

정상인 및 신장이식환자군에서 종합효소연쇄반응을 이용한 BK바이러스의 검출

이운형 · 김봉수¹ · 정현주² · 김유선¹ · 김현숙

연세대학교 의과대학 진단검사의학교실, 외과학교실¹, 병리학교실²

BK Virus Detection by Polymerase Chain Reaction in Renal Transplant Recipients and Healthy Donors

Woon Hyoung Lee, M.D., Bong Soo Kim, M.D.¹, Hyeon Joo Jeong, M.D.², Yu Seun Kim, M.D.¹, and Hyon Suk Kim, M.D.

Departments of Laboratory Medicine, Surgery¹, and Pathology², Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background : BK virus is a polyomavirus associated with a range of clinical presentations from asymptomatic viruria with pyuria to ureteral ulceration with ureteral stenosis in renal transplant patients. BK viral infection of renal allografts has been associated with diminished graft function in some individuals. We tried to detect BK virus in urine and plasma from Korean renal transplant recipients, renal transplant candidates, and healthy donors.

Methods : To detect BK virus in urine and plasma, we used PCR-RFLP (polymerase chain reaction and restriction fragments length polymorphism) with BamHI. The study was performed from 118 renal transplant recipients, 18 renal transplant candidates, and 25 healthy donors.

Results : BK virus DNAs were detected in 21.2% of urine and 0.9% of plasma from renal transplant recipients. BK virus DNA was detected in neither urine nor plasma from healthy donors and renal transplants candidates. Among a total of eight patients who were clinically suspected of having BK nephropathy, three were PCR positive for BK virus and two were decoy-cell cytology positive. Six patients were diagnosed as BK nephropathy by tissue pathology. Among them, BK virus was detected by PCR in urine from five patients, and decoy cells were shed from five patients, respectively.

Conclusions : BK virus detection by polymerase chain reaction in urine may be a non-invasive and sensitive tool for diagnosing and monitoring BK nephropathy. (*Korean J Lab Med* 2003; 23: 263-7)

Key Words : BK virus, Viruria, Renal transplantation

서 론

BK바이러스는 Polyomaviridae과 중 사람에게 질병을 일으키는 폴리오마 바이러스로서 신장이식환자에서 이식신장의 기능손실을

일으키는 원인의 하나로 보고되고 있다[1-4].

일반적으로 BK바이러스의 초발감염은 유년기에 일어나며 바이러스노증외에 특별한 증상은 없다[5]. 초발감염후 폴리오마바이러스는 여러 장기에 잠재하게 되는데 그 중 신장이 가장 흔한 곳으로[6] 면역력이 감소된 환자나 임산부, 항암치료를 받는 암 환자, HIV-1 감염환자, 그리고 신장이나 기타 장기이식환자와 같이 세포면역기능에 변화가 있는 사람에서 무증상 재발이나 일시적인 바이러스의 증식을 일으킬 수 있다[7-9]. 바이러스노증이 있는 신장이식환자의 대부분에서도 증상은 없지만 이식신 기능이상이나 요관협착, 이식신장의 소실로 진행할 수 있다[5, 6]. 신장

접 수 : 2002년 12월 18일 접수번호 : KJCP1635
수정본접수 : 2003년 8월 5일
교신저자 : 김 현 숙
우 120-752 서울시 서대문구 신촌동 134
연세의료원 진단검사의학과
전화 : 02-361-5863, Fax : 02-364-1583
E-mail : kimhs54@yumc.yonsei.ac.kr

이식환자에게서 발생한 간질성 신염 원인의 5%가 BK바이러스가 원인이며 그중 45%가 이식신 기능부전으로 진행했다는 보고도 있다[10]. 비전형적 소견으로 요관 궤양화와 협착에 이은 요관폐쇄, 이식신 경화증(sclerosing allograft nephropathy)도 보고된 바 있다[5].

BK신증은 병리조직학적으로 진단하는 것이 원칙이다[6, 7]. 하지만, 급성 거부반응과의 조직학적 소견의 유사성으로 인해 BK신증의 진단을 놓칠 수도 있다[5]. 또한, 정상성인의 80% 이상이 BK바이러스에 대한 항체를 가지고 있기 때문에[11] 혈청학적 항체검사는 별 도움이 되지 않으며[1, 5], 소변에서 불투명 유리 형태의 핵내 포함물(intranuclear inclusion)을 가진 decoy 세포의 검출이 도움이 될 수 있다[12, 13]. 그러나 이러한 소변내 세포검사의 특이도와 민감도는 97%, 96.7%라고 보고된 바 있으나[13] 양성예측률이 28%로 낮아[10] 임상적 이용가능성은 불충분하다. 신장 조직생검 검체를 이용한 제자리부합법(in situ hybridization)이나 면역조직화학분석법(immunohistochemical analysis)은 좋은 검사법이지만 조직생검을 해야만 한다[5, 6]. 따라서, 최근에는 환자 편의적인 측면에서 혈청이나 소변검체에서 특이 길잡이(primer)를 이용한 중합효소연쇄반응검사가 시도되고 있다[7, 14].

이에 본 연구에서는 한국인 공여자, 신장이식대상자, 신장이식 후 면역억제치료를 받는 환자군에서 중합효소연쇄반응법을 이용하여 혈장과 소변 검체를 대상으로 BK바이러스를 검출하고 그 양성률 및 임상적 연관성을 찾아 보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 연구대상

2002년 6월 4일부터 10월 1일 사이에 연세의료원 이식외과에 내원한 신장이식대상자, 공여자, 그리고 신장이식후 면역억제 치료 중인 환자를 대상으로 하였다. 신장이식후 면역억제 치료 중인 환자군은 신장이식후 크레아티닌 상승이 있거나, 열이 나는 환자, 또는 신장이식후 1개월된 추적검사대상환자 등을 포함하여 정맥혈과 소변을 채취하였다.

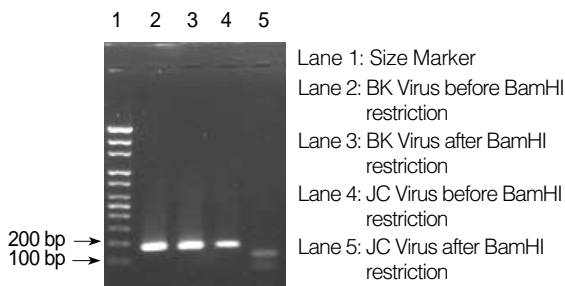


Fig. 1. Detection of PCR-amplified BK virus DNA in agarose gels.

2. 중합효소연쇄반응법을 이용한 BK바이러스 검출

상품화된 핵산 추출용 시약(High Pure PCR Template Preparation Kit; Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)을 사용하여 제조사의 술식에 따라 혈장과 소변에서 바이러스 DNA를 분리하였다. 중합효소연쇄반응은 2 μ L의 바이러스 DNA를 2 μ L의 길잡이(앞, 5'-AGTCTTTAGGGTCTTCTA-3'; 뒷, 5'-GGTGCCAACC TATGGAACAG-3')와 증류수를 혼합하여 20 μ L 반응액을 만들어 AccuPower[®] 중합효소연쇄반응 PreMix (Bioneer, Seoul, Korea)에 혼합하여 Perkin Elmer 9600 thermalcycler (Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ, USA)를 이용하여 94°C에서 5분간 predenaturation 시키고 94°C에서 20초, 46°C에서 20초, 72°C에서 40초씩 총 30회의 중합효소연쇄반응을 반복하였으며 마지막으로 72°C에서 5분간 postextension 하였다. 반응산물은 176 bp 또는 173 bp인데 양성인 경우 반응산물 5 μ L를 10X restriction buffer 2 μ L와 제한효소 BamHI (50 units/ μ L, Bioneer, Seoul, Korea) 0.4 μ L와 혼합한 뒤 37°C에서 overnight incubation하였다. Agarose gel 전기영동한 반응산물이 JC바이러스인 경우 120 bp와 53 bp로 분해되며 BK바이러스는 분해되지 않으므로 이 성상을 관찰하였다(Fig. 1).

결 과

1. 연구대상군의 특징

전체 실험군은 총 161명으로 건강한 신장 공여자가 25명(남 18명, 여 7명), 신장이식대상자 18명(남 13명, 여 5명), 신장이식후 면역억제제 치료중인 환자 118명(남 91명, 여 27명)이었다(Table 1). 공여자 및 신장이식대상자의 평균나이는 36.6세(19-56세), 신장이식후 면역억제제 치료중인 환자의 평균나이는 42.3세(11-68세)였다.

임상적으로 BK신증이 의심스러운 환자군 그룹의 선택은 면역억제 치료중인 환자 118명 중 decoy 세포가 검출된 적이 있는 21명을 대상으로 다시 임상적으로 BK신증이 의심스러운 환자들을 선택하였는데, decoy 세포가 고배율 시야에서 4개 이상 검출된 적이 있는 환자들 8명이 해당되었다. 또, BK신증을 진단받은 환자군은 신장이식환자군 중 조직검사상 BK신증으로 진단된 6명을 대상으로 하였다.

Table 1. Characteristics of the subjects

Group	Male	Female	Total
Healthy donors	18	7	25
Renal transplant candidates	13	5	18
Renal transplant recipients	91	27	118
Total	122	39	161

Table 2. BK virus detection in urine

Group	BK virus detection		
	Detected	Not	Total
Renal transplant candidates and healthy donors	0	43	43
Renal transplant recipients			
Increasing serum Cr level	14	52	66
Developing fever	4	18	22
Post-operation 1 month	3	12	15
Etc	4	11	15
Total	25	136	161

Abbreviation: Cr, Creatinine.

Table 3. BK virus detection in plasma

Group	BK virus detection		
	Detected	Not	Total
Renal transplant candidates and healthy donors	0	43	43
Renal transplant recipients	1	117	118
Total	1	160	161

2. 소변 내 중합효소연쇄반응 결과

공여자와 신장이식 대상군에서는 BK 바이러스가 검출된 경우는 없었다. 신장이식후 면역억제치료를 받는 환자 중에서는 25명 (21.2%)이 양성이었다(Table 2). 이들은 신장이식후 크레아티닌 상승이 있는 환자가 14명, 열이 나는 환자 4명, 그리고 신장이식 후 1개월된 추적 검사 대상환자 3명, 그 외 기타의 경우 4명이었다.

3. 혈장 내 중합효소연쇄반응 결과

공여자와 신장이식 대상군의 혈장에서 BK 바이러스가 검출된 경우는 없었다 본 연구에서 혈장내 중합효소연쇄반응 검사 양성인 환자는 총 1명이었는데 이 환자는 동시에 실시한 소변내 중합효소연쇄반응도 양성이었다. 환자는 신장이식후 면역억제 치료중 크레아티닌 상승이 있었던 환자로(Table 3), 이 환자의 중합효소연쇄반응 검사 9개월전 시행한 조직검사에서는 사이클로스포린 신독성과 정도의 세뇨관위축 및 간질섬유화가 있었고 BK 바이러스 신증은 관찰되지 않았다. 중합효소연쇄반응 검사 당시 소변내 decoy 세포는 음성이었다. 이 경우의 정확한 판단을 위해서는 추가적인 조직검사가 필요할 것으로 생각된다.

4. BK신증과 소변내 중합효소반응결과

1) BK신증이 의심스러운 신장이식후 면역억제제 치료중인 환자군 신장이식후 면역억제제 치료중인 환자 118명 중 다시 임상적으로 BK신증군이 의심스러운 환자들을 선택하였다. 이들은 decoy 세포가 고배율 시야에서 4개 이상 검출된 적이 있었던 환자들 8명

Table 4. BK viruria by PCR-RFLP and decoy cell detection in the suspected group of BK nephropathy

Group	BK nephropathy suspected group			
	PCR-RFLP of BK virus in urine			
	Positive	Negative	Total	
Decoy cells	Positive	1	1	2
	Negative	2	4	6
Total	3	5	8	

이었다. 이들 8명을 대상으로 실험 당일 소변내 decoy 세포와 중합효소연쇄반응 검사를 실시하였다. 그 결과는 decoy 세포가 2예에서 양성되었고 중합효소연쇄반응이 3예에서 양성이었으며, 4예는 당일 소변내 중합효소연쇄반응과 decoy 세포 검사 결과 모두 음성이었다(Table 4).

따라서, decoy 세포 검사와 소변 중합효소연쇄반응 검사가 같은 날 결과에서 일치한 경우는 8환자 중 5명이었다.

2) 조직검사상 BK신증을 진단받았던 신장이식환자군

BK신증을 진단받았던 신장이식환자군 총 6명 중 5명이 소변내 중합효소연쇄반응 검사 양성이었다. 이때 중합효소연쇄반응 음성이었던 환자 1명은 본 검사의뢰 15일전 소변에서 decoy cell이 다수 검출되었고 그날 시행한 조직검사상 BK신증이 진단되었으나 전자현미경으로는 확인되지 않았다고 하며, 중합효소연쇄반응 검사 당일의 소변에서는 decoy 세포가 관찰되지 않았다. 한편, 중합효소연쇄반응 검사 2개월 전 소변에서 decoy 세포가 다수 검출되어 당시 조직검사상 진단을 받고 전자현미경상에서는 음성이었으나 당일 decoy 세포 양성을 보인 다른 환자는 소변내 중합효소연쇄반응 결과 양성이었다.

고 찰

BK 바이러스는 1971년 처음 동정되어 이 바이러스가 발견된 환자의 이름을 따서 명명된 폴리오마바이러스로서[5] 지름 45 nm, 원형 이중 나선 구조 5,300 bp의 DNA, 비피막성 바이러스이다 [7]. 비피막성 바이러스이기 때문에 바이러스가 증식이 끝나고 밖으로 나오기 위해서는 세포를 깨고 나와야 되며 따라서 세포변형효과와 연관이 있고 잠복감염의 가장 흔한 위치가 신장이므로 신장이식환자의 다양한 합병증과 연관이 있다[12].

소변이나 혈장에서 BK 바이러스를 검출하는 방법에는 중합효소연쇄반응후 제한효소를 처리하여 JC 바이러스와 감별하는 방법[15], 중중합효소연쇄반응(Nested PCR)을 이용하는 방법[16]과 정량적 실시간 중합효소연쇄반응[12, 17] 등이 있다. 이 중, 중중합효소연쇄반응을 이용하는 경우 총 증폭수가 증가되어 검사의 예민도가 증가하고 두 쌍의 길잡이를 이용함으로써 이론적으로 검사의 특이도가 증가하는 것이 원칙이지만 오히려 첫번째 증폭후 두번째

증폭을 위한 준비 중에 오염의 위험이 크다는 단점이 있다[18]. 또, 정량적 실시간 중합효소연쇄반응은 직접 컴퓨터 화면으로 반응을 실시간으로 확인할 수 있고 반정량이 가능하다는 장점이 있지만 정확한 바이러스 DNA의 수로 표준화해야만 하는 어려움이 있다. 본 실험에서는 가장 전통적이고 일반 임상검사실에서 쉽게 적용할 수 있는 첫번째 방법을 이용하여 실험하였고 이 방법은 한 반응당 BK바이러스 10 copies가 있으면 검출되는 예민도를 가지는 것으로 보고되었다[15]. 중합효소연쇄반응검사, decoy 세포 검출, 조직 배양, 또는 전자현미경검사 등 검사방법의 예민도에 따라 다르지만 정상인에서도 0.5-20%에서 폴리오마바이러스의 분비가 일어난다는 보고[12]가 있는데 본 실험에서는 이런 대상군에서는 한 명도 검출되지 않았다. 이는 아마도 본 실험에서는 특히 건강상태가 양호하고 지극히 정상이라고 할 수 있는 신장공여자와 면역억제제치료를 받지않는 상대적으로 양호한 신장이식 대상자를 대상으로 하였기 때문일 것으로 생각된다.

무증상 BK바이러스노증이 임상부에서 3%, 신장이식환자에서 10-45%, 골수이식환자에서 50%로 보고된 바 있는데[5, 12] 본 실험에서는 신장이식후 면역억제 치료를 받는 환자들의 소변에서의 중합효소연쇄반응 BK바이러스 양성률은 21.2% (25명)이었다.

BK바이러스의 가장 오래된 검사법 중 하나로 decoy 세포의 검출법이 있는데 본 연구에서는 신장이식후 면역억제제 치료중인 환자 118명 중 21명(17.8%)이 decoy 세포가 검출된 적이 있었고 그 중 decoy 세포가 고배율 시야에서 4개 이상 검출된 적이 있는 환자는 8명이었다. 그리고 이들 중 소변내 중합효소연쇄반응검사 양성은 3명이었다. 중합효소연쇄반응 검사 시점에서 2예는 decoy 세포 음성이고 1예만 decoy 세포 양성이었다. 소변내 중합효소연쇄반응 음성인 나머지 5명 환자의 경우, 중합효소연쇄반응 검사 시점에서 4예는 decoy 세포 검사 음성이고 1예는 decoy 세포 양성이었다. 따라서 decoy 세포 검사와 소변 중합효소연쇄반응 검사 결과가 실험 당일 결과에서 일치한 경우는 8환자 중 5명이었다.

한편, 신장이식환자군 중 6명이 소변 중합효소연쇄반응 검사 전에 조직검사상 BK신증을 진단받았고 그 중 5명이 소변 중합효소연쇄반응검사 양성이었다. 이때 중합효소연쇄반응 음성이었던 환자 1명은 본 검사의뢰 15일전 소변에서 decoy 세포가 다수 검출되었고 같은 날 시행한 조직검사상 BK신증이 진단되었다. 하지만 전자현미경으로는 확인할 수 없었다고 하며 중합효소연쇄반응 검사의뢰 당시의 소변에선 decoy 세포가 관찰되지 않았다. 한편, 중합효소연쇄반응 검사 2개월 전 소변에서 decoy 세포가 다수 검출되었고 조직검사상 진단을 받고 전자현미경상에서는 음성이었던 다른 환자는 소변 중합효소연쇄반응검사상 양성이었다. 그런데 decoy 세포 검사도 그렇지만 소변내 중합효소연쇄반응법 검사는 소변의 희석이나 소변내 inhibitor 물질의 존재 등 소변 검체 채취에 따라서 검사 결과가 영향을 많이 받을 수 있으므로 연속적으로 추적 검사를 실시할 경우 등, 특히 유의하여야 할 것으로 생각된다.

BK바이러스에 의한 신증의 대부분이 신장이식후 첫 3개월이내

에 발생한다. 하지만 2년 이후에 발병한 보고도 있다[5]. BK신증 발병에 영향을 주는 주요 변수로는 면역억제제의 선택으로서 tacrolimus와 mycophenylate mofetil 치료가 연관이 있다는 보고가 있다[6, 7]. 그밖에 알려진 위험인자로는 신장 세뇨관상피세포(tubular epithelial cell) 손상과 재생, 거부반응억제 치료, BK바이러스 유전자형, 혈청양성(seropositive) 공여자 등이 있다[12]. 신장이식대상자 중 9명이 실험기간 중 이식을 받았다. 이식전의 소변 및 혈장내 중합효소연쇄반응검사는 모두 음성이었다. 이식 후 1개월이 경과하여 다시 검사가 의뢰되었는데 소변과 혈장 모두 중합효소연쇄반응 검사상 음성이었다. 하지만 그 중 한 명은 고배율 시야에서 decoy 세포가 1-2개가 검출되어 추적 검사가 요구된다.

Decoy 세포의 많은 분비가 BK바이러스의 증식이 증가된 신호이지만 바이러스성 신병증 발병의 특이적인 신호는 아니다[7, 12]. Decoy 세포는 요로상피기원으로서 바이러스에 감염된 세포는 주로 표면의 요로상피층에 위치하므로 그 곳으로부터 BK바이러스는 순환혈액에 미치지 못한다. 그러나 세포 대 세포(cell to cell) 전파를 통해 신장 유두로부터 말단 집합관(terminal collecting duct)에 이르러 BK바이러스는 세뇨관주위 미세혈관(peritubular capillary)에 도착하게 되고 이즈음에 이르러 바이러스성 신병증이 유발된다[7]. 따라서 혈장에서의 BK바이러스 DNA검출은 더 큰 의미를 갖는다고 볼 수 있다[7, 10, 12].

본 연구에서 혈장에서 중합효소연쇄반응 검사 양성인 환자는 1명 있었는데 소변의 중합효소연쇄반응 검사도 양성이었다. 이 환자는 크레아티닌 상승이 있었으며 중합효소연쇄반응 검사 9개월전 시행한 조직검사에서는 사이클로스포린 신독성과 경도의 세뇨관위축 및 간질섬유화만 존재하였고 BK바이러스 신증은 관찰되지 않았다. 또한 중합효소연쇄반응 당시 소변에서 decoy 세포가 검출되지 않았다. 따라서, 정확한 판단을 위해서는 추가적인 조직검사 등이 필요할 것으로 생각된다.

BK바이러스의 치료는 그 동안 특별한 항바이러스제가 없어서, 사용중인 면역억제제의 사용을 주의 깊게 감소시키는 정도만이 시도되었으나[7] 최근에 BK바이러스에 대한 항 바이러스제제를 이용한 성공적인 치료가 보고되고 있다[12, 19-21].

신장이식환자에서 10-45%에서 무증상 BK바이러스노증이 존재할 수 있다는 보고들이 있으므로[5, 12] 소변내 BK바이러스의 검출이 BK신증의 진단에는 큰 의의가 없다고 볼 수도 있겠다. 그러나, BK바이러스로 인해 BK신증이 진행되거나 이식신 기능부전 등 임상적 중요성을 생각하면 조직검사보다 간편하고 비침습적인 소변 검체내 중합효소연쇄반응 검사가 매우 유리하다. 즉, 소변의 BK바이러스의 양은 혈장보다 100배 또는 1,000배까지 높고[12], 또 소변을 얻는 것이 혈장을 채취하는 것보다 훨씬 더 용이하므로 일단 면역억제치료가 시작된 이식환자의 경우에 주기적으로 소변내 BK바이러스를 검사하면 BK바이러스 재활성화의 위험신호 표지자로서나 소변에서 decoy 세포가 검출되었던 환자들에서 실제 BK바이러스의 증식 여부 상황을 파악하는데 도움이 될 수 있으므로, 임상적으로 실제 BK바이러스 신증의 조기 진단이나 추적검사

등에 매우 유용할 것으로 생각된다.

요 약

배경 : BK 바이러스는 신장이식환자에서 무증상 바이러스뇨증에서부터 요관폐양과 요관협착에 이르기까지 다양한 증상과 연관이 있는 폴리오마바이러스이다. 몇몇 신장이식환자에서는 이식신 기능부전까지 연관이 있다. 이에 한국인 신장이식환자군, 신장이식대상자군과 공여자군에서 BK 바이러스를 검출해보고자 하였다.

방법 : BK 바이러스 검출은 중합효소연쇄반응후 제한효소 BamHI을 처리하여 반응산물을 전기영동하여 검출하였다. 신장이식환자 118명, 신장이식대상자 18명, 공여자 25명을 대상으로 하였다.

결과 : 중합효소연쇄반응법으로 검사한 결과 신장이식환자의 소변의 21.2%에서, 혈장에서는 0.9%에서 BK 바이러스가 검출되었다. 공여자나 신장이식대상자 중에서는 검출된 사람이 없었다. 임상적으로 BK 신증이 의심스러웠던 8명 중 소변내 BK 바이러스 중합효소연쇄반응법 검사 결과 양성은 3명이었고 decoy 세포 양성은 2명이었다. 또한, 조직검사상 BK 신증으로 진단된 신장이식환자군 6명에서의 결과는 소변내 중합효소연쇄반응 및 decoy 세포 결과 각각 5명에서 양성을 보였다.

결론 : 비침습적이고 예민도가 높은 소변내 BK 바이러스 중합효소연쇄반응검사가 신장이식환자의 BK 바이러스 신증의 진단 및 추적검사 등에 유용할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Major EO. Human polyomavirus. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, eds. *Fields' virology*. 4th. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2001: 2175-91.
2. Nicleleit V, Hirsch HH, Binet IF, Gudat F, Prince O, Dalquen P, et al. Polyomavirus infection of renal allograft recipients: from latent infection to manifest disease. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1080-9.
3. Vilchez RA, Arrington AS, Butel JS. Polyomaviruses in kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2002; 2: 481.
4. 김봉수, 김세훈, 권기환, 장한정, 정현주, 최규현 등. 신장이식 환자에서 BK 바이러스 감염에 의한 간질성신염: 진단과 치료 및 예후. *대한이식학회지* 2002; 16: 219-26.
5. Mylonakis E, Goes N, Rubin RH, Cosimi AB, Colvin RB, Fishman JA. BK virus in solid organ transplant recipients: an emerging syndrome. *Transplantation* 2001; 72: 1587-92.
6. Repløeg MD, Storch GA, Clifford DB. Bk virus: a clinical review. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 191-202.
7. Nicleleit V, Klimkait T, Binet IF, Dalquen P, Del Zenero V, Thiel G,

- et al. Testing for polyomavirus type BK DNA in plasma to identify renal-allograft recipients with viral nephropathy. *N Engl J Med* 2000; 342: 1309-15.
8. 박민정, 강희정, 신동훈, 이규만, 이동진, 최정현 등. 골수이식후 발생한 출혈성 방광염 환자에서 Polyomavirus의 검출양상. *대한임상병리학회지* 2000; 20: 570-5.
9. 박순영, 김한성, 강희정, 이규만, 김유진. 골수이식 후 BK 바이러스와 아데노바이러스가 동시에 검출된 출혈성 방광염 1예. *임상병리와 정도관리* 1997; 19:377-82.
10. Randhawa PS and Demetris AJ. Nephropathy due to polyomavirus type BK. *N Engl J Med* 2000; 342: 1361-3.
11. Petrogiannis-Haliotis T, Sakoulas G, Kirby J, Koralnik JJ, Dvorak AM, Monahan-Earley R, et al. BK-related polyomavirus vasculopathy in a renal-transplant recipient. *N Engl J Med* 2001; 345: 1250-5.
12. Hirsch HH. Polyomavirus BK nephropathy: a (re-)emerging complication in renal transplantation. *Am J Transplant* 2002; 2: 25-30.
13. Drachenberg RC, Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Ramos E, Fink JC, Wali R, et al. Morphological spectrum of polyoma virus disease in renal allografts: diagnostic accuracy of urine cytology. *Am J Transplant* 2001; 1: 373-81.
14. Shah KV. Papovaviruses. In: Rose NR, Hamilton RG, Detrick B, eds. *Manual of clinical laboratory immunology*. 6th. Washington, D.C.: ASM Press, 2002: 646-51.
15. Arthur RR, Dagostin S, Shah KV. Detection of BK virus and JC virus in urine and brain tissue by the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 1174-9.
16. Jin L. Molecular methods for identification and genotyping of BK virus. *Methods Mol Biol* 2001; 165: 33-48.
17. Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, Passweg J, Klimkait T, Mihatsch MJ, et al. Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. *N Engl J Med* 2002; 347: 488-96.
18. Tang Y-W and Persing DH. Molecular detection and identification of microorganisms. In: Murry PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. *Manual of clinical microbiology*. 7th. Washington, D.C.: ASM Press, 1999: 215-44.
19. Barouch DH, Faquin WC, Chen Y, Koralnik JJ, Robbins GK, Davis BT. BK virus-associated hemorrhagic cystitis in a Human Immunodeficiency Virus-infected patient. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 326-9.
20. Gonzalez-Fraile MI, Canizo C, Caballero D, Hernandez R, Vazquez L, Lopez C, et al. Cidofovir treatment of human polyomavirus-associated acute haemorrhagic cystitis. *Transpl Infect Dis* 2001; 3: 44-6.
21. Held TK, Biel SS, Nitsche A, Kurth A, Chen S, Gelderblom HR, et al. Treatment of BK virus-associated hemorrhagic cystitis and simultaneous CMV reactivation with cidofovir. *Bone Marrow Transplant* 2000; 26: 347-50.