mensual	28	4	(14,3)	4	0	-
Semanal	16	0 <sup>ei</sup>	-	24	8	(33,3)
Diaria	8	4	(50,0)	0	0	-
<b>Tipo de relación sexual</b>						
Genital	120	24 <sup>g</sup>	(20,0)	24	8	(33,3)
Orogenital	28	12	(42,9)	16	8	(50,0)
Ano-genital	12	0 <sup>g</sup>	-	0	0	-
Mixta	16	8	(50,0)	0	0	-
<b>Total</b>	<b>176</b>	<b>44</b>	<b>(25,0)</b>	<b>40</b>	<b>16</b>	<b>(40,0)</b>

<sup>a</sup> Diferente de los otros grupos CL ( $p < 0,05$ ); <sup>b</sup> diferente de los grupos SL 26-30 y >35 años ( $p < 0,05$ ); <sup>c</sup> diferente del grupo CL 21-25 años ( $p < 0,01$ ); <sup>d</sup> diferente de los grupos CL 1 ( $p < 0,0001$ ) y 2 ( $p < 0,001$ ) compañeros; <sup>e</sup> diferente de los grupos CL ocasional y diaria ( $p < 0,01$ ); <sup>f</sup> diferente de los grupos SL ocasional mensual y semanal ( $p < 0,01$ ); <sup>g</sup> diferente de los grupos CL orogenital y mixta ( $p < 0,05$ ); <sup>h</sup> diferente del grupo SL de la misma categoría ( $p < 0,05$ ); <sup>i</sup> diferente del grupo SL de la misma categoría ( $p < 0,01$ ); **CL** = pacientes con lesiones; **SL** = pacientes sin lesiones. v

**Tabla 2.** Prevalencia de herpes simple tipo 2 en mujeres con lesiones preinvasivas de cuello uterino, según tipo de lesión encontrada. Maracaibo-Venezuela, 2002-2005.

Tipo de lesión	Pacientes con lesiones			Pacientes sin lesiones		
	Total	Positivo a HVS-2		Total	Positivo a HVS-2	
		n	(%)		n	(%)
Sin lesión	0	0	-	20	8	(40,0)
Inflamatorio	0	0	-	20	8	(40,0)
Condiloma	12	4	(33,3)	0	0	-
NIC I	112	16 <sup>a</sup>	(17,2)	0	0	-
NIC II	24	16 <sup>b</sup>	(66,7)	0	0	-
NIC III	24	8	(33,3)	0	0	-
Carcinoma	4	0	-	0	0	-
<b>Total</b>	<b>176</b>	<b>44</b>	<b>(25,0)</b>	<b>40</b>	<b>16</b>	<b>(40,0)</b>

<sup>a</sup> Diferente de los grupos NIC II ( $p < 0,0001$ ) y NIC III ( $p < 0,05$ ); <sup>b</sup> Diferente de los grupos NIC III y carcinoma ( $p < 0,05$ )

con condilomas y NICIII, (33,3%) pero sin diferencias significativas. Se detectaron 16 casos de VHS-2 en los NIC I y NICII (17,2% y 66,7% respectivamente), con diferencias significativas con respecto al grupo NIC III y carcinoma ( $p < 0,05$ ).

## DISCUSIÓN

Se han reportado diversos cofactores asociados con la génesis del casos del cuello uterino, tales como infecciones virales, micóticas, consumo de tabaco, alcohol y anticonceptivos orales, estado de inmunosupresión y uso de frecuente de duchas vaginales<sup>13-16</sup>, para el caso del virus de herpes simple tipo 2 (VHS-2) la evidencia de que sea un cofactor de cáncer de cuello uterino, aún es incierta<sup>17-18</sup>.

Un hallazgo importante del presente estudio fue encontrar la presencia del VHS-2 como marcador importante de la conducta sexual en la población objeto de estudio. Diversos estudios han demostrado que ciertos comportamientos, como el número de compañeros sexuales, inicio de relaciones sexuales a temprana edad, la frecuencia y el tipo de relación sexual, aumentan la probabilidad de desarrollar una infección por el VHS-2<sup>4,19,20</sup>.

El presente estudio encontró diferencias significativas entre las pacientes infectadas por este virus, en relación a sus conductas sexuales. Es conocido que el número de parejas sexuales es un indicador de riesgo para adquirir infecciones de transmisión sexual (ITS), diversos estudios describen que el mayor riesgo de contraer la infección se presenta en mujeres con múltiples compañeros sexuales<sup>8,21,22</sup>, hecho que respalda nuestros hallazgos. Así mismo, se encontró que mujeres con más de tres compañeros sexuales incrementan el porcentaje de infección para VHS-2 (37,5%).

Es importante hacer notar que la información recopilada para ciertas conductas sexuales, no fue del todo

confiable, motivado a falta de honestidad por parte de las pacientes al responder la encuesta, ya que muchas de ellas manifestaron tener o haber tenido un solo compañero sexual y haber iniciado sus relaciones a partir de los 18 años, así como también la frecuencia de las relaciones sexuales, hecho que se pone en manifiesto al observar que 100% de las pacientes control que no manifestó tener relaciones sexuales estén infectadas. Kjaer determinó que la primera relación sexual entre los 14 y 16 años aumentaba el riesgo a contraer la infección<sup>22</sup>, este hallazgo guarda similitud con nuestros resultados donde el mayor porcentaje de infección para VHS-2 estuvo en el inicio de relaciones sexuales entre los 15 - 20 años (34,5%).

Las relaciones sexuales diarias (50%), así como relaciones de tipo orogenital fueron consideradas las conductas de mayor riesgo para adquirir la infección por ambos virus, por lo que se pone en evidencia la importancia que reviste la infección por VHS-2 como marcador biológico de comportamiento sexual en mujeres<sup>23</sup>.

En relación a la edad, la presencia de HSV-2 se observó con mayor frecuencia en el grupo comprendido entre 20 y 40 años, con un pico de incidencia entre los 21 y 25 años, esto puede explicarse por el tipo de población estudiada, en su mayoría joven y en edad reproductiva. Además de que estos datos guardan relación con la edad de los matrimonios, cambios de pareja y el índice de promiscuidad sexual. Es probable que todos estos factores estuviesen involucrados en la presencia de VHS-2 en todos los grupos de edades estudiadas, sobre todo si se toma en cuenta que el VHS-2 es de fácil diseminación y que los factores de riesgo para adquirir la infección son similares a otras enfermedades transmitidas sexualmente<sup>3,8</sup>.

Sapountzi-Krepia *et al.*<sup>24</sup> en el 2001 realizaron un estudio donde se relacionaba la displasia cervical con el

VHS-2 y encontraron que la edad más frecuente de las pacientes era de 26 a 40 años de edad, lo cual coincide con nuestro estudio.

Investigaciones basadas en pruebas serológicas demuestran que la población femenina es más susceptible que los hombres, a adquirir la infección de VHS-2<sup>8,9</sup>, pudiendo esto ser otra evidencia de que el VHS-2 cumple un papel muy importante en el desarrollo de procesos neoplásicos. Estos resultados guardan relación con los detectados por Lazcano-Ponce *et al.* en un estudio realizado en la Ciudad de México, en el cual obtuvieron 29,8% de prevalencia para VHS-2<sup>25</sup>.

Para la determinación de VHS-2 se usó el método estandarizado y validado de inmunofluorescencia directa, el cual utiliza un anticuerpo monoclonal contra el antígeno del VHS-2, esta técnica ha demostrado ser más sensible que pruebas de tipo serológicas como el inmunoensayo enzimático. Landry *et al.*<sup>26</sup> en 1996 obtuvieron 29,1% de casos positivos para VHS-2 usando este método, resultados similares a los obtenidos en nuestro estudio (25%), mientras que Benedetti *et al.*<sup>27</sup> obtuvieron 90,9% de prevalencia de VHS-2 por métodos serológicos y Conde *et al.* 60,9% por el mismo método<sup>21</sup>. Estas divergencias en los porcentajes de prevalencia de diferentes estudios se debe probablemente al tipo de población estudiada y a el grado de sensibilidad de los métodos de detección empleados, por lo que para definir la prevalencia real en una población determinada debe tomarse en cuenta el porcentaje de error muestral inherente al método empleado, los factores de riesgos de cada población estudiada tales como inicio de relaciones sexuales, número de compañeros sexuales, nivel sociocultural, entre otros; así como también las reacciones cruzadas que se conoce que posee el virus con respecto a los demás miembros de la familia Herpesviridae<sup>7</sup>.

Usar la seroprevalencia de VHS-2 como único indicador de infección genital por el virus, es inadecuado ya que el VHS-1 también es capaz de producir infección genital. Se estima que de 10 a 15% de todos los casos de infección primaria genital son causadas por VHS-1<sup>28</sup>. Una vez que la infección se establece en el huésped, el virus persiste en un estado no replicativo, y bajo ciertas condiciones el virus puede ser inducido a replicarse y producir la enfermedad o ser asintomático; esto pudiera explicar la alta prevalencia de VHS-2 cuando se emplean métodos serológicos que detectan sólo la presencia de anticuerpos<sup>7</sup>.

Al comparar la presencia del VHS-2 en los diferentes grados de lesiones de cuello uterino mediante inmunofluorescencia directa, se determinó una diferencia significativa entre la presencia del VHS-2 en pacientes

con grado de lesión NIC I con respecto a NIC II y NICIII, pero no se determinó una correlación directa entre la presencia del VHS-2 por el método de IFD y la presencia del cáncer cervical, la mayoría de los casos positivos se correspondían con el grado de lesión NIC II. Este resultado refuerza lo reportado recientemente por Tran - Thanh *et al.*<sup>29</sup> quien no determinó una relación entre la infección por VHS-2 y el cáncer de cuello uterino. Diversos estudios internacionales han sugerido que el VHS-2 está relacionado con una elevada incidencia de cáncer cervicouterino, mientras que otros estudios epidemiológicos han concluido que el VHS-2 no es un factor de riesgo para la aparición de cáncer cervical<sup>12</sup>. Otros autores plantean una sinergia en el potencial oncogénico que poseen el virus de papiloma humano (VPH) y VHS-2, los cuales han sido detectados en mujeres que presentan lesiones preinvasivas en el cérvix<sup>30</sup>.

De igual forma Smith *et al.*<sup>30</sup> han afirmado que el VHS-2 es un cofactor de la etiología del cáncer cervical, mayormente en mujeres con infecciones mixtas de VPH/VHS-2 donde la forma más viable que el VHS-2 tenga participación en la progresión de NIC a cáncer cervical, sea por daños ocasionados en el ADN o por anomalías cromosómicas en las células epiteliales del cérvix que se encuentran de forma latente infectadas por el VPH. Así mismo Koffa *et al.*<sup>18</sup> indican que el VHS-2 cumple un papel importante en el cáncer cervical.

Los datos obtenidos en este estudio demuestran que el VHS-2 es un estimador confiable del comportamiento sexual de los individuos, lo que conlleva a un alto riesgo para adquirir esta infección de transmisión sexual<sup>14,23</sup>. No se evidenció una relación directa entre VHS-2 y la presencia de cáncer cervical. Por lo cual concluimos que el VHS-2 no es capaz por sí solo de causar lesión; así mismo, que por ser un virus que se transmite sexualmente posee los mismos factores de riesgo que el resto de las ITS y que en conjunción con estos, podría cumplir un papel crucial en el desarrollo de lesión, hecho que sería interesante incluirlo en futuras investigaciones.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sankaranarayanan R, Ferlay J. Worldwide burden of gynaecological cancer: the size of the problem. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2006; 20(2): 207-25.
2. World Health Organization. Cervical cancer screening in developing countries. Report of a WHO consultation. Geneva: WHO; 2001.
3. Sellors JW, Karwalajtys TL, Kaczorowski J, Mahony JB, Lytwyn A, Chong S, et al. Incidence, clearance and predictors of human papillomavirus infection in women. *CMAJ* 2003; 168(4): 421-25.

4. **Franco EL, Duarte-Franco E, Ferenczy A.** Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. *CMAJ* 2001; 164(7): 1017-25.
5. **Nahmias AJ, Naib ZM, Josey WE.** Epidemiological studies relating genital herpetic infection to cervical carcinoma. *Cancer Res* 1974; 34(5): 1111-17.
6. **Paavonen J, Lehtinen M.** Interactions between human papillomavirus and other sexually transmitted agents in the etiology of cervical cancer. *Curr Opin Infect Dis* 1999; 12(1): 67-71.
7. **Manterola JM.** Diagnóstico de laboratorio de la infección por virus herpes. En: Rey-Joly (ed). *Infección herpética*. Barcelona Ediciones Doyma; 1991. p. 79-95.
8. **Sanchez J, Gotuzzo E, Escamilla J, Carrillo C, Phillips IA, Barrios C, et al.** Gender differences in sexual practices and sexually transmitted infections among adults in Lima, Peru. *Am J Public Health* 1996; 86(8): 1098-107.
9. **Konda KA, Klausner JD, Lescano AG, Leon S, Jones FR, Pajuelo J, et al.** The epidemiology of herpes simplex virus type 2 infection in low-income urban populations in coastal Peru. *Sex Transm Dis* 2005; 32(9): 534-41.
10. **Fang L, Ward MG, Welsh PA, Budgeon LR, Neely EB, Howett MK.** Suppression of human papillomavirus gene expression in vitro and in vivo by herpes simplex virus type 2 infection. *Virology* 2003; 314(1): 147-60.
11. **Hildesheim A, Mann V, Brinton L, Szklo M, Reeves WC, Rawls W.** Herpes virus simplex type 2: a possible interaction with human papillomaviruses types 16/18 in the development of invasive of cervical cancer. *Int J Cancer* 1991; 49(3): 335-40.
12. **Jones C.** Cervical cancer. Is herpes simplex virus type II a cofactor? *Clin Microbiol Rev* 1995; 8(4): 549-56.
13. **De San José S, Muñoz N, Bosch FX, Reimann K, Pedersen NS, Orfila J, et al.** Sexually transmitted agents and cervical neoplasia in Colombia and Spain. *Int J Cancer* 1994; 56(3): 358-63.
14. **Herrero R.** Epidemiology of cervical cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr* 1996; 21: 1-6.
15. **Peters RK, Thomas D, Hagan DG, Mack TM, Henderson BE.** Risk factors for invasive cervical cancer among Latinas and non-Latinas in Los Angeles County. *J Natl Cancer Inst* 1996; 77(5): 1063-77.
16. **Boyle DC, Smith JR.** Infection and cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Gynecol Cancer* 1999; 9(3): 177-86.
17. **Dalings JR, Madeleine MM, Mcknight B, Carter JJ, Wipf GC, Ashley R, et al.** The relationship of human papillomavirus-related cervical tumors to cigarette smoking, oral contraceptive use, and prior herpes simplex type 2 infection. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 1996; 5(7): 541-48.
18. **Koffa M, Koumantakis M, Ergazakic M, Tsatsanis C, Spandidos DA.** Association of herpes virus infection with the development of genital cancer. *Int J Cancer* 1995; 63(1): 58-62.
19. **Kjaer SK.** Risk factors for cervical neoplasia in Denmark. *APMIS Suppl* 1998; 80: 1- 41.
20. **Tonon SA, Picconi MA, Zinovich JB, Liotta DJ, Bos PD, Galuppo JA, et al.** Human papillomavirus cervical infections and associated risk factors in a region of Argentina with high incidence of cervical carcinoma. *Infect Dis Obstet Gynecol* 1999; 7(5): 237-43.
21. **Conde-Glez CJ, Juarez-Figueroa L, Uribe-Salas F, Hernandez-Nevarez P, Schmid DS, Calderon E, et al.** Analysis of herpes simplex virus 1 and 2 infection in women with high risk sexual behaviour in Mexico. *Int J Epidemiol* 1999; 28(3): 571-76
22. **Kjaer SK, Engholm G, Teisen C, Haugaard BJ, Lynge E, Christensen RB, et al.** Risks factors for cervical human papillomavirus and herpes simplex virus infections in Greenland and Denmark: A population-based study. *Am J Epidemiol* 1990; 131(4): 669-82.
23. **van de Laar MJ, Temorshuizen F, Slomka MJ, van Doornum GJ, Ossewaarde JM, Brown DW, et al.** Prevalence and correlates of herpes simplex virus type 2 infection: evaluation of behavioral risk factors. *Int j Epidemiol* 1998; 27(1): 127-34.
24. **Sapountzi-Krepia D, Roupa Z, Binioris S, Tririntani M, Darrivakis S, Frangakis G, et al.** Cervical intraepithelial dysplasia (CIN 3) and history of herpes genitalis (HSV-2) in woman living in Attica, Greece. *In Vivo* 2001; 15(6): 525-28.
25. **Lazcano-Ponce E, Smith JS, Muñoz N, Conde-Glez CJ, Juarez-Figueroa L, Cruz A, et al.** Prevalence of antibodies to herpes simplex virus type 2 among middle-age women in Mexico City. Mexico: a population based study. *Sex Transm Dis* 2001; 28(5): 270-76.
26. **Landry M, Ferguson D, Wlochowski J.** Detection of herpes simplex virus in cervical specimens by cytospin-enhanced direct immunofluorescence. *J Clin Microbiol* 1997; 35(1):302-4.
27. **Benedetti JK, Zeh J, Forey L.** Clinical reactivation of genital herpes simplex virus infection decreases in frequency over time. *Ann Intern Med* 1999; 131(1): 14-20.
28. **Ribes JA, Smith A, Hayes M, Baker DJ, Winters JL.** Comparative performance of herpes simplex virus type 1-specific serologic assays from MRL and Meridian Diagnostics. *J Clin Microbiol* 2002; 40(3): 1071-72.
29. **Tran-Thanh D, Provencher D, Koushik A, Duarte-Franco E, Kessous A, Drouin P, et al.** Herpes simplex virus type II is not cofactor to human papillomavirus in cancer of the uterine cervix. *Am.J Obstet Gynecol*2003; 188(1): 129-34.
30. **Meng XJ, Sun Y, Chen MH, Liu ZH, Zhang YX, Li XZ, et al.** Viral etiology of cervical carcinoma. Human papilloma virus and herpes simplex virus type 2. *Chin Med J (Engl)* 1998; 102(2): 94-99.
31. **Smith JS, Herrero R, Bosetti C, Muñoz N, Bosch FX, Eluf-Neto J, et al.** Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94(21): 1604-13.

---

**Correspondencia:** MgSc. Diana Callejas. Laboratorio Regional de Referencia Viroológica, Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de Zulia. Zulia, Venezuela.

Dirección: Av. 16 Sector Paraíso. Zulia, Venezuela.

Teléfono:+5802617597273; Fax:+5802617597231.

Correo electrónico: yenddy carrero@yahoo.es