

인플루엔자 바이러스 진단을 위한 신속 항원검사법의 유용성 평가

이위교¹, 이해경², 김한진², 정준기², 이은희³, 문해란³

아주대학교 의과대학 진단검사의학교실¹, 이진소아과², 녹십자검사센터³

Evaluation of a Rapid Antigen Test for Detection of Influenza Virus

Wee Gyo Lee¹, Hae Kyung Lee², Han Jin Kim², June Key Chung², Eun Hee Lee³, Hae Ran Moon³

Department of Laboratory Medicine¹, Ajou University School of Medicine, Suwon; Ejinpediatric clinics², Chunan; and Green Cross Reference Laboratory³, Seoul, Korea

Background : Influenza virus is a cause of annual outbreaks of acute respiratory disease and is responsible for considerable mortality and morbidity in all age groups. To achieve maximum efficacy antiinfluenza drugs must be started within 48 h of the development of influenza symptoms. Improvements in rapid diagnosis methods are needed to identify influenza infections. The aim of this study was to compare a quick rapid antigen test with viral culture assays.

Methods : A total of 87 nasopharyngeal swab specimens were collected from symptomatic paediatric patients during March, 2004. The performance of the Quick S-Influ A/B rapid test for influenza virus detection was compared to that of the viral culture.

Results : The overall rate of detection for viral culture was 23.4% for influenza A virus and 13.4% for influenza B virus. The Quick S-Influ A/B assay identified 17 of 18 influenza A viruses (sensitivity, 94.4%; specificity, 96.8%; PPV, 89.5%; NPV, 98.4%), and identified 7 of 9 influenza B viruses (sensitivity, 77.8%; specificity, 98.4%; PPV, 87.5%; NPV, 96.8%).

Conclusions : The Quick S-Influ A/B assay was easy to perform and showed comparable sensitivities and specificities. This rapid test kit can be an alternative tool for interventions in disease management. (*Korean J Clin Microbiol 2004;7(2):119-123*)

Key words : Rapid antigen test, Influenza A virus, Influenza B virus

서 론

인플루엔자 바이러스에 의한 감염은 매년 겨울철에 유행을 일으키는 흔한 호흡기 질환의 하나이나 아직도 전 세계적으로 치명율과 사망률이 높은 질환이다[1, 2]. 인플루엔자는 전 연령에서 발생하며 특히 65세 이상의 고령 환자나 만성질환자들의 고위험군에서 치명율과 사망률이 높고, 건강인에서도 임상 증상으로 인하여 정상 생활에 차질을 주거나 드물게 입원 치료가 필요한 경우도

있어 사회 경제적 손실을 가져오는 질병이다[3, 4]. 인플루엔자는 사망률 자체가 높진 않지만 발생 규모가 커서 국가적 관리가 필요한 질환으로 국내에서도 전염병 표본 감시 질환의 하나로 지정하여 매년 발생 현황을 감시하고 있다. 인체에 감염을 일으키는 인플루엔자 바이러스는 A형과 B형으로 A형은 두개의 표면 항원인 hemagglutinin (HA)과 neuraminidase (NA)의 종류에 따라 아형으로 분류되고, B형은 아형이 없다[5]. 1977년 이후로 인플루엔자 A 바이러스 H1N1형과 H3N2형 및 인플루엔자 B 바이러스가 전세계적인 순환을 보여왔고, 2001년 인플루엔자 A 바이러스 H3N2형과 H1N1형의 유전적 재조합에 의한 H1N2형이 유행되기 시작하였다. 인플루엔자 바이러스는 표면에 있는 HA나 NA 항원의 변화로 인한 항원 대변이(antigenic shift)나 바이러스 증식기에 유전자의 점 돌연변이에 의한 항원 소변이(antigenic drift)를 통해 매년

접 수 일: 04/7/19 게재승인일: 04/8/23

교신저자: 이위교

(442-749) 수원시 팔달구 원천동 산5

아주대학교병원 진단검사의학과

TEL: (031)219-5785 FAX: (031)219-5778

E-mail: weegyoo@ajou.ac.kr

지속적인 유행을 초래한다. 인플루엔자 B형이 A형에 비하여 항원 소변이가 적게 일어난다[5, 6].

인플루엔자 예방 및 관리는 지난 수십년간 불활성화된 백신을 접종하는 것이 주류를 이루어왔으나, 바이러스의 빈번한 항원 변이로 인한 유행이 계속적으로 발생하고, 예방접종율도 낮아 항바이러스제제의 사용 필요성이 늘고 있다. 인플루엔자 치료제로는 M2 억제제인 amantadine과 rimantadine이 각각 1966년과 1993년 개발되었으나, 부작용과 내성 등의 문제로 널리 사용되지는 못하였다[7]. 또한 두 가지 약제 모두 인플루엔자 B형에 대하여는 효과가 없었다. 1999년 NA 억제제인 zanamivir와 oseltamivir가 개발되어 인플루엔자 치료에 사용되기 시작하였다. 이 두 약제는 인플루엔자 A 및 B형 모두에 효과가 있고, 약제 부작용은 거의 없는 것으로 알려져 있다[8]. 미국 the Food and Drug Administration (FDA)에 의해 zanamivir는 7세 이상, oseltamivir는 1세 이상에서 치료 약제로 승인되었고, 2000년부터 oseltamivir는 13세 이상에서 예방 약제로도 승인되었다. 국내에서도 2000년부터 zanamivir가, 2001년부터 oseltamivir가 시판되기 시작하였다. NA 억제제는 인플루엔자 예방 효과도 있어서 인플루엔자 백신의 보조 역할로도 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

치료 약제의 효과를 극대화하기 위하여는 인플루엔자 증상 발현 48시간 이내에 치료를 시작하여야 한다[9]. 인플루엔자 바이러스에 대한 정확하고 신속한 진단이 즉각적인 치료와 불필요한 항균제 사용의 방지를 위하여 반드시 필요하다. 현재까지 국내에서 시행되는 인플루엔자 진단은 면역형광염색법을 이용한 항원검사, 배양 및 중합효소연쇄반응법 등이 있으나 널리 손쉽게 사용되지는 못하고 있는 실정이다[10, 11]. 이에 즉각적인 치료를 위하여 인플루엔자 바이러스를 조기에 신속하게 진단하면서, 외래에서 손쉽게 할 수 있는 방법이 필요하다. 인플루엔자의 조기 진단은 초기 항바이러스 요법의 결정과 격리 방침을 통하여 대규모 유행을 방지할 수 있고, 최근 문제로 대두되고 있는 탄저나 천연두 등과 같은 생물학적 무기에 의한 감염이나 SARS 등 신종 호흡기성 전염성 질환과의 감별을 가능하게 할 것으로 기대된다. 이에 저자들은 조기에 신속하게 인플루엔자 진단을 할 수 있는 현장검사용 신속 항원검사법인 Quick S-Influ A/B의 유용성에 관하여 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 대상

2004년 3월 한 달 동안 일개 소아과 의원을 방문한 환자 중 인플루엔자가 의심되는 임상 증상을 보이는 환자 87명을 대상으로 비인두 면봉 채취를 2회 시행하여 첫 번째 검체는 신속 항원 검사를 현장에서 시행하였고, 다른

검체는 바이러스 운반 배지에 넣어 배양을 위하여 운반하였다.

2. 방법

동일 환자에서 채취한 검체를 대상으로 신속 항원 검사인 Quick S-Influ A/B 검사(Denka-Seiken, Tokyo, Japan)와 바이러스 배양을 시행하여 결과를 비교하였다. 바이러스 배양법을 표준법으로 하여 Quick S-Influ A/B 검사법의 민감도, 특이도, 양성 예측도 및 음성예측도를 계산하였다.

1) Quick S-Influ A/B를 이용한 인플루엔자 항원 측정법

Quick S-Influ A/B 검사는 인플루엔자 바이러스 A 및 B형 각각의 핵단백(nucleoproteins, NP)에 대한 단클론 항체를 이용한 gold colloid 응집 면역법으로 인플루엔자 바이러스 A 및 B형을 감별 진단할 수 있다. 시행 방법은 채취한 비인두 면봉 검체를 용출액이 담긴 시험관에 넣고 잘 흔들어서 섞은 후, 면봉을 꺼내고 필터가 달린 뚜껑을 용출액이 담긴 시험관에 씌운다. 용출액을 필터를 통하여 검사 키트에 약 400 μ L (17방울) 떨어뜨리고 2분 정도 방치 한 후 결과를 판독하였다.

2) 바이러스 배양 및 간접 면역형광법에 의한 바이러스 동정

검체를 veal infusion broth가 들어있는 시험관에 넣어서 검사실로 운반한다. 검체를 진탕기로 혼합하고, 3,000 \times g로 30분간 원심분리한 후 상층액 0.2mL를 단층 배양 중인 Madin-Darby canine kidney (MDCK) 세포에 접종하였다. 접종된 세포는 37 $^{\circ}$ C, 5%의 이산화탄소 환경에서 10일간 배양하였고, 세포를 매일 관찰하여 세포병변효과(cytopathic effect)를 확인하였다. 세포병변효과가 보이면 즉시 간접 면역형광염색 검사로 인플루엔자 바이러스 동정 시험을 시행하였고, 보이지 않으면 배양 10일에 간접 면역형광염색 검사를 시행하였다. 배양된 세포를 긁어내어 600 \times g로 3-5분간 원심분리 후 침전된 세포를 Teflon이 코팅된 슬라이드에 도말하여 아세톤으로 고정하고, 인플루엔자 A 바이러스 단클론성 항체와 인플루엔자 B 바이러스 단클론성 항체로 37 $^{\circ}$ C에서 40분간 반응시켰다. 인산 완충식염수로 2회 세척 후 FITC conjugate (FITC labelled goat anti-mouse IgG)로 37 $^{\circ}$ C에서 40분간 반응시켰다. 인산완충식염수로 2회 세척 후 형광 현미경으로 관찰하였다.

결 과

총 87검체를 대상으로 간편 항원 검사법과 배양법을 시행하였다. 바이러스 배양법을 표준법으로 하였고 87예 중 인플루엔자 바이러스 A형이 18예(23.4%)에서 양성인

Table 1. Comparison of rapid antigen test with viral culture in the detection of influenza A and B virus

Rapid test and virus(es) detected	No. of specimens ^a				Sensitivity (%)	Specificity (%)	Predictive value ^b	
	Rapid test + culture +	Rapid test + culture -	Rapid test - culture +	Rapid test - culture -			Pos	Neg
Influenza A	17	2	1	60	94.4	96.8	89.5	98.4
Influenza B	7	1	2	60	77.8	98.4	87.5	96.8

^a Specimens were found to be positive (+) or negative (-) by the rapid test and culture.

^b Pos, positive; Neg, negative

있고, B형이 9예(13.4%)에서 양성을 보였다. Quick S-Influ A/B 검사 결과 인플루엔자 바이러스 A형에 대하여 19예에서 양성을 보였고, 배양법과 불일치한 경우는 위음성이 1예, 위양성이 2예가 있었다. 인플루엔자 바이러스 A형에 대한 Quick S-Influ A/B 검사법의 민감도는 94.4%, 특이도는 96.8%, 양성예측도는 89.5%, 음성예측도는 98.4%였다. 인플루엔자 바이러스 B형에 대하여는 8예에서 양성을 보였고, 배양법과 불일치한 경우는 위음성이 2예, 위양성이 1예가 있었다. 인플루엔자 바이러스 B형에 대한 Quick S-Influ A/B 검사법의 민감도는 77.8%, 특이도는 98.4%, 양성예측도는 87.5%, 음성예측도는 96.8%로 민감도가 A형에 비하여 B형이 낮았다 (Table 1).

고 찰

인플루엔자 바이러스는 Orthomyxoviridae에 속하는 single stranded RNA 바이러스로서 두가지의 당단백 표면 항원인 hemagglutinin과 neuraminidase를 가지고 있으며, 항원성에 따라 인플루엔자 A, B, C형으로 분류된다. A형과 B형이 주로 유행을 일으키는데, A형은 HA(H1-H15)와 NA(N1-N9)의 특성에 따라 아형으로 분류되며, B형은 아형이 없다[5]. 국내의 인플루엔자 발생 현황은 2000-2001년 절기에는 인플루엔자 A 바이러스 H3N2형이 주로 분리되었고, 2001-2002년 절기에는 인플루엔자 A 바이러스 H1N1형이 주로 분리되었으며, B형은 절기 후반에 분리가 증가되었다. 2002-2003년 절기에는 인플루엔자 A 바이러스 H3N2형이 분리되었고, B형은 분리되지 않았다 [12-14]. 국내에서는 1997년부터 인플루엔자에 대한 표본 감시를 도입하여 운영하고 있으며, 2000년 전염병예방법 개정을 통해 인플루엔자를 3군 법정전염병으로 지정한 이후 표본 감시를 전국적인 규모로 확대 시행하여, 표본 감시기관의 참여율도 점차로 증가하고 시스템의 안정화가 이루어지고 있으나 아직까지 신속 진단법이 상용화되어 있지 않고 확진 지연 등의 문제로 인하여 인플루엔자 유행을 신속하게 감지하기 어려워 격리 등의 추후 조치가 사실상 불가능한 실정이다. 인플루엔자 감시 체계와 신속 진단은 임상에서 치료 지침을 위하여 반드시 필요하므로 진료 현장에서 인플루엔자를 조기에 정확하게 진단할 수 있는 진단법이 필요한 시점이다.

인플루엔자 바이러스의 진단은 바이러스 배양, 항체 측정법, 중합효소연쇄반응법 및 신속 항원 측정법 등이 있으나 어떠한 방법이든지 민감도와 특이도가 검사 수기 및 검체 종류에 따라 매우 다양하게 나타난다[15]. 검체는 일반적으로 인후 검체 보다는 비인두 검체에서 바이러스 분리율이 높다[16]. 1990년대 초반까지는 주로 바이러스 배양과 혈청학적 항체검사법에 의존하였으나, 바이러스 배양은 수기가 까다롭고 비용과 인력이 많이 소모되어 일반 검사실에서 시행하기 어렵고, 대개의 배양이 2-3주 정도 소모되므로 48시간 내에 진단하여 치료를 하기 위한 목적에 부합하지 않아 임상적 효용성은 떨어진다. 혈청학적 항체 검사는 급성 바이러스 감염 후에 혈청 항체가 증가하므로 질병의 초기와 회복기에 항체를 측정함으로써 진단에 이용할 수 있다. 그러나 이 경우도 어린 영아의 일부 및 면역 기능이 억제된 환자나 산모로부터 받은 항체가 있는 상태에서 급성 감염이 되는 경우 등에서는 항체의 증가가 일어나지 않는다. 또한 항체의 증가가 있기까지 일정 시간이 필요하므로 이 역시 신속한 진단을 위한 방법으로 용이하지 않다. 그 외에 최근에 소개되는 방법으로 분자생물학적 진단법이 있다. 바이러스의 유전자를 임상 검체에서 조기에 검출하는 방법으로 핵산교잡법이나 중합효소 연쇄반응법 등이 이용된다. 하지만 분자생물학적 방법은 검사실간 표준화된 술식이 부족하여 정도관리에 문제가 있고, 임상에서 시행하기에는 고가의 장비와 기술이 필요한 단점이 있다. 이에 1990년 이후로 인플루엔자의 신속 진단을 위하여 항원 측정법이 개발되기 시작하였다[15, 17, 18]. 효소면역 측정법을 이용한 항원측정법은 30분 이내에 결과를 알 수 있고 임상에서 손쉽게 시행할 수 있는 장점이 있으나 국내에서 아직까지 현장검사용으로 도입된 바는 없다 [19, 20]. 저자들이 사용한 Quick S-Influ A/B를 이용한 검사법은 10분 이내에 결과를 알 수 있어 임상에서 현장검사용 검사로 시행하기에 편리하였다. 민감도와 특이도는 인플루엔자 A형에 대하여는 94.4%와 96.8%로 기존의 보고에 비하여 민감도가 높았다[19-21]. 인플루엔자 B형은 민감도와 특이도가 77.8%와 98.4%로 민감도가 A형에 비하여 낮았는데 이는 다른 보고에서도 B형 바이러스에 대하여 위음성 결과가 많아 민감도가 낮은 것과 일치하였다[20, 21]. 신속 항원 검사의 민감도가 이전의 보고들에

비하여 높았던 이유는 기존의 보고들에서는 검체 채취 후 검사할 때까지 검체를 저장 한 후에 시행하였지만 본 연구에서는 검체 채취 후 바로 현장에서 검사를 시행하였기 때문인 것으로 추정되며 검사를 현장에서 바로 시행하는 것이 검사의 민감도를 높이기 위해 권장된다. 또한 향후 검사를 지속적으로 시행하면 검체 채취의 숙련도가 높아져서 민감도를 더 높일 수 있을 것으로 사료된다.

1999년 이후로 사용되는 항인플루엔자 약제는 neuraminidase 억제제인 zanamivir 와 oseltamivir 2가지이다. 이 약제는 인플루엔자 A 및 B형 모두에 효과가 있고, 약제 부작용은 거의 없는 것으로 알려져 있다[8]. 약제의 효과를 극대화하기 위하여는 인플루엔자 증상 발현 48시간 이내에 치료를 시작하여야 한다[9]. 이에 인플루엔자 바이러스에 대한 조기 신속 진단이 즉각적인 치료와 불필요한 항균제 사용의 방지를 위하여 반드시 필요하다. 항바이러스 치료이후에도 치료 효과 추적을 위한 검사로서의 가치도 증명된 바 있어 인플루엔자 치료 평가에도 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

인플루엔자 감염은 대개 지역사회 획득성이나 드물게 원내 감염 특히 신생아 중환자실에서 집단 발생이 보고 된 바 있다[22]. 인플루엔자 집단 발생의 경우 잠복기가 1-3일로 짧고 공기 매개로 전파되므로 격리 및 감염 관리가 무엇보다 우선되어야 하며, 특히 면역이 억제된 환자에서 주로 발생하므로 발생 48시간 이내에 치료 시작이 필요하다. 이 경우 신속 항원 진단법이 유용할 것으로 기대된다. 초기에 소개된 항원 신속 검사는 낮은 민감도와 음성 예측도로 인하여 그 유용성에 문제가 있었으나 최근의 항원 검사는 민감도가 개선되었고, 검사법이 간편하며 인플루엔자 A형과 B형을 감별할 수 있어 증상 발현 48시간 이내에 인플루엔자 감염에 대한 신속한 치료를 시작함으로써 치료의 효율을 높일 수 있어 현장검사로 유용할 것으로 사료된다. 또한 최근 문제가 되는 SARS의 경우도 인플루엔자 유행과 동일 시기에 발생할 가능성을 배제할 수 없어 호흡기 질환 감시 체계 및 전염병 관리 체계를 강화하고 각 질환에 해당하는 적절한 격리와 감염 관리 조치를 시행하기 위하여 SARS와의 조기 감별이 필수적이다. 인플루엔자 신속 진단법은 전염성 호흡기 질환의 유행 시기에 인플루엔자 감별을 위한 검사로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

배 경 : 인플루엔자 바이러스에 의한 감염은 매년 겨울철에 유행을 일으키는 흔한 호흡기 질환의 하나이나 아직도 전 연령에서 치명율과 사망률이 높은 질환이다. 치료 약제의 효과를 극대화하기 위하여는 인플루엔자 증상 발현 48시간 이내에 치료를 시작하여야 한다. 이에 인플루엔자 바이러스에 대한 정확하고 신속한 진단이 반드시 필요하다. 이에 저자들은 초기에 인플루엔자 진단을

할 수 있는 신속 항원검사법의 유용성을 바이러스 배양과 비교하여 평가하고자 하였다.

방 법 : 2004년 3월 한 달 동안 소아과 의원을 방문한 환자 중 인플루엔자가 의심되는 임상 증상을 보이는 환자 87명을 대상으로 비인두 면봉 채취를 시행하였다. 동일 환자에서 채취한 검체를 대상으로 신속 항원 검사인 Quick S-Influ A/B 검사와 바이러스 배양을 시행하여 결과를 비교하였다.

결 과 : 바이러스 배양 결과 87예 중 인플루엔자 바이러스 A형이 18예(23.4%)에서 양성되었고, B형이 9예(13.4%)에서 양성을 보였다. Quick S-Influ A/B 검사 결과 인플루엔자 바이러스 A형에 대하여 19예에서 양성을 보였고, 민감도는 94.4%, 특이도는 96.8%, 양성예측도는 89.5%, 음성예측도는 98.4%였다. 인플루엔자 바이러스 B형에 대하여는 8예에서 양성을 보였고, 민감도는 77.8%, 특이도는 98.4%, 양성예측도는 87.5%, 음성예측도는 96.8%였다.

결 론 : Quick S-Influ A/B 검사법은 시행이 간편하고 민감도 및 특이도가 높아, 증상 발현 48시간 이내에 인플루엔자 감염에 대한 신속한 치료를 시작함으로써 치료의 효율을 높일 수 있어 현장검사로 유용할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Thompson WW, Shay DK, Weintraub E, Brammer L, Cox N, Anderson LJ, et al. Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States. *JAMA* 2003;289:179-86.
2. 이규택, 강정옥, 오재원, 함시영, 최태열. 소아 환자를 대상으로 바이러스성 호흡기 질환의 원인 인자에 대한 역학적 조사 (1996-2001). *대한임상미생물학회지* 2002;5:77-83.
3. Glezen WP. Serious morbidity and mortality associated with influenza epidemics. *Epidemiol Rev* 1982;4:25-44.
4. Glezen WP, Greenberg SB, Atmar RL, Piedra PA, Couch RB. Impact of respiratory virus infections on persons with chronic underlying conditions. *JAMA* 2000;283:499-505.
5. Betts R. Influenza virus. In: Mandell GL, Bennett J, Dolin R, editors. Principles and practice of infectious diseases. 4th ed. New York: Churchill Livingstone Inc, 1995: 1546-67.
6. Wright P. Influenza virus. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, editors. Nelson textbook of pediatrics. 16ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 2000:987-90.
7. Couch RB. Prevention and treatment of influenza. *N Engl J Med* 2000;343:1778-87.
8. Monto A, Gravenstein S, Elliot M, Colopy M, Schweinle J. Clinical signs and symptoms predicting influenza in-

- fection. Arch Intern Med 2000;160:3243-7.
9. Ison M and Hayden F. Therapeutic options for the management of influenza. Curr Opin Pharmacol 2001;1:482-90.
 10. 이규만. 급성 기도 감염 환자 비인두흡인물에서의 respiratory syncytial 바이러스, 아데노바이러스, 인플루엔자 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스의 검색. 대한임상병리학회지 1992;12:473-8.
 11. 전래희, 강정옥, 민도식, 박일규, 오재원, 최태열. 바이러스성 호흡기 질환의 역학적 조사 및 신속한 진단법의 비교. 대한임상병리학회지 1999;4:433-9.
 12. 국립보건원. 2000-2001 절기 인플루엔자 표본 감시 결과. 감염병발생정보 2001;12:86-90.
 13. 국립보건원. 2001-2002 절기 인플루엔자 바이러스 분리: 전국. 감염병발생정보 2002;13:5
 14. 국립보건원. 2002-2003 절기 인플루엔자 표본 감시 결과 보고서. 인플루엔자 소식지 2003;08.
 15. Cox NJ and Subbarao K. Influenza. Lancet 1999;354:1277-82.
 16. Schmid ML, Kudesia G, Wake S, Read RC. Prospective comparative study of culture specimens and methods in diagnosing influenza in adults. BMJ 1998;316:275.
 17. Storch GA. Rapid diagnostic test for influenza. Curr Opin Pediatr 2003;15:77-84.
 18. Uyeki TM. Influenza diagnosis and treatment in children: a review of studies on clinically useful tests and antiviral treatment for influenza. Pediatr Infect Dis J 2003;22:164-77.
 19. Bellei N, Benfica D, Perosa AH, Carlucci R, Barros M, Granato C. Evaluation of a rapid test (QuickVue) compared with the shell vial assay for detection of influenza virus clearance after antiviral treatment. J Virol Methods 2003;109:85-8.
 20. Dunn JJ, Gordon C, Kelley C, Carroll KC. Comparison of the Denka-Seiken INFLU AB-Quick and BD Directigen Flu A+B kits with direct fluorescent-antibody staining and shell vial culture methods for rapid detection of influenza viruses. J Clin Microbiol 2003;41:2180-3.
 21. Rodriguez WJ, Schwartz RH, Thorne MM. Evaluation of diagnostic test for influenza in a pediatric practice. Pediatr Infect Dis J 2002;21:193-6.
 22. Sagrera X, Ginovart G, Raspall F, Rabella N, Sala P, Sierra M, et al. Outbreaks of influenza A virus infection in neonatal intensive care units. Pediatr Infect Dis J 2002; 21:196-200.