정상인 및 신장이식환자군에서 중합효소연쇄반응을 이용한 BK바이러스의 검출

연세대학교 대학원

의 학 과

이 운 형

정상인 및 신장이식환자군에서 중합효소연쇄반응을 이용한 BK바이러스의 검출

연세대학교 대학원

의 학 과

이 운 형

정상인 및 신장이식환자군에서 중합효소연쇄반응을 이용한 BK바이러스의 검출

지도교수 김 현 숙

이 논문을 석사학위논문으로 제출함

2002년 12월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

이 운 형

이운형의 석사학위논문을 인준함

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

연세대학교 대학원

2002년 12월 일

감사의 글

본 논문을 완성함에 있어 끊임없이 지도 편달해 주신 김현숙 지도교수님과 바쁘신 가운데도 아낌없는 조언으로 격려해 주신 김유선 교수님과 정현주 교수님, 그리고 많은 관심을 가지시고 여러가지 자문을 해주신 최종락 선생님과 김봉수 선생님께 진심으로 감사드립니다. 또한 본 실험에 크고 작은 도움을 주신 본과 분자유전팀 직원들에게도 깊은 감사를 드립니다.

저 자 씀

차 례

표 차례

그림 차례

국문요약

정상인 및 신장이식환자군에서 중합효소연쇄반응을 이용한 BK바이러스의 검출

BK바이러스는 신장이식환자에서 무증상 바이러스뇨증에서부터 요관궤양과 요관협착에 이르기까지 다양한 증상과 연관이 있는 폴리오마바이러스이다. 몇몇 신장이식환자에서는 이식신 기능부전까지 연관이 있다. 이에 한국인 신장이식환자군, 신장이식대상자군과 공여자군에서 BK바이러스를 혈장과 소변에서 검출해보고자 하였다. 신장이식환자는 118명, 신장이식대상자는 18명, 공여자는 25명이었다. 중합효소연쇄반응법으로 검사한 결과 신장이식환자의 소변 중 21.2%에서, 혈장에서는 0.9%에서 BK바이러스가 검출되었다. 공여자나 신장이식대상자 중에서는 검출된 사람은 없었다. 소변의 BK바이러스의 양이 혈장보다 100배 또는 1000배까지 높고 소변을 채취하는 것이 혈장을 얻는 것보다 훨씬 용이하므로 신장이식환자에서 소변내 BK바이러스 중합효소연쇄반응검사가 BK바이러스 신증의 추적검사 등에 유용할 것으로 생각된다.

핵심 되는 말: BK바이러스, 신장 이식

정상인 및 신장이식환자군에서
중합효소연쇄반응을 이용한
BK바이러스의 검출

<지도 김현숙 교수>

연세대학교 대학원 의학과

이 운 형

I. 서론

BK바이러스는 Polyomaviridae 과 중 사람에게 질병을 일으키는 폴리오마바이러스로서 신장이식환자에서 이식신장의 기능손실을 일으키는 원인의 하나로 보고되고 있다[1-4].

일반적으로 BK바이러스의 초발감염은 유년기에 일어나며 바이러스뇨증외에 특별한 증상은 없다[5]. 초발감염후 폴리오마바이러스는 여러 장기에 잠재하게 되는데 그 중 신장이 가장 흔한 곳으로[6] 면역력이 감소된 환자나 임산부, 항암치료를 받는 암환자, HIV-1 감염환자, 그리고 신장이나 기타 장기이식환자

와 같이 세포면역기능에 변화가 있는 사람에서 무증상 재발이나 일시적인 바이러스의 증식을 일으킬 수 있다[7]. 바이러스뇨증이 있는 신장이식환자의 대부분에서도 증상은 없지만 이식신 기능이상이나 요관협착, 이식신장의 소실로 진행할 수 있다[5,6]. 신장이식환자에게서 발생한 간질성신염 원인의 5%가 BK 바이러스가 원인이며 그중 45%가 이식신 기능부전으로 진행했다는 보고도 있다[8]. 비전형적 소견으로 요관 궤양화와 협착에 이은 요관 폐쇄, 이식신 경화증 (sclerosing allograft nephropathy)도 보고된 바 있다[5].

BK신병증은 조직학적으로 진단하는 것이 원칙이다[6,7]. 하지만 급성거부반응과의 조직학적 소견의 유사성으로 인해 BK 신병증의 진단을 놓칠 수도 있다[5]. 정상성인의 80%이상이 BK바이러스에 대한 항체를 가지고 있기 때문에[9] 혈청학적 항체 검사는 별 도움이 되지 않으며[1,5], 소변에서 불투명 유리 형태의 핵내 포함물 (intranuclear inclusion)을 가진 decoy cell의 검출이 도움이 될 수 있다[10,11]. 소변세포검사의 특이도와 민감도는 97%, 96.7%로 보고된 바 있으나[11] 양성예측률이 28%로 낮아[8] 불충분하다. 신장조직생검 검체를 이용한 제자리부합법 (in situ hybridization)이나 면역조직화학분석법 (immunohistochemical analysis)도 특이적 검사이나 조직생검을 해야만 한다[5,6]. 따라서, 최근에는 환자 편의적인 측면에서 혈청이나 소변검체에서 특이 길잡이 (primer)를 이용한 중합효소연쇄반응검사가 시도되고 있다[7,12].

이에 본 연구에서는 한국인 공여자, 신장이식대상자, 신장이식후 면역억제치료를 받는 환자를 대상으로 중합효소연쇄반응법을 이용하여 혈장과 소변내의 BK바이러스를 검출해보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 연구대상

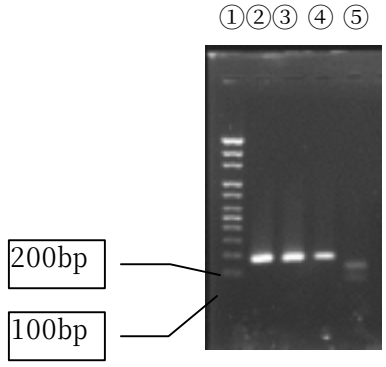
2002년 6월 4일부터 2002년 10월 1일 사이에 본원 이식외과에 내원한 신장이식대상자, 공여자, 그리고 신장이식후 면역억제 치료중인 환자를 대상으로 하였다. 신장이식후 면역억제 치료중인 환자군은 신장이식후 크레아티닌 상승이 있거나, 열이 나는 환자, 또는 신장이식후 1개월된 추적검사대상환자 등을 포함하여 정맥혈과 소변을 채취하였다.

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 DNA을 분리하였다. 중합효소연쇄반응은 2㎕의 바이러스 DNA를 2㎕의 길잡이 (앞, 5’-AGTCTTTAGGGTCTTCTA-3’; 뒷, 5’-GGTGCCAACC TATGGAACAG-3’) 와 증류수를 혼합하여 20㎕ 반응액을 만들어 AccuPower® 중합효소연쇄반응 PreMix (Bioneer, Seoul, Korea)에 혼합하여 Perkin Elmer 9600 thermalcycler (Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ) 를 이용하여 94℃에서 5분간 predenaturation 시키고

94℃ 에서 20초, 46℃에서 20초, 72℃에서 40초씩 총 30회의 중합효소연쇄반응을 반복하였으며 마지막으로 72℃에서 5분간 postextension하였다. 반응산물은 176bp 또는 173bp인데 양성인 경우 반응산물 5㎕를 10X restriction buffer 2㎕와 *Bam*HI(50units/㎕, Bioneer, Seoul, Korea) 0.4㎕와 혼합한 뒤 37℃에서 overnight incubation을 하였다. JC바이러스인 경우 120bp와 53bp로 분해되며 BK바이러스는 분해되지 않으므로 이 성상을 관찰하였다(Fig. 1.).

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



Lane 1: Size Marker
(아래에서부터, 100, 200, 300, 400, 500bp……)
Lane 2: BK바이러스 *Bam*HI 처리 전
Lane 3: BK바이러스 *Bam*HI 처리 후
Lane 4: JC바이러스 *Bam*HI 처리 전
Lane 5: JC바이러스 *Bam*HI 처리 후

III. 결과

1. 연구대상군의 특징

전체 실험군은 161명으로 공여자 25명 (남18명, 여7명), 신장이식대상자 18명 (남13명, 여5명), 신장이식후 면역억제제 치료중인 환자 118명 (남91명, 여27명)이었다 (Table 1). 공여자 및 신장이식대상자의 평균나이는 36.6세 (19세 - 56세), 신장이식후 면역억제제 치료중인 환자의 평균나이는 42.3세였다 (11세 - 68세).

Table 1. Characteristics of the subjects

	남자	여자	합계
공여자	18	7	25
신장이식대상군	13	5	18
신장이식후 면역억제제 치료중인 환자	91	27	118
총계	122	39	161

2. 소변 내 중합효소연쇄반응 결과

공여자와 신장이식대상군에서는 BK바이러스가 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 신장이식후 1개월된 추적 검사 대상환자 3명, 그 외 기타의 경우 4명이었다.

Table 2. BK virus detection in urine

	BK바이러스		
	검출	비검출	합계
공여자 및 신장이식대상군	0	43	43
신장이식후 면역억제 치료중인 환자	25	93	118
크레아티닌 상승이 있는 환자	14	52	66
열이 나는 환자	4	18	22
신장이식후 1개월된 추적검사대상환자	3	12	15
기타	4	11	15
총계	25	136	161

3. 혈장 내 중합효소연쇄반응 결과

공여자와 신장이식대상군의 혈장에서 BK바이러스가 검출된 경우는 없었다. 신장이식후 면역억제 치료중으로 크레아티닌 상승이 있는 환자 1명이 양성이었다 (Table 3).

Table 3. BK virus detection in plasma

	BK바이러스		
	검출	비검출	합계
공여자 및 신장이식대상군	0	43	43
신장이식후 면역억제 치료중인 환자	1	117	118
총계	1	160	161

IV. 고찰

BK바이러스는 1971년 처음 동정되어 이 바이러스가 발견된 환자의 이름을 따서 명명된 폴리오마바이러스로서[5] 지름 45nm, 원형 이중 나선 구조 5300bp의 DNA, 비피막성 바이러스이다[7]. 비피막성 바이러스이기 때문에 바이러스가 증식이 끝나고 밖으로 나오기 위해서는 세포를 깨고 나와야 되며 따라서 세포변성효과와 연관이 있고 잠복감염의 가장 흔한 위치가 신장이므로 신장이식환자의 다양한 합병증과 연관이 있다[10].

소변이나 혈장에서 BK바이러스를 검출하는 방법에는 중합효소연쇄반응후 제한효소를 처리하여 JC바이러스와 감별하는 방법[13], 중중합효소연쇄반응(Nested PCR) 을 이용하는 방법[14], 과 정량적 실시간 중합효소연쇄반응[10,15]등이 있다. 이 중, 중중합효소연쇄반응을 이용하는 경우 총 증폭수가 증가되어 검사의 예민도가 증가하고 두 쌍의 길잡이를 이용함으로 이론적으로 검사의 특이도가 증가하는 것이 원칙이지만 오히려 첫번째 증폭후 두번째 증폭을 위한 준비 중에 오염의 위험이 크다는 단점이 있다[16]. 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[13]. 중합효소연쇄반응검사, decoy cell 검출, 조직 배양, 또는 전자현미경검사 등 검사방법의 예민도에 따라 다르지만 정상인에서도 0.5 - 20%에서 폴리오마바이러스의 분비가 일어난다는 보고[10] 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 신장이식대상자를 대상으로 하였기 때문일 것으로 생각된다.

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

BK바이러스의 가장 오래된 검사법 중 하나로 decoy cell의 검출법이 있는데 본 연구에서는 신장이식후 면역억제제 치료중인 환자 118명 중 21명 (17.8%)이 decoy cell이 검출된 적이 있었고 그 중 decoy cell이 고배율 시야에서 4개 이상 검출된 적이 있는 환자는 8명이었다. 그리고 그 중 소변 중합효소연쇄반응검사 양성은 3명이었다. 중합효소연쇄반응 검사 시점에서 2예는 decoy cell 음성이었고 1예만 decoy cell 양성이었다.

소변 중합효소연쇄반응 음성인 나머지 5명 환자의 경우, 중합효소연쇄반응 검사 시점에서 4예는 decoy cell 음성이었고 1예는 decoy cell 양성이었다. 따라서 decoy cell 검사와 소변 중합효소연쇄반응검사가 시간과 결과에서 일치한 경우는 8환자 중 5명이었고 1명은 일치하지 않았고 2명은 두 검사가 같은 시기에 이루어지지 않아 확인할 수 없었다.

신장이식환자군 중 6명이 소변 중합효소연쇄반응검사의뢰 전에 조직검사상 BK신병증을 진단받았고 그 중 5명이 소변 중합효소연쇄반응검사 양성이었다. 이때 중합효소연쇄반응 음성이었던 환자1명은 본 검사의뢰 15일전 소변에서 decoy cell이 다수 검출되었고 같은 날 시행한 조직검사상 BK신증이 진단되었다. 하지만 전자현미경으로는 확인할 수 없었다고 하며 중합효소연쇄반응 검사의뢰 당시의 소변에선 decoy cell이 관찰되지 않았다. 중합효소연쇄반응검사 의뢰 2개월 전 소변에서 decoy cell이 다수 검출되었고 조직검사상 진단을 받고 전자현미경상에서는 음성이었던 다른 환자는 소변 중합효소연쇄반응검사상 양성이었고 다시 1개월 후 의뢰된 소변에서는 decoy cell이 검출되지 않았다.

BK바이러스에 의한 신병증의 대부분이 신장이식후 첫 3개월이내에 발생한다. 하지만 2년 이후에 발병한 보고도 있다.[5] BK 신병증 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[10]. 신장이식대상자 중 9명이 실험기간 중 이식을 받았다. 이식전의 소변과 혈장의 중합효소연쇄반응검사는 모두 음성이었다. 이식 후 1개월이 경과하여 다시 검사가 의뢰되었는데 소변과 혈장 모두 중합효소연쇄반응 검사상 음성이었다. 하지만 그 중 한 명은 고배율 시야에서 decoy cell이 1 - 2개가 검출되어 추적 검사가 요구된다.

Decoy cell의 많은 분비가 BK바이러스의 증식이 증가된 신호이지만 바이러스성 신병증 발병의 특이적인 신호는 아니다[7,10]. Decoy cell은 요로상피기원으로 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[7,8,10].

본 연구에서 혈장에서 중합효소연쇄반응 검사 양성인 환자는 1명 있었는데

소변의 중합효소연쇄반응 검사도 양성이었다. 환자는 크레아티닌 상승이 있었던 환자로 이 환자의 중합효소연쇄반응 검사의뢰 9개월전 시행한 조직검사에서는 사이클로스포린 신독성과 경도의 세뇨관위축 및 간질섬유화만 존재하였고 폴리오마바이러스 신증은 관찰되지 않았다. 또한 중합효소연쇄반응 의뢰 당시와 4개월 후 의뢰된 소변에서 decoy cell이 검출되지 않았다. 정확한 판단을 위해서는 추가적인 조직검사가 필요할 것으로 생각된다.

BK바이러스의 치료는 그 동안 특별한 항 바이러스제가 없어서, 사용중인 면역억제제의 사용을 주의 깊게 감소시키는 정도만이 시도되었으나[7] 최근에 BK바이러스에 대한 항 바이러스제제를 이용한 성공적인 치료가 보고되고 있다[10,17 - 19].

소변의 BK바이러스의 양은 혈장보다 100배 또는 1000배까지 높고[10] 소변을 얻는 것이 혈장을 얻는 것보다 훨씬 용이하다는 것을 감안할 때 소변에서의 BK바이러스 중합효소연쇄반응검사는 BK바이러스 신증의 추적검사 등에 유용할 것으로 생각된다.

V. 결론

BK바이러스는 신장이식환자에서 이식신장의 기능손실을 유발할 수 있는 원인으로 주목받고있다. 이에 한국인 공여자, 신장이식대상자와 신장이식후 면역억제치료를 받는 환자를 대상으로 중합효소연쇄반응법을 이용하여 혈장과 소변내의 BK바이러스를 검출해보고자 하였다.

1. 신장이식환자군 118명, 신장이식대상군 18명, 공여자가 25명을 대상으로 실험하였다.
2. 신장이식환자군의 소변 내 BK바이러스 양성률은 21.2%였다.
3. 신장이식환자군의 혈장 내 BK바이러스 양성률은 0.9%였다.
4. 공여자군에서는 소변과 혈장에서 BK바이러스가 검출되지 않았다.

본 연구결과, 한국인에서의 신장이식환자군에서의 중합효소연쇄반응을 이용한 소변에서의 BK바이러스 검출률은 외국의 보고와 크게 다르지 않았다. 소변의 BK바이러스의 양은 혈장보다 훨씬 높고 소변을 얻는 것이 혈장을 얻는 것보다 훨씬 용이하므로 향후 소변에서의 BK바이러스 중합효소연쇄반응 검사를 BK바이러스신증의 추적검사 등에 유용하게 사용할 수 있다고 생각되었다.

참고문헌

1. Major EO. Human polyomavirus. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, eds. Fields' virology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001:2175 - 91.

2. Nickeleit 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, 최규헌, 김순일, 김유선, 김현숙, 박기일. 신장이식 환자에서 BK 바이러스 감염에 의한 간질성신염: 진단과 치료 및 예후. 대한이식학회지 in press 2002.

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. Reploeg MD, Storch GA, Clifford DB. Bk virus: a clinical review. Clin Infect Dis 2001;33:191 - 202.

7. Nickeleit 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. Randhawa PS, Demetris AJ. Nephropathy due to polyomavirus type BK. N Engl J Med 2000;342:1361 - 3.

9. Petrogiannis - Haliotis T, Sakoulas G, Kirby J, Koralnik IJ, Dvorak AM, Monahan - Earley R, et al. BK - related polyomavirus vasculopathy in a renal - transplant recipient. N Engl J Med 2001;345:1250 - 5.

10. Hirsch HH. Polyomavirus BK nephropathy: a (re-)emerging complication in renal transplantation. Am J Transplant 2002;2:25 - 30.

11. 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.

12. Shah KV. Papovaviruses. In: Rose NR, Hamilton RG, Detrick B, eds.

Manual of clinical laboratory immunology. Washington, D.C.: ASM Press, 2002:646 - 51.

13. 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.

14. Jin L. Molecular methods for identification and genotyping of BK virus. Methods Mol Biol 2001;165:33 - 48.

15. 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.

16. Tang Y - W, Persing DH. Molecular detection and identification of microorganisms. In: Murry PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH, eds. Manual of clinical microbiology. Washington, D.C.: ASM Press, 1999:215 - 44.

17. Barouch DH, Faquin WC, Chen Y, Koralnik IJ, Robbins GK, Davis BT. BK virus - associated hemorrhagic cystitis in a Human Immunodeficiency Virus - infected patient. Clin Infect Dis

2002;35:326 - 9.

18. 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.

19. 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.

Abstract

BK virus detection by polymerase chain reaction in renal transplant recipients and healthy donors

Woonhyoung Lee

Department of Medicine

The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Hyon-Suk Kim)

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. So, we tried to detect BK virus by polymerase chain reaction in

urine and plasma from Korean renal transplant recipients, renal transplant candidates, and healthy donors. The results were summarized as follows.

1. The study was performed by PCR amplification and *Bam*HI restriction from 118 renal transplant recipients, 18 renal transplant candidates, and 25 healthy donors.
2. BK virus DNA was detected in 21.2% of urine from renal transplant recipients.
3. BK virus DNA was detected in 0.9% of plasma from renal transplant recipients.
4. BK virus DNA was not detected in neither urine nor plasma from healthy donors and renal transplants candidates.

BK virus detection by polymerase chain reaction in urine might be a good tool for BK nephropathy follow-up, because the BK virus load in the urine is 100 - to 1000 - fold higher than in plasma and it is easier and non-invasive to collect urine.

Key Words: BK virus, renal transplantation