



Brazilian Journal of
OTORHINOLARYNGOLOGY

www.bjorl.org.br



ARTIGO ORIGINAL

Herpes viruses and human papilloma virus in nasal polyposis and controls[☆]

Dimitrios Ioannidis^a, Vasileios A. Lachanas^{b,*}, Zoe Florou^a, John G. Bizakis^{b,c},
Efthymia Petinaki^a, Charalampos E. Skoulakis^{b,c}

^a Departamento de Microbiologia, Faculdade de Medicina, Universidade de Tessália, Larissa, Grécia

^b Departamento de Otorrinolaringologia, Hospital Universitário de Larissa, Larissa, Grécia

^c Departamento de Otorrinolaringologia, Faculdade de Medicina, Universidade de Tessália, Larissa, Grécia

Recebido em 17 de setembro de 2014; aceito em 18 de janeiro de 2015

KEYWORDS

Sinusitis;
Nasal polyps;
Viruses;
Herpesviridae

Abstract

Introduction: Chronic rhinosinusitis with nasal polyps is a multifactorial disease entity with unclear pathogenesis. Contradictory data exist in the literature on the potential implication of viral elements in adult patients with chronic rhinosinusitis.

Objective: To compare the prevalence of human herpes viruses (1-6) and Human Papilloma Virus in adult patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps and healthy controls.

Methods: Viral DNA presence was evaluated by real-time polymerase chain reaction application to nasal polyps specimens from 91 chronic rhinosinusitis with nasal polyps patients and nasal turbinate mucosa from 38 healthy controls.

Results: Epstein-Barr virus positivity was higher in nasal polyps (24/91; 26.4%) versus controls (4/38; 10.5%), but the difference did not reach significance ($p = 0.06$). Human herpes virus-6 positivity was lower in nasal polyps (13/91; 14.29%) versus controls (10/38; 26.32%, $p = 0.13$). In chronic rhinosinusitis with nasal polyps group, 1 sample was herpes simplex virus-1-positive (1/91; 1.1%), and another was cytomegalovirus-positive (1/91; 1.1%), versus none in controls. No sample was positive for herpes simplex virus-2, varicella-zoster virus, high-risk-human papillomaviruses (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) and low-risk-human papilloma viruses (6, 11).

DOI se refere ao artigo: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjorl.2015.08.010>

[☆] Como citar este artigo: Ioannidis D, Lachanas VA, Florou Z, Bizakis JG, Petinaki E, Skoulakis CE. Herpes viruses and human papilloma virus in nasal polyposis and controls. Braz J Otorhinolaryngol. 2015;81:658-62.

* Autor para correspondência.

E-mail: vlachanas@gmail.com (V.A. Lachanas).

PALAVRAS-CHAVE

Sinusite;
Pólipos nasais;
Herpesviridae;
Papilomavírus humano

Conclusion: Differences in Epstein-Barr virus and human herpes virus-6 positivity among patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps and healthy controls are not statistically significant, weakening the likelihood of their implication in chronic rhinosinusitis with nasal polyps pathogenesis.

© 2015 Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY- license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Herpesvírus e vírus do papiloma humano na polipose nasal e controles**Resumo**

Introdução: A rinossinusite crônica com pólipos é uma doença multifatorial de etiopatogênese ainda não definida. Existem dados contraditórios na literatura sobre a implicação potencial de elementos virais na etiologia de pólipos nasossinuais.

Objetivo: Comparar a prevalência de herpes vírus humanos (1-6) e papiloma vírus humano em pacientes adultos com rinossinusite crônica com pólipos nasais (CRwNP) e controles saudáveis.

Método: A presença de DNA viral foi avaliada por PCR em tempo real, em amostras de pólipos nasais de 91 pacientes com CRwNP e na mucosa das conchas nasais de 38 controles saudáveis.

Resultados: A positividade do EBV foi maior nos pólipos nasais (24/91; 26,4%) do que nos controles (4/38; 10,5%), mas a diferença não foi significativa ($p = 0,06$). O HHV-6 apresentou positividade menor nos pólipos nasais (13/91; 14,29%) do que os controles (10/38; 26,32%), ($p = 0,13$). No grupo CRwNP, uma amostra foi positiva para o vírus herpes simples (HSV-1) (1/91; 1,1%), e uma para citomegalovírus (CMV) (1/91; 1,1%); e nenhuma amostra foi positiva no grupo controle. Não houve amostra positiva para HSV-2, VZV, HR-HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) e LR-HPV (6, 11).

Conclusão: Diferenças de positividade do EBV e HHV-6 entre pacientes com CRwNP e controles saudáveis não são estatisticamente significantes, enfraquecendo a probabilidade de sua implicação na patogênese da CRwNP.

© 2015 Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob a licença CC BY (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.pt>).

Introdução

A rinossinusite crônica com pólipos nasais (RSCcPN) é uma subclassificação da rinossinusite crônica (RSC) idiopática.¹ Trata-se de uma síndrome clínica caracterizada por inflamação sintomática persistente da mucosa da cavidade do nariz e dos seios paranasais.¹ Atribui-se a etiopatogênese da RSCcPN, principalmente, a uma interação disfuncional entre o hospedeiro e o ambiente.² Embora a identificação de agentes exógenos impulsadores de mecanismos inflamatórios secundários tenha se constituído em área de pesquisa intensiva, o possível envolvimento da infecção viral é um tópico relativamente pouco estudado.¹

O vírus do herpes simplex (HSV-1), herpes simplex-2 (HSV-2), varicela-zoster (VZV), citomegalovírus (CMV), vírus de Epstein-Barr (EBV) e herpesvírus humano-6 (HHV-6), juntamente com os papilomavírus humanos (HPV), são vírus de DNA com capacidade de se incorporar ao DNA do hospedeiro. Além do estabelecimento de infecções latentes permanentes na mucosa do trato respiratório superior; pode levar à ocorrência de reativação em estados de imunossupressão.³⁻⁶ Até a presente data, apenas alguns estudos⁷⁻¹⁷ investigaram o papel potencial desses agentes virais em casos de RSCcPN, embora seus resultados tenham sido controversos. Ademais, a técnica de PCR quantitativa em tempo real, de alta sensi-

bilidade, foi empregada até o momento em apenas dois estudos na detecção de agentes virais em casos de RSCcPN.^{11,17}

Os objetivos do presente estudo foram avaliar e comparar a prevalência dos herpesvírus humanos (HHV) e de tipos do HPV de alto risco (HR-HPV) (subtipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) e de baixo risco (LR-HPV) (subtipos 6, 11) em amostras de tecido nasal de pacientes com RSCcPN e de controles saudáveis, mediante o emprego da técnica de PCR quantitativa altamente sensível; e revisar a literatura pertinente.

Método

Este é um estudo transversal de coorte contemporânea realizado prospectivamente, de janeiro de 2009 a janeiro de 2013, com base em pacientes adultos com RSCcPN tratados por cirurgia endoscópica funcional dos seios paranasais (CE-FSP). O diagnóstico de RSCcPN foi estabelecido de acordo com os critérios do EPOS (*European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps*).¹ O grupo controle consistiu-se por pacientes adultos saudáveis com desvio de septo nasal tratados por septoplastia sem RSC, ainda de acordo com os critérios EPOS.¹ Pacientes pediátricos, bem como aqueles com asma, fibrose cística, discinesia ciliar primária, sinusite

fúngica alérgica, rinite alérgica, papiloma invertido e soropositividade para HIV foram excluídos do estudo. Também foram excluídos indivíduos em ambos os grupos que tivessem apresentado infecção do trato respiratório no período de duas semanas antes da cirurgia, e aqueles que tivessem usado esteroides sistêmicos no mês precedente à cirurgia.

Nos pacientes com RSCcPN, as amostras de pólipos nasais foram obtidas dos seios paranasais durante a CEFSP, enquanto que no grupo controle foram coletadas biópsias de tecido da mucosa das conchas inferiores durante a septoplastia. As amostras de pólipo e de tecido nasais extraídas durante a cirurgia foram imediatamente transferidas para recipientes secos estéreis e enviadas ao laboratório. Com o uso de um bisturi, os tecidos foram divididos em vários fragmentos (2-4 mm), sendo separados em três partes: para cultura convencional, para técnicas moleculares e para armazenamento a -80 °C.

Para cada paciente, os fragmentos de tecido foram inoculados em ágar Sabouraud a 30°C durante dez dias e em ágar de Columbia enriquecido com sangue de ovelha a 5%, incubados em atmosfera com 5% de CO₂ e em atmosfera anaeróbica durante dois dias. Todas as amostras foram coradas pelo método de Gram, com a finalidade de avaliar a presença de leucócitos e de flora microbiana.

Fragmentos de tecido de cada paciente foram escolhidos para extração de DNA com uso de *kits* comerciais (Invitrogen), de acordo com as instruções do fabricante. A eficiência da extração do DNA e a possível presença de inibidores na amostra foram confirmadas pela detecção do gene para β 2-globina com o uso dos *primers* RS42 (5'-GCTCACTCAGTG TGGCAAAG-3') e Km (5'-GGTTGGCCAATCTACTCCCAGG-3').

As amostras de DNA extraído foram analisadas pelo equipamento Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR System para cálculo quantitativo de PCR em tempo real, com o uso dos seguintes *kits* comerciais, e de acordo com as instruções do fabricante: HSV1 Q-PCR Alert AmpliMIX, HSV2 Q-PCR Alert AmpliMIX, VZV Q-PCR Alert AmpliMIX, EBV Q-PCR Alert AmpliMIX, Q-CMV Real Time Complete, HHV-6 Q-PCR Alert AmpliMIX (Nanogen Advanced Diagnostics S.r.L), HPV High Risk Screen Real Time PCR (Sacace Biotechnologies) e HPV 6/11 Real-TM Real Time PCR (Sacace Biotechnologies).

Todos os dados, inclusive informações demográficas dos pacientes (idade, gênero, história), foram colocados em um banco de dados. Para a análise estatística, foi empregado o teste exato de Fisher. A análise dos dados foi realizada com o programa SPSS 20 (IBM, Chicago, IL, EUA). Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

As amostras foram analisadas no Departamento de Microbiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Tessália. O estudo foi aprovado pela Comissão de Revisão Institucional da universidade (protocolo de aprovação número 10/28-11-2007). Todos os pacientes e participantes do grupo controle forneceram consentimento informado por escrito.

Resultados

Cento e vinte e nove indivíduos da raça branca foram recrutados para o nosso estudo. O grupo de pólipos nasais consistiu-se de 91 pacientes (63 homens; média de idade de

53 anos; variação, 19-77 anos), enquanto que o grupo controle consistiu-se de 38 indivíduos (22 homens; média de idade de 43 anos; variação, 18-54 anos). Cirurgias primárias foram realizadas em 65 pacientes, e cirurgias de revisão em 26 (os dados epidemiológicos estão resumidos na tabela 1).

As culturas convencionais demonstraram que todas as amostras eram negativas para fungos, com positividade para cocos Gram-positivos, incluindo *Staphylococcus aureus*, estafilococos coagulase-negativos e *Streptococcus viridans*.

A extração de DNA, indicada pela detecção do gene para β 2-globina, foi bem-sucedida em todas as amostras.

A positividade para EBV foi mais alta no grupo de pólipos nasais vs. grupo controle (grupo de pólipos: 24/91; 26,4% vs. grupo controle: 4/38; 10,5%). No entanto, essa diferença não apresentou significância estatística ($p = 0,06$).

A positividade para HHV-6 foi mais baixa no grupo de pólipos nasais vs. grupo controle (grupo de pólipos: 13/91; 14,29% vs. grupo controle: 10/38; 26,32%). Essa diferença também não foi significativa ($p = 0,13$).

Foi observada positividade para HSV-1 em uma amostra de pólipo nasal (1/91; 1,1%), e positividade para CMV em outra amostra (1/91; 1,1%). Em todas as amostras do grupo controle, HSV-1 e CMV foram negativos. Essas diferenças não foram significantes.

No grupo de pólipos nasais, tanto EBV quanto HHV-6 foram positivos em quatro pacientes, enquanto EBV e CMV foram positivos em um paciente. Positividade simultânea para EBV e HHV-6 também foi detectada em dois indivíduos do grupo controle.

Todas as amostras dos grupos de estudo e controle foram negativas para HSV2, VZV, HR-HPV e LR-HPV DNA (Os resultados estão resumidos na tabela 2).

Discussão

Kozak et al.⁷ foram os primeiros autores a investigar um possível papel do EBV na etiologia dos pólipos nasais. Em um estudo piloto realizado em nove pacientes com RSCcPN e em seis controles com o uso da hibridização *in situ* (HIS), esses autores reportaram a ausência de EBV DNA em ambos os grupos. Em 2012, Sham et al.⁸ relataram achados similares com HIS em 30 pacientes com RSCcPN e em 32 controles. Por sua vez, Tao et al.⁹ foram os primeiros a relatar que a mucosa do pólipo nasal era um dos locais de persistência do

Tabela 1 Dados epidemiológicos sobre gênero, idade e tipo de cirurgia (primária ou de revisão) dos grupos com rinossinusite crônica com pólipos nasais (RSCcPN) e controle

	Grupo RSCcPN	Grupo controle
Total	91	38
Homens (%)	63 (69,2%)	22 (57,9%)
Mulheres (%)	28 (30,8%)	16 (42,1%)
Média de idade (Variação)	53 (19-77)	43 (18-54)
Cirurgia primária (%)	65 (71,4%)	Não disponível
Cirurgia de revisão (%)	26 (28,6%)	Não disponível

Tabela 2 Percentuais de HSV-1, HSV-2, VZV, CMV, EBV, HHV-6 e HPV (tipos HR-HPV e LR-HPV) nos grupos de rinossinite crônica com pólipos nasais e controle

	RSCcPN (n = 91)	Controle (n = 38)	Significância ^a
	Positivos - n (%)	Positivos - n (%)	
HSV1	1 (1,1%)	0 (0%)	NS
HSV2	0 (0%)	0 (0%)	NS
VZV	0 (0%)	0 (0%)	NS
EBV	24 (26,4%)	4 (10,5%)	NS
CMV	1 (1,1%)	0 (0%)	NS
HHV-6	13 (14,29%)	10 (26,32%)	NS
HR-HPV	0 (0%)	0 (0%)	NS
LR-HPV	0 (0%)	0 (0%)	NS

CMV, citomegalovírus; EBV, vírus de Epstein-Barr; HHV-6, herpesvírus humano-6; HPV, papilomavírus humanos; HR-HPV, HPV de alto risco; HSV-1, herpesvírus simples-1; HSV-2, herpesvírus simples-2; LR-HPV, HPV de baixo risco; NS, não significativo; VZV, vírus varicela zoster.

^a Teste exato de Fisher.

EBV. Esses autores estudaram 13 pacientes com RSCcPN e, com o uso da hibridização/Southern blot (HSB), PCR qualitativa e HIS, detectaram positividade para EBV em 15, 69 e 85% dos pacientes, respectivamente. Entretanto, Tao et al. não utilizaram controles. Zaravinos et al.¹⁰ compararam amostras de pólipos nasais de 23 pacientes com um grupo controle consistindo em 13 amostras de concha inferior coletadas de pacientes submetidos a cirurgias corretivas nasais, com o uso de PCR qualitativa. Esses autores observaram positividade para EBV em 35% dos pacientes com RSCcPN vs. 0% no grupo controle, o que demonstrou correlação significativa entre presença de EBV e de pólipos nasais. Recentemente, Costa et al.¹¹ foram os primeiros autores a usar PCR quantitativa em 35 pacientes com RSCcPN, objetivando comparar a ocorrência de EBV em pólipos nasais e em amostras do tecido de concha inferior homolateral. Esses autores observaram que a positividade para EBV tendia a ser mais alta em pacientes com RSCcPN, sugerindo um possível papel causal ou persistência em tecido linfóide inflamatório, mas essa diferença não mostrou significância. Entretanto, o estudo de Costa et al. teve como principal limitação a inexistência de um grupo controle constituído por indivíduos saudáveis. Nossos resultados apoiam os achados publicados por esses autores,¹¹ visto que a positividade para EBV foi mais alta em pacientes com RSCcPN vs. controles saudáveis; contudo, essa diferença também não foi significativa ($p = 0,06$).

Com relação ao HPV, também foram publicados achados controversos. Bradnsma et al.¹² e Gaffey et al.,¹³ com uso de HSB e HIS, respectivamente, observaram 0% de positividade para HPV em pacientes com RSCcPN. Becker et al.¹⁴ e Sham et al.,⁸ utilizando PCR qualitativa, também não encontraram qualquer positividade para HPV, tanto em pacientes com RSCcPN como nos controles. Em 2000, Hoffman et al.,¹⁵ com o uso de HSB e PCR qualitativa, detectaram apenas uma amostra com suspeita de positividade para HPV em um grupo de

33 pacientes com pólipos nasais, enquanto que Zaravinos et al.,¹⁰ empregando PCR qualitativa (*primers* GP5+/GP6+ não específicos para tipo), observaram positividade não significativa de HPV em pacientes com RSCcPN (3/23, 13%) vs. grupo controle (0/13 conchas inferiores).

Por outro lado, Fei Pei et al.,¹⁶ em um estudo chinês de grande porte, utilizaram PCR qualitativa e tecnologias de hibridização *flow-through* e GeneChip® para detecção de HPV de baixo risco (LR-HPV) e HR-HPV em 204 pacientes com RSCcPN e em 36 controles saudáveis (mucosa de concha média). Esses autores detectaram 40,2% de positividade para HPV em pacientes com RSCcPN vs. 0% em controles. Esses autores detectaram 13 genótipos de HPV nas amostras de RSCcPN (subtipos de LR-HPV: 11, 6, 34, 70 e 44; e subtipos de HR-HPV: 58, 52, 18, 16, 68, 53, 31 e 33); o subtipo mais prevalente foi LR-HPV-11 (45,28%). Não confirmamos os resultados publicados por Fei Pei et al.¹⁶ Os diferentes achados poderiam ser atribuídos às diferenças nas populações estudadas (asiática vs. caucasiana) ou ao método utilizado para detectar a infecção pelo HPV (PCR qualitativa vs. quantitativa). Recentemente, Rizzo et al.,¹⁷ em uma população caucasiana de 20 pacientes com RSCcPN e 10 controles, utilizou pela primeira vez PCR quantitativa em tempo real para HR-HPV (subtipos: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 53, 56, 58, 59, 66 e 70) e LR-HPV (subtipos: 6,11). Não foi observado nenhum caso de positividade para HR-HPV nesse estudo. Com relação a LR-HPV, Rizzo et al. relataram presença de 50% de HPV-11 no subgrupo de dez pacientes com RSCcPN sem doença alérgica; no subgrupo de dez pacientes com RSCcPN com doença alérgica não foram observadas amostras positivas; e nem no grupo controle. Os autores sugeriram que parâmetros clínicos como a alergia poderiam se constituir em fator de confusão para os resultados observados para HPV. Sugeriram também que a presença de HPV-11 poderia ser um marcador prognóstico no seguimento de pacientes com RSCcPN sem doença alérgica, pois notaram que os cinco pacientes positivos para HPV-11 se apresentavam com polipose nasal recidivante.¹⁷ Em nosso estudo, utilizamos PCR quantitativa em uma grande população de 91 pacientes com RSCcPN e em 38 controles. Nossos resultados confirmam os achados de Rizzo et al.,¹⁷ no que diz respeito à ausência de HR-HPV tanto em pacientes como em controles, mas não confirmamos a alta prevalência de LR-HPV-11 descrita por esses autores. As divergências podem ser atribuídas às diferenças no tamanho das amostras. Deve-se ter em mente que, em nosso estudo, não observamos qualquer positividade para LR-HPV, embora pacientes alérgicos tenham sido excluídos e 26 dos nossos pacientes tenham sido submetidos a cirurgia revisional.

Zaravinos et al.¹⁰ foram os primeiros autores a investigar a presença de HHV-6 em tecido de pólipo nasal. Com o uso de PCR qualitativa, esses autores verificaram que o HHV-6 DNA estava ausente tanto nas amostras de pólipo nasal como na mucosa de concha inferior do grupo controle. Por outro lado, Costa et al.,¹¹ empregando PCR quantitativa em amostras de pólipo nasal e de concha inferior de 35 pacientes com RSCcPN, constataram positividade para HHV-6 de 8% nas amostras de pólipo nasal e de 35% nas amostras de mucosa da concha. Essa diferença não foi significativa, mesmo considerando que Costa et al. não usaram um grupo controle. Nossos dados apoiam os achados de Costa et al.,¹¹ pois a positividade de HHV-6 foi mais baixa em amostras de pólipo nasal vs.

concha inferior do nosso grupo controle (14,29% vs. 26,32%, respectivamente), embora essa diferença não tenha sido significativa. Provavelmente, a diferença entre nossos resultados e os publicados por Zaravinos et al.¹⁰ possa ter sido decorrente da maior sensibilidade/especificidade da PCR quantitativa vs. qualitativa.¹¹

A presença de HSV-1, HSV-2, VZV e CMV foi investigada por Zaravinos et al.¹⁰ com o uso da PCR qualitativa, e por Costa et al.¹¹ com PCR quantitativa. Esses dois grupos de autores similaridade nos achados (duas amostras positivas para HSV-1 e uma para CMV cada, e não foi observada presença de HSV-2 ou VZV), resultado que concorda com nossos dados.

O principal ponto fraco de nosso estudo é a diferença existente no tamanho das amostras entre os grupos com RSCcPN (n = 91) e controle (n = 38). O tamanho das amostras são diferentes porque, dentro do período de estudo, apenas 38 dos pacientes de septoplastia foram aceitos como participantes. Essa diferença no tamanho das amostras pode ter influenciado nossos resultados e talvez explique algumas diferenças com relação aos resultados já publicados na literatura. Além disso, como foi dito acima, nossos resultados podem ser diferentes como consequência dos diferentes métodos utilizados na detecção dos agentes virais (HIS vs. HSB vs. PCR qualitativa vs. PCR quantitativa). Deve-se ter em mente que, à exceção de nosso estudo, apenas Costa et al.¹¹ empregaram a PCR quantitativa. Esse é também um dos pontos fortes de nosso estudo, pois a PCR quantitativa é o método com maior sensibilidade/especificidade.

Conclusão

Em conclusão, nossos dados demonstram que EBV e HHV-6 são detectados com PCR quantitativa em amostras de pólipos nasais, embora sem significado estatístico; além disso, nosso estudo demonstra que HR-HPV e LR-HPV estão ausentes nos pólipos nasais e nos controles.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Agradecimentos

Queremos expressar nossa apreciação ao dr. Timoleon Terzis e à sra. Paraskevi Tsirevelou, pela ajuda prestada na coleta das amostras, por suas sugestões e pelo contínuo apoio moral ao longo de todo o projeto.

Referências

1. Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, Bachert C, Alobid I, Baroody F, et al. EPOS 2012: European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012: a summary for otorhinolaryngologists. *Rhinology*. 2012;50:1-12.
2. Kern RC, Conley DB, Walsh W, Chandra R, Kato A, Tripathi-Peters A, et al. Perspectives on the etiology of chronic rhinosinusitis: an immune barrier hypothesis. *Am J Rhinol*. 2008;22:549-59.
3. Maglennon GA, McIntosh P, Doorbar J. Persistence of viral DNA in the epithelial basal layer suggests a model for papillomavirus latency following immune regression. *Virology*. 2011;414:153-63.
4. Doorbar J. Latent papillomavirus infections and their regulation. *Curr Opin Virol*. 2013;3:416-21.
5. Efsthathiou S, Preston CM. Towards an understanding of the molecular basis of herpes simplex virus latency. *Virus Res*. 2005;111:108-19.
6. Kalla M, Hammerschmidt W. Human b cells on their route to latent infection-early but transient expression of lytic genes of Epstein-Barr virus. *Eur J Cell Biol*. 2012;91:65-9.
7. Kozak FK, Mahony JB, Chernesky MA, Newhouse MT, Dolovich J, Hitch DA, et al. Nasal polyposis: in search of a viral etiology using DNA hybridization. *J Otolaryngol*. 1991;20: 404-7.
8. Sham CL, To KF, Chan PK, Lee DL, Tong MC, Van Hasselt CA. Prevalence of human papillomavirus, Epstein-Barr virus, p21, and p53 expression in sinonasal inverted papilloma, nasal polyp, and hypertrophied turbinate in Hong Kong patients. *Head Neck*. 2012;34:520-33.
9. Tao Q, Srivastava G, Dickens P, Ho FC. Detection of Epstein-Barr virus-infected mucosal lymphocytes in nasal polyps. *Am J Pathol*. 1996;149:1111-8.
10. Zaravinos A, Bizakis J, Spandidos DA. Prevalence of human papilloma virus and human herpes virus types 1-7 in human nasal polyposis. *J Med Virol*. 2009;81:1613-9.
11. Costa C, Garzaro M, Boggio V, Sidoti F, Simeone S, Raimondo L, et al. Detection of herpesviruses 1-6 and community-acquired respiratory viruses in patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyposis. *Intervirology*. 2014;57:101-5.
12. Brandsma J, Sciubba J, Shah K, Barrezaeta N, Galli R. Papilloma infection of the nose. *Cancer Cells*. 1987;30:1-8.
13. Gaffey MJ, Frierson HF, Weiss LM, Barber CM, Baber GB, Stoler MH. Human papillomavirus and Epstein-Barr virus in sinonasal schneiderian papillomas. An in situ hybridization and polymerase chain reaction study. *Am J Clin Pathol*. 1996;106:475-82.
14. Becker M, Forslund O, Hansson BG, Malm L. Search for the human papillomavirus in nasal polyps, using a polymerase chain reaction-method. *J Otolaryngol*. 1994;23:344-6.
15. Hoffmann M, Kahn T, Goeroegh T, Lohrey C, Gottschlich S, Meyer J, et al. Tracing human papillomavirus DNA in nasal polyps by polymerase chain reaction. *Acta Otolaryngol*. 2000;120:872-5.
16. Pei F, Chen XP, Zhang Y, Wang Y, Chen Q, Tan XJ, et al. Human papillomavirus infection in nasal polyps in a Chinese population. *J Gen Virol*. 2011;92:1795-9.
17. Rizzo R, Malagutti N, Bortolotti D, Gentili V, Rotola A, Fainardi E. Infection and HLA-G molecules in nasal polyposis. *J Immunol Res*. 2014;2014:407430.