

EDITORIAL

LOS VIRUS BK UN NUEVO INTERROGANTE EN LA INVESTIGACION BIOMEDICA

G. SZUCS, H. HANSSEN

INTRODUCCION

El virus BK es un poliomavirus de origen humano, aislado por Gardner et al. en 1971, de un paciente que había recibido un trasplante renal (1). Este virus se denominó con las iniciales del nombre del paciente del cual se aisló. El paciente que recibió el aloinjerto, había sido referido para investigación virológica porque en su orina se encontraron numerosas células con inclusiones. Este nuevo virus fue aislado en células VERO (African Green Monkey Kidney Cells) después de un periodo de incubación de aproximadamente 3 meses. El nuevo aislamiento resultó ser antigénicamente distinto de los otros miembros conocidos del subgrupo *polyoma* de los *Papovavirus*. Durante los últimos 10 años han aparecido numerosas informaciones concernientes a la prevalencia, las

características morfológicas y genéticas y el potencial oncogénico de estos virus. Sin embargo, no ha sido establecida hasta el momento una asociación con una enfermedad humana definida.

PROPIEDADES FISICAS Y BIOLÓGICAS DE LOS VIRUS BK

A pesar de que el virus BK fue aislado originalmente en células VERO, esta línea celular no parece ser la más adecuada para su crecimiento. Otras células de primates son solamente semipermissivas (1, 6, 7). El sistema celular más sensible lo constituyen las células humanas de origen fetal (2, 3, 6, 8-10) y las células primarias de riñón fetal las cuales han sido comúnmente utilizadas para el crecimiento y ensayo de los virus BK. La vacuolización del citoplasma y la aparición de cuerpos de inclusión intranucleares son apreciables después de la infección. La progenie viral de los virus BK es ensamblada y acumulada en el núcleo de las células infectadas; después de un ciclo de crecimiento relativamente prolongado (54 a 60 horas postinfección) (12) (Figura 1). En la mayoría de los sistemas celulares, la progenie de viriones BK no se libera sino que permanece asociada a la célula (3, 5). Adicionalmente, el virus BK

Dr. Gyorgy Szucs: Jefe de Virología, Departamento de Virología Laboratorios de Investigación y Salud Pública, Szabadsag, Hungría; Profesor visitante; Dr. Henry Hanssen: Profesor Asociado, Departamento de Microbiología y Parasitología, Sección de Virología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia; Profesor en entrenamiento, Department of Virology and Epidemiology, Baylor College of Medicine, Texas Medical Center, Houston, Texas 77030, E.U.A.

Solicitud de separatas al Dr. Hanssen.

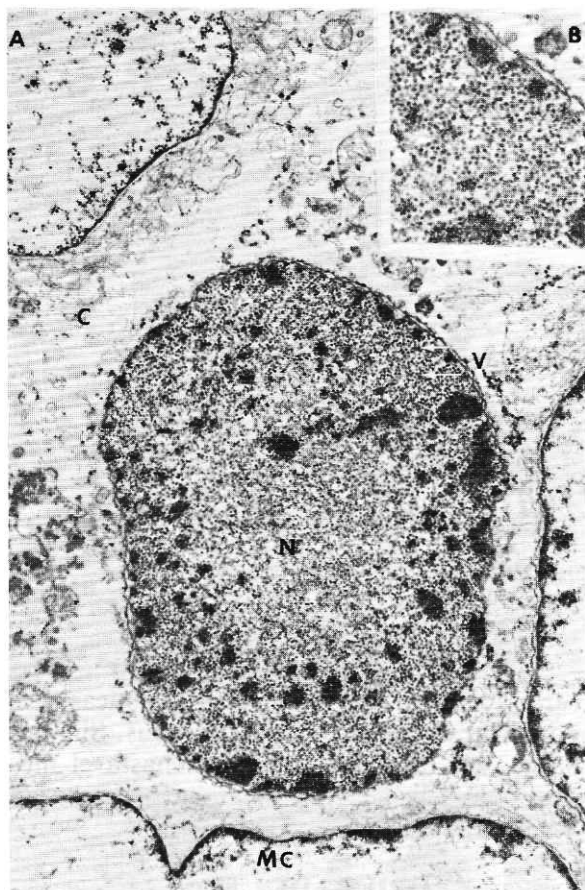


Figura 1. A) Electromicrografía de un cultivo celular de riñón fetal humano. Se observa la infección masiva del núcleo celular por los virus BK (V). Se alcanzan a apreciar partículas virales aisladas y partículas virales agrupadas en forma de inclusiones. 10.100X.
B) Se observa una serie de partículas virales estrechamente asociadas a la membrana nuclear. 20.200X.

no crece en líneas celulares heteroploides como las células Hela y las células KB.

Morfológicamente los virus BK son típicos poliomavirus (1, 2, 3, 13) y el tamaño de los viriones BK es de $40,5^{44}$ nm de diámetro, su geometría es icosaédrica y arquitectónicamente está conformado por 72 capsómeros libres de envoltura (3); mediante purificación en gradientes isopícnicos de cloruro de cesio, los virus se revelan en forma de una banda densa a $1,34 \text{ g/cm}^3$ (viriones que contienen ADN) y una banda más liviana a $1,29 \text{ g/cm}^3$ (partículas virales vacías). Tanto los viriones completos como las partículas vacías tienen actividad hemaglutinante (5), y aglutinan

eritrocitos humanos y de pollos jóvenes, pero no eritrocitos de monos o ratones (1, 3, 5). El máximo título de hemaglutinación se obtiene con eritrocitos humanos del grupo 0 a 4°C y en condiciones de pH de 6,1 a 7,4 (5, 14). La hemaglutinina asociada a los viriones es resistente a la inactivación por cloroformo o éter (6), las variaciones de pH y las altas concentraciones de sales (14). La B-propionolactona al 0,1% destruye la infectividad de los virus, reteniendo la actividad hemaglutinante (4). Se han detectado inhibidores no específicos de la hemaglutinación en el suero de muchas especies incluyendo el hombre (5, 15).

Las proteínas de los virus BK han sido analizadas por electroforesis en geles de poliacrilamida y algunos autores han informado cinco polipéptidos (16, 18), mientras otros han reportado seis (3, 17). El peso molecular del principal polipéptido (VP-1) se ha estimado en la región de 39.000-43.000 y representa del 69 al 84% de las proteínas del virión. Barbanti-Brodano y sus colaboradores analizaron por isoelectroforesis las proteínas de los virus BK y encontraron que poseen un punto isoeléctrico mayor que el encontrado para los virus simianos SV-40 (19).

El ácido nucleico de los virus BK consiste de círculos superenrollados de ADN (forma I) y de círculos relajados de ADN (forma II). El ADN forma una banda a $1,60 \text{ g/cm}^3$ en gradientes isopícnicos de cloruro de cesio y tiene un peso molecular de $3,45 \times 10^6$ (20). El genoma de estos virus ha sido estudiado mediante técnicas de hibridización molecular y de acuerdo con las condiciones experimentales exhibe un grado de homología desde el 10 al 50% y algunas veces del 85% con el genoma de los virus SV-40 (20-25, 34). Mediante el uso de enzimas de restricción ha sido posible detectar cepas variantes de los virus BK identificadas como GS, MN, TL, RF, MG (2, 26-29). Aunque las variantes son antigénicamente similares al virus BK, poseen diferencias en el ADN y también en algunos casos en los péptidos de las proteínas de la cápside (30, 31). El ADN de los virus BK presenta heterogeneidad genética la cual resulta de la alta proporción de viriones

defectuosos presentes en las preparaciones del virus (3, 20). Los viriones defectuosos son evidenciables durante los pasajes repetidos a alta multiplicidad de infección (10, 20) y no a bajas condiciones de multiplicidad como se ha informado recientemente (32). Yang y Wu construyeron en 1979 un mapa físico detallado de la cepa MN del virus BK (33). Estos autores determinaron la secuencia completa de nucleótidos del genoma: 4.963 pares de bases, de las cuales el 70% resultaron idénticas a las de los virus SV-40. Un análisis detallado del genoma de los virus BK también ha sido informado recientemente por Seif et al. (34).

Los antígenos virales han sido investigados por diferentes métodos. Los antígenos de superficie (antígenos V) han sido demostrados por inhibición de la hemaglutinación, neutralización, inmunofluorescencia, inmunodifusión, inmunoelectroforesis y por inmunoelectromicroscopía (1, 2, 5, 6, 13, 16, 35) (Figura 2). Los antígenos fijadores de complemento también existen (1, 6) y un determinante antigénico localizado en el principal polipéptido de la cápside (VP-1), aparentemente es común a todos los miembros del género *polyoma* (9, 36, 37). El virus BK induce un antígeno tumoral o antígeno T, común y similar al de los otros virus del grupo *polyoma*, pero a su vez tiene un determinante antigénico específico (6, 38, 39). El antígeno tumoral pequeño también ha sido informado (40). Los antígenos tumorales específicos de trasplante (TSTA) han sido demostrados en células transformadas por el virus BK (7, 41, 50). El antígeno U descrito para los virus SV-40 ha sido también revelado en el caso de los virus BK mediante reacción con antisuero anti-U de virus SV-40 (42).

Este induce tumores en cricetos recién nacidos cuando se les inocula por vía subcutánea y/o por vía intracraneal. Los tumores inducidos son fibrosarcomas, ependimomas y papilomas de los coroides, esencialmente dependiendo de la vía de inoculación (7, 43-47). También se ha descrito la ocurrencia de insulinosomas (48, 49, 92). Varios tipos de células se han podido transformar *in vitro* con el virus BK o con el ADN viral (células pri-

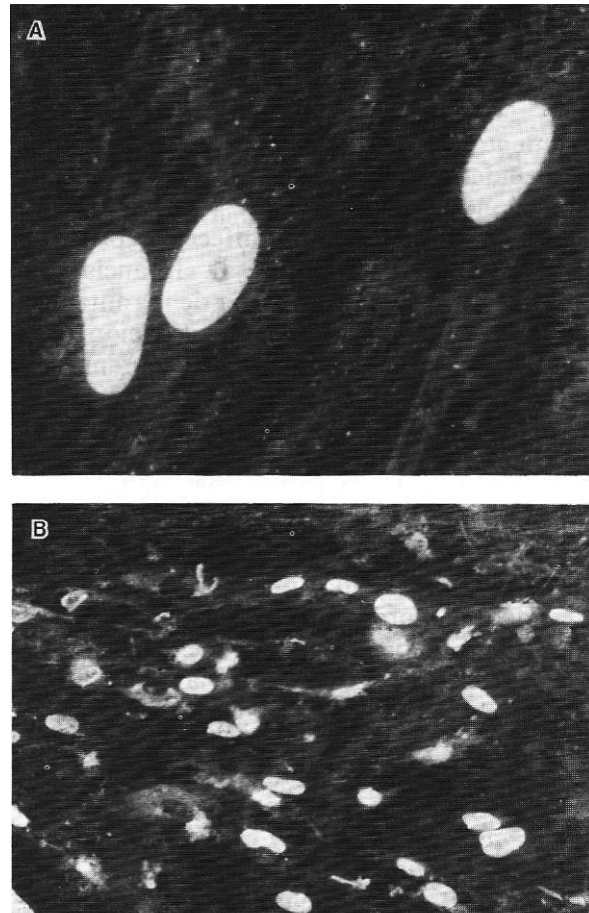


Figura 2. A) Se observa una reacción de inmunofluorescencia indirecta en la detección del virus BK en células de riñón fetal humano. Nótese la marcada positividad de la reacción nuclear, lugar de replicación primaria de los virus. 400X.

B) Similar a los apreciados en la parte A, pero en menor aumento. 25X.

(Fotografías originales del trabajo de investigación: Szucs, G, Hanssen H.: Caracterización molecular de los virus BK. Observaciones no publicadas).

marías de criceto, rata, ratón, cobayos, riñón de mono, conejo y células fetales de hámster BHK-21) (10, 45, 51-58). Las células transformadas contienen antígeno T y producen tumores en huéspedes singénicos. El virus infeccioso ha sido también recuperado en muchos casos donde el ADN viral se ha demostrado (10, 45, 52, 55, 57-60).

PREVALENCIA DE LOS VIRUS BK Y ASPECTOS CLINICOS

Se han demostrado anticuerpos para los virus BK por fijación de complemento, in-

munofluorescencia, neutralización, análisis inmunoenzimático (ELISA) etc. Sin embargo, la inhibición de la hemaglutinación ha sido la más comúnmente usada hasta el momento (1, 2, 5, 6, 62-68, 81). Los estudios seroepidemiológicos han demostrado que las infecciones por el virus BK son comunes en los humanos y que la infección primaria ocurre temprano durante la infancia. La Tabla 1 muestra la frecuencia de los anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación para los virus BK en algunos estudios representativos.

Encuestas en todos los grupos de edad han establecido que la infección ocurre muy temprano en la vida. Del 62 al 78% de los niños entre los 3 y 10 años de edad tienen anticuerpos para este virus. Una alta tasa de anticuerpos 90-100% ha sido informada en el grupo de edad comprendido entre 10 y 30 años, declinando moderadamente después de esa edad. Tasas del 60 al 70% han sido informadas en grupos de personas mayores de 60 años (62, 64, 67, 68).

Las infecciones primarias en la infancia parecen no estar asociadas con enfermedad clínicamente manifiesta y es probable que los niños sufran una infección subclínica o inadvertida, entre las muchas que los niños padecen. Mantyljarvi et al. examinaron en forma seriada, muestras de suero de 66 niños y detectaron alzas significativas en el título de

anticuerpos en once de ellos; cuatro de estos niños tenían una enfermedad respiratoria leve de etiología desconocida (62). Noordaa et al. registraron la seroconversión para anticuerpos anti-BK en un niño y dos adultos, con enfermedad respiratoria aguda y enfermedad neurológica (69). Hasta el momento, no hay información acerca de la forma de adquisición y transmisión de la infección y tampoco conocemos ninguna enfermedad definida asociada con este virus. Además, el virus BK parece ser estrictamente un virus humano y no hay evidencia de que existan reservorios animales (42, 66).

Las infecciones persistentes por el virus BK han sido demostradas mediante investigaciones serológicas y por investigación directa del virus en pacientes que han recibido aloinjertos renales y han sido sometidos a terapia inmunosupresora prolongada, o han tenido enfermedades con compromiso del sistema inmune, así como también en mujeres embarazadas. La cepa prototipo de Gardner fue aislada de un paciente con trasplante renal. Lecatsas pudo identificar virus de *polyoma* en 44% de las muestras de orina tomadas de pacientes con trasplante renal (70). Jung et al. (71) y Dougherty y Di Stefano (2) también han informado resultados similares en el aislamiento. Coleman et al. demostraron el virus en 9 de 74 pacientes con aloinjerto renal (8).

Inicialmente Reese et al. (72) han enfatizado que la excreción del virus BK en la orina está relacionada con la inmunosupresión y no con el trasplante en sí. Se ha comprobado el aislamiento del virus BK de orina de pacientes con enfermedad maligna (72, 88), de niños con el síndrome de Wiscott-Aldrich (29) y de niños con otras enfermedades congénitas (73). El virus se ha aislado en varias ocasiones de pacientes con lupus eritematoso (74) y en pacientes con trasplantes de médula ósea (75), así como también de dos niños inmunosuprimidos que sufrían de leucemia linfoblástica y linfoma de tipo no Hodgkin respectivamente (31). El virus no ha podido aislarse de niños con enfermedades digestivas, endocrinas o hepáticas (76). La mayoría de los aislamientos han sido de

Tabla 1. Prevalencia de anticuerpos para el virus BK detectados mediante inhibición de la hemaglutinación (IH).

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS				
Nº de sueros investigados	% de sueros con anticuerpos	País	Año	Referencia
409	62	Inglaterra	1973	Gardner et al. (61)
203	58	Finlandia	1973	Mantyljarvi et al. (62)
334	74	Estados Unidos	1973	Shah et al. (63)
453	67	Italia	1974	Portolani et al. (64)
294*	76	Japón	1955	Taguchi et al. (65)
1.544*	0-90	Estados Unidos	1975	Brown et al. (66)
582	65	Italia	1976	Pavia et al. (67)
949	64	Hungría	1979	Szucs et al. (68)

* Sueros obtenidos de mujeres embarazadas y de controles.
** Sueros de 28 poblaciones aisladas en diferentes partes del mundo.

pacientes que sufrían enfermedades crónicas debilitantes o de aquéllos que habían recibido terapia con drogas citotóxicas o terapia con esteroides; es decir, de aquéllos que en consecuencia no estaban capacitados para establecer una respuesta inmune normal.

En muchos casos los anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación muestran un incremento significativo aún cuando los pacientes tengan anticuerpos contra el virus BK en la primera muestra de suero. Jung et al. (71) encontró persistencia de inmunoglobulina M específica del virus BK en cuatro de cinco pacientes trasplantados. Flower et al. (77) también demostró anticuerpos IgM específica para el virus BK en 7 de 17 pacientes con inmunodeficiencia primaria (73). A pesar de que esta información indica una infección activa por los virus BK, la mayoría de los pacientes que muestran un incremento de anticuerpos o que excretan virus en la orina no muestran signos o síntomas de la infección. Sin embargo, se ha encontrado daño celular en la superficie epitelial del uréter en algunos casos (1, 78). No hay por lo tanto todavía una respuesta satisfactoria de si la excreción de los virus BK en pacientes inmunosuprimidos resulta de la infección primaria o de la reactivación de una infección latente o persistente.

El aislamiento del virus de mujeres embarazadas puede reflejar una disfunción de la respuesta fisiológica e inmunológica. Coleman et al., utilizando un procedimiento rápido y práctico de citología, investigaron la excreción del virus BK en coloraciones de extendidos del sedimento urinario; en esta forma fueron capaces de demostrar la presencia de células que contenían inclusiones virales. El hallazgo del virus fue confirmado posteriormente por métodos virológicos convencionales (79). Estos autores encontraron excreción del virus BK en el 30% de 1.000 mujeres embarazadas (80) y las investigaciones serológicas indicaron que la reactivación del virus BK ocurrió en el 10-20% de las mujeres investigadas en ese estudio. Una encuesta serológica posterior en 430 mujeres embarazadas, reveló que 45 tenían un título alto de anticuerpos anti-BK

mediante inhibición de la hemaglutinación (82). La presencia de IgM específica en cerca del 2% de los sueros maternos permite indicar que es debida a la reactivación de virus latentes. La persistencia de la respuesta de IgM en varias mujeres embarazadas parece indicar que una vez se ha reactivado la infección por el virus BK, ésta continúa al menos hasta el parto.

No existe evidencia de la transmisión del virus BK de la madre al feto. Los estudios citológicos y virológicos en niños nacidos de madres positivas para el virus, no han revelado la presencia del mismo. Así como tampoco se ha aislado el virus de tejidos placentarios (80). Una evidencia indirecta de la posible transmisión al feto ha sido informada por Taguchi et al. (65) y por Rziha et al. (83) quienes encontraron IgM específica para BK en 7,5% y 9,1% de los pacientes examinados por muestras de cordón umbilical. Resultados opuestos han sido informados por Coleman et al. (80) y Borgatti et al. (84), los cuales fueron incapaces de detectar IgM específica en la sangre de cordón umbilical. Estudios clínicos en niños nacidos de madres positivas y negativas para el virus y por intermedio de citología, no han revelado diferencias significativas entre los dos grupos en la incidencia de prematuros, anomalía congénita y muerte neonatal presumiblemente debida a los virus BK.

Desde muy temprano en el descubrimiento del virus BK, se demostró que tenía un potencial oncogénico. La posibilidad de que el virus juegue algún papel en la inducción de tumores humanos pudiera ser una consideración razonable. Sin embargo, se conoce que los virus *polyoma* no causan tumores en los huéspedes naturales bajo condiciones normales. Las encuestas encaminadas a establecer una correlación entre la presencia de anticuerpos para los virus BK y varios tipos de tumores no ha tenido éxito (77, 87-89). Se han encontrado normalmente anticuerpos anti-antígeno T en el suero de pacientes con tumores, pero también en el suero de controles sanos, lo cual hace la evaluación de los resultados muy difícil (87, 90).

Investigaciones orientadas a buscar el an-

tígeno T en tejidos tumorales o en células tumorales, creciendo *in vitro*, también se han realizado. Los resultados han sido positivos y negativos. Los casos positivos incluyen tres meningiomas (91), un ependimoma y un papiloma de los plexos coroides (92). En otros estudios similares no ha sido posible hallar evidencia del antígeno T (93, 94). Estos estudios sugieren que si los *papovavirus* humanos causan tumores en el hombre, es un evento muy raro. Estudios de hibridización del ADN sostienen este punto de vista. Se han encontrado secuencias del ADN del virus BK en un pequeño número de tumores humanos de diferentes tipos (95); pero estos estudios han sido contrapuestos por otros en los cuales la presencia del ADN viral no ha sido demostrada (96).

De otro lado debe considerarse que la infección por virus BK es frecuentemente activada en pacientes que reciben terapia inmunosupresora y parecería concebible que en algunos casos la activación, pudiera permitir la inducción de tumor. Existe evidencia de que el virus *polyoma* del ratón, bajo condiciones normales, no causa tumores en su hospedero natural, pero sí en ratones inmunosuprimidos y/o timentomizados (97, 98). Hasta el momento solamente un caso humano de tumor cerebral en un niño con síndrome de Wiscott-Aldrich e inmunodeficiente, ha permitido aislar el virus BK (29).

CONCLUSIONES

En los últimos años se han publicado varias revisiones excelentes acerca de los nuevos virus *polyoma* de los humanos (35, 42, 85, 86). Los estudios serológicos han demostrado que el virus BK es de amplia distribución y no se ha revelado un reservorio distinto del hombre. La exposición inicial al virus generalmente ocurre temprano en la infancia; pero, no aparece como resultado una enfermedad clínica. La infección primaria es seguida por la persistencia del virus en las células del huésped. La infección activa por el virus BK ocurre en individuos inmunológicamente comprometidos (enfermedades congénitas, enfermedades malignas, trasplantes, embarazo y terapia inmunosupresora). El

tracto urinario parece ser el sitio de actividad del virus, sin causar enfermedad clínica. La ruta de excreción del virus es el tracto urinario. La mayoría de los casos de viruria son probablemente resultado de reactivación del virus latente. No existe clara evidencia de transmisión transplacentaria. Existen también muchos problemas de interpretación acerca del papel que pueda jugar el virus BK en la causalidad de algunos tumores humanos. Esta probable relación debe ser explorada posteriormente, especialmente en los pacientes inmunosuprimidos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.— GARDNER SD, FIELD AM, COLEMAN DV, HULME, B. New human papovavirus (BK) isolated from urine after renal transplantation. *Lancet* 1971; 1:1253-1257.
- 2.— DOUGHERTY RM, DISTEFANO HS. Isolation and characterization of a papovavirus from human urine. *Proc Soc Exp Biol Med* 1974; 146:481-487.
- 3.— SEEHAFFER J, SALMI A, SCRABA DG, COLTER JS. A comparative study of BK and polyoma viruses. *Virology* 1975; 66: 192-205.
- 4.— PITKO VM, PYOKARI P, NASE L, MANTYJARVI RA. Effect of B-propioactone on infectivity and haemagglutinin of the BK virus. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1975; 83:141-144.
- 5.— MANTYJARVI RA, ARSTILA PP, MEURMAN OH. Hemagglutination by BK virus, a tentative new member of the papovavirus group. *Inf Immun* 1972; 6: 824-828.
- 6.— TAKEMOTO KK, MULLARKEY MF. Human papovavirus, BK strain: Biological studies including antigenic relationship to simian virus 40. *J Virol* 1973; 12: 625-631.
- 7.— SHAH KV, DANIEL RW, STRANDBERG JD. Sarcoma in a hamster inoculated with BK virus, a human papovavirus. *J Natl Cancer Inst* 1975; 54: 945-950.
- 8.— COLEMAN DV, GARDNER SD, FIELD AM. Human Polyomavirus infection in renal allograft recipients. *Br Med J* 1973; iii: 371-375.
- 9.— LECATSAS G, PROZESKY OW, SCHEEPERS F. The cytopathology and development of a human polyoma virus (BK): *Arch ges Virusforsch* 1974; 45: 319-327.
- 10.— PORTOLANI M, BARBANTI-BRODANO G, LA PLACA M. Malignant transformation of hamster kidney cells by BK virus. *J Virol* 1975; 15: 420-422.
- 11.— PATER A, DATER MM, DOUGHERTY RM, DI MAYORCA G. Transformation of rodent cells by RFV, the human papovavirus with dual genome. *Virology* 1981; 113: 86-94.
- 12.— MARALDI NM, BARBANTI-BRODANO G, PORTOLANI M, LA PLACA M. Ultrastructural aspects of BK virus uptake and replication in human fibroblasts. *J Gen Virol* 1975; 27: 71-80.
- 13.— ALBERT AE, ZURHEIN GM. Application of immune electron-microscopy to the study of the antigenic relationships between three new human papovaviruses. *Int Arch Allergy Appl Immun* 1974; 46:405-416.
- 14.— KENDE M, UJ M, SZUCS GY. BK virus hemagglutinin. *Acta Microbiol Acad Sci Hung* 1979; 26:179-184.
- 15.— DE STASIO A, MASTROMARINO P, PANA A, SEGANTI L, SINIBALDI L, VALENTI P, ORSI N. Characterization of a glycoprotein inhibited present in human serum and active towards BK virus hemagglutination. *Microbiologica* 1980; 3: 293-305.
- 16.— MULLARKEY MF, HRUSKA JF, TAKEMOTO KK. Comparison of two human papovavirus with simian virus 40 by structural protein and antigenic analysis. *J Virol* 1974; 13: 1014-1019.
- 17.— BARBANTI-BRODANO G, MINELLI GP, PORTOLANI M, LAMBERTINI L, TOPINI M. Structural proteins of a human papovavirus (BK virus): a comparison with the structural proteins of simian virus 40. *Virology* 1975; 64: 269-271.

- 18.— WRIGHT PJ, DI MAYORCA G. Virion polypeptide composition of the human papovavirus BK: comparison with simian virus 40 and polyoma virus. *J Virol* 1975; 15:828-835.
- 19.— BARBANTI-BRODANO G, LAMBERTINI L, TAMPIERI M, MINELLI GP, PORTOLANI M, ZERBINI M. Differences between BK virus and simian virus 40, structural protein analyzed by isoelectric focusing. *Arch Virol* 1976; 51:163-167.
- 20.— HOWLEY PM, MULLARKEY MF, TAKEMOTO KK, MARTIN MA. Characterization of human papovavirus BK DNA. *J Virol* 1975; 15: 173-181.
- 21.— KHOURY G, HOWLEY PM, GARON C, MULLARKEY MF, TAKEMOTO KK, MARTIN MA. An analysis of the homology and relationship between the genomes of papovaviruses BKV and SV40. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 2563-2567.
- 22.— HOWLEY PM, KHOURY G, TAKEMOTO KK, MARTIN MA. Polynucleotide sequences common to the genomes of simian virus 40 and the human papovaviruses JC and BK. *Virology* 1976; 73: 303-307.
- 23.— OSBORN JE, ROBERTSON SM, PADGET BL, WALKER DL, WEISBLUM B. Comparison of JC and BK human papovaviruses with simian virus 40: DNA homology studies. *J Virol* 1976; 19: 675-684.
- 24.— NEWELL N, LAI C, KHOURY G, KELLY TJ, Jr. Electron microscope study of the base sequence homology between simian virus 40 and human papovavirus BK. *J Virol* 1978; 25: 193-201.
- 25.— LAW MF, MARTIN JD, TAKEMOTO KK, HOWLEY PM. The colinear alignment of the genomes of papovaviruses JC, BK and SV40. *Virology* 1979; 96: 576-587.
- 26.— PAUW W, CHOUFOER J. Isolation of a variant of BK virus with altered restriction endonuclease pattern. *Arch Virol* 1978; 57: 35-42.
- 27.— HOWLEY PM, KHOURY G, BYRNE JC, TAKEMOTO KK, MARTIN MA. Physical map of the BK virus genome. *J Virol* 1975; 16: 959-973.
- 28.— LECATSAS G, SCHOUB BD, PROZESKY OW. Development of a new human polyoma virus strain (MG). *Arch Virol* 1976; 51: 327-333.
- 29.— TAKEMOTO KK, RABSON AS, MULLARKEY MF, BLAESE RM, GARON CF, NELSON D. Isolation of papovavirus from brain tumor and urine of a patient with Wiscott-Aldrich syndrome. *J Natl Cancer Inst* 1974; 53:1205-1207.
- 30.— WRIGHT PJ, BERNHARDT G, MAJOR EO, DI MAYORCA G. Comparison of the serology, transforming ability, and polypeptide composition of human papovaviruses isolated from urine. *J Virol* 1976; 17: 762-775.
- 31.— BORGATTI MA, BASERGA M, NICOLI A, PORTOLANI M, ROSITO P, PAOLUCCI G. Antigenic variant of the BK virus isolated from immunosuppressed children. *Microbiological* 1981; 4:327-331.
- 32.— O'NEIL FJ, CARROLL D. Amplification of papovavirus defectives during serial low multiplicity injections. *Virology* 1981; 112: 800-803.
- 33.— YANG RCA, WU R. BK virus DNA sequence: extent of homology with simian virus 40 DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 1179-1183.
- 34.— SEIF I, KHOURY G, DHAR R. The genome of human papovavirus BKV. *Cell* 1979; 18:963-977.
- 35.— GARDNER SD. The new human papovaviruses: their nature and significance. En: WATERSON AP (ed.). *Recent advances in clinical virology*. Edinburgh: I. Churchill Livingstone; 1977: Ch6.
- 36.— SHAH KV, DANIEL RW, KELLY TJ. Immunological relatedness of papovaviruses of the simian virus 40 - polyoma subgroup. *Infect Immun* 1977; 18:558-560.
- 37.— BENTON CV, GILDEN RV, SHAH KV. A genus-specific radioimmunoassay for simian virus 40 - polyoma viruses. *Intervirology* 1981; 15:165-170.
- 38.— DOUGHERTY RM. A comparison of human papovavirus T antigens. *J Gen Virol* 1976; 33: 61-70.
- 39.— BETH E, CIKESIM, SCHOLEN L, DI MAYORCA G, GIRALDO G. Interspecies-, species-, and type-specific T antigenic determinants of human papovaviruses (JC and BK) and of simian virus 40. *Int J Cancer* 1977; 20:551-559.
- 40.— SIMMONS DT, MARTIN MA. Common methionine-tryptic peptides near the aminoterminal end of primate papovavirus tumor antigens. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75: 1131-1135.
- 41.— KARJALAINEN HE, LAAKSONEN AM, MANTYJARVI RA. Tumor specific transplantation antigen in hamster tumors cells induced with BK virus. *J Gen Virol* 1978; 41: 171-174.
- 42.— PADGET BL, WALKER DL. New human papovaviruses. *Prog Med Virol* 1976; 22: 1-35.
- 43.— DOUGHERTY RM. Induction of tumors in Syrian hamsters by a human renal papovavirus, RF strain. *J Natl Cancer Inst* 1976; 57: 395-400.
- 44.— NASE LM, KARKKAINEN M, MANTYJARVI RA. Transplantable hamster tumors induced with the BK virus. *Acta Path Microbiol Scand* 1975; 83: 347-352.
- 45.— VAN DER NOORDAA J. Infectivity, oncogenicity and transforming ability of BK virus and BK virus DNA. *J Gen Virol* 1976; 30: 371-373.
- 46.— CORALLINI A, BARBANTI-BRODANO G, BORTOLONI W, NENCI I, CASSAI E, TAMPIERI M, PORTOLANI M, BORGATTI M. High incidence of apendymomas induced by BK virus, a human papovavirus. *J Natl Cancer Inst* 1977; 59: 1561-1563.
- 47.— GREENLEE JE, NARAYAN O, JOHNSON RT, HERNDON RM. Induction of brain tumors in hamsters with BK virus, a human papovavirus. *Lab Invest* 1977; 36: 636-641.
- 48.— WATANABE S, YOSHIKE K, NOZAWA A, YUASA Y, UCHIDA S. Viable deletion mutant of human papovavirus BK that induces insulinomas in hamsters. *J Virol* 1979; 32: 934-942.
- 49.— UCHIDA S, WATANABE S, AIZAWA T, FURUNO A, MUTO T. Polyoncogenicity and insulinoma-inducing ability of BK virus, a human papovavirus, in Syrian golden hamsters. *J Natl Cancer Inst* 1979; 63: 119-126.
- 50.— SEEHAFFER J, DOWNER DN, GIBNEY DJ, COLTER JS. Evidence for the expression of TSTA in BKV-transformed cells: cross-reaction with SV40 TSTA. *Virology* 1979; 95: 241-243.
- 51.— BRADLEY MK, DOUGHERTY RM. Transformation of African green monkey kidney cells with the RF strain of human papovavirus BKV. *Virology* 1978; 85: 231-240.
- 52.— COSTA J, HOWLEY PM, LEGALLAIS F, YEE C, YOUNG N, RABSON AS. Oncogenicity of a nude mouse cell line transformed by a human papovavirus. *J Natl Cancer Inst* 1977; 58: 1147-1149.
- 53.— MAJOR EO, DI MAYORCA G. Malignant transformation of BHK-21 clone 13 cells by BK virus - a human papovavirus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1973; 70:3210-3212.
- 54.— MASON DH Jr, TAKEMOTO KK. Transformation of rabbit kidney cells by BKV (MM) human papovavirus. *Int J Cancer* 1977; 19: 391-395.
- 55.— PORTOLANI M, BORGATTI M, CORALLINI A, CASSAI E, GROSSI MP, BARBANTI-BRODANO G, POSSATI L. Stable transformation of mouse, rabbit and monkey cells and abortive transformation of human cells by BK virus, a human papovavirus. *J Gen Virol* 1978; 38:369-374.
- 56.— SEEHAFFER J, SALMI A, COLTER JS. Isolation and characterization of BK virus-transformed hamster cells. *Virology* 1977; 77: 356-366.
- 57.— TAKEMOTO KK, MARTIN MA. Transformation of hamster kidney cells by BK papovavirus DNA. *J Virol* 1976; 17: 247-253.
- 58.— TANAKA R, KOPROWSKI H, IWASAKI Y. Malignant transformation of hamster brain cells in vitro by human papovavirus BK. *J Natl Cancer Inst* 1976; 56: 671-673.
- 59.— MIAO R, DOUGHERTY RM. Characterization of human papovavirus RFV: use of iodinated viral DNA to detect viral DNA sequences in cellular DNA. *Virology* 1977; 77: 856-859.
- 60.— HOWLEY PM, MARTIN MA. Uniform representation of the human papovavirus BK genome in transformed hamster cells. *J Virol* 1977; 23: 205-208.
- 61.— GARDNER SD. Prevalence in England of antibody to human polyomavirus (BK). *Br Med J* 1973; 1: 77-78.
- 62.— MANTYJARVI RA, MEURMAN OH, VIHMA L, BERGLUND B. A human papovavirus (BK), biological properties and seroepidemiology. *Ann Clin Res* 1973; 5: 283-287.
- 63.— SHAH KV, DANIEL RW, WARSZAWSKI RM. High prevalence of antibodies to BK virus, an SV40-related papovavirus, in residents of Maryland. *J Infect Dis* 1973; 128: 784-787.
- 64.— PORTOLANI M, MARZOCCHI A, BARBANTI-BRODANO G, LA PLACA M. Prevalence in Italy of antibodies to a new human papovavirus (BK virus). *J Med Microbiol* 1974; 7: 543-546.
- 65.— TAGUCHI F, NAGAKI D, SAITO M, HARUYAMA C, IWASAKI K, SUZUKI T. Transplacental transmission of BK virus in human. *Jap J Microbiol* 1975; 19: 395-398.

- 66.— BROWN P, TSAI T, GAJDUSEK DC. Seroepidemiology of human papovaviruses: discovery of virgin populations and some unusual patterns of antibody prevalence among remote peoples of the world. *Am J Epidemiol* 1975; 102: 331-340.
- 67.— PANA A, D'ARCA SU, CASTELLO C, MALDARIZZI B. Prevalence in the Rome healthy population of antibodies to a human Polyomavirus (BK strain). *Boll Ist Sieroter Milan* 1976; 55: 18-22.
- 68.— SZUCS GY, KENDE M, UJ M. Haemagglutination - inhibiting antibodies to BK virus in Hungary. *Acta Microbiol Acad Sci Hung* 1979; 26: 173-178.
- 69.— VAN DER NOORDAA J, VAN DILLEN WERTHEIM P. Rise in antibodies to human papovavirus BK and clinical disease. *Br Med J* 1977; i: 1471.
- 70.— LECATSAS G, PROZESKY OW, VAN WYK J, ELS HJ. Papovavirus in urine after renal transplantation. *Nature (Lond.)* 1973;241:343-344.
- 71.— JUNG M, KRECH U, PRICE PC, PYNDIAH MN. Evidence of chronic persistent infections with polyomaviruses (BK type) in renal transplant recipients. *Arch Virol* 1975; 47: 39-46.
- 72.— REESE JM, REISSIG M, DANIEL RW, SHAH KV. Occurrence of BK virus and BK virus-specific antibodies in the urine of patients receiving chemotherapy for malignancy. *Infect Immun* 1975; II: 1375-1381.
- 73.— RZIHA JJ, BELOHRADSKY BH. BK virus infections in children with various primary immunodeficiencies and in related healthy household contact persons. *Infection* 1981; 9: 137-141.
- 74.— TAGUCHI F, HARA K, NAGAKI D. BK papovavirus in urine of patient with systemic lupus erythematosus. *Acta Virol* 1978; 22: 513.
- 75.— HENRY K, BIRD R, WATSON G, HUGH JONES K. Aplastic anaemia bone marrow transplantation and polyoma and other virus infections. *Lancet* 1977; i: 695-696.
- 76.— POSSATI L, BARTOLOTTA E. Attempts to isolate BK virus from children affected by various diseases. *Acta Virol* 1981; 25: 254-255.
- 77.— FLOWER AJE, BANATVALA JE, CHRYSTIE IL. BK antibody and virus specific IGM responses in renal transplant recipients, patients with malignant disease, and healthy people. *Br Med J* 1977; ii: 220-223.
- 78.— COLEMAN DV, MACKENZIE EFD, GARDNER SD, POULDING JM, AMERC B, RUSSELL WJI. Human Polyomavirus (BK) infection and ureteric stenosis in renal allograft recipients. *J Clin Pathol* 1978; 31: 338-347.
- 79.— COLEMAN DV, RUSSELL WJI, HODGESON J, TUN PE, MOWBRAY JF. Human papovavirus in Papanicolaou smears of urinary sediment detected by transmission electron microscopy. *J Clin Pathol* 1977; 30: 1015-1020.
- 80.— COLEMAN DV, WOLFENDALE MR, DANIEL RA, DHANJAL NK, GARDNER SD, GIBSON PE, FIELD AM. A prospective study of human Polyomavirus infection in pregnancy. *J Infect Dis* 1980; 142:1-8.
- 81.— BURGUIERE AM, FORTIER B, BRICOUT F, HURAUX JM. Control of BK virus antibodies in contacts with patients under chronic hemodialysis and after renal transplantation (ELISA). *Pathol Biol (Paris)* 1980; 28:541-544.
- 82.— GIBSON PE, FIELD AM, GARDNER SD, COLEMAN DV. Occurrence of IGM antibodies against BK and JC polyomaviruses during pregnancy. *J Clin Pathol* 1981; 34: 674-679.
- 83.— RZIHA HJ, BORNKAMM GW, ZUR HAUSEN H. BK virus: I. Seroepidemiologic studies and serologic response to viral infection. *Med Microbiol Immunol* 1978; 165: 73-81.
- 84.— BORGATTI M, COSTANZO F, PORTOLANI M, VULLO C, OSTI L, MASI M, BARBANTI-BRODANO G. Evidence for reactivation of persistent infection during pregnancy and lack of congenital transmission of BK virus, a human papovavirus. *Microbiologica* 1979; 2: 173-178.
- 85.— MANTYJARVI RA. New oncogenic human papovaviruses. *Med Biol* 1979; 57: 29-35.
- 86.— COLEMAN DV. Recent developments in the papovaviruses: The human polyomaviruses (BK virus and JC virus). En: WATERSON AP, ed. *Recent advances in clinical virology - 2*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1980: Ch. 7.
- 87.— CORALLINI A, BARBANTI-BRODANO G, PORTOLANI M, BALBONI PG, GROSSI MP, POSSATI C, HORORATI C, LA PLACA M, MASSONI A, CAPUTO A, VERONESI U, OREFICE S, CARDINALI G. Antibodies to BK virus structural and tumour antigens in human sera from normal persons and patients with various diseases including neoplasia. *Infect Immunity* 1976; 13: 1684-1691.
- 88.— RZIHA HJ, BELOHRADSKY BH, SCHNEIDER U, SCHWENK HU, BORNKAMM GW, ZUR HAUSEN H. BK virus: II. Serologic studies in children with congenital disease and patients with malignant tumors and immunodeficiencies. *Med Microbiol Immunol* 1978; 165: 83-92.
- 89.— SHAH KV, DANIEL RW, STONE KR, ELLIOTT AY. Investigation of human urogenital tract tumors for papovavirus etiology. *J Natl Cancer Inst* 1978; 60:579-582.
- 90.— SHAH KV, DANIEL RW, MURPHY G. Antibodies reacting to simian virus 40 T antigen in human sera. *J Natl Cancer Inst* 1973; 51: 687-690.
- 91.— WEISS AF, PORTMANN R, FISCHER H, SIMON J, ZANG KD. Simian virus 40 - related antigens in three human meningiomas with defined chromosome loss. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 609-613.
- 92.— TABUCHI K, KIRSCH WM, LOW M, GASKIN D, VAN BUSKIRK J, MAA S. Screening of human brain tumors for SV40 - related T antigen. *Int J Cancer* 1978; 21: 12-17.
- 93.— GREENLEE JE, BECKER LE, NARAYAN O, JOHNSON RT. Failure to demonstrate papovavirus tumor antigen in human cerebral neoplasms. *Ann Neurol* 1978; 3: 479-481.
- 94.— COSTA J, YEE C, RABSON AS. Absence of papovavirus T antibody in patients with malignancies. *Lancet* 1977; ii: 709.
- 95.— FIORI M, DI MAYORCA G. Occurrence of BK virus DNA in DNA obtained from certain human tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976; 73: 4662-4666.
- 96.— WOLD WSM, MACKAY JK, BRACKMANN KH, TAKEMORI N, RIGDEN P, GREEN M. Analysis of human tumors and human malignant cell lines for BK virus-specific DNA sequences. *Proctl Acad Sci USA* 1978; 75: 454-458.
- 97.— GAUGAS JM, ALLISON AC, CHESTERMAN FC, REES RJW, HIRSCH MS. Immunological control of polyoma virus oncogenesis in mice. *Br J Cancer* 1973; 27:10-17.
- 98.— LAW LW. Neoplasms in thymectomized mice following room infection with Polyomavirus. *Nature (Lond.)* 1965; 205: 672-673.