

مقایسه ترشح آدنووایروس در ادرار بیماران دریافت کننده مغز استخوان قبل و بعد از پیوند

کامران علی مقدم (M.D.)**

پرویز اولیاء (Ph.D.)*

حوریه صادری (Ph.D.)*

سقراط فقیه زاده (Ph.D.)***

بابک بهار، (M.D.)**

چکیده

سابقه و هدف: در سال‌های اخیر، مطالعه در زمینه اهمیت آدنووایروس‌ها در ایجاد عفونت و بیماری در افراد دریافت کننده پیوند مغز استخوان شروع شده است. به نظر می رسد این افراد به دلیل مصرف دارو برای جلوگیری از رد پیوند، استعداد بیش تری برای عفونت آدنووایروسی داشته باشند. این مطالعه به منظور مقایسه شیوع ترشح آدنووایروس در ادرار قبل و بعد از پیوند صورت گرفت. همچنین ارتباط متغیرهای فردی بیماران (سن، جنس، علت و نوع پیوند) با میزان عفونت آدنووایروسی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: از ۲۰ آبان ۱۳۸۱ تا ۲۲ خرداد ۱۳۸۲ در مرکز تحقیقات خون‌شناسی، تومورشناسی (Oncology) و پیوند مغز استخوان دانشگاه علوم پزشکی تهران ۹۱ بیمار پیوند مغز استخوان دریافت نمودند که از این تعداد از ۷۲ بیمار دو نمونه ادرار قبل از پیوند و ۴ هفته بعد از پیوند به دست آمد. در دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، بعد از استخراج DNA از نمونه‌های ادرار با روش فتل-کلروفرم و تغلیظ آن با استات سدیم و اتانول، آزمایش PCR با استفاده از بتونه‌های (Primers) تکثیر دهنده قطعه ۱۳۴ جفت بازی در منطقه ژن هگزون همه آدنووایروس‌های انسانی انجام شد.

یافته‌ها: در ۳۹ بیمار (۵۴/۲ درصد) قبل از پیوند و در ۳۷ بیمار (۵۱/۴ درصد) در طی هفته چهارم بعد از پیوند، DNA آدنووایروس در ادرار بیماران نشان داده شد. هر دو نمونه ادرار قبل و بعد از پیوند در ۲۱ بیمار منفی و در ۲۵ بیمار مثبت بود، در حالی که در ۱۴ بیمار فقط نمونه قبل از پیوند و در ۱۲ بیمار فقط نمونه بعد از پیوند مثبت بود. آزمون آماری مک نمار (Mc Nemar) تفاوت معنی‌داری را بین نمونه‌های ادرار قبل و بعد از نظر ترشح آدنووایروس در ادرار نشان نداد. همچنین آزمون تی تفاوت معنی‌داری را بین متوسط سن افرادی که دارای آدنووایروس در ادرار بودند با افراد فاقد آن نشان نداد. آدنووایروس در ادرار افراد مذکور، دارای بدخیمی و پیوند از نوع آلورژن بیش تر دیده شد، ولی این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P < 0/05$).

استنتاج: این بررسی، افزایش عفونت آدنووایروسی را در بیماران دریافت کننده پیوند مغز استخوان نشان نداد. همچنین ارتباطی بین متغیرهای فردی و شیوع آدنووایروس در ادرار دیده نشد. مطالعه بیش تر در زمینه شیوع آدنووایروس در این بیماران برای جلوگیری از عواقب مرگ بار این عفونت‌ها با روش‌های پیشگیری و همچنین درمان با داروهای ضد ویروسی و یا قطع داروهای کاهش دهنده سیستم ایمنی توصیه می شود.

واژه های کلیدی: آدنووایروس، پیوند مغز استخوان، PCR.

* متخصص میکروب‌شناسی عضو هیأت علمی (استادیار) دانشگاه شاهد، تهران: بلوار کشاورز، خیابان شهید عبدالله زاده، پلاک ۲۹، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، گروه میکروبیولوژی.

** فوق تخصص جراحی عضو هیأت علمی (دانشیار) دانشگاه علوم پزشکی تهران،

*** دکترای آمار حیاتی عضو هیأت علمی (دانشیار) دانشگاه تربیت مدرس

E تاریخ دریافت: ۸۳/۶/۲۸

تاریخ انجام اصلاحات: ۸۳/۱۰/۱۳

تاریخ تصویب: ۸۳/۱۲/۵

مقدمه

آدنووایروس‌ها ویروس‌هایی با ژنوم DNA دورشته‌ای، کپسید بیست وجهی و فاقد پوشش هستند که تاکنون حدود 49 سروتیپ از آنها شناخته شده است. عفونت‌های آدنووایروس در افراد سالم از نظر ایمنی به صورت‌های مختلفی دیده می‌شود، ولی معمولاً موضعی و خود محدود شونده است، در حالی که در افراد مبتلا به نقص ایمنی از جمله افراد دریافت‌کننده پیوند مغز استخوان علاوه بر این نوع عفونت‌ها، عفونت‌های منتشر و یا عفونت در اعضای نظیر کبد که محل معمولی برای عفونت‌های آدنووایروس نیست نیز ممکن است ایجاد شود که گاهی شدید و حتی مرگ‌آور می‌باشد (1). علاوه بر عفونت‌های دارای علائم بالینی، عفونت بدون علائم نیز در این بیماران دیده می‌شود که هر دو در نتیجه کسب عفونت جدید و یا فعال شدن ویروس مخفی شده به علت کاهش ایمنی می‌باشد (2). ترشح آدنووایروس در ادرار بیماران مبتلا به ایدز، بیش‌تر از افراد سالم دیده شده است (3) ولی تاکنون مطالعه‌ای در زمینه مقایسه ترشح آدنووایروس در ادرار افراد دریافت‌کننده مغز استخوان، قبل و بعد از پیوند صورت نگرفته است. چنین مطالعه‌ای می‌تواند اثر نقص ایمنی این بیماران را که تا حدودی مربوط به مصرف داروهای به‌کار رفته جهت جلوگیری از رد پیوند است را در میزان عفونت آدنووایروس نشان دهد. پژوهش حاضر به منظور بررسی این مسأله صورت گرفت. به‌علاوه متغیرهای فردی بیماران از جمله سن، جنس، علت و نوع پیوند نیز مورد بررسی قرار گرفت تا ارتباط آن‌ها با میزان عفونت آدنووایروس تعیین گردد. چنین مطالعاتی می‌تواند در اتخاذ روش‌های مناسب پیشگیری

از عفونت آدنووایروس بعد از پیوند و همچنین درمان بیماران کمک نماید.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری: از 20 آبان 1381 تا 22 خرداد 1382 در مجموع 91 بیمار در مرکز تحقیقات خون‌شناسی، تومورشناسی و پیوند مغز استخوان دانشگاه علوم پزشکی تهران، پیوند مغز استخوان دریافت نمودند. از 72 بیمار امکان تهیه دو نمونه ادرار یکی قبل از پیوند و دیگری در هفته چهارم بعد از پیوند به‌وجود آمد که به همراه پرسشنامه حاوی اطلاعات فردی از جمله سن، جنس، علت و نوع پیوند بلافاصله به آزمایشگاه ویروس‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد منتقل و در آن‌جا مورد بررسی قرار گرفت.

آزمایش PCR و شناسایی DNA تکثیر شده: ابتدا نمونه‌های ادرار با دور 1000 سانتی‌فوز گردید و از مایع روئی DNA با روش فنل - کلروفرم استخراج و سپس با استات سدیم و اتانول تغلیظ گردید (4). 2 میکرولیتر از محلول DNA استخراج شده به 48 میکرولیتر از مخلوط تریس - HCl [pH 8.3] 10 میلی مولار، 50 Kcl میلی مولار، 1/5 Mgcl2 میلی مولار، 2/5 واحد Taq DNA Polymerase و 200 میکرومولار از هر یک از چهار dNTP (همه مواد از شرکت Promega) و 0/2 میکرومولار از هر یک از جفت پرایمرها (از شرکت Genset/Oligos) که توالی آن‌ها در جدول شماره 1 نشان داده شده و سبب تکثیر قطعه 134 جفت بازی در منطقه ژن هگزون همه آدنووایروس‌های انسانی می‌شود اضافه و با برنامه زیر در دستگاه ترموسایکلر (Touchgene Gradient، شرکت PCR (Techne

نتیجه آزمایش PCR برای ۷۲ بیمار که هر دو نمونه ادرار قبل و هفته چهارم بعد از پیوند از آن‌ها گرفته شده، بود در جدول ۳ بیان شده است. در ۳۹ بیمار (۵۴/۲ درصد) قبل از پیوند و در ۳۷ بیمار (۵۱/۴ درصد) در طی هفته چهارم بعد از پیوند DNA آدنوویروس در ادرار بیماران نشان داده شد. هر دو نمونه ادرار قبل و بعد از پیوند در ۲۱ بیمار منفی و در ۲۵ بیمار مثبت بود در حالی که در ۱۴ بیمار فقط نمونه قبل از پیوند و در ۱۲ بیمار فقط نمونه بعد از پیوند، مثبت بود. برای بررسی این فرضیه که پیوند مغز استخوان منجر به افزایش شیوع آدنوویروس در ادرار بیماران می‌گردد، آزمون مک نمار (McNemar's test) انجام گرفت که با توجه به مقدار $P=0.84$ تفاوتی بین نمونه‌های قبل و بعد از پیوند نشان داده نشد. بنابراین می‌توان این‌طور نتیجه گرفت که در این بررسی، پیوند مغز استخوان اثری در شیوع آدنوویروس در ادرار بیماران نشان نداده است.

جدول شماره ۳: نتیجه آزمایش PCR بر روی نمونه‌های ادرار قبل و چهار هفته بعد از پیوند در ۷۲ بیمار دریافت کننده مغز استخوان

نمونه بعد پیوند	نمونه قبل پیوند		
	مثبت	منفی	مجموع
مثبت	۲۵	۱۲	۳۷
منفی	۱۴	۲۱	۳۵
مجموع	۳۹	۳۳	۷۲

جدول شماره ۲: مشخصات فردی ۷۲ بیمار دارای هر دو نمونه ادرار قبل و بعد از پیوند مغز استخوان

مشخصات	تعداد (درصد)
جنس	مذکر ۴۲ (۵۸/۳) مؤنث ۳۰ (۴۱/۷)
نوع پیوند	آلورژن ۵۳ (۷۳/۶) اتولوژن ۱۹ (۲۶/۴)
علت پیوند	بدخیمی ۵۵ (۷۶/۴) غیربدخیمی ۱۷ (۲۳/۶)

صورت گرفت: ۳۰ چرخه، مرحله اول 94°C به مدت ۴۵ ثانیه (در چرخه اول ۱۰ دقیقه)، مرحله دوم 52°C به مدت ۲۰ ثانیه و مرحله سوم 72°C به مدت ۴۵ ثانیه (در چرخه آخر ۱۰ دقیقه). برای شناسایی DNA تکثیر شده الکتروفورز روی ژل ۲ درصد آگارز دارای اتیدیموم برمایند با استفاده از بافرتریس استات صورت گرفت و برای مشاهده باند DNA و عکس برداری از آن‌ها از دستگاه ژل داکو متیشن (از شرکت UVitec) استفاده شد. در طی هر بار آزمایش شاهد مثبت (نمونه دارای آدنوویروس) و شاهد منفی (نمونه فاقد آدنوویروس) نیز به کار برده می‌شدند (۵).

جدول شماره ۱: توالی پرایمرهای به کار رفته برای شناسایی آدنوویروس

نام پرایمر	توالی نوکلئوتیدی
A2H/pcr 4R	ATG ACT TTT GAG GTG GAT CCC ATG
A2H/pcr 1	GA -3' 5'-
	5'-GCC GAG AAG GGC GTG CGC
	AGG TA -3'

یافته‌ها

مشخصات فردی ۷۲ بیمار که دارای هر دو نمونه ادرار قبل و چهار هفته بعد از پیوند بودند در جدول ۲ بیان شده است. سن این بیماران بین ۳ تا ۵۹ سال (میانگین ۲۴ سال) و در اکثریت آنها (۶۸/۱ درصد) بالاتر از ۱۸ سال بود. ۴۲ نفر از این بیماران (۵۸/۳ درصد) مذکر بودند. بدخیمی در ۵۵ نفر (۷۶/۴ درصد) و بیماری‌های غیربدخیم در ۱۷ نفر (۲۳/۶ درصد) عامل پیوند مغز استخوان بود که در ۵۳ مورد (۷۳/۶ درصد) Allogen (مشتق از فریدگر) ۱۹ مورد (۲۶/۴ درصد) از نوع Autologous (مشتق از خود فرد) بود.

کشورهای مختلف تا قبل از این بررسی، مطالعه‌ای در ایران صورت نگرفته بود. مطالعات در بیماران دارای نقص ایمنی ناشی از ویروس HIV نشان دهنده افزایش شیوع آدنوویروس در ادرار این افراد نسبت به افراد سالم

است (۳). در بیماران دریافت کننده مغز استخوان نیز به منظور جلوگیری از رد پیوند، شیمی درمانی و اشعه دهی صورت می‌گیرد. این امر با کاهش ایمنی می‌تواند سبب افزایش عفونت در این افراد گردد ولی تاکنون مطالعه‌ای برای مقایسه شیوع آدنوویروس در ادرار قبل از پیوند و بعد از پیوند انجام نشده است. در این مطالعه بیماران که در بزرگ‌ترین مرکز پیوند مغز استخوان در ایران (مرکز تحقیقات خون‌شناسی، تومورشناسی و پیوند مغز استخوان دانشگاه علوم پزشکی تهران) مورد پیوند قرار می‌گرفتند، از نظر شیوع آدنوویروس در ادرار قبل و بعد از پیوند مورد بررسی قرار گرفتند. در مدت ۷ ماه (۲۰ آبان ۱۳۸۱ تا ۲۲ خرداد ۱۳۸۲) از ۷۲ بیمار نمونه‌های ادرار تهیه و با آزمایش PCR وجود آدنوویروس در آنها مورد بررسی قرار گرفت. این بررسی نشان داد شیوع ترشح آدنوویروس در هر دو نمونه این بیماران نسبتاً بالا است (به ترتیب ۴۸/۲ درصد و ۵۱/۴ درصد). مطالعات دیگر انجام شده در سایر کشورها وجود آدنوویروس را در ادرار بعد از پیوند تعداد زیادی از افراد گیرنده مغز استخوان مورد بررسی قرار داده‌اند (۶ تا ۱۳)؛ برای مثال شیوع آدنوویروس در یک مطالعه ۲۰/۹ درصد (۲) و در مطالعه دیگر ۱۲ درصد (۱۳) بوده است، ولی نمونه‌های قبل از پیوند کم‌تر مورد توجه بوده‌اند. در بررسی Echavarria و همکارانش (۱۹۹۹) وجود آدنوویروس در ادرار به دست آمده در ۴ روز قبل از پیوند یک بیمار نشان داده شده بود (۵). Howard و همکارانش (۱۹۹۹) نیز نشان دادند نمونه‌های ادرار برخی از بیماران حتی ۹ ماه قبل از پیوند نیز دارای آدنوویروس

در این مطالعه افرادی که در ادرار آدنوویروس را ترشح می‌کردند (قبل و یا بعد از پیوند و یا در هر دو) که ما در این جا برای سهولت آنها را افراد آدنوویروس مثبت، می‌نامیم (۵۱ نفر) با افرادی که در هیچ‌یک از نمونه‌های ادرار آنها آدنوویروس وجود نداشت (۲۱ نفر) از نظر مشخصات فردی شامل جنس، سن، نوع پیوند و بیماری زمینه‌ای منجر شونده به پیوند مغز استخوان با یکدیگر مقایسه شدند (جدول شماره ۴). متوسط سن افراد آدنوویروس مثبت ۲۴ و در افراد آدنوویروس منفی ۲۱/۷ بود که با استفاده از آزمون t این اختلاف معنی‌دار نبود ($P=0.349$). عفونت آدنوویروسی در ادرار افراد مذکور، دارای بدخیمی و پیوند از نوع آلورژن بیش‌تر بود، ولی اختلاف معنی‌دار از نظر آماری بین دو گروه آدنوویروس مثبت و منفی از نظر این متغیرها دیده نشد (مقادیر P به ترتیب ۰/۸۹۵، ۰/۵۲۵ و ۰/۷۸۷).

جدول شماره ۴: فراوانی هر یک مشخصات فردی در گروه آدنوویروس مثبت و آدنوویروس منفی

مشخصات	آدنوویروس مثبت (۵۱ نفر)	آدنوویروس منفی (۲۱ نفر)	مقدار P
متوسط سن	۲۴	۲۱/۷	۰/۳۴۹
جنس			
مذکر	۳۰	۱۲	۰/۸۹۵
مؤنث	۲۱	۹	
نوع پیوند			
آلورژن	۳۸	۱۵	۰/۷۸۷
اتولوگ	۱۳	۶	
نوع بیماری زمینه‌ای			
بدخیمی	۴۰	۱۵	۰/۵۲۵
غیربدخیمی	۱۱	۶	

بحث

با وجود مطالعات زیاد در زمینه عفونت آدنوویروسی در افراد دریافت کننده مغز استخوان در

بودند (۱۳). در بررسی Hale و همکارانش نیز آدنووایروس در برخی از نمونه‌های ادرار قبل از پیوند نشان داده شده بود (۱۴) ولی هیچیک از این بررسی‌ها همانند این مطالعه تعداد زیادی از بیماران را از نظر وجود آدنووایروس در ادرار قبل از پیوند مورد مطالعه قرار نداده بود. در این بررسی هر چند شیوع آدنووایروس در ادرار قبل و بعد از پیوند متفاوت بود، این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود. حتی برخی از افراد که قبل از پیوند آدنووایروس را در ادرار ترشح می‌کردند، بعد از پیوند منفی شده بودند که نشان می‌دهد پیوند مغز استخوان و کاهش ایمنی به وجود آمده در آن منجر به افزایش عفونت‌های آدنووایروس در این بیماران نمی‌شود. متأسفانه مطالعه مشابهی در این زمینه صورت نگرفته تا بتوان نتایج حاصل از این بررسی را با آن مقایسه نمود. در واقع مطالعات جدید مؤید آن است که ویروس‌ها ممکن است در هر دو مرحله قبل و بعد از پیوند در ادرار ترشح شوند، ولی مقدار ترشح ویروس در ادرار متفاوت و در ادرار بعد از پیوند بسیار بالاتر است که به علت کاهش سیستم ایمنی می‌باشد. این مسأله در مورد ویروس BK که یکی دیگر از عوامل ایجاد کننده عفونت ادراری در این بیماران است با روش PCR کمی نشان داده شده است (۱۵). آزمایش این فرضیه نیازمند به کارگیری روش PCR کمی بر روی نمونه‌های ادرار قبل و بعد از پیوند افرادی است که در هر دو مرحله دارای آدنووایروس بوده‌اند که پیشنهاد می‌شود مورد بررسی قرار گیرد.

برخی از مطالعات نشان داده‌اند که عفونت آدنووایروس در کودکان گیرنده مغز استخوان بیش‌تر از بزرگسالان رخ می‌دهد، هر چند تفاوتی از نظر میزان بیماری در دو گروه نشان داده نشده است (۲، ۱۳، ۱۴، ۱۶). به علاوه این مطالعات و یک مطالعه دیگر (۱۷) نشان داده‌اند که احتمال ایجاد عفونت، بیماری و حتی مرگ

با آدنووایروس‌ها در بیماران دارای پیوند آلوزن نسبت به سایر انواع پیوند بیش‌تر است همچنین حداقل در یک مطالعه (۱۴) نشان داده شده است که عفونت آدنووایروسی بیش‌تر در افرادی دیده می‌شود که به علت بدخیمی، پیوند مغز استخوان دریافت نموده‌اند. در بررسی Seber و همکارانش (۱۹۹۹) بر روی ۱۹۰۸ بیمار که در سال‌های ۱۹۷۴ تا ۱۹۹۳ میلادی در دانشگاه مینه‌سوتای آمریکا پیوند مغز استخوان دریافت نموده بودند، اکثریت با افراد مذکر (۵۹ درصد)، بیماران دارای بدخیمی (۸۴/۳ درصد) و پیوند از نوع آلوزن (۶۵/۴ درصد) بوده است (۸). در بررسی Flomenberg و همکارانش (۱۹۹۴) بر روی ۲۰۱ فرد دریافت کننده پیوند مغز استخوان در سال‌های ۱۹۸۷ تا ۱۹۹۰ میلادی در دو مرکز پیوند کودکان و بزرگسالان نیز نشان داده شد که اغلب بیماران مذکر می‌باشند (به ترتیب ۶۲/۷ درصد و ۵۹/۳ درصد) و بدخیمی (بترتیب ۸۰/۹ درصد و ۹۵/۸ درصد) و پیوند از نوع آلوزن (به ترتیب ۸۲ درصد و ۸۸/۱ درصد) شایع‌تر می‌باشد (۲). در این بررسی فراوانی افراد مذکر، دارای بدخیمی و پیوند از نوع آلوزن در گروه آدنووایروس مثبت بالاتر بود (بترتیب ۵۸/۳، ۷۶/۴ و ۷۳/۶ درصد) ولی آزمون‌های آماری تفاوت معنی‌داری را بین گروه آدنووایروس مثبت و منفی از نظر این متغیرها نشان نداد. به علاوه اختلاف معنی‌داری بین متوسط سن دو گروه نیز دیده نشد. پیشنهاد می‌شود برای بررسی اثر این متغیرها، تعداد بیش‌تری از افراد مورد مطالعه قرار گیرند.

شیوع ترشح آدنووایروس در ادرار بیماران مورد مطالعه نسبت به بررسی‌های مشابه نسبتاً بالاتر بوده است که می‌توان این مسأله را به کاربرد روش حساس‌تر برای شناسایی آدنووایروس یعنی PCR در مقایسه با روش جداسازی در کشت که در سایر بررسی‌ها به کار رفته بود، نسبت داد. دلیل دیگر می‌تواند بالا بودن میزان

سپاسگزاری

انجام این پژوهش مرهون همکاری صمیمانه مسئولین، پزشکان و کارکنان مرکز تحقیقات خون‌شناسی، تومورشناسی و پیوند مغز استخوان دانشگاه علوم پزشکی تهران و معاونت پژوهشی دانشگاه شاهد تامین بودجه طرح است که بدین وسیله از همه آنها قدردانی می‌شود.

عفونت آدنوویروسی در افراد مورد مطالعه باشد، زیرا معلوم شده است که شیوع آدنوویروس در جوامع مختلف با یکدیگر متفاوت است و متأسفانه اطلاعات زیادی در مورد همه‌گیری شناسی این عفونت‌ها در ایران وجود ندارد که امید است نتایج مطالعه حاضر بتواند زمینه‌ساز مطالعات بیشتر در این زمینه و کمک به درمان این بیماران باشد.

فهرست منابع

1. Horwitz MS. Adenoviruses. In: Knipe DM, Howley PM. Editors. *Fields Virology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott-Williams and Wilkins Pub.; 2001. P 2301-26,
2. Flomenberg P, Babbitt J, Drobycki WR, Ash RC, Carrigan DR, Sedmak GV, et al. Increasing incidence of adenovirus disease in bone marrow transplant recipients. *J. Infect. Dis.* 1994; 169: 775-81.
3. De Jong PJ, Valderrama G, Spigland I, Horwitz MS. Adenovirus isolates from urine of patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Lancet* 1983; 1(8337) i: 1293-6.
4. McDonough M, Kew O, Hierholzer J. PCR detection of human adenoviruses. In: Persing DH. editor. *Diagnostic molecular microbiology: Principles and applications*. Rochester: Mayo Foundation; 1993. P 389-93.
5. Echavarría MS, Ray SC, Ambinder R, Dumler JS, Charache P. PCR detection of adenovirus in a bone marrow transplant recipient: Hemorrhagic cystitis as a presenting manifestation of disseminated disease. *J. Clin. Microb.* 1999; 37(3): 686-9.
6. Shields AF, Hackman RC, Fife KH, Corey L, Meyers JD. Adenovirus infections in patients undergoing bone marrow transplantation. *N. Engl. J. Med.* 1985; 312(9): 529-33.
7. Ambinder RF, Burns W, Forman M, Charache P, Arthur R, Beschoner W, et al. Hemorrhagic cystitis associated with adenovirus infection in bone marrow transplantation. *Arch. Intern. Med.* 1986; 146: 1400-1.
8. Seber A, Shu X, Defor T, Sencer S, Ramsay N. Risk factors for severe hemorrhagic cystitis following bone marrow transplantation. *Bone marrow Transplant.* 1999; 23: 35-40.
9. Kondo M, Kojima S, Kato K, Matsuyama T. Late-onset hemorrhagic cystitis after hematopoietic stem cell

- transplantation in children. *Bone marrow Transplant.* 1998; 22:995-8.
10. Akiyama H, Kurosu T, Sakashita C, Inoue T, Mori S, Ohashi K, et al. Adenovirus is a key pathogen in hemorrhagic cystitis associated with bone marrow transplantation. *Clin. Infect. Dis.* 2001; 32:1325-30.
 11. Russell SJ, Vowels MR, Vale T. Haemorrhagic cystitis in paediatric bone marrow transplant patients: An association with infective agent, GVHD and prior cyclophosphamide. *Bone marrow Transplant.* 1994; 13(5): 533-9.
 12. Childs R, Sanchez C, Engler H, Preuss J, Rosenfeld S, Dunbar C, et al. High incidence of adeno- and polyomavirus-induced hemorrhagic cystitis in bone marrow allotransplantation for hematological malignancy following T cell depletion and cyclosporine. *Bone marrow Transplant.* 1998; 22(9): 889-93.
 13. Howard DS, Phillips II GL, Reece DE, Munn RK, Henslee-Downey J, Pittard M, et al. Adenovirus infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin. Infect. Dis.* 1999; 29: 1494-501.
 14. Hale GA, Heslop HE, Krance RA, Brenner MA, Jayawardene D, Srivastava DK, Patrick CC. Adenovirus infection after pediatric bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1999; 23(3): 277-82.
 15. Leung AY, Suen CK, Lie AK, Liang RH, Yuen KY, Kwong YL. Quantification of polyoma BK viruria in hemorrhagic cystitis complicating bone marrow transplantation. *Blood* 2001; 98(6): 1971-8.
 16. Baldwin A, Kingman H, Darville M, Foot AB, Grier D, Cornish JM, et al. Outcome and clinical course of 100 patients with adenovirus infection following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2000; 26(12): 1333-8.
 17. La Rosa AM, Champlin RE, Mirza N, Gajewski J, Giralt S, Rolston KV, et al. Adenovirus infections in adult recipients of blood and marrow transplants. *Clin. Infect. Dis.* 2001; 32: 871-76.