

Diálisis y Trasplante

www.elsevier.es/dialis



ORIGINAL

Análisis morfométrico de la citología urinaria en pacientes trasplantados renales con infección del virus BK

Judith Pérez Rojas^{a,*}, Luis Angel Martínez Rubio^c, Francisco Vera Sempere^{a,b},
Mirella Prieto Rodríguez^a, María Josefina Artes Martínez^a y Ana María García Martínez^a

^a Servicio de Anatomía Patológica Hospital Universitario La Fe, Valencia, España

^b Departamento de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad de Valencia, Valencia, España

^c Laboratorio de Biología Molecular, Instituto Valenciano de Oncología, Valencia, España

Recibido el 20 de noviembre de 2012; aceptado el 11 de febrero de 2013

Disponible en Internet el 18 de julio de 2013

PALABRAS CLAVE

Análisis
morfométrico;
Nefritis intersticial;
Virus BK;
Citología urinaria

Resumen

Introducción: La nefritis túbulo-intersticial asociada al virus BK es una complicación del trasplante renal. La presencia de inclusiones virales denominadas células de Decoy, y de extensión citológica urinaria y los altos títulos de carga viral DNA en plasma, orina, y tejido renal, son marcadores de replicación de virus BK.

Objetivo: Análisis de la citología urinaria, para el diagnóstico precoz de infección de poliovirus en pacientes trasplantados renales.

Material y método: Estudio retrospectivo, prospectivo y analítico de 114 citologías urinarias y carga viral en orina (PCR) realizadas a 33 pacientes con trasplante renal en busca de infección por virus BK. Análisis morfométrico de los 4 tipos de inclusiones virales (células de Decoy) por infección por virus BK utilizando *software* de imágenes NIS-Elements Advanced Research en su versión 3.0.

Resultados: La citología urinaria es una prueba diagnóstica de *screening* para la detección de las células de Decoy con una alta sensibilidad del 81,4% y una especificidad de tan solo el 22,6%.

Los 4 patrones citomorfológicos de células de Decoy muestran una dispersión de área y de la longitud menor del 50% con respecto al valor medio, siendo menor en el tipo celular IV.

Conclusión: La probabilidad de que un paciente trasplantado renal e infectado por el virus BK tenga una citología con presencia de inclusiones nucleares compatibles con células de Decoy es alta, aunque su especificidad como signo de replicación de la infección por virus BK es baja. Los 4 patrones citomorfológicos de células de Decoy deben considerarse subgrupos celulares diferentes.

© 2012 SEDYT. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Abreviaturas: EBV, Epstein Barr; PV, Poliomavirus; CMV, Citomegalovirus; ADV, Adenovirus; VBK, Virus BK.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: judithpr@terra.es (J. Pérez Rojas).

KEYWORDS

Morphometric analysis;
Interstitial nephritis;
BK virus;
Urinary cytology

Morphometric analysis of urine cytology in patients transplanted kidney with BK virus infection**Abstract**

Introduction: The interstitial nephritis associated with BK virus is a complication of renal transplantation. The presence of viral inclusions called «Decoy cells» in urinary cytologies and DNA viral load in plasma, urine and kidney tissue are markers of BK virus replication.

Objective: Analysis of urinary cytology as screening method for the early diagnosis of polyomavirus infection in renal transplant patients.

Material and method: Retrospective and prospective study of 114 urinary cytologies and viral load in urine (PCR) in 33 patients with renal transplantation infection in search of BK virus. Morphometric analysis of the 4 types of viral inclusions (Decoy cells) by BK virus infection using image software NIS-Elements Advanced Research version 3.0.

Results: The urinary cytology is an excellent screening method for the early diagnosis of polyomavirus infection in renal transplant patients with a sensitivity of 81.4% and a specificity of only 22.6%. The 4 patterns of cytomorfologics Decoy cells show a scatter area and length of less than 50% from the average value, being lower in type iv.

Conclusions: The probability of a renal transplant patient infected by the BK virus having a cytology with nuclear inclusions compatible with Decoy cells is high but its specificity as a sign of infection and replication by BK virus is low. The 4 cytomorphologic patterns of Decoy cells should be considered as a different cell subgroups.

© 2012 SEDYT. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La infección primaria por virus BK (VBK) que ocurre durante la infancia ya sea por vía gastrointestinal o respiratoria es, generalmente, asintomática pero ocasionalmente puede dar síntomas respiratorios superiores o de infección de vías urinarias. También ha sido referida la transmisión vertical trasplacentaria¹⁻¹⁸.

Después de la infección primaria, el virus permanece latente en el huésped en diferentes localizaciones del tracto urogenital y en los tejidos hematolinfoides, pudiendo ser reactivado por un status de inmunosupresión².

El riñón parece ser el principal sitio de latencia en el hombre, pero también puede encontrarse acantonado en el sistema nervioso central y en la sangre³. Del 80 al 90% de la población adulta es seropositiva para VBK, iniciándose la seropositividad a los 10 años. Se detectan anticuerpos contra el virus en aproximadamente el 90% de las personas a los 14 años de edad. En receptores de injertos renales se detectan anticuerpos contra el VBK entre el 55 y el 73% de los casos en el momento del trasplante⁴.

La reactivación ocurre cuando disminuye la inmunidad celular, pero otras alteraciones, como la isquemia del injerto, aparentemente, desempeñan un papel importante en la reactivación. La demostración del PV en el tejido renal es necesaria para confirmar, con certeza, la nefritis intersticial asociada al poliovirus BK (NBK)⁵.

La pérdida del injerto oscila entre un 10 y un 80% según la serie consultada y parece ser menor en centros que tienen programas de vigilancia y *screening* activo.

Es importante definir 3 términos en relación con la infección por el virus:

- **Infección:** Evidencia serológica o virológica de que se ha tenido contacto con él o se ha desarrollado inmunidad. No distingue entre latencia y replicación activa.

- **Replicación:** Evidencia de multiplicación (infección activa o lítica), basada en demostrar células con cambio citopático en la orina (*células de Decoy*), o bien en encontrar mRNA de la proteína de replicación VP1 o demostrar DNA en orina. La infección puede ser primaria o secundaria, dependiendo de si la replicación se detecta en un individuo seronegativo o seropositivo, respectivamente.
- **Enfermedad:** Evidencia de daño citopático y afectación del órgano diana (demostrado por biopsia). La enfermedad por virus polioma (demostrado, por lo tanto, se define sobre la base de una evidencia histopatológica o ultraestructural del daño citopático y orgánico inducido por el virus¹⁻¹⁹.

La replicación por reactivación inicial parece que comienza en vías urinarias y el hallazgo más temprano es encontrar células con inclusiones en la orina. Estas células se han conocido como «células trampa» o «células señuelo» o células de Decoy⁶. Actualmente su detección se utiliza exclusivamente para designar las células con inclusiones características del papilomavirus en la orina. Es muy importante su hallazgo porque:

- 1) Aparecen antes de que se manifieste la enfermedad (nefritis intersticial) a través de una disfunción clínica.
- 2) Virtualmente todos los pacientes con nefritis intersticial asociada al virus (NBK) tienen abundantes células de Decoy en orina: la sensibilidad es por tanto del 100%, aunque muchos pacientes sin la enfermedad también tienen replicación del virus en el urotelio (hasta un 20%), por lo que la especificidad es muy baja (29%); es decir, su valor predictivo negativo es muy alto (casi 100%); si no hay células de Decoy en orina, en 3 tomas distintas, prácticamente podemos descartar la NBK⁵⁻²².

Las técnicas de visualización directa de las células de Decoy son un método sencillo y barato pero tienen la desventaja de que no son capaces de distinguir entre los 3 tipos de

poliomavirus que infectan a los humanos (VJC, VBK y SV40), además de la posible fusión con otras inclusiones virales tales como citomegalovirus y adenovirus.

Semple et al.²⁰ demostraron que tanto la citología urinaria como la PCR tienen una sensibilidad de un 100% y una especificidad de un 93 y 98% respectivamente para la detección del VBK, al compararlo con los resultados de la biopsia renal. Ambas pruebas demostraron, por lo tanto, una alta sensibilidad. Su diferencia radica en su especificidad. Así, en este estudio, en 2 pacientes con resultados positivos para supuesta infección por VBK en citología urinaria y negativos en el PCR, se confirmó infección por JC por técnicas de biología molecular²⁰⁻²⁷.

En esto radica la limitación de esta prueba. La citología urinaria es una buena herramienta para investigar la reactivación por poliomavirus, pero no es diagnóstica. Las células de Decoy son una característica asociada pero no un hallazgo patognomónico de la NBK. Su presencia es característica de la infección por VBK y sugiere su diagnóstico. La ausencia de células Decoy en orina excluye el diagnóstico de infección por poliomavirus⁹.

La identificación del virus BK en los laboratorios incluye una citología urinaria, biopsia renal, la reacción a la polimerasa (PCR) para detectar la presencia de DNA viral en orina y plasma y la detección del RNA mensajero para la carga viral de la proteína VPI en la orina. La mayor limitación de los métodos basados en la detección del DNA viral es que no son capaces de distinguir entre una infección latente y la reactivación¹⁰⁻¹³.

Desde un punto de vista morfológico, las células infectadas por PV necesitan ser diferenciadas del daño citopático causado por el citomegalovirus y de las células uroteliales atípicas detectables en el curso de una neoplasia del tracto urotelial. Las células infectadas presentan un gran núcleo, con una patrón cromatínico, podría llevar a pensar que son células tumorales a un observador no entrenado en el reconocimiento citomorfológico.

Material y método

El presente trabajo se ha basado en un análisis doble, retrospectivo y prospectivo y analítico de 114 citologías urinarias, realizadas a 33 pacientes con trasplante renal en el Hospital Universitario La Fe (Servicio de Anatomía Patológica) en el último año. El estudio de la citología urinaria tenía como finalidad la búsqueda de inclusiones intranucleares compatibles con células de Decoy, hallazgos que nos sugieren el diagnóstico de infección por VBK.

El 60% de los pacientes eran de sexo masculino y 4 casos estaban en edad pediátrica. A 7 de los 33 pacientes se les realizó más de una citología para el *screening* de la infección por BK y biopsias renal para confirmar el diagnóstico.

Se utilizó como criterios de inclusión:

- Extensiones citológicas con celularidad urotelial, excluyéndose las extensiones acelulares.- Haber realizado de forma simultánea y en la misma orina detección de la carga viral en orina (PCR), en busca de infección por VBK, a los 33 pacientes trasplantados renales.

Estudio morfométrico

En la segunda parte de nuestro trabajo, realizamos un estudio citomorfométrico de los distintos tipos morfológicos de célula de Decoy. El estudio morfométrico se ha realizado mediante el *software* de imágenes NIS-Elements Advanced Research AR-2007 (KK Corp., 1170AE, Badhoevedorp, Holanda) en su versión 3.0 con los siguientes componentes:

- Ordenador Intel Core™ Duo XP Professional 6600; 2.40 GHz.
- Cámara digital CCD de refrigeración líquida, D5-5Mc Cooled DS Camera 5.24 megapixels (KK Corp.) conectada a la unidad de control DS-U2 (KK Corp.)
- Microscopio Eclipse 80i (KK Corp.) que incluye una unidad digital de imagen Digital Imaging Head (KK Corp.)

Finalmente, los datos son exportados a una tabla Excel para poder analizarlos con el programa estadístico SPSS 15.0 para Windows²⁰⁻²⁸.

Discusión

Desde la década de los 90 se han aplicado al trasplante renal métodos cuantitativos con el objetivo de mejorar la reproductividad de las lesiones. Aunque actualmente es cada vez más generalizada la aplicación de métodos automatizados en el estudio morfométrico, se conoce que son métodos muy laboriosos, que requieren de personal experimentado, por lo que su uso rutinario en la práctica clínica no es utilizado. No así en estudios investigativos, que cada día son más ampliados.

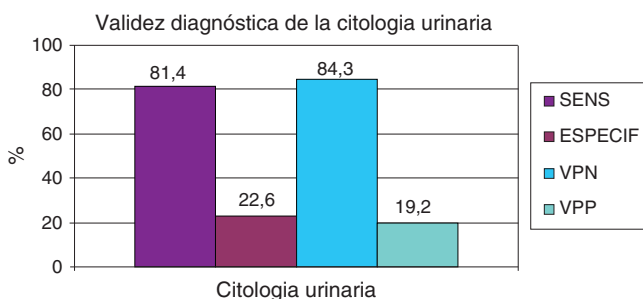
Específicamente en la nefropatía por BK, en que la prueba *gold standard* para el diagnóstico sigue siendo la biopsia renal conjuntamente con la monitorización de la carga viral en sangre, el uso de estudios morfométricos es muy limitado en la actividad asistencial.

Mediante el estudio de la citología urinaria comprobamos que la probabilidad de que un paciente trasplantado renal e infectado por el VBK tenga una citología con presencia de inclusiones nucleares compatibles con células de Decoy es alta (81,4%). Por tanto, el 81,4% de los pacientes enfermos de VBK y trasplantados renales tendrá una citología con presencia de inclusiones nucleares compatibles con células de Decoy (fig. 1).

Por otra parte, obtuvimos que la probabilidad de que un paciente trasplantado renal presentase una citología negativa, en busca de inclusiones nucleares compatibles con células Decoy es de 22,6%; o sea, solo el 22,6% de los pacientes serán clasificados como sanos, a partir de los resultados negativos de la citología urinaria (fig. 2).

A pesar de que la citología urinaria es una prueba de fácil aplicación, de bajo coste, inocua para el paciente y de fácil repetición o reiteración, hay casos en que influye en su diagnóstico, como son la preparación de la muestra y la experiencia del citólogo que la analiza. La limitación de la citología urinaria está en que la presencia de células Decoy puede corresponder a uno o más poliomavirus (VBK, JC).

Por otra parte, la posibilidad de falsos positivos (92 extensiones citológicas en nuestro estudio) es otro aspecto de la



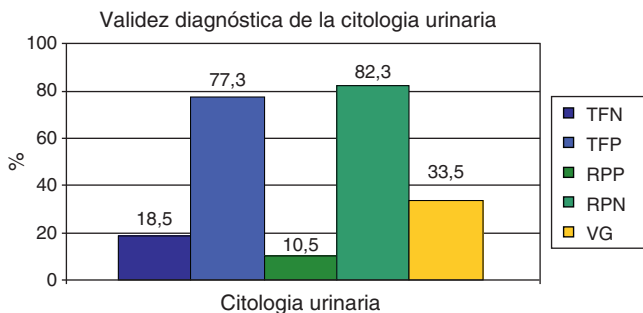
Sensib: Sensibilidad $\frac{VP}{VP + FN}$; Especif (especificidad) $\frac{VN}{VN + FP}$

VPP (valor predictivo positivo) $VPP = \frac{VP}{VP + FP}$

VPN (valor predictivo negativo) $VPN = \frac{VN}{VN + FN}$

Figura 1 Cuerpo de inclusión intranuclear (célula de Decoy) tipo I descrita como en vidrio esmerilado de Célula de Decoy.

citología urinaria que la hace una prueba de baja especificidad. Además, como prueba diagnóstica no es capaz de distinguir entre una infección latente y la reactivación, ni aunque cabe señalar que en nuestro trabajo no se detectó,



TFN: Tasa falso negativo $TFN = \frac{FN}{VP} + FN$

TFP: Tasa de casos falso positivo $TFP = \frac{FP}{VN} + FP$

RPP: Razón de probabilidad positiva

$$RPP = \frac{\text{Probabilidad_test } \oplus \text{ enfermos}}{\text{Probabilidad_test } \oplus \text{ sanos}} = \frac{VP / \text{enfermos}}{FP / \text{sanos}}$$

RPN: Razón de probabilidad negativa

$$RPN = \frac{\text{Probabilidad_test } (-) \text{ enfermos}}{\text{Probabilidad_test } (-) \text{ sanos}} = \frac{FN / \text{enfermos}}{VN / \text{sanos}}$$

Figura 2 Cuerpo de inclusión intranuclear (célula de Decoy) variante eosinófila granular rodeada por un halo, casi siempre incompleto (tipo II).

mediante técnicas moleculares, ningún caso de infección por JC. Estos resultados concuerdan con los revisados en la literatura.

No existe un parámetro guía útil para todas las situaciones diagnósticas, por lo que la aceptabilidad de una prueba depende de la enfermedad estudiada. En nuestro caso nos propusimos asegurar el diagnóstico certero, pues de la detección de la infección por VBK, en pacientes trasplantados, depende la conducta médica a seguir, y así se puede evitar la consecuente neuropatía BK a que lleva dicha enfermedad. El diagnóstico de infección por VBK en las citologías sospechosas se realizó por medio de PCR en orina y solo en 2 casos se confirmó mediante biopsia renal.

Por tanto, lo ideal es buscar un test, de máxima especificidad, aunque eso implique que dicho test sea de baja sensibilidad.

La sensibilidad y la especificidad son valores interdependientes, de forma que si aumenta la especificidad, disminuye la sensibilidad. Lo ideal para el diagnóstico certero es poder aplicar primero un test muy sensible (detecta todos los casos posibles de enfermedad: se obtienen muchos FP [92] y pocos FN [5] como es el caso la citología urinaria. En la segunda fase, el objetivo es aplicar un test muy específico que confirme el diagnóstico de esos posibles enfermos: se obtienen muy pocos FP, por ejemplo la determinación de DNA carga de DNA viral en orina.

Resulta obvio que lo ideal sería trabajar con pruebas diagnósticas de alta sensibilidad y especificidad, pero esto no siempre es posible. En general, las pruebas de *screening* deben ser de alta sensibilidad para poder captar a todos los enfermos (mientras que las pruebas confirmatorias del diagnóstico (ejemplo biopsia renal) deben ser de alta especificidad, para evitar falsos positivos.

En el análisis morfológico de las células de Decoy presentamos los 4 tipos de inclusión intranuclear estudiados en la publicación de Nিকেleit y Mihatsch, en el año 2006¹³:

- *tipo I*: variante basófila en vidrio esmerilado, es la más frecuente (fig. 3)

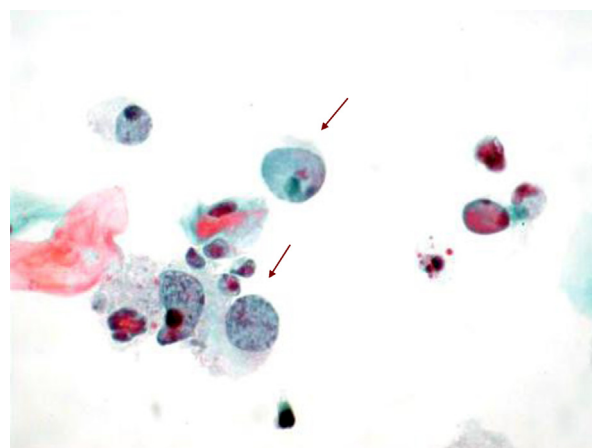


Figura 3 Variantes morfológicas de cuerpos de inclusión intranuclear (célula de Decoy) finamente granular carente de halo (tipo III).

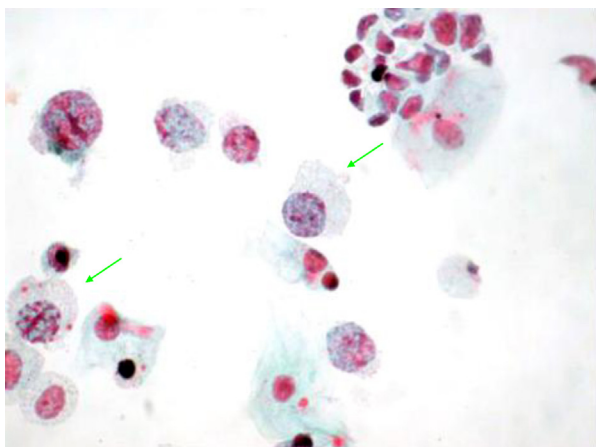


Figura 4 Variantes morfológicas de cuerpos de inclusión intranuclear (células de Decoy). Variante vesicular con núcleos marcadamente agrandados y cromatina granular (tipo IV).

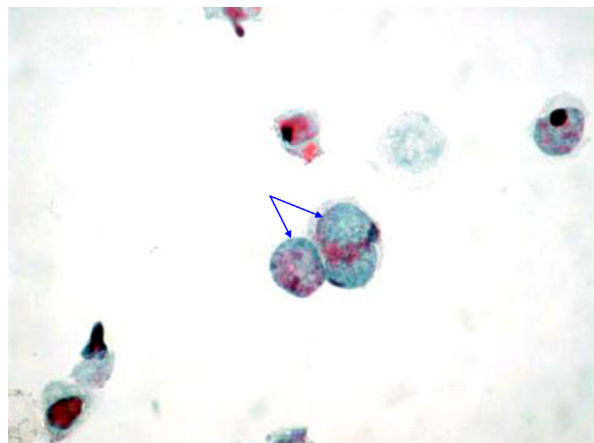


Figura 6 Variantes morfológicas de cuerpos inclusión intranuclear (Células de Decoy). variante vesicular con núcleos marcadamente agrandados y cromatina granular (Tipo IV).

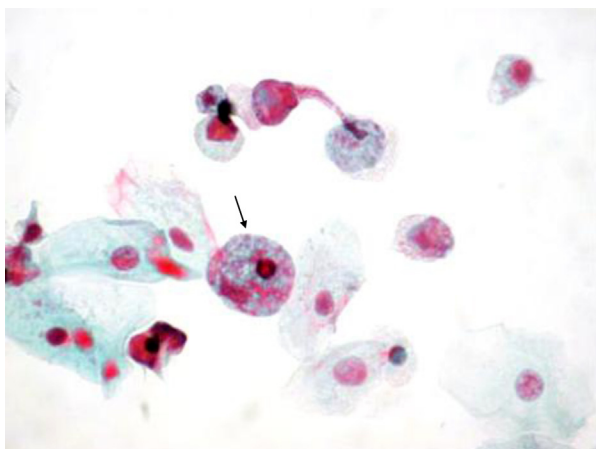


Figura 5 Análisis morfométrico de las 4 variantes morfológicas de las células de Decoy. Determinación del área y del diámetro longitudinal mayor.

- *tipo II*: variante eosinófila granular rodeada por un halo, casi siempre incompleto (fig. 4)
- *tipo III*: una forma inclusiva finamente granular carente de halo (fig. 5)

- *tipo IV*: una variante vesicular con núcleos marcadamente agrandados y cromatina granular (fig. 6)

El tipo II de inclusión es similar al que se ve en la infección por citomegalovirus. Las típicas inclusiones nucleares por citomegalovirus, generalmente, son más pequeñas y oranjófilas, rodeadas por un halo claro, parecidas al tipo II descrito por Nickenleit et al.¹³, pero con inclusiones citoplásmicas acompañantes.

La variante tipo IV es la menos característica y a veces solo para búsqueda de PV. Puede imitar la morfología de células neoplásicas, hecho que debe tenerse en cuenta al analizar una citología urinaria.

Los datos obtenidos al realizar el análisis morfométrico de longitud y área de las 4 variantes morfológicas de las células de Decoy (fig. 7) reflejan que en modo general no existe una dispersión mayor del 50% con respecto a la media de la longitud (tabla 1) y del área (tabla 2), con una buena regularidad morfométrica de los distintos tipos morfológicos respecto al área y el diámetro longitudinal, mayor.

El tipo IV presentó una menor dispersión y, por tanto, mayor regularidad morfométrica (tabla 3).

Área = go (I) < go (II) < go (III) < go (IV).

Longitud = go (I) < go (III) < go (II) < go (IV).

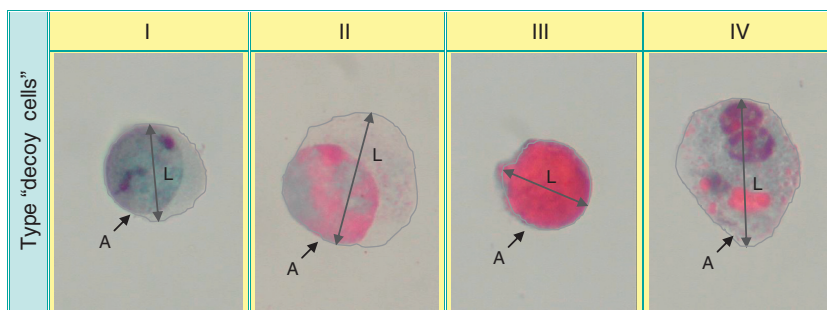


Figura 7 Análisis morfométrico de las cuatro variantes morfológicas de las células de Decoy". Determinación del área y el diámetro longitudinal mayor.

Tabla 1 Determinación de la longitud media y la desviación estándar con respecto a la media de cada tipo morfológico

Citología	Longitud del tipo I	Longitud del tipo II	Longitud del tipo III	Longitud del tipo IV
1	43,16	46,11	19,77	46,94
2	39,15	45,46	19,07	46,13
3	35,32	49,77	18,08	44,51
4	31,32	39,23	20,27	42,74
5	30,17	36,59	23,05	41,44
6	29,91	36,37	23,74	40,10
7	28,54	36,15	28,31	39,55
8	28,44	34,95	26,62	39,37
9	27,89	34,25	20,94	39,08
10	27,83	34,11	17,86	38,36
11	27,61	33,51	18,29	37,60
12	27,55	33,13	22,81	37,34
13	26,61	33,05	21,61	37,15
14	26,42	32,39	17,21	36,92
15	26,08	32,27	23,80	36,43
16	25,20	31,79	20,80	35,94
17	23,68	30,52	17,84	34,94
18	23,24	29,76	22,00	34,81
19	23,17	29,74	26,73	34,76
20	22,86	29,73	26,72	34,48
21	22,21	29,18	30,34	34,44
22	21,33	27,92	16,52	34,39
23	19,79	27,74	15,39	33,91
24	19,53	27,53	24,67	33,81
25	18,56	26,72	27,55	31,65
26	18,31	26,28	25,44	31,64
Media	26,69	33,24	22,13	37,63
DE	05,85	05,09	03,98	04,03
Mínimo	18,31	26,28	15,39	31,64
Máximo	43,16	46,11	28,31	46,11

Tabla 2 Determinación del área media y la desviación estándar con respecto a la media de cada tipo morfológico

Citología	Área del tipo 1	Área del tipo 2	Área del tipo 3	Área del tipo 4
1	155,93	530,53	263,41	735,23
2	200,06	547,56	300,70	789,24
3	205,37	557,88	270,91	855,09
4	218,55	561,72	297,52	862,54
5	233,14	610,97	419,89	918,69
6	251,51	617,99	395,29	945,60
7	256,88	623,48	599,01	963,24
8	299,84	661,69	555,74	988,32
9	306,80	667,67	291,72	1.011,88
10	317,05	688,48	267,25	1.015,54
11	318,33	710,70	236,31	1.019,87
12	325,96	729,98	446,62	1.025,43
13	353,91	833,67	276,59	1.039,89
14	363,13	853,51	158,43	1.044,77
15	365,39	857,96	507,04	1.069,13
16	371,31	863,03	250,77	1.072,91
17	377,84	893,72	179,73	1.085,60
18	392,97	917,04	361,30	1.087,80
19	401,76	919,78	480,37	1.104,28
20	426,60	943,04	461,45	1.107,57
21	450,95	944,50	676,64	1.115,51
22	496,05	954,94	193,47	1.205,34

Tabla 2 (continuación)

Citología	Área del tipo 1	Área del tipo 2	Área del tipo 3	Área del tipo 4
23	613,54	982,22	158,92	1.280,72
24	727,72	1.007,18	463,16	1.324,78
25	740,36	1.023,41	561,29	1.335,22
26	894,88	1.052,83	473,41	1.355,05
Media	387,15	790,60	367,19	1.052,28
DE	176,12	165,82	142,84	1.55,07
Mínimo	155,93	530,53	158,43	735,23
Máximo	894,88	1.052,83	676,65	1.355,05

Tabla 3 Grado de dispersión con respecto a la media de cada tipo morfológico

Tipos morfológicos de célula Decoy	Área	Longitud
Tipo I	$go(I) = \frac{176,12}{387,15} \times 100 = 45,49\%$	$go(I) = \frac{5,85}{26,69} \times 100 = 29,18\%$
Tipo II	$go(II) = \frac{165,82}{790,6} \times 100 = 20,97\%$	$go(II) = \frac{5,09}{33,24} \times 100 = 15,31\%$
Tipo III	$go(III) = \frac{142,84}{367,19} \times 100 = 38,90\%$	$go(III) = \frac{3,98}{22,13} \times 100 = 17,70\%$
Tipo IV	$go(IV) = \frac{155,07}{1052,28} \times 100 = 14,73\%$	$go(IV) = \frac{4,03}{37,63} \times 100 = 10,70\%$

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Arias LF, Alvarez T, Gonzalez L, Mendoza ML, Blanco J, Garcia-Asenjo JL, et al. BK viral infection in kidney transplantation: Importance of «decoy» cells. *Acta Cytol.* 2003;47:1145–6.
- Blanckaert K, de Vriese AS. Current recommendations for diagnosis and management of polyoma BK virus nephropathy in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant.* 2006;21:3364–7.
- Costa C, Bergallo M, Astegiano S, Terlizzi ME, Sidoti F, Segoloni GP, et al. Emerging of BK virus replication in the first year following renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant.* 2008, doi.10.1093/ndt/gtn289.
- Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Hirsch HH, Wali R, Crowder C, Nogueira J, et al. Histological patterns of polyomavirus nephropathy: Correlation with graft outcome and viral load. *Am J Transplant.* 2004;4:2082–92.
- Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Ramos E. Histologic versus molecular diagnosis of BK polyomavirus-associated nephropathy: A shifting paradigm? *Clin J Am Soc Nephrol.* 2006;3:374–9.
- Drachenberg RC, Papadimitriou JC, Ramos E, Fink JC, Wali R, Weir MR, et al. Morphological spectrum of polyoma virus disease in renal allografts: Diagnostic accuracy of urine cytology. *Am J Transplant.* 2001;1:373–81.
- Fleiss JL. *Statistical methods for rates and proportions.* 3rd ed. New York: John Wiley & Sons; 2003.
- Hayat A, Mukhopadhyay R, Radhika S, Sachdeva MS, Nada R, Joshi K, et al. Adverse impact of pretransplant polyoma virus infection on renal allograft function. *Nephrol (Carlton).* 2008;13:157–63.
- Kapila K, Nampoory MR, Johny KV, Pacsa AS, Al-Ayadhy B, Mathew JR, et al. Role of urinary cytology in detecting human polyoma BK virus in kidney. *Med Princ Pract.* 2007;16:237–9.
- Kiberd BA, Baber CF, Hewlett TJ, Geldenhuys L, Acott PD, Hatcher TF. BK virus nephropathy in a heart transplant recipient: Case report and review of the literature. *Transpl Infect Dis.* 2006;2:113–21.
- Kiberd BA. Screening to prevent polyoma virus nephropathy: A medical decision analysis. *Am J Transplant.* 2005;5:4210–6.
- Medeiros M, Alberú J, García GR, Fuentes Y, Velásquez L. Virus polioma en trasplante renal. *Nefrología.* 2008;28:203–11.
- Nickeleit V, Drachenberg CB, Mihatsch MJ. Polyomavirus nephropathy: Pathogenesis, morphological and clinical aspects. *Verh Dtsch Ges Pathol.* 2004;88:69–84.
- Nickeleit V, Mihatsch MJ. Polyoma virus nephropathy in native kidneys and renal allografts: An update on an escalating threat. *Transplant Int.* 2006;19:960–73.
- Nickeleit V, Singh HK, Mihatsch MJ. Polyomavirus nephropathy: Morphology pathophysiology and clinical management. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2003;12:599–605.
- Nickeleit V. Polyomavirus infection of renal allograft recipients: From latent infection to manifest disease. *J Am Soc Nephrol.* 1999;10:80–9.
- Nickeleit V, Mihatsch MJ. Polyomavirus allograft nephropathy and concurrent acute rejection: A diagnostic and therapeutic challenge. *Am Transplant.* 2004;4:838–9.
- Pietropaolo V, di Taranto C, Degener AM, Jin L, Sinibaldi L, Baiocchi A, et al. Transplacental transmission of human polyomavirus BK. *J Med Virol.* 1998;56:372–6.
- Selvin S. *Statistical analysis of epidemiologic data.* 3rd ed. New York: Oxford University Press; 2004.
- Semple K, Lovchik J, Drachenberg C. Identification of polyoma BK virus in kidney transplant recipients by shell vial cell culture assay and urine cytology. *Am J Clin Pathol.* 2006;126:444–7.
- Singh HK, Bubendorf L, Mihatsch MJ, Drachenberg CB, Nickeleit V. Urine cytology findings of polyomavirus infections. *Adv Exp Med Biol.* 2006;577:201–12.
- Stratta RJ, Rohr MS, Sundberg AK, Farney AC, Hartmann FL, Moore PS, et al. Intermediate-term outcomes with expanded criteria deceased donors in kidney transplantation. *Ann Surg.* 2006;243:594–603.
- Sukov WR, Lewin M, Sethi S, Rakowski TA, Lager DJ. BK virus-associated nephropathy in a patient with AIDS. *Am J Kidney Dis.* 2008;51:15–8.
- Tong CY, Hilton R, MacMahon EM, Brown L, Pantelidis P, Chrystie IL, et al. Monitoring the progress of BK virus associated

- nephropathy in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19:2598–605.
25. Tong CY, Bakran A, Peiris JS, Muir P, Herrington CS. The association of viral infection and chronic allograft nephropathy with graft dysfunction after renal transplantation. *Transplantation*. 2002;74:576–8.
 26. Vats A. BK virus-associated transplant nephropathy: Need for increased awareness in children. *Pediatr Transplant*. 2004;8: 421–5.
 27. Vats A, Randhawa PS, Shapiro R. Diagnosis and treatment of BK virus-associated transplant nephropathy. *Adv Exp Med Biol*. 2006;577:213–27.
 28. Zaragoza C, Li RM, Fahle GA, Fischer SH, Raffeld M, Lewis Jr AM, et al. Squirrel monkeys support replication of BK virus more efficiently than simian virus 40: An animal model for human BK virus infection. *J Virol*. 2005;79:1320–6.