

신우신염 환자의 1회 배설뇨에서 β2-microglobulin 측정의 유용성

오희성, 배성필, 김승수, 박경배
 순천향대학교 의과대학 소아과학교실

Usefulness of Spot Urine β2-microglobulin in Pediatric Acute Pyelonephritis

Hee Sung Oh, Seong Phil Bae, Seung Soo Kim, Kyeong Bae Park

Department of Pediatrics, Soonchunhyang University College of Medicine, Cheonan, Korea

Objective: It is difficult to make a distinction between acute pyelonephritis and lower urinary tract infection due to nonspecific clinical symptoms and laboratory findings. We measured the spot urine β2-microglobulin in children with urinary tract infection (UTI) to distinguish between acute pyelonephritis and lower UTI. We compared the accuracy of urine β2-microglobulin measurement with other inflammatory markers.

Methods: We studied 83 children (mean, 86 ± 44.9 months) who suspected of having UTI. Leukocyte counts, erythrocyte sedimentation rates (ESR) and C-reactive protein (CRP), β2-microglobulin were measured. Renal parenchymal involvement was evaluated by 99mTc dimercaptosuccinic acid scintigraphy in the first 7 days after admission. β2-microglobulin was measured by radioimmunoassay.

Results: Urine β2-microglobulin values were correlated with the presence of renal defects in children with UTI (n = 22) (0.98 ± 0.24 μg/mL, P < 0.05). Using a cutoff of 0.4 μg/mL for spot urine β2-microglobulin and 20 mm/hr for ESR, 2.6 mg/L for CRP, sensitivity and specificity between UTI with and without renal involvement were 78.7% and 90.1% for spot urine β2-microglobulin, 77.2% and 90.1% for spot urine β2-microglobulin/creatinine (Cr), 77.2%, 68.8% for ESR, 86.3%, 68.8% for CRP, respectively. Positive and negative predictive values were 72.7%, 90.1% for spot urine β2-microglobulin, 73.9% and 91.6% for spot urine β2-microglobulin/Cr, and 57.5%, 94% for CRP, respectively.

Conclusion: In febrile UTI, spot urine β2-microglobulin and β2-microglobulin/Cr values were more specific than CRP, ESR, and leukocyte count for determine the renal defects.

Keywords: Beta 2-microglobulin; Urinary tract infections; Acute pyelonephritis; Pediatrics

서론

요로감염은 소아기에 가장 흔한 세균성질환으로 요로계 기형을 동반하는 경우가 흔하고 신속히 치료하지 않으면 신반흔을 형성하여 말기신부전과 고혈압의 원인이 될 수 있다[1].

영·유아에서 요로감염은 세균성 뇌수막염, 세균성 폐렴, 패혈증보다 높은 유병률을 보이며, 열 이외의 증상이 없는 경우가 많아 초기에 진단하는데 어려움이 따른다. 요로감염은 침범 부위와 증상

의 유무에 따라 하부 요로감염(방광염, 요도염)과 상부 요로감염(신우신염)으로 분류한다. 하부 요로감염은 심각한 합병증을 일으키지 않으나, 상부 요로감염은 신반흔과 말기신부전 등의 합병증을 초래할 수 있다. 상부 요로감염과 하부 요로감염을 감별하기 위하여 임상증상, 신장초음파, 전혈 백혈구수, erythrocyte sedimentation rates (ESR)과 C-reactive protein (CRP) 수치 등이 이용되고 있다[2]. 전혈 백혈구 수, ESR, CRP 수치 등은 상부 요로감염에서 의미 있게 증가하지만 신장 침범이 없는 방광염에서 증가되기도 하

Correspondence to: Hee Sung Oh
 Department of Pediatrics, Soonchunhyang University Cheonan Hospital, Soonchunhyang University College of Medicine,
 31 Suncheonhyang 6-gil, Dongnam-gu, Cheonan 330-930, Korea
 Tel: +82-41-570-2160, Fax: +82-41-572-4996, E-mail: c95985@schmc.ac.kr
 Received: Aug. 11, 2012 / Accepted after revision: Dec 11, 2012

© 2012 Soonchunhyang Medical Research Institute
 This is an Open Access article distributed under the terms of the
 Creative Commons Attribution Non-Commercial License
 (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/).

며, 증상이 없는 신우신염에서는 음성이 나올 수 있어서 상부 요로 감염을 예측하는 인자로 쓰기는 어렵다[3,4]. 급성신우신염의 진단은 ^{99m}Tc dimercaptosuccinic acid (DMSA) 신장스캔검사를 통하여 부분 혹은 미만성 결손이 있는 것으로 진단할 수 있지만 모든 병원에서 쉽게 시행하기 어려워 검사의 제한성이 문제가 된다[5-7].

요로감염의 치료는 항생제 투여이며 주사용과 경구용의 두 가지 방법이 있다. 독성 증상이 심하면 주사용으로 시작하고 임상상태가 호전되면 경구용으로 바꾼다. 항생제의 투여기간은 급성신우신염이나 발열성 요로감염에서는 7-14일이 바람직하고 비발열성 요로감염에서는 7일간 투여하며 확실한 방광염에서는 2-4일로도 충분하다[1]. 그러나 소아에서는 신우신염과 방광염의 감별이 어려워 항생제의 장기간 투여가 빈번히 이루어지고 있다.

요 β 2-microglobulin (β 2-MG)은 1986년 Berggard와 Bearn [8]에 의해 율슨씨병과 만성카드늄 중독 환자의 소변에서 처음으로 분리된 무게 11,800달톤의 저분자 단백질로, 혈액 내의 β 2-MG는 사구체에서 쉽게 여과된 뒤 근위 세뇨관에서 거의 완전히 재흡수되고 소량만이 소변으로 배설된다. 다발골수종, 호지킨병, 악성림프종 등의 경우에는 β 2-MG의 생성이 증가되고, 사구체 손상이 있을 경우에는 혈액의 β 2-MG가 사구체에서 여과되지 않아 혈액의 β 2-MG는 증가하고 요 β 2-MG는 감소하며, 신세뇨관의 손상이 있을 경우에는 세뇨관에서 재흡수되지 않아 혈액의 β 2-MG는 감소하고 요 β 2-MG가 증가한다[9].

이에 저자들은 급성신우신염의 감별을 위한 정확하고 신속한 검사가 필요한 상황에서 사구체 손상이나 근위세뇨관에 장애가 있을 때 1회 배설뇨에서 β 2-MG와 β 2-MG/creatinine (Cr) 측정의 유용성을 알아보기 위하여 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

2007년도 1월부터 2011년 1월까지 순천향대학교 천안병원 소아 청소년과에 원인불명의 열을 주소로 외래 혹은 응급실을 통하여 내원한 환자 중 요로감염으로 진단된 환자를 대상으로 하였으며, 요로감염의 진단은 입원 시에 시행한 소변배양검사(청결 채취 중간노와 무균채노백노: 단일세균 10^5 colony forming unit (CFU)/mL 이상, 도노관 채노: 단일세균 10^5 CFU/mL 이상, 방광 천자노: 그람 양성 세균 10^3 CFU/mL, 그람 음성세균은 균락수와 관계없이)의 결과를 기준으로 하였다. 입원 후에 시행한 ^{99m}Tc DMSA 신장스캔 검사에서 부분 또는 미만성 결손이 있으면 상부 요로감염으로 진단하였다. 대상 환자는 1군(신장 침범이 없는 요로감염 군), 2군(신장 침범이 있는 요로감염 군)으로 분류하였다.

모든 대상 환아는 입원 후 정맥용 항생제 투여 전에 말초혈액 백혈구 수, 혈청 ESR, CRP, 요 백혈구 수, 요 아질산염, 요 β 2-MG (spot urine)를 측정하였다. 요 β 2-MG의 측정은 방사면역측정법(radio-

immunoassay)을 이용하였으며, 0.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상 증가한 경우 양성으로 판정하였다. 입원 후 7일 이내에 모든 환자에서 ^{99m}Tc DMSA 신장스캔을 시행하였으며, 신 침범은 부분 혹은 미만성 결손이 있는 경우로 정의하였다.

1. 통계분석

독립표본 t 검정을 이용하여 요로감염에서 요 β 2-MG 수치가 의미 있게 높았던 군과 낮은 군을 구분하였고 cut off value는 0.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 하였다. 신장 침범이 없는 요로감염군과 신장 침범이 있는 요로감염 군으로 나누어 각 군간의 요 β 2-MG 수치를 독립표본 t 검정을 이용하여 통계적 차이를 분석하였다. 통계분석은 SPSS ver. 14.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하였고, P-value가 0.05 미만인 경우를 통계학적으로 의미 있는 것으로 판단하였다.

결 과

1. 연령 및 성별

대상 환아는 모두 83명이었으며 성비는 0.88:1 (남아 39명, 여아 44명)이었다. 대상 환아의 연령 범위는 0개월부터 14세였으며, 평균 연령은 86개월이었다. 대상군에 따른 평균연령과 성비는 각각 1군(61명)은 76 \pm 38개월, 0.96:1이었으며, 2군(22명)은 113 \pm 49개월, 0.69:1이었다(Table 1).

2. 말초혈액 백혈구 수치

백혈구 수치의 평균은 각각 제1군 9,192.45 \pm 3,946.29/ mm^3 , 제2군 10,777.27 \pm 6,769.05/ mm^3 로 각 군의 평균치의 비교에서 제1군과 제2군에 유의한 차이가 없었다(P = 0.192).

Table 1. Comparison of clinical data and acute inflammatory makers among two groups

	Group 1 (n=61)	Group 2 (n=22)
Age (mo)	76 \pm 38	113 \pm 49
Sex (female/male)	31/30	13/9
Leukocyte (count/ mm^3)	9,192 \pm 3,946	10,777 \pm 6,769
ESR (mm/hr) ^{a)}	14.22 \pm 12.96	50.27 \pm 35
CRP (mg/L) ^{a)}	2.94 \pm 4.53	79.85 \pm 63.12
β 2-M ($\mu\text{g}/\text{mL}$) ^{a)}	0.26 \pm 0.11	0.98 \pm 0.84
β 2-MG/Cr ($\mu\text{g}/\text{g}$ creatinine) ^{a)}	438.47 \pm 158.55	1,026.28 \pm 241.37
FENa	2.09 \pm 1.30	6.86 \pm 11.79

Values are presented as mean \pm SD. Group 1: urinary tract infection (UTI) without renal involvement. Group 2: UTI with renal involvement.

ESR, erythrocyte sedimentation rates; CRP, C-reactive protein; β 2-M, urine β 2-microglobulin; β 2-MG/Cr, urine β 2-microglobulin/creatinine; FENa, fractional excretions of sodium.

^{a)}P < 0.05 group 1 vs. group 2.

3. Erythrocyte sedimentation rates

대상 환아군의 ESR 수치의 평균은 각각 제1군 14.22 ± 12.96 mm/hr, 제2군 50.27 ± 35.34 mm/hr로 각 군의 평균치의 비교에서 제1군과 제2군에 유의한 차이가 있었다($P < 0.05$).

4. 혈청 C-reactive protein

대상 환아군의 CRP 수치의 평균은 각각 제1군 2.94 ± 4.53 mg/L, 제2군 79.85 ± 63.12 mg/L로 각 군의 평균치의 비교에서 제1군과 제2군에 유의한 차이가 있었다($P < 0.05$).

5. 요 $\beta 2$ -microglobulin, 요 $\beta 2$ -microglobulin/creatinine

대상 환아군의 요 $\beta 2$ -MG 수치의 평균은 각각 제1군 0.26 ± 0.11 $\mu\text{g/mL}$, 제2군 0.98 ± 0.84 $\mu\text{g/mL}$, 요 $\beta 2$ -MG/Cr 수치의 평균은 각각 제1군 438.47 ± 158.55 $\mu\text{g/g creatinine}$, 제2군 $1,026.28 \pm 241.37$ $\mu\text{g/g creatinine}$ 으로 각 군의 평균치의 비교에서 제1군과 제2군에 유의한 차이가 있었다($P < 0.05$).

6. 염증지표의 민감도와 특이도 비교

ESR, 혈청 CRP, 요 $\beta 2$ -MG의 민감도 및 특이도를 비교하였다. ESR (cutoff value = 20 mm/hr)은 77.2%, 68.8%였고, 혈청 CRP (cutoff value = 2.6 mg/L)는 86.3%, 77.0%였다. 요 $\beta 2$ -MG (cutoff value = 0.4 $\mu\text{g/mL}$)의 민감도와 특이도는 각각 72.7%, 90.1%였다. 요 $\beta 2$ -MG/Cr (cutoff value = 400 $\mu\text{g/g Cr}$)의 민감도와 특이도 각각 77.2%, 90.1%였다(Table 2). 민감도와 특이도 비교에서 민감도는 CRP, 요 $\beta 2$ -MG/Cr, ESR, 요 $\beta 2$ -MG 순으로 높았으며, 특이도는 요 $\beta 2$ -MG/Cr, 요 $\beta 2$ -MG, CRP, ESR 순으로 높았다.

7. 염증지표의 양성예측도와 음성예측도의 비교

ESR, 혈청 CRP, 요 $\beta 2$ -MG의 양성예측도 및 음성예측도를 비교하였다. ESR (cutoff value = 20 mm/hr)은 47.2%, 89.3%였고, 혈청 CRP (cutoff value = 2.6 mg/L)는 57.5%, 94%였다. 요 $\beta 2$ -MG (cutoff value = 0.4 $\mu\text{g/mL}$)는 72.7%, 90.1%였다(Table 2). 요 $\beta 2$ -MG/Cr (cutoff value = 400 $\mu\text{g/g Cr}$)은 73.9%, 91.6%였다. 양성예측도와 음성예측도 비교에서 양성예측도는 요 $\beta 2$ -MG/Cr, 요 $\beta 2$ -MG, CRP,

Table 2. Analysis of sensitivity and specificity, PPV and NPV of the inflammatory markers

	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)
ESR (cutoff value = 20 mm/hr)	77.2	68.8	47.2	89.3
CRP (cutoff value = 2.6 mg/L)	86.3	77.0	57.5	94
$\beta 2$ -M (cutoff value = 0.4 $\mu\text{g/mL}$)	72.7	90.1	72.7	90.1
$\beta 2$ -M (cutoff value = 400 $\mu\text{g/g Cr}$)	77.2	90.1	73.9	91.6

PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; ESR, erythrocyte sedimentation rates; CRP, C-reactive protein; $\beta 2$ -M, urine $\beta 2$ -microglobulin; Cr, creatinine.

ESR 순으로 높았으며, 음성예측도는 CRP, 요 $\beta 2$ -MG/Cr, 요 $\beta 2$ -MG, ESR 순으로 높았다.

8. 배양된 균과 염증 수치와의 관계

Escherichia coli (*E. coli*), *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus* 등에서 각각 CRP, ESR, 요 $\beta 2$ -MG, 요 $\beta 2$ -MG/Cr에서 acute phase reactant 사이에 유의한 차이는 보이지 않았다.

고찰

요로감염은 소아와 영아에서 가장 흔한 세균성 감염의 하나로 남아에서 1%, 여아에서 3-5%로 발생된다. 남녀에서 발생률에 차이는 연령에 따라 나누어지며, 생후 12월까지의 남아와 여아의 발생률은 각각 3.3%와 6.5%로 보고되며, 생후 12월에서 24개월까지는 남아와 여아의 발생률은 각각 1.9%와 8.1% 정도로 알려져 있다 [10]. 요로감염의 원인균은 대부분 상재 세균이며 *E. coli*가 가장 많은 빈도를 차지하며, 그 다음으로 *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterococci*가 원인이 된다. 본 연구에서는 *E. coli* (68명, 81%)가 가장 많았으며, 그 다음은 *Klebsiella* (6명, 7%), *Enterococci* (5명, 6%) 등의 순으로 나타났다.

요로감염은 1세 미만에서 많이 발생하며 발열, 구토, 설사 등의 증세를 나타내어 상기도감염과 급성위장관염 등으로 오인되고 조기진단이 어렵다. 특히 침범된 위치에 따라 상부 요로감염의 경우 신반흔을 형성하여 고혈압과 만성신부전의 원인이 될 수 있기 때문에 상부 요로감염과 하부 요로감염의 구분이 중요하다. 신반흔은 5세 미만 특히 1세 미만이나 신생아에서 잘 발생하고 신 내의 높은 압력도 관여하지만, 치료의 지연, 반복적 감염이 있을 때 잘 발생한다. 또한 한쪽 콩팥에만 국한된 이차성 국소성 신경화증(secondary focal segmental glomerulosclerosis)만으로도 심각한 신합병증이 나타날 수 있다 [11]. Glauser 등 [12]은 동물실험에서 신우신염에서 빠른 정맥용 항생제 치료가 신반흔을 최소화시킨다고 보고하였다. 신장침범을 진단하는 가장 정확한 진단법은 $^{99\text{mTc}}$ DMSA 신 스캔이지만 비싼 검사비용과 시행 가능한 병원이 제한되어 있고, 방사선 노출의 위험성 등의 문제점이 있다 [13].

$\beta 2$ -MG는 100개의 아미노산으로 이루어지며 11,800달톤의 낮은 분자량을 지닌 단백질이다. 정상인의 혈액, 노, 수액 및 모유에 미량으로 존재하며 조직적합성항원(human leucocyte antigens) class I에서 L 사슬의 구성성분으로 전신 유핵세포에 존재한다. $\beta 2$ -MG는 방사면역측정법을 통하여 측정하며 검사에 필요한 혈청, 혈장, 소변의 양은 50 μL 로 소량이다. 요중 $\beta 2$ -MG는 pH 5.0 이하일 경우 $\beta 2$ -MG가 변성되므로 검사할 수 없으나 24시간 이내는 냉장, 24시간 이상은 냉동보관이 가능하며 소량만 있어도 검사가 가능하다.

혈중 $\beta 2$ -MG는 급성·만성사구체신염, 급성·만성신부전과 전신

성홍반성낭창과 같은 자가면역성질환, 다발성 골수종, 만성림프성 백혈병, 악성림프종, 원발성 간암, 위암, 대장암에서 상승하며, 요중 β 2-MG는 골수종 신장, 통풍신장, 만성카드뮴중독, 이식신장, 급성 세뇨관괴사가 있을 경우 상승한다. 사구체 손상이 있을 경우에는 혈액의 β 2-MG가 사구체에서 여과되지 않아 증가하고 요 β 2-MG는 감소하며, 신세뇨관의 손상이 있을 경우에는 요 β 2-MG가 증가하여 세균감염에 의한 비특이적 손상인 경우 증가와 감소를 예측하기 힘들다. 기존의 연구에서는 요 β 2-MG의 정상 범위의 하한치에 대한 언급이 없었다. 정상 요 β 2-MG의 범위의 하한치와 상한치를 측정하여 증가나 감소가 없을 경우 하부 요로감염으로 판단하고, 요 β 2-MG의 증가나 감소가 있을 경우 상부 요로감염으로 판단하면 더 높은 특이도와 양성예측도를 보일 수 있을 것으로 생각된다.

나이의 제한이 15세 이하로 영아에 한정하지 못했던 점은 인근 병원에서 항생제 치료를 받은 후 내원하여 배양검사에서 균이 자라지 않았던 요로감염 질병군이 많았기 때문으로 생각되고, Ikezumi 등[14]에 따르면 혈청 β 2-MG는 나이, 성별에 관계없이 신장의 이상을 측정하는데 유용하며 혈청 Cr과 함께 소아 신기능 평가에서 유용한 표지자로 이용될 수 있을 것으로 생각된다고 하였으나, 1회 배설뇨에서 β 2-MG와 요 β 2-MG/Cr의 연령과 체중에 따른 정상치가 확립되어 있지 않아 연구가 더 필요할 것으로 생각된다.

본 연구에서는 백혈구 수치를 제외한 혈청 ESR, CRP, 요 β 2-MG, 요 β 2-MG/Cr 수치들이 각각 의미 있는 차이가 있었으며, 단독으로 측정하는 경우 β 2-MG, β 2-MG/Cr은 높은 특이도와 양성예측도를 보이는 예민한 지표로 보였다. Yoon과 Koo [15]의 연구에 의하면 1회 배설뇨에서 측정된 β 2-MG/Cr으로 방광요관역류와 신 손상을 조기에 예측할 수 있는 지표로서 유용하며 초기검사의 편리성뿐 아니라 추적관찰에도 유용하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다. 이는 비방사선 측정법이며 신 손상 예측의 지표로서 의미가 있으며, 12시간이나 24시간 소변검사방법이 환아와 보호자에게 많은 시간을 필요로 하고 번거로움을 주어 외래에서 시행하기 어렵고, 정확한 소변 수집이 힘든 단점이 있는데 반해 1회 배설뇨에서 β 2-MG, β 2-MG/Cr은 단 한 번의 소변검사로 상부 요로감염과 하부 요로감염의 조기감별에 도움이 되어 요로감염에서 항생제 치료의 방법과 기간을 결정하는데 유용할 것으로 생각된다. 본 연구의 한계는 24시간 요 β 2-MG, 혈청 β 2-MG의 측정이 이루어지지 않아 1회 배설뇨에서 측정된 β 2-MG, β 2-MG/Cr과의 상관관계를 밝히지 못한

것이다. 이는 추후 연구를 통하여 개선이 필요할 것으로 생각된다.

REFERENCES

1. Lee SJ. Guidelines for childhood urinary tract infection. *Korean J Pediatr* 2009;52:976-83.
2. Lin DS, Huang SH, Lin CC, Tung YC, Huang TT, Chiu NC, et al. Urinary tract infection in febrile infants younger than eight weeks of Age. *Pediatrics* 2000;105:E20.
3. Jaye DL, Waites KB. Clinical applications of C-reactive protein in pediatrics. *Pediatr Infect Dis J* 1997;16:735-46.
4. Morgan MG, McKenzie H. Controversies in the laboratory diagnosis of community-acquired urinary tract infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993;12:491-504.
5. Cornu C, Cochat P, Collet JP, Delair S, Haugh MC, Rolland C. Survey of the attitudes to management of acute pyelonephritis in children. *children: GEP Pediatr Nephrol* 1994;8:275-7.
6. Stokland E, Hellstrom M, Jacobsson B, Jodal U, Lundgren P, Sixt R. Early 99mTc dimercaptosuccinic acid (DMSA) scintigraphy in symptomatic first-time urinary tract infection. *Acta Paediatr* 1996;85:430-6.
7. Rushton HG. The evaluation of acute pyelonephritis and renal scarring with technetium 99m-dimercaptosuccinic acid renal scintigraphy: evolving concepts and future directions. *Pediatr Nephrol* 1997;11:108-20.
8. Berggard I, Bearn AG. Isolation and properties of a low molecular weight beta-2-globulin occurring in human biological fluids. *J Biol Chem* 1968; 243:4095-103.
9. Braden GL, O'Shea MH, Mulhern JG. Tubulointerstitial diseases. *Am J Kidney Dis* 2005;46:560-72.
10. American Academy of Pediatrics; Committee on Quality Improvement; Subcommittee on Urinary Tract Infection. Practice parameter: the diagnosis, treatment, and evaluation of the initial urinary tract infection in febrile infants and young children. *Pediatrics* 1999;103(4 Pt 1):843-52.
11. Jacobson SH, Eklof O, Lins LE, Wikstad I, Winberg J. Long-term prognosis of post-infectious renal scarring in relation to radiological findings in childhood: a 27-year follow-up. *Pediatr Nephrol* 1992;6:19-24.
12. Glauser MP, Lyons JM, Braude AI. Prevention of chronic experimental pyelonephritis by suppression of acute suppurative. *J Clin Invest* 1978;61: 403-7.
13. Kavanagh EC, Ryan S, Awan A, McCoubrey S, O'Connor R, Donoghue V. Can MRI replace DMSA in the detection of renal parenchymal defects in children with urinary tract infections? *Pediatr Radiol* 2005;35:275-81.
14. Ikezumi Y, Honda M, Matsuyama T, Ishikura K, Hataya H, Yata N, et al. Establishment of a normal reference value for serum β 2 microglobulin in Japanese children: reevaluation of its clinical usefulness. *Clin Exp Nephrol* 2012 Jul 14 [Epub].
15. Yoon JR, Koo JW. Urinary protein and enzyme excretion of spot urine in children with vesicoureteral reflux. *J Korean Soc Pediatr Nephrol* 2009; 13:56-62.