

Utilidad de la prueba rápida de influenza durante la epidemia de influenza A(H1N1) en una unidad de medicina familiar. México, 2009.

Cabrera Gaytán David Alejandro, MC,*
Flores Alcántara Luis Felipe, MC,**
Vargas Valerio Alfredo, MC.***

*Unidad de Medicina Familiar No. 92. Delegación Regional, Estado de México Oriente

**Hospital General Regional No. 196. Delegación Regional, Estado de México Oriente

***Coordinación de Prevención y Atención a la Salud. Delegación Regional, Estado de México Oriente

RESUMEN

Objetivo: Determinar la sensibilidad y especificidad de la prueba rápida de influenza (QuickVue A+B®) durante la epidemia de influenza A(H1N1) de casos sospechosos adscritos a una Unidad de Medicina Familiar.

Material y métodos: Los casos de enfermedad tipo influenza adscritos a una Unidad de Medicina Familiar, fueron registrados en el SINOLAVE. Se incluyeron casos con resultado de prueba rápida y exudado faríngeo/nasal para PCR. Se determinó la sensibilidad y especificidad de la prueba rápida estratificada por el número de días en que se recolectó la muestra mediante la escala de Wilson con IC 95%.

Resultados: Noventa y cuatro casos de enfermedad tipo de influenza se analizaron entre mayo y diciembre de 2009 con reporte de resultado de laboratorio, de los cuales, 54% fue femenino, sin diferencia estadística en la edad ($t=12.604$; 22.63 , IC 95% $19.07-26.21$). La sensibilidad y especificidad general fue 0.851 y 0.50, respectivamente. Al estratificar de 0 a 2 días de inicio del cuadro clínico fueron 0.903 y 0.50; de 3 a 4 días: 0.667 y 0.50; de 5 a 6 días: 0.667 y 0.0, de 7 a más días no fue posible calcularse por la escasa cantidad de registros.

Conclusiones: La sensibilidad de la prueba rápida de influenza en este estudio fue adecuada, sobre todo en las primeras 48 horas de haber iniciado el cuadro clínico.

Palabras clave: influenza, prueba rápida, sensibilidad, especificidad, enfermedad tipo influenza.

ABSTRACT

Objective: To determine the sensitivity and specificity of rapid test (QuickVue A + B ®) of influenza during the epidemic of influenza A(H1N1) of suspected cases assigned to Family Care Unit.

Material and Methods: The influenza-like illness cases (ILI) enrolled in a Family Medicine Unit, were enrolled in the SINOLAVE. We included cases with rapid test result and throat swab/nasal for PCR. We determined the sensitivity and specificity of rapid test stratified by the number of days on which the sample was collected by Wilson scale with CI95%.

Results: Ninety-four cases of ILI were analyzed between May and December 2009 with a report of laboratory results, 54% were female, with no statistical difference in age ($t = 12.604$, 22.63 , 95% CI $19.07-26.21$). The overall sensitivity and specificity were 0.851 and 0.50, respectively. Stratifying from 0 to 2 days of onset of clinical symptoms were: 0.903 and 0.50, for 3 to 4 days: 0.667 and 0.50, 5 to 6 days: 0.667 and 0.0, or more of 7 days could not be calculated for the low number of records.

Conclusions: The sensitivity of rapid test for influenza in this study was adequate, especially in the first 48 hours of onset.

Key words: influenza, rapid test, sensitivity, specificity, influenza-like illness.

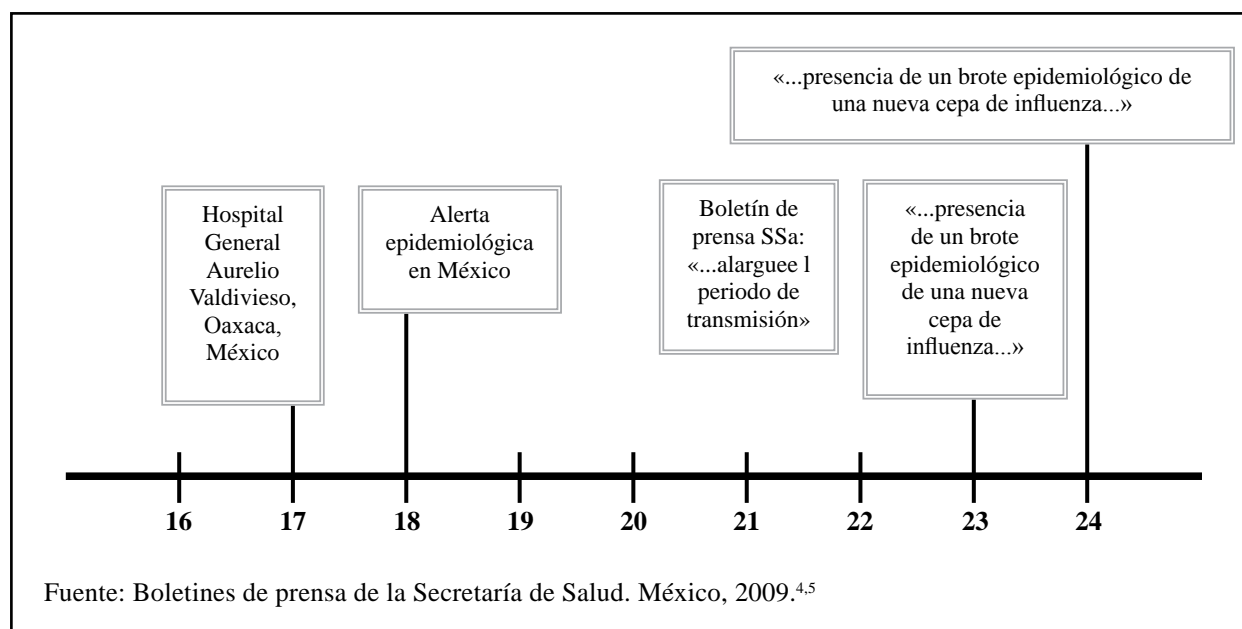
Introducción

A lo largo de la historia, las pandemias originadas por el virus de la influenza han sorprendido a los sistemas de salud, dada la premura para prepararse y afrontar el aumento súbito de casos y defunciones que se producen en esas circunstancias. De lo anterior, la Organización Mundial de la Salud (OMS) instó a sus países miembros a realizar planes de preparación de respuesta ante la inminencia de una pandemia de influenza,¹ y México realizó y publicó el suyo.² Es así que el 18 de abril de 2009, los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (CDC) revelaron la presencia del virus de influenza porcina.³ Al inicio de la epidemia, la hipótesis de las autoridades de salud de México fue que era un periodo de transmisión atípica de influenza estacional que había propiciado que se alargara el periodo de transmisión, donde el pico de casos reportados se ha trasladado de los meses invernales al mes de abril, con presencia de casos que tienen manifestaciones graves, que han ocasionado muertes y hospitalizaciones.^{4,5} (Figura 1). Posteriormente, el Gobierno Federal declaró a la influenza humana A(H1N1) una enfermedad grave de atención prioritaria,⁶ y publicó el acuerdo mediante el cual instruyó a todas las instituciones del Sistema Nacional de Salud a otorgar

la atención médica cuando reciban casos probables de influenza.⁷ Las primeras publicaciones en México sobre la nueva epidemia fueron descritas por Pérez Padilla y colaboradores en pacientes que presentaron síndrome de dificultad respiratoria aguda y fueron atendidos en un hospital federal de la ciudad de México.⁸

Ante la presencia de casos de enfermedad tipo influenza (ETI), diversos organismos internacionales⁹⁻¹¹ y nacionales¹²⁻¹⁸ iniciaron la publicación y difusión de información para la epidemia de influenza. El Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) difundió el Lineamiento para la detección rápida del virus de la influenza en unidades médicas para implementar de forma inmediata la Detección rápida del virus de la influenza en unidades médicas.¹⁶ Posterior a esto, el comportamiento de la enfermedad en el IMSS fue publicado durante el año 2009, con una presencia de 11% de casos confirmados a influenza A(H1N1) a nivel nacional, con determinación de la sensibilidad y especificidad de la prueba rápida (QuickVue A+B®), la cual fue de 75% (73.56-76.58%) y 72.2% (74.32-76.18) respectivamente.¹⁹ La sensibilidad y especificidad de la prueba rápida QuickVue A+B®, reportada por el proveedor fue de 94% y 90% para la influenza A.²⁰

Figura 1. Cronología de la influenza pandémica en México en sus primeros días.



El lugar geográfico donde se ubica la unidad de primer nivel, fue considerado como zona de alto riesgo de infección de virus de influenza, de acuerdo a los reportes emitidos por el Sistema de Notificación en Línea para la Vigilancia Epidemiológica de Influenza (SINOLAVE), según al comportamiento de los casos y defunciones reportados por las unidades médicas de los distintos niveles de atención. Diversos estudios han publicado sobre la sensibilidad y especificidad de la prueba rápida para la detección del virus de la influenza;^{3,8,20-25} el resultado de las mismas depende de varios factores (uno de ellos es el tiempo de recolección de la muestra a partir del inicio del cuadro clínico).¹¹ Dado esto, el objetivo del estudio es determinar la sensibilidad y especificidad de la prueba rápida (QuickVue A+B[®]) de influenza durante la epidemia de influenza A(H1N1) de casos con ETI adscritos a una Unidad de Medicina Familiar (UMF).

Material y métodos

Los casos de ETI fueron registrados en el SINOLAVE de mayo a diciembre de 2009. Se incluyeron los casos adscritos a la UMF, independientemente de la unidad notificante, con registro de la realización de la prueba rápida (QuickVue A+B[®]) y del exudado faríngeo/nasal con hisopo de punta de dacrón (BBI[™] Culture Swab[®]), conservados en medio de transporte viral (UTM-RT, COPAN Diagnostics[®]) Se eliminaron aquellos en los que no se consignó el resultado de alguna de las dos pruebas. Las muestras fueron conservadas en refrigeración de 2 a 4 °C, para su posterior envío al laboratorio, para confirmación diagnóstica mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Para el registro del resultado, se requirió el número de folio asignado automáticamente por el sistema y de su registro correspondiente realizado por el personal operativo de cada unidad médica, y los resultados de laboratorio fueron ingresados por personal de laboratorio. El informe del resultado de la prueba rápida fue dado por el personal médico del turno correspondiente al paciente. El resultado de la PCR fue dado por el médico epidemiólogo. Todos los pacientes recibieron atención médica ambulatoria u hospitalaria, de acuerdo a la situación clínica sin importar su afiliación a la seguridad social. Todo lo anterior fue realizado de acuerdo a los lineamientos del IMSS. (IMSS, 2009) Se determinó la sensibilidad y especificidad de la prueba

rápida de forma global y estratificada por el número de días en que se demoró en recolectar la muestra a partir de la fecha de inicio del cuadro clínico, dividido en 0 a 2 días, de 2 a 4 días, 5 a 6 días y mayor a 7 días; se empleó la escala de Wilson con un intervalo de confianza de 95% y se realizó diferencia de medias con prueba t de Student para el estudio de otras variables. Dado que el estudio fue realizado durante una pandemia de influenza, el uso de la prueba rápida para influenza fue habitual en el sistema de vigilancia epidemiológica de influenza, así como la confirmación por medio de PCR. Ambos estudios fueron voluntarios por parte del paciente.

Resultados

Se analizaron 94 casos entre mayo y diciembre de 2009, los cuales contaron con prueba rápida y exudado faríngeo/nasal; de estos, 54.2% fue femenino y 45.7% masculino, sin diferencia estadística en la edad ($t=12.604$; 22.63 , IC 95% 19.07-26.21). La edad promedio general de los casos de ETI fue de 22.6 años; para las mujeres fue de 22.71 años y para los varones de 22.56 años, $t = 12.604$, (22.63 , IC 95% 19.07-26.21). En 23 casos (25%) no se registró el resultado del exudado faríngeo/nasal. De acuerdo a la ocupación reportada, 46% era estudiante, 13% era empleado y el resto presentó una heterogeneidad de ocupaciones. De forma global, 63.8% demandó atención médica en ≤ 3 días, 11.7% requirió hospitalización, con un promedio de tres días de estancia intrahospitalaria. De acuerdo al registro por unidad de notificación, 52% fue capturado por la Unidad en cuestión, 38% por el hospital de su área de influenza y el resto por otras unidades en el país.

El resultado de las pruebas rápidas efectuadas en las unidades médicas fue que 75% fue influenza A, negativo en un 20%, en 3% se ignoró el resultado y en 2%, influenza B.

La vigilancia virológica de los casos incluidos por PCR reportó influenza A(H1N1) en un 50%, 25% sin resultado, 18% negativo para influenza y 7% influenza A.

La sensibilidad y especificidad general fue 0.851 (IC95% 72.31-92.59) y 0.50 (IC95% 26.8-73.2), respectivamente para la detección de virus de influenza A y virus de influenza A(H1N1), con una precisión diagnóstica de

77.05%. (Cuadro 1). Los valores encontrados para la detección de virus de influenza A en ambas pruebas fueron de 80% (IC 95% 37.55-96.38) y 50% (IC 95% 26.8-73.2) en su sensibilidad y especificidad. (Cuadro 2)

Al estratificar de 0 a 2 días a partir del inicio del cuadro clínico con respecto a la recolección de la toma de la muestra, la sensibilidad y especificidad detectadas fueron 0.903 y 0.50; en el grupo de 3 a 4 días, 0.667 y 0.50; de 5 a 6 días: 0.667 y 0.00. (Cuadro 3). La estratificación mayor a siete días no se realizó debido a que no fue evaluable la sensibilidad y especificidad, dado el número reducido de casos de ETI.

Cuadro 1. Hallazgos de la prueba rápida de influenza para detectar influenza tipo A contra influenza A (H1N1).

Influenza A vs. Influenza A(H1N1)	Puntual	IC 95%
Sensibilidad	85.11	72.31-92.59
Especificidad	50.00	26.8-73.2
VPP	85.11	72.31-92.59
VPN	50.00	26.8-73.2
Precisión diagnóstica	77.05	65.09-85.51
VPN: Valor predictivo positivo. VPN: Valor predictivo negativo. Fuente: SINOLAVE/IMSS, 2009.		

Cuadro 2. Hallazgos de la prueba rápida de influenza para detectar influenza tipo A contra influenza A.

Influenza A vs. Influenza A	Puntual	IC 95%
Sensibilidad	80.00	37.55-96.38
Especificidad	50.00	26.8-73.2
VPP	36.36	15.17-64.62
VPN	87.50	52.91-97.76
Precisión diagnóstica	57.89	36.28-76.86
VPN: Valor predictivo positivo. VPN: Valor predictivo negativo. Fuente: SINOLAVE/IMSS, 2009.		

Cuadro 3. Hallazgos de la prueba rápida de influenza para detectar influenza tipo A contra influenza A (H1N1).

Días	Puntual	IC 95%
0 a 2 días		
Sensibilidad	93.20	75.1-96.65
Especificidad	21.52	21.52-78-48
VPP	87.50	71.93-95.03
VPN	57.14	25.05-84.18
Precisión diagnóstica	82.05	67.33-91.02
3 a 4 días		
Sensibilidad	66.70	35.42-87.94
Especificidad	50.00	15.00-85.00
VPP	75.00	40.93-9.85
VPN	40.00	11.76-76.93
Precisión diagnóstica	61.54	35.52-82.29
5 a 6 días		
Sensibilidad	66.70	20.77-95.85
Especificidad	0.00	0.0-79.35
VPP	66.70	20.77-95.85
VPN	0.00	0.0-79.35
Precisión diagnóstica	50.00	15.00-85.00
VPN: Valor predictivo positivo. VPN: Valor predictivo negativo. Fuente: SINOLAVE/IMSS, 2009.		

Discusión

Durante 2005, la OMS publicó el documento técnico “El papel de la OMS y recomendaciones para las medidas nacionales antes y durante las pandemias”¹ ante la aparición de los primeros casos de influenza A(H1N1) en el mundo, dicho organismo actualizó y sustituyó el documento de preparación y respuesta para la pandemia de influenza.¹⁰ Previamente, el 29 de abril de 2009, publicó las definiciones operacionales iniciales para epidemia de influenza (antes denominada influenza porcina), que posteriormente se modificó el nombre de “caso sospechoso” por “enfermedad tipo influenza” (ETI), para la detección del virus pandémico Influenza A/Swine/California/04/2009 (H1N1).⁹

Las pruebas rápidas de influenza sirven para detectar la nucleoproteína viral. Así, los resultados están disponibles rápidamente, a efecto de tomar decisiones clínicas.²⁶

Las pruebas de detección de antígeno de forma rápida disponibles han ofrecido sus resultados en 10 a 30 minutos, pero presentan una sensibilidad limitada (70-90% en niños y <40 a 60% en adultos), en comparación con la RT-PCR y el cultivo viral.²⁶ De forma similar con lo publicado con la RT-PCR, la sensibilidad de las pruebas rápidas para la detección de infecciones de la nueva influenza A(H1N1) fue de 10-70%,²¹ y para influenza A, la sensibilidad 40-70%.²²

Los resultados de las pruebas rápidas en niños no han sido del todo favorables, con una sensibilidad de 62% (IC 95%: 52-70%) y especificidad de 99% (IC 95%: 92-100%).²³ Aunque en el presente estudio, no fue un objetivo determinarlo en este grupo etáreo.

Ya en la etapa de la pandemia, en los Estados Unidos de América se identificaron inicialmente con el uso de las pruebas rápidas de detección, estas son claramente menos sensibles que la detección de ácidos nucleicos, por lo tanto, un resultado negativo de un caso sospechoso debe ser remitido para su confirmación.²⁴ Un ejemplo es el estudio realizado en la ciudad de Nueva York, donde se determinó la sensibilidad y especificidad de la prueba rápida, con 17.8% y 93.6%, respectivamente.²⁵ Dichos resultados contrastan con el efectuado en México, donde Echevarría-Zuno y colaboradores determinaron en ese mismo año la sensibilidad y especificidad de la prueba rápida para influenza, con resultados de 75% y 72.2%, respectivamente;¹⁹ y en el presente estudio de 85.0% y 50.0% de forma global. Los CDC publicaron que los factores que podrían contribuir a una menor sensibilidad para las pruebas de laboratorio para detectar la infección por influenza incluyen el tipo de muestra respiratoria (por ejemplo, exudado nasal contra el nasofaríngeo), la calidad de la muestra, el tiempo de inicio de la enfermedad contra la recolección de muestra, la edad del paciente, entre otros.¹¹ Por lo que un resultado negativo no excluye la infección por el virus de la influenza.¹¹ Asimismo, los resultados de prueba de la influenza son influenciados por el nivel de actividad de la influenza en la población analizada,²⁷ situación que se observa en

la sospecha clínica por el médico durante los primeros cuatro días, con valores predictivos positivos de 87.50% (IC 95% 71.93-95.03) y de 75% (IC 95% 40.93-9.85) entre el tercer y cuarto día. Por lo que todo paciente que cumpliera con la definición operacional de caso de ETI o antecedente de haber tenido contacto con personas infectadas, pese a contar con un resultado de prueba rápida para influenza negativo, se consideró como tal y fue manejado con oseltamivir o zanamivir, de acuerdo a los lineamientos publicados en el país.¹²⁻¹⁸ Se destaca de este estudio que la estratificación por días de la prueba rápida no se había publicado a detalle previamente; con los hallazgos encontrados, la prueba rápida para influenza es de utilidad en los primeros dos días después de haber iniciado con los signos y síntomas de influenza. Por lo que en la etapa aguda, es conveniente su uso y durante la fase de convalecencia, los sueros (recabados 2 a 3 semanas más tarde) pueden ayudar a establecer un diagnóstico retrospectivo de la infección por virus de la influenza con fines de estudio epidemiológico e investigación.²⁶

En la realización de la guía clínica por la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América, se ha documentado que en las personas inmunocompetentes, las muestras de las vías respiratorias deben obtenerse lo más cerca posible de la fecha de aparición de la enfermedad como sea posible, preferiblemente dentro de los cinco días después de la aparición de la enfermedad. Una recolección de muestras posterior a 15 días después del inicio de la enfermedad puede dar lugar a falsos negativos debido a la sustancial disminución de la excreción del virus, especialmente en niños mayores y adultos. En tanto que las personas inmunodeficientes de cualquier edad con infección por influenza pueden diseminar el virus durante semanas o meses, incluso sin fiebre o síntomas respiratorios. Por lo tanto, la recolección de muestras de las vías respiratorias superiores e inferiores (por ejemplo, con lavado broncoalveolar) se recomienda realizarlo en el plazo de cinco días después de la aparición de la enfermedad.²⁶

Las limitaciones del estudio fueron que la cantidad de casos analizados dependieron del registro del caso y, de la recolección y registro de las muestras de prueba rápida (QuickVue A+B®) y del exudado faríngeo/nasal conservado en medio de transporte viral (UTM-RT,

COPAN Diagnostics®) en el SINOLAVE por parte del personal operativo, lo cual se reflejó en la no inclusión de todos los casos de ETI en el periodo. Se sugiere que los resultados del estudio se tomen con reserva por dicha situación. Asimismo, se debe considerar que la realización del mismo en un año pandémico del virus de la influenza. Por lo anterior, se concluye que la sensibilidad de la prueba rápida (QuickVue A+B®) de influenza en este estudio fue adecuada, sobre todo en las primeras 48 horas de haber iniciado el cuadro clínico, que a mayor número de días de síntomas, la sospecha diagnóstica del médico y los atributos de la prueba rápida se ven limitadas.

Referencias

- World Health Organization. WHO Global Influenza Preparedness Plan. The role of WHO and recommendations for national measures before and during pandemics. (WHO/CDS/CSR/GIP/2005.5), Switzerland, 2005.
- Secretaría de Salud. Plan Nacional de Preparación y Respuesta Ante una Pandemia de Influenza. México, 2006.
- Centers for Disease Control and Prevention. Swine influenza A (H1N1) infection in two children — Southern California, March–April 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009;58:400-2.
- Secretaría de Salud. Versión estenográfica de la Conferencia de Prensa referente a Influenza Estacional, presidida por los doctores Mauricio Hernández Ávila, Subsecretario de Prevención y Promoción de la Salud; Miguel Ángel Lezana Fernández, Director General del Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades, y Hugo López Gatell, Director General de Epidemiología, realizada esta mañana en el Auditorio “Doctor Miguel E. Bustamante”, de la Secretaría de Salud Federal. 22 de abril de 2009. http://portal.salud.gob.mx/redirector?tipo=0&n_seccion=Boletines&seccion=2009-04-22_3867.html
- Secretaría de Salud. Conferencia de prensa ofrecida por el Secretario de Salud Federal, José Ángel Córdova Villalobos, Secretario de Salud del Distrito Federal, Armando Ahued y el Secretario de Salud del Estado de México, Roberto Martínez Poblete, en la Residencia Oficial de Los Pinos. 24 de abril de 2009. http://portal.salud.gob.mx/redirector?tipo=0&n_seccion=Boletines&seccion=2009-04-24_3869.html
- Diario Oficial de la Federación. Acuerdo por el que se declara a la influenza humana AH1N1 enfermedad grave de atención prioritaria. México, 27 de abril de 2009.
- Diario Oficial de la Federación. Acuerdo mediante el cual se instruye a todas las instituciones del Sistema Nacional de Salud en sus niveles público, social y privado, de atención médica a que cuando reciban casos probables de influenza de acuerdo con la definición de caso establecida por esta Secretaría de Salud, se notifique de manera inmediata a esta dependencia. México, 30 de abril de 2009.
- Pérez-Padilla R, de la Rosa-Zamboni D, Ponce de Leon S, Hernandez M, Quiñones-Falconi F, Bautista E, Ramirez-Venegas A, Rojas-Serrano J, Ormsby CE, Corrales A, Higuera A, et al. Pneumonia and Respiratory Failure from Swine-Origin Influenza A (H1N1) in Mexico. *N Engl J Med* 2009;361.
- World Health Organization. Interim WHO guidance for the surveillance of human infection with swine influenza A(H1N1) virus. April 29, 2011.
- World Health Organization. Pandemic Influenza Preparedness and Response. Switzerland, 2009.
- Centers for Disease Control and Prevention. Interim Guidance for the Detection of Novel Influenza A Virus Using Rapid Influenza Diagnostic Tests. USA, 2009. http://www.cdc.gov/h1n1flu/guidance/rapid_testing.htm
- Secretaría de Salud. Guía de Manejo Clínico de Influenza A(H1N1). Temporada Otoño-Invierno 2009. México, 23 de octubre de 2009.
- Secretaría de Salud. Manejo del Paciente en Estado Crítico. México, 2009.
- Secretaría de Salud. Guía del Manejo Clínico de Influenza A(H1N1) En Mujeres Embarazadas. Temporada Otoño-Invierno 2009. Versión 1, liberada el 12 noviembre del 2009.
- Instituto Mexicano del Seguro Social. Lineamiento para la vigilancia epidemiológica y toma de muestra para la confirmación de casos sospechosos de influenza humana A(H1N1). México, 2009.
- Instituto Mexicano del Seguro Social. Detección Rápida del Virus de la Influenza en Unidades Médicas. México, 2009.
- Instituto Mexicano del Seguro Social. Plan Institucional de preparación y respuesta ante una epidemia de influenza. México, 30 de octubre de 2009.
- Instituto Mexicano del Seguro Social. Guía de Práctica Clínica “Prevención, diagnóstico y tratamiento de la influenza A(H1N1). México, 2009.
- Echevarría-Zuno S, Mejía-Arangur JM, Mar-Obeso AJ, Grajales-Muñiz C, Robles-Pérez E, González-León M, Ortega-Alvarez MC, Gonzalez-Bonilla C, Rascón-Pacheco RA, Borja-Aburto VH. Infection and death from influenza A H1N1 virus in Mexico: a retrospective analysis. *Lancet*, 2009: 1-8.
- Quidel Corporation. Rapid Diagnostic Products. USA, 2008. http://www.quidel.com/products/product_detail.php?prod=101&group=1

21. Hurt AC, et al. Performance of influenza rapid point-of-care tests in the detection of swine lineage A(H1N1) influenza viruses. *Influenza and Other Respiratory Viruses* 2009;3(4):171-76. In: Centers for Disease Control and Prevention. Interim Guidance for the Detection of Novel Influenza A Virus Using Rapid Influenza Diagnostic Tests. USA, 2009.
22. Faix DJ, Sherman SS, Waterman SH. Rapidtest sensitivity for novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. *N Engl J Med*. 2009;361(7):728–729.
23. Hawkes M, Richardson SE, Ipp M, Schuh S, Adachi D, Tran D. Sensitivity of Rapid Influenza Diagnostic Testing for Swine-Origin 2009 A (H1N1) Influenza Virus in Children. *Pediatrics* 2010;125:e639–e644.
24. Cutler J, Schleihauf E, Hatchette TF, Billard B, Watson-Creed G, Davidson R, Li Y, Bastien Sarwal S, and the Nova Scotia Human Swine Influenza Investigation Team. Investigation of the first cases of human-to-human infection with the new swine-origin influenza A (H1N1) virus in Canada. *CMAJ* (181), 2009: 159-163. <http://www.cmaj.ca/cgi/print/181/3-4/159>
25. Ginocchio CC et al. Evaluation of multiple test methods for the detection of the novel 2009 influenza A (H1N1) during the New York City outbreak. *J Clin Virol*. 2009 Jul;45(3):191-5. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19540158?ordinalpos=4&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DefaultReportPanel.Pubmed_RVDocSum
26. Harper SA, Bradle JS, Englund JA, File TM, Gravenstein S, Hayden FG, McGeer AJ, Neuzi KM, Pavia AT, Tapper ML, Uyeki TM, Zimmerman RK. Seasonal Influenza in Adults and Children— Diagnosis, Treatment, Chemoprophylaxis, and Institutional Outbreak Management: Clinical Practice Guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *IDSA Guidelines for Seasonal Influenza in Adults and Children CID* (48), 2009: 1003-1032.
27. 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. In: Harper SA, Bradle JS, Englund JA, File TM, Gravenstein S, Hayden FG, McGeer AJ, Neuzi KM, Pavia AT, Tapper ML, Uyeki TM, Zimmerman RK. Seasonal Influenza in Adults and Children— Diagnosis, Treatment, Chemoprophylaxis, and Institutional Outbreak Management: Clinical Practice Guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *IDSA Guidelines for Seasonal Influenza in Adults and Children CID* (48), 2009: 1003-1032.