JULIANA NOGUEIRA MARTINS RODRIGUES

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO EPSTEIN-BARR VIRUS (EBV) EM PACIENTES PORTADORES DE HIV, EM TRATAMENTO, ATENDIDOS NO SISTEMA HOSPITALAR DO SISTEMA PENITENCIÁRIO DO ESTADO DE SÃO PAULO

Tese apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para a obtenção do Título de Doutor em Ciências (Microbiologia).

Área de Concentração: Microbiologia

Orientador:
Prof. Dr. Edison Luiz Durigon

São Paulo
2008

RESUMO

RODRIGUES, J. N. M. **Epidemiologia e Caracterização Molecular do Epstein-Barr Virus (EBV) em Pacientes Portadores de HIV, em Tratamento, Atendidos pelo Sistema Hospitalar do Sistema Penitenciário do Estado de São Paulo**. 2008. 71 f. Dissertação (Doutorado em Ciências) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

O Epstein-Barr vírus (EBV) é a única espécie humana pertencente ao gênero *Lymphocryptovirus*. A transmissão ocorre através da saliva contaminada e geralmente ainda na infância. Nosso estudo analisou 165 amostras clínicas de pacientes, portadores de HIV, em tratamento com antiretrovirais, atendidos no Sistema Hospitalar do Sistema Penitenciário do Estado de São Paulo. Nosso enfoque foi pesquisar o EBV nas células mononucleares do sangue periférico, através das técnicas de PCR, *Nested-PCR* e seqüenciamento de nucleotídeos. Os resultados obtidos, indicaram que 11,51% (19) das amostras analisadas, apresentaram-se positivas para o EBV. Essas 19 amostras, foram seqüenciadas com *primers* específicos para a região da EBNA-1 (Epstein Barr Nuclear Antigen 1). As amostras foram alinhadas com o auxílio do DNASTAR. Ao alinharmos as amostras, encontramos uma troca de base (de G para A) em 7 amostras e essa troca não alterou a conformação da proteína EBNA-1. Na análise filogenética de nossas sequências com as depositadas no GenBank, foi possível observar dois grupos, que representam tipo 1 e o tipo 2 do EBV. 100% das amostras estudadas por nós foram identificadas como pertencentes ao grupo que caracteriza o tipo 2. Sendo assim, as 7 amostras que apresentaram a troca sugerem a origem um novo subtipo.

Palavras-chaves: Epstein-Barr vírus. EBNA-1. Seqüenciamento de nucleotídeos.

ABSTRACT

RODRIGUES, J. N. M. **Molecular Characterization of Epstein-Barr Virus (EBV) in HIV-1 Patients in Treatment from the Hospitalar System in the Penitentiary System from Sao Paulo State.** 2008. 71 p. Ph. D. Thesis (Microbiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

The Epstein-Barr Virus (EBV) is the only species to the genus *Lymphocriptovirus* that infects humans. One of the possible route for its transmission thought by contamined saliva and usually occurs in the childhood. This study analysed 165 clinical samples from HIV infected patients, treated by HARRT, attended in the Hospitalar System in the Penitentiary System from Sao Paulo State. The aim of this study was to search EBV in peripheral blood mononuclear cells by PCR, Nested-PCR and sequencing analysis. The results showed 11,51% of the analysed samples, positive for EBV. This samples, was sequenced with specifics primers from the EBNA-1 (Epstein Barr Nuclear Antigen 1) region. The samples were aligned by DNASTAR program. The aligned sequences showed the base conversion G to A in seven samples. This conversion caused no alteration in the EBNA-1 protein conformation. In the phylogenetic analysis the studied sequences with the sequences from GenBank was possible to observe two groups represented with type 1 and type 2 from EBV. 100% the samples studied was identified with the group characterized by the type 2 to EBV. So the seven samples showed the conversion, suggesting the origin of the one new subtype.

Key words: Epstein-Barr Virus. EBNA-1. Nucleotide Sequency.

1 INTRODUÇÃO

O Epstein-Barr vírus (EBV), também conhecido com Herpesvírus Humano tipo 4 (HHV-4), é um membro da família *Herpesviridae*, subfamíla *Gammaherpesvirinae* e infecta segundo dados sorológicos, aproximadamente 90% da população mundial. A transmissão ocorre através da saliva contaminada e geralmente ocorre ainda na infância. Após a infecção primária o vírus permanece no indivíduo por toda a vida. O EBV possui tropismo para linfócitos B e células epiteliais, podendo coexistir na forma latente e replicativa (ou lítica) (SIXBEY et al., 1983; RAAB-TRAUB e WEBSTER-CYRIAQUE, 1997; MURRAY e YOUNG, 2000).

O EBV foi o primeiro vírus humano a ser associado à carcinogênese (THOMPSON e KURZROCK, 2004). Desde a sua descoberta, vem sendo associado a várias doenças e atualmente tem sido muito estudado devido ao seu potencial oncogênico (FARRELL et al., 1997; PAGANO et al., 2004; AMON e FARRELL, 2005). Investiga-se a sua associação a doença de Hodgkin, doença proliferativa ligada ao cromossomo X, linfoma não-Hodgkin, linfoma de células T periféricas, carcinoma nasofaríngeo, carcinoma gástrico, adenocarcinoma de estômago e carcinoma de células escamosas (HIGA et al., 2002; LOPES et al., 2003; BUSSON et al., 2004; WILLIAMS e CRAWFORD, 2005). Além destas, o EBV está fortemente associado ao linfoma de Burkitt endêmico e é comprovadamente o agente etiológico da mononucleose infecciosa e da leucopenia pilosa oral (EPSTEIN et al., 1964; GREENSPAN et al., 1984). O ciclo viral no interior do hospedeiro, inclui um período de latência, cujo estado pode permanecer anos, e outro de replicação, no qual pode emergir em quantidade suficiente para causar estimulação do sistema imune (MCCLAIN et al., 2003).

São conhecidos dois tipos de EBV: o tipo 1 (EBV-1 ou EBV-A) e o tipo 2 (EBV-2 ou EBV-B). Sua identificação é possível devido ás diferenças existentes nas seqüências de DNA que codificam os antígenos nucleares do EBV (EBNA). Os dois genótipos de EBV exibem variantes epidemiológicas. Estudos sorológicos descrevem que o EBV tipo 1 é predominante nas regiões ocidentais e o tipo 2 em regiões endêmicas da África e em pacientes soropositivos para HIV-1. Sabe-se que *in vitro*, o EBV-1 tem melhor capacidade de se estabelecer e induzir a proliferação celular em cultura de linfócitos B (JILG et al., 1990; GRATAMA e ERNBERG, 1995; KAHNIN et al., 1996, COHEN et al., 2000).

Sabe-se que infecções causadas por genótipos diferentes de um mesmo vírus podem resultar em respostas diferentes a um determinado tratamento (DE COCK et al., 1993; ALTER et al., 1999; LAL et al., 2005). Alguns estudos avaliam a prevalência, as diferenças genômicas e a comparação do tipo de infecção que os EBV tipo 1 e 2 desenvolvem nas diferentes lesões a ele associadas, por meio de técnicas de biologia molecular, como a reação em cadeia pela polimerase (polymerase chain reaction – PCR) e sequenciamento genômico. Estas técnicas permitem a identificação do genoma viral em qualquer tipo de tecido estando o vírus em fase latente ou lítica (OSHIMA et al., 1999, WALLING et al., 2004, CORVALAN et al., 2005).

O papel da infecção do EBV, seus mecanismos de ação de patogêneses e a interação com o hospedeiro ainda não são bem conhecidos. Além disso, estudos de genotipagem do EBV associados á lesões orais ou dérmicas em pacientes imunocomprometidos ou portadores de HIV são raros e ainda não se tem de forma estabelecida a existência da prevalência de um dos tipos de EBV nessas patogêneses.

9 CONCLUSÕES

1. Nossos dados mostram que o EBV está presente em pacientes portadores de HIV, em tratamento com a Terapia Antiretroviral de Alta Atividade.

2. Nosso estudo demonstrou a importância da análise genotípica do EBV, dando o incentivo inicial para estudos futuros que possam esclarecer o desenvolvimento de patogêneses que ainda não estão bem esclarecidas em relação á biologia do virus.

3. Pelo sequenciamento parcial do gene da proteína EBNA1, foi possível diferenciar os dois tipos (1 e 2) do EBV, mostrando que nessa população está em circulação o tipo 2. Além disso, conseguimos encontrar uma variação em nossos isolados que sugerem o aparecimento de um novo subtipo.

REFERÊNCIAS*

ABDEL-HAMID, M.; CHEN, J. J.; CONSTANTINE, N.; MASSOUD, M.; RAAB-TRAUB, N. EBV strain variation: geographical distribuition and relation to disease state. **Virology**, v. 190, n. 1, p. 168-75, 1992.

AITKEN, C. Heterogeneity within the Epstein-Barr virus nuclear antigen 2 in different strains of Epstein-Barr virus. **J. Gen. Virol**., v. 75, n. 1, p. 95-100, 1994.

ALLDAY, M. J.; CRAWFORD, D. H. Role of epithelium in EBV persistence and pathogenesis of B-cell tumours. **Lancet**, v. 1, p. 855-857,1988.

ALTER M. J.; KRUSKON-MORAN, D.; NAINAN, O. V.; MCQUILLAN, G. M.; GAO, F.; MOYER, L.A.; KASLOW, R. A.; MARGOLIS, H. S. The prevalence of hepatitis C virus in the United States 1988 through 1994. **N. Engl. J. Med**., v. 341, p. 556-562, 1999.

AMBINDER, R. F.; MANN, R. B. Detection and characterization of Epstein-Barr virus in clinical specimens. **Am. J. Pathol**., v. 145, n. 2, p. 239-52, 1994.

AMON, W.; FARRELL, P. J. Reactivation of Epstein-Barr virus from latency. **Rev. Med. Virol**., v. 15, n. 3, p. 149-56, 2005.

BAARLE, D. V. High prevalence of Epstein-Barr virus type 2 among homosexual men is caused by sexual transmission. **J. Infect. Dis**., v. 181, n.6, p. 2045-9, 2000.

BARRETO, L. Doença de Hodgkin e AIDS. **Rev. Bras. Cancerol**., v. 48, n. 3, p. 389-399, 2002.

BHARADWA, J. M.; MOSS, D. J. Epstein-Barr virus vaccine: a cytotoxic T cell-based approach. **Expert Rev. Vaccines**, v. 1, p. 467-476, 2003.

BLACK, F. L.; WOODALL, J. P.; EVANS, A. S.; LIEBHABER, H.; HENLE, G. Prevalence of antibodies against virus in Tiriyo, an isolate Amazon tribe. **Am. J. Epidemiol**., v. 91, p. 430-8, 1970.

---

* De acordo com:
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BONNET, M.; GUINEBRETIERE, J. M.; KREMMER, E.; GRUNEWALDG, V.; BENHAMOU, E.; CONTESSO, G.; JOAB, I. Detection of Epstein-Barr virus in invasive breast cancer**. J. Nat. Cancer Inst**., v. 91, n.16, p. 1376-81, 1991.

BORNKAMM, G. W.; DELIUS, H.; ZIMBER, U.; HUDEWENTZ, J.; EPSTEIN, M.A. Comparison of Epstein-Barr virus strains of different origin by analysis of the viral DNAs**. J. Virol**., v. 35, n. 3, p. 603-18, 1980.

BORNKAMM, G. W.; HAMMERSCHMIDT, W. Molecular virology of Epstein-Barr virus. **Phill Trans. R. Soc. Lond**., v. 356, n. 1408, p. 437-59, 2001.

BORNKAMM, G. W.; HAMMERSCHMIDT, W. Development of an Epstein-Barr virus type 2 (EBV-2) associated hepatitic B cell non-Hodgkin`s in an HIV-1 infected patient following a change in the EBV dominant type. **Leukemia**, v. 13, n. 2, p. 2998-301, 1999.

BUISSON, M.; MORAND, P.; PROC'H, M.; BOUCHARD, O.; BOURGEAT, M. J.; SEIGNEURIN, J. M. Development of an Epstein-Barr type 2 (EBV-2) associated hepatic B cells non-Hodgkin's lymphoma in an HIV-1 patients following a change in the EBV dominant type. **Leukemia**, v. 13,n. 2, p. 298-301, 1999.

BURKITT, D. A. A sarcoma involving the jaws in african children. **Br. J. Sung**., v. 46, n. 197, p. 218-23, 1958.

BURKITT, D. A. Lymphoma syndrome in african children. **Ann. R. Coll. Surg. Engl**., v. 30, p. 211-9, 1962.

BUSSON, P.; KERYER, C.; OOKA, T.; CORBEX, M. EBV-associated nasopharyngeal carcinomas: from epidemiology to virus-targeting strategies. **Trends Microbiol**., v. 12, n. 8, p. 356-60, 2004.

CHABAY, P.; DE MATTEO, E.; MEREDIZ, A.; PRECIADO, M. V. High frequency of Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 30 bp deletion in a series of pediatric malignacies in Argentina**. Arch. Virol**., v. 149, n.8, p. 1515-26, 2004.

CHAN, K. H.; TAM, J. S. L.; PEIRIS, J. S. M.; SETO, W. H.; Ng, M. H. Epstein-Barr Virus (EBV) infection in infancy. **J. Clin. Virol**., v. 2, p. 57-62, 2001.

CHEN, W. G. Genotyping of Epstein-Barr virus in Brazilian Burkitt`s lymphoma and reactive lymphoid tissue. **Am. J. Pathol**., v. 148, n. 1, p. 17-23, 1996.

CHU, P. G.; CHEN, Y. Y.; CHEN, W.; WEISS, L. M. No direct for Epstein-Barr virus in american hepatocelullar carcinoma**. Am. J. Patol**., v. 159, n. 4, p 1287-92, 2001.

COHEN, J. I. Epstein-Barr virus nuclear protein 2 is a key determinant of lymphocyte transformation. **Proc. Natl. Acad. Sci**., v. 86, n. 23, p. 9558-62, 1989.

COHEN, J. I. Epstein-Barr virus infection. **New Eng. J. Med**., v. 343, n. 7, p. 481-92, 2000.

CORVALAN, A.; DING, S.; KORIYAMA, C.; CARRASCAL, E.; CARRASQUILA, G.; BLACKHOUSE, C.; URZUA, L.; ARGANDONA, J.; PALMA, M.; EIZURU, Y.; AKIBA, S. Association of a distinctive strain of Epstein-Barr virus with gastric cancer**. Int. J. Cancer**, v. 118, n. 10, p. 1736-42, 2005.

CRAWFORD, D. H. Biology and disease associations of a Epstein-Barr virus**. Phill Trans. R. Soc. Lond**., v. 356, n. 1408, p. 461-73, 2001.

CRAWFORD, D. H.; SWERDLOW, A. J.; HIGGINS, C.; MCAULAY, K.; HARRISON, N.; WILLIAMS, H.; BRITTON, K.; MACSWEEN, K. F. Sexual history and Epstein-Barr virus infection**. J. Infect. Dis**., v. 186, n. 6, p. 731-36, 2002.

CRUCHLEY, A.T.; WILLIAMS, D. M.; NIEDOBITEK, G.; YOUNG, L. S. Epstein-Barr virus: biology and disease. **Oral Dis**., v. 3, n. 1, p. 5156-63, 1997.

DE COCK, K. M.; ADJORLOLO, G.; EKPINI, E.; SIBALLY, T.; KOUADIO, J.; MARAN, M.; BRTAEGAARD, K.; VETTER, K. M.; DOORLY, R.; GAYLE, H. D. Epidemiology and transmission of HIV-2. Why there is no HIV-2 pandemic**. JAMA**, v. 270, n.1, p. 2083-6, 1993.

DELECLUSE, H. J.; HAMMERSCHMIDT, W. The genetic approach to the Epstein-Barr virus: from basic virology to gene therapy. **J. Clin. Pathol**., v. 53, p. 270-79, 2000.

DIAS, E. P.; ROCHA, M. L.; SILVA, Jr. A. S.; SPYRIDES, K. S.; FERREIRA, S. M.; POLIGNANO, G. A.; FEIJÓ, E. C.; DA FONSECA, E. C. Oral hairy leukoplakia: histopatologic and cytopathologic features of a subclinical phase. **Am. J. Clin. Pathol**., v. 11, n. 3, p. 394-400, 2000.

DIAS, E. P.; SPYRIDES, K. S.; SILVA, Jr. A. S.; ROCHA, M. L.; DA FONSECA, E. C. Oral hairy leukoplakia: histopatologic features of subclinical stage. **Pesq. Odontol**., v. 15, n. 2, p. 104-11, 2001.

EGERMAN, R. S. Mononucleosis. **Infect. Dis**., v. 2, n. 5, p. 152-6, 1995.

EPSTEIN, M.; ACHONG, B.; BARR, Y. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt`s lymphoma. **Lancet**, v. 15, p. 702-3, 1964.

EPSTEIN, M.; ACHONG, B.; BARR, Y. Morphological and biological studies on a virus in cultured lymphoblasts from Burkitt`s lymphoma. **J. Exp. Med**., v. 121, p. 761-70, 1965.

FACHIROT, J.; SPYRIDES, K. S.; SILVA, Jr. A. S.; ROCHA, M. L.; DA FONSECA, E. C. Molecular diversity of Epstein-Barr virus IgG and IgA antibody responses in nasopharyngeal carcinoma: a comparison of Indonesian, Chinese and European subjects**. J. Infect. Dis**., v. 190, n. 1, p. 53-62, 2004.

FALK, K.; GRATAMA, J. W.; ROWE, M.; ZOU, J. Z.; KHANIM, F.; YOUNG, L. S.; OOSTERVEER, M. A., ERNEBERG, I. The role of repetitive DNA sequences in the size variation of Epstein-Barr virus (EBV) nuclear antigens and the identification of different EBV isolates using RFLP and PCR analysis. **J. Gen. Virol**., v. 76, n.4, p. 779-90, 1995.

FARRELL, P. J. The Epstein-Barr virus genome. **Adv. Viral. Oncol**., v. 8, p. 103-32, 1989.

FARRELL, P. J.; CLUDTS, I.; STUHLER, A. Epstein-Barr genes and cancer cells. **Biomed. Pharmacother**., v. 51, n. 6 e 7, p. 258-67, 1997.

FERRÉS, M.; PRADO, P.; OVALLE, J.; FUENTES, R.; VILLAROEL, L.; FERRECCIO, C.; VIAL, P. Seroprevalencia de infección por virus de Epstein-Barr en población sana de Santiago de Chile. **Rev. Med. Chile**, v. 123, p. 1447-1452, 1995.

FLAMAND, L.; STEFANESCU, I.; ABLASHI, D.; MENEZES, J. Activation of the Epstein-Barr Virus replicate cycle by human herpesvirus 6. **J. Virol**., v. 67, n. 11, p. 6768-11, 1993.

GAIDANO, G.; CAPELLO, D.; CARBONE, A. Review: The molecular basis of acquired immunodeficiency syndrome-related lymphomagenesis. **Semin. Oncol**., v.

27, n. 4, p. 431-41, 2000.

GAHN, T.A.; SUGDEN, B. EBNA-1-dependent enhancer acts from a distance of 10 kilobase pairs to increase expression of the Epstein-Barr virus LMP gene. **J. Virol**., v. 69, n. 4, p. 2633-6, 1995.

GIVEN, D.; KIEFF, E. DNA of Epstein-Barr virus. IV. Linkage map of restriction enzyme fragments of the B95-8 and W91 strains of Epstein-Barr virus. **J. Virol**., v. 28, n. 2, p. 524-42, 1978.

GOLDENBERG, D.; BENOIT, N. E.; BEGUM, S.; WESTRA, W. H.; COHEN, Y.; KOCK, W. M.; SIDRANSKY, D.; CALIFANO, J. A. Epstein-Barr virus in head and neck cancer assesses by quantitative polymerase chain reaction. **Laryngocospe**, v. 114, n.6, p. 1027-31, 2004.

GOLUBJATNIKOV, R.; ALLEN, V. D.; STEADMAN, M.; BLANCARTE, M. P. O.; INHORN, S. L. Prevalence of antibodies to Epstein-Barr virus, cytomegalovirus and toxoplasma in a Mexican highland community. **Am. J. Epid**., v. 97, p. 116-124, 1973.

GRATAMA, J. W.; ERNEBERG, I. Molecular Epidemiology of Epstein-Barr virus infection. **Adv. Cancer Res**., v. 67, p. 197-253, 1995.

GREENSPAN, D.; GREENSPAN, J. S.; CONANT, M.; PETRESEN, V.; SILVERMAN, S. Jr.; DE SOUZA, Y. Oral hairy leukoplakia in male homosexuals: evidence of association with both papillomavirus and herpes – group virus. **Lancet**, v. 2, n. 8407, p. 831-4, 1984.

GREENSPAN, J. S.; GREENSPAN, D.; LENNETTE, E. T.; ABRAMS, D. I.; CONANT, M. A.; PETERSEN, V.; FREESE, U. K. Replication of Epstein-Barr virus within the epithelial cells of oral "hairy" leukoplakia, an AIDS-associated lesion. **N. Engl. J. Med**., v. 313, n. 25, p. 1564-71, 1985.

GROTTO, I.; MIMOUNI, D.; HUERTA, M.; MIMOUNI, M.; COHEN, D.; ROBIN, G.; PITLIK, S.; GREEN, M. S. Clinical and laboratory presentation of EBV positive infectious mononucleosis in young adults. **Epidemiol. Infect**., v. 131, p. 683-689, 2003.

GULLEY, M. L. Molecular diagnosis of Epstein-Barr virus related diseases. J**. Mol. Diagn.,**. v. 3, n.1, p. 1-10, 2001

HAKIM, H.; GIBSON, C.; PAN, J.; SRIVASTAVA, K.; GU, Z.; BANKOWSKI, M. J.; HAYDEN, R. T. Comparison of various blood compartments and reporting units for the detection and quantification of Epstein-Barr virus in peripheral blood. **J. Clin. Microbiol.,** v. 45, n.7, p. 2151-5, 2007.

HAQUE, T.; ILIADOU, P.; HOSSAIN, A.; CRAWFORD, D. H. Soroepidemiological study of Epstein-Barr virus infection in Bangladesh. **J. Med. Virol**., v. 48, p. 17-21, 1996.

HENLE, G.; HENLE, W. Immunofluorescence in cells derived from Burkitt's lymphoma. **J. Bacteriol**., v. 91, p.1248-1256, 1966

HENLE, G.; HENLE, W.; DIEHL, V. Relation of Burkitt`s tumor associates herpes type virus to infection mononucleosis. **Proc. Natl. Acad. Sci**. **USA,** v. 59, p. 94. 1968.

HERRMANN, K.; FRANGOU, P.; MIDDELDORP, J.; NIEDOBITEK, G. Epstein-Barr virus replication in tongue epithelial cells. **J. Gen. Virol**., v. 83, n. 12, p. 2995-98, 2002.

HESS, R. D. Routine Epstein-Barr virus diagnostic from the laboratory perspectives: still challenging after 35 years**. J. Clin. Microbiol**., v. 42, n. 8, p. 3381-87. 2004.

HIGA M.; KINJO, T.; KAMIYAMA, K.; IWAMASA, T.; HAMADA, T.; IYAMA, K. Epstein-Barr virus (EBV) subtype in EBV related oral squamous cell carcinoma in Okinawa, a subtropical island in southern Japan, compared with Kitakyushu and Kumamoto in mailand Japan. **J. Clin. Pathol**.,. v. 55, n. 6, p. 414- 23, 2002

HILLE, J. J.; WEBSTER-CYRIAQUE, J.; PALEFSKI, J. M.; RAAB-TRAUB, N. Mechanisms of expression of HHV-8, EBV and HPV in selected HIV-associated lesions. **Oral Dis**., v. 8, p. 161-8, 2002.

HINUMA, Y.; OTA-HATANO; SUTO, T.; NUMAZAKI, Y. High incidence of Japanese infants with antibody to a herpes-type virus associated with cultured Burkitt lymphoma cells. **Jpn. J. Microbiol**., v. 13, n. 3, p. 309-11, 1969.

HOGG, R.D.; HEATH, K.V.; YIP, B. Improved survival among HIV infected individuals following initiation of antiretroviral therapy. **JAMA**,. v. 279, p. 450-454, 1998.

JILG, W.; SIEGER, E.; ALLIGER, P.; WOLF, H. Identification of type A and B isolates of Epstein-Barr virus by Polymerase chain reaction**. J. Virol. Method**., v. 30, n. 3, p. 319-22, 1990.
KARAJANNIS, M. A.; HUMMEL, M.; ANAGNOSTOPOLUS, I.; STEIN, H. Strict lymphotropism of Epstein-Barr virus during acute infectious mononucleosis in nonimmunocompromised individuals. **Blood**, v. 89, p. 2856-2862, 1997.

KHANIN, F.; YAO, Q. Y.; NIEDOBITEK, G.; SHIOTA, S.; RICKINSON, A. B.; YOUNG, L. S. Analysis of Esptein-Barr virus gene polymorphisms in normal donors and in virus-associated tumors from different geographic locations**. Blood**, 1996. 88, n. 9, p. 3491-3501.

KLUMB, C. E. Biologia e patogênese dos linfomas Não-Hodkin de origem B na infância: uma revisão. **Rev. Bras. Cancerol**., v. 47, n.3, p. 291-301. 2001.

KOMINSKY, S.; AMORIM, R.; MONTEIRO, E.; ABOUHANA, R.; COELHO, M. R. C. D. The Influence of Epstein-Barr Virus in Systemic Lupus Erythematosus Etiology. **Rev. Paraense Med.**, v. 20, n.1, p. 53-55. 2006.

LAL, R. B.; CHAKRABARTI, S.; YANG, C. Impact of genetic diversity of HIV-1 on diagnosis, antiretroviral therapy and vaccine development. **Indian J. Med. Res**., v. 121, n. 4, p. 287-314, 2005.

LANG, D. J.; GARRUTO, R. M.; GAJDUSEK, D. C. Early acquisition of cytomegalovirus and Epstein-Barr virus antibody in several isolated Melanesian populations. **Am. J. Epidemiol**., v. 105, n. 5, p. 480-7, 1977.

LEE, M. A.; DIAMOND, M. E.; YATES, J. L. Genetic evidence that EBNA-1 is needed for efficient, stable latent infection by Epstein-Barr virus. **J. Virol**., v. 73, n.4, p. 2974-82, 1999.

LEIGHT, E. R.; SUGDEN, B. EBNA-1: a protein pivotal to latent infection by Epstein-Barr virus. **Rev. Med. Virol.,** v. 10, p. 83-100, 2000.

LEVY, J. A.; HENLE, G. Indirect immunofluorescence tests with sera from African children and cultured Burkitt lymphoma cells**. J. Bacteriol**., v. 92, n. 1, p. 275-6, 1966.

LIEBOWITZ, D.; KIEFF, E. **Epstein-Barr Virus.** In: ROIZMAN, B.; WHITLEY, R. J.; LOPEZ, C. (Ed.). **The Human Herpesvirus**. New York: Raven Press, 1993. p. 107-172.

LIEBOWITZ, D. M. D. Epstein-Barr virus and a cellular signaling pathway in lymphomas from immunosupressed patients. **New Engl. J. Med**.,. v. 338, n. 20, p. 1413-21, 1998

LIN, J. C.; DE, B. K.; LIN, S. C. Rapid and sensitive genotyping of Epstein-Barr virus using single-strand conformation polymorphism analysis of polymerase chain reaction products. **J. Virol. Methods**,. v. 43, n.2, p. 233-46, 1993

LIN, J. C.; CHEN, K. Y.; WANG, W. Y.; JAN, J. S.; LIANG, W. M.; TSAI, C. S.; WEY, Y. H. Detection of Epstein-Barr virus DNA the peripheral-blood cells of patients with nasopharyngeal carcinoma: relationship to distant metastasis and survival. **J. Clin. Oncol**., v. 19, n.10, p. 2607-15, 2001.

LIT, S.; TUBIANA, R.; KATLAMA, C.; CALVEZ, V.; MOHAND, H. A.; AUTRAN, B. Long-lasting recovery in CD4 T-cell function and viral-load reduction ofter highly active antiretroviral therapy in advanced HIV disease. **Lancet**, v. 351, p. 1682-1686, 1998.

LOCKEY, T. D.; ZHAN, X.; SURMAN, S.; SAMPLE, C. E.; HURWITZ, J. L. Epstein-Barr virus vaccine development: a lytic and latent protein cocktail. **Front Biosci**., v. 1, n. 13, p. 5916-27, 2008.

LOPES, V.; YOUNG, L. S.; MURRAY, P. G. Epstein-Barr virus associated cancers: aetiology and treatment**. Herpes**, v. 10, n.3, p. 78-82, 2003.

MCCLAIN, M. T.; RAPP, E. C.; HARLEY, J. B.; JAMES, J. A. Infectious mononucleosis patients temporarily recognize a unique, cross-reactive epitope of Epstein-Barr virus nuclear antigen. **J. Med. Virol**., v. 70, n. 2, p. 253-7, 2003.

MILLER, C. S.; BERGER, J. R,; MOOTOOR, Y.; AVDIUSHKO, S. A.; ZHU, H.; KRYSCIO, R. J. High Prevalence of Multiple Human Immunodeficiency Virus-Infected Persons in the Era of Highly Active Antiretroviral Therapy. **J. Clin. Microbiol**., v. 44, p. 2409-15, 2006.

MILLER, S.; LIPMAN, M. Release of infectious Epstein-Barr virus by transformed marmoset leukocytes. **Proc Natl Acad Sci**.. v. 70, n.2, p. 190-194, 1973.

MILLER, G.; SHOPE, T.; LISCO, H.; STITT, D.; LIPMAN, M. Epstein-Barr virus: transformation, cytophatic changes and viral antigens in Squirrel Monkey and Marmoset Leukocites. **Proc. Natl. Acad. Sci**., v. 69, p. 383-7, 1972.

MOCROFT, A.; VELLA, S.; BENFIELD, T. L. Changing patterns of mortality across Europe in patients infected with HIV-1. **Lancet**, , v. 325, p. 1725-1730. 1998

MURRAY, P. G.; YOUNG, L. S. Themed issue: the biology and pathology the Epstein-Barr virus. **Mol. Pathol**., v. 53, n. 5, p. 219-221, 2000.

MURRAY, P. G.; LISSAUER, D.; JUNYING, J.; DAVIES, G.; MOORE, S.; BELL, A.; TIMMS, J.; ROWLANDS, D.; MCCONKEY, C.; REYNOLDS, G. M.; GHATAURA, S.; ENGLAND, D.; CAROLL, R.; YOUNG, L. S. Reactivity with A monoclonal antibody to Epstein-Barr virus (EBV) nuclear antigen 1 defines a subset of aggressive breast cancers in the absence of the EBV genome. **Cancer Res**., v. 63, p. 2338-2343, 2003.

OMETTO, L.; MENIN, C.; MASIERO, S.; BONALDI, L.; DEL MISTRO, A.; CATTELAN, A. M.; D'ANDREA, E.; DE ROSSI, A.; CHECOBIANCHI, L. Molecular Profile of Epstein-Barr virus in Human Immunodeficiency Virus Type 1: related lymphodenopathies and lymphomas. **Blood,** v. 90, n.1, p. 313-22. 1997.

OSHIMA, M.; AZUMA, H.; OKUNO, A. High prevalence of Epstein-Barr virus type A strain with the 30 bp deletion of the latent membrane protein-1 gene in a Japanese population. **Pediatr. Int**., v. 41, n. 5, p. 490-5. 1999.

PAGANO, J. S.; BLASER, M.; BUENDIA, M. A.; DAMANIA, B.; KHALILI, K.; RAAB-TRAUB, N.; ROIZMAN, B. Infectious agents and cancer: criteria for a casual relation. **Semin. Cancer. Biol**., v. 14, n. 6, p. 453-71. 2004.

PALELLA, F. J.; DELANEY, K. M., MOORMAN, A. C. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. **New Engl. J. Med.,** v. 338, p. 853-860, 1998.

PALEFSKY, J. M.; BERLINE, J.; GREENSPAN, D.; GREENSPAN, J. S. Evidence for trafficking of Epstein-Barr virus strains between hairy leukoplakia and peripheral blood lymphocytes**. J. Gen. Virol**., v. 83, p. 317-21. 2002.

PANCHAROEN, C.; BHATRARAKOSOL, P.; THISYAKORN, U. Seroprevalence of Epstein-Barr virus infection in Thai Children. **J. Med. Assoc. Thai**., v. 84, p. 850-854, 2001.

PANNUTI, C. S. Review: Seroepidemiology of Epstein-Barr virus. **Rev. Saude Publica**,. 15, n.1, p. 93-100, 1981

PATTON, L. L. Sensitivity specificity and positive value of oral opportunistic infectious in adults with HIV/AIDS as markers of immunossupression and viral burden. **Oral Surg. Oral Med. Oral. Pathol. Oral Radiol. Endod**., v. 90, n.2, p. 182-8, 2000.

PEGTEL, D. M.; MIDDELDORP, L.; THORLEY-LAWSON, D. Epstein-Barr virus infection in ex vivo tonsil epithelial cell cultures of asymptomatic carriers. **J. Virol**., v. 78, n. 22, p. 12613-12624, 2004.

PEH, S. C.; KIM, L. H.; POPPEMA, S. Frequent presence of subtype A virus Epstein-Barr virus associated malignancies. **Pathology**, v. 34, n. 5, p. 446-50, 2002.

PEZZOTTI, P.; PAPPAGALLO, M.; PHILIPS, A. N. Response to highly active antiretroviral therapy according to duration of HIV infection. **J. Acq. Imm. Def. Syndr.,** v. 26, p. 473-479, 2001.

PIZZO, P.; MAGRATH, I. T.; CHATTOPADHYAY, S. K.; BIGGAR, R. J.; GERBER, P. A new tumor derived transforming strain of Epstein-Barr virus. **Nature**, v. 272, n. 5654, p. 629-31, 2004.

PORTER, D. D.; WIMBERLY, I.; BENYESH-MELNICK, M. Prevalence of antibodies to EB virus and other herpesviruses. **JAMA**. v. 208, n. 9, p. 1675-9, 1969.

RAAB- TRAUB, N.; WEBSTER-CYRYAQUE, J. Epstein-Barr virus infection and expression in oral lesions. **Oral Dis**., v. 3, p. S164-70, 1997. Suppl. 1.

RIBEIRO-SILVA, A.; ZUCOLOTO, S. O. O papel do virus Epstein-Barr na tumorigênese humana. **Medicina,** v. 36, p. 16-23, 2003.

RICKINSON, A.; KIEFF, E. **Epstein-Barr virus**. In: KIEFF, E. (Ed.). **Fields Virology**. New York: Lippincott-Raven, 1996. p. 2397-2446.

ROTHIFIELD, N. F.; EVANS, A. S.; NIEDERMAN, J. C. Clinical and laboratory aspects of raised virus antibody titres in systemic lupus erythematosus. **Ann. Rheum. Dis**.,. v. 32, n. 3, p. 238-46, 1973.

ROWE, M. Distinction between EBV type 1 (EBNA2A) and type B (EBNA2B) isolates extends to the EBNA 3 family of nuclear proteins. **J. Virol**.,. v. 63, n. 3, p. 1031-39, 1989

ROWE, M.; Three pathways of Epstein-Barr virus gene activation from EBNA-1 positive latency in B lymphocytes. **J. Virol.,** v. 66, n.1, p. 122-31, 1992.

SAMPLE, J.; LEAR, A. L.; CROOM-CARTER, D.; DAVIES, A. H.; RICKINSON, A. B.; BEAR, A. L**.** Epstein-Barr virus types 1 and 2 differ in their EBNA-3A, EBNA 3B and EBNA 3C genes. **J. Virol.,** v. 64, n. 9, p. 4084-92, 1990.

SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. v. 74, n. 12, p. 5463-7, 1977.

SANTOS, N. S. O.; ROMANOS, M. T. V.; WIGG, M. D. **Introdução a Virologia Humana: Viroses Oncogênicas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. v. 15, p. 212-13.

SCHLEE, M.; KRUG, T.; GIRES, O.; ZEIDLER, R.; HAMMERCHMIDT, W.; MAILHAMMER, R.; LAUX, G.; SAUER, G.; LOVRIC, J.; BORNKAMM, G. W. Identification of Epstein-Barr virus (EBV) nuclear antigen 2 (EBNA-2) target proteins by proteome analysis: activation of EBNA-2 in conditionally immortalized b cells reflects early events after infection of primary b cells by EBV. **J. Virol**., v. 78, n. 8, p. 3941-3952. 2004.

SITKI-GREEN, D.; EDWARDS, R. H.; WEBSTER-CYRIAQUE, J.; RAAB-TRAUB, N. Identification of Epstein-Barr virus strain variants in hairy leukoplakia and peripheral blood by use of a heteroduplex tracking assay**. J. Virol.,** v. 76, n. 19, p. 9645-56, 2002.

SIXBEY, J. W.; VESTERINEN, E. H.; NEDRUD, J. G.; RAAB-TRAUB, N.; WALTON, L. A.; PAGANO, J. S. Replication of Epstein-Barr virus in human epithelial cells infected in vitro. **Nature**, v. 306, n. 5942, p. 480-3. 1983.

SIXBEY, J. W.; LEMON, S. M.; PAGANO, J. S. A second site for Epstein-Barr virus shedding: the uterine cervix. **Lancet,** v. 15, n. 8516, p. 2, p. 1122-4. 1986.

SIXBEY, J. W.; SHIRLEY, P.; CHESNEY, P. J.; BUNTIN, D. M.; RESNICK, L. Detection the second widespread strain of a Epstein-Barr virus**. Lancet**, v. 2, n. 8666, p. 766. 1989.

SOKAL, E.M.; HOPPENBROUWERS, K.; VANDERMEULEN, C.; MOUTSCHEN, M.; LÉONARD, P.; MOREELS, A.; HAUMONT, M.; BOLLEN, A.; SMETS, F; DENI, M. Recombinant gp350 Vaccine for Infectious Mononucleosis: A Phase 2,

Randomized, Double- Blind, Placebo-Controlled Trial to Evaluate the Safety, Immunogenicity, and Efficacy of an Epstein- Barr Virus Vaccine in Healthy Young Adults. **J. Infec. Dis**., v. 196, p. 1749 –53. 2007,

SPRUNT, T. P.; EVANS, F. A. Mononuclear leukocytosis in reaction to acute infections (Infections mononucleosis)**. John Hopkins Hosp. Bull**., v. 31, p. 410, 1920.

TERAMOTO, N.; CAO, L.; KAWASAKI, N.; TONOYAMA, Y.; SARKER, A. B.; YOSHINO, T.; TAKAHASHI, K.; AKAGI, T. Variable expression of Epstein-Barr virus latent membrane protein I in Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease. **Acta Med. Okayama,** v. 50, n.5, p. 267-70, 1996.

THOMPSON, M. P.; KURZROCK, R. Epstein-Barr virus and cancer. **Clin. Cancer. Res**., v. 10, p. 803-21. 2004.

TISCHENDORF, P.; SIRAMEK, G. J.; BALAGTAS, R.; DEINHARDT, F.; KONSPE, W. H.; NOBLE, G. R.; MAYNARD, J. E**.** Development and persistence of immunity to Epstein-Barr virus in man. **J. Dis.,** v. 122, n. 5, p. 401-9. 1970.

TUGIZOV, S. M.; BERLINE, J. W.; PALEFSKY, J. M. Epstein-Barr virus infection of polarized tongue and nasopahringeal ephitelial cells**. Nature**, v. 9, n. 3, p. 307-14, 2003.

WALLBERG, B.; MICHELSON, H.; NYSTEDT, M.; BOLUND, C.; DEGNER, L. F.; WILKING, N. Information needs and preferences for participation in treatment decisions among Swedish breast cancer patients. **Acta Oncol**., v. 39, n.4, p. 467-76, 2000.

WALLING, D. M.; PERKINS, A. G.; WEBSTER-CYRIAQUE, J.; RESNICK, L.; RAAB-TRAUB, N. The Epstein-Barr virus EBNA-2 gene in oral hairy leukoplakia: strain variation, genetic recombination, and transcriptional expression. **J. Virol**., v. 68, n.12, p. 7918-26, 1994.

WALLING, D. M.; RAAB-TRAUB, N. The molecular epidemiology and evolution of Epstein-Barr virus sequence variation and genetic recombination in the latent membrane protein 1 gene**. J. Infect. Dis**., v. 179, n.4, p. 763-74, 1999.

WALLING, D. M.; RAAB-TRAUB, N. A non-invasive technique for studying oral ephytelial Epstein-Barr virus infection and disease**. Oral Oncol**., v. 39, n.5, p. 436-44, 2003.

WALLING. D. M.; ETIENNE, W.; RAY, A. J.; FLAITZ, C. M.; NICHOLS, C. M.. Persistence and transition of Epstein-Barr virus genotypes in the pathogenesis of oral hairy leukoplakia**. J. Infect. Dis**., v. 190, n.2, p. 387-95, 2004.

WEBSTER-CYRIAQUE, J.; RAAB-TRAUB, N. Transcription of Epstein-Barr virus latent cycle genes in oral hairy leukoplakia. **Virology**, v. 248, n.1, p. 53-65, 1998.

WEBSTER-CYRIAQUE, J.; MIDDELDORP, J.; RAAB-TRAUB, N. Hairy leukoplakia: an unusual combination of transforming and permissive Epstein-Barr virus infections**. J. Virol**., v. 74, n.16, p. 7610-8, 2000.

WILLIANS, H.; CRAWFORD, D. Epstein-Barr virus: impact of scientific advance on clinical practice. **Blood**, v. 7, n. 2702, p. 10-33, 2005.

WOLF, M. A.; ÁVILA, S. L. M.; FERREIRA, A. W. **Diagnóstico Laboratorial das principais doenças infecciosas e autoimunes**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2002. p. 111-15.

WOODMAN, C. B.; COLLINS, S. I.; VAVRUSOVA, N.; RAO, A.; MIDDELDORP, J. M.; KOLAR, Z.; KUMARI, A.; NELSON, P.; YOUNG, L. S.; MURRAY, P. G. Role of sexual behavior in the acquisition of asymptomatic Epstein-Barr virus infection: a longitudinal stud**y. Pediatr. Infect. Dis. J**., v. 24, n. 6, p. 498-502, 2005.

WU, S. J.; LAY, J.D.; CHEN, C. L.; CHEN, J. Y.; LIU, M. Y.; SU, I. J. Genomic analysis of Epstein-Barr virus in nasal and peripheral T-cells lymphoma: a comparison with nasopharigeal carcinoma in a endemic area. **J. Med. Virol**., v. 50, p. 314-21, 1996.

YATES, J.; WARREN, N.; REISMAN, D.; SUGDEN, B. A cis- acting element from the Epstein-Barr viral genome that permits stable replication of recombinant plasmids in latently infected cells. **Proc. Natl. Acad. Sci**., v. 81, p. 3806-10. 1984.

YUAN, A.; CAHIR-MCFARLAND, E.; ZHAO, B.; KIEFF, E. Virus and cell RNAs expressed during Epstein-Barr virus replication**. J. Virol.,** v. 80, n.5, p. 2548-65, 2006.

YAO, Q. Y.; ROWE, M.; MARTINS, B.; YOUNG, L. S.; RICKINSON, A. B. The Epstein-Barr virus carrier state: dominance of a single growth-transforming isolate in

the blood and in the oropharynx of healthy virus carriers**. J. Gen. Virol**., v. 72, n.7, p. 1579-90, 1991.

YAO, Q. Y.; CROOM-CARTIER, D. S.; TIERNEY, R.; HABESHAW, G.; WILDE, J. T.; HILL, F. G.; CONLON, C.; RICKINSON, A. B. Epidemiology of infection with Epstein-Barr virus type 1 and 2: lesions from the study of a T-cell immunocompromised hemophilic cohort**. J. Virol**.. v. 72, n.5, p. 4352-63. 1998

YOUNG, L. S.; DAWSON, C. W.; ELIOPOULOS, A. G. Review: The expression and function of Epstein-Barr virus encoded latent genes**. Mol. Pathol**., v. 53, n. 5, p. 238-47, 2000.

YOUNG, L. S.; RICKINSON, A. Epstein-Barr virus: 40 years on. **Nat. Rev. Cancer**, vol. 4, n. 10, p. 757-68, 2004.

ZUR-HAUSEN, H.; SCHULTE-HOLTHAUSEN, H.; KLEIN, G.; HENLE, W.; HENLE, G.; CLIFFORD, P.; SANTESSON, L. EBV DNA in biopsies of Burkitt tumours and anaplasic carcinomas of the nasopharynx. **Nature**, v. 228, n. 5276, p. 1056-8, 1970.

ZUR-HAUSEN, H.; VAN BEEK, J.; BLOEMENA, E.; TENKATE, F. J.; MEUER, C. J.; VAN DER BRULE, A. J. No role of Epstein-Barr virus in dutch hapatocellular carcinoma a study at the DNA, RNA and protein levels. **J. Gen. Virol**., v. 84, n.7, p. 1863-69, 2003.