



pediarnet

**LE INFEZIONI
RESPIRATORIE
ACUTE
IN ETA
PEDIATRICA**

PARTECIPANTI

Coordinamento

Carlo Giaquinto
Luigi Cantarutti
Miriam CJM Sturkenboom
Massimo Soncin
Bruno Costa

Dipartimento di Pediatria, Padova
Pediatra di Libera scelta, Padova
CNR/ITBA, Milano
Società Servizi Telematici, Padova
Glaxo Wellcome

Pediatrì Partecipanti

Antonella Bordin, Carmelo Bucolo, Roberto Bussi, Luigi Cantarutti, Sandra Cozzani, Stefano Del Torso, Giuseppe Giancola, Silvia Giroto, Giuseppe Grillone, Mulopo Katende, Vitalia Murgia, Angela Pasinato, Andrea Passarella, Pasquale Ruffato, Luigi Saretta, Flavio Semenzato, Walter Spanevello, Giacomo Toffol.

Assistenza informatica

Alessandro Zandarin

Società Servizi Telematici, Padova

Lo studio è condotto in parte con il supporto di Glaxo-Wellcome SPA

SOMMARIO

1.1	Introduzione	pag 4
2.0	Obiettivi	pag 8
3.0	Partecipanti	pag 8
4.0	Popolazione studiata	pag 8
5.0	Metodologia	pag 9
	5.1 Criteri di inclusione	pag 9
	5.2 Raccolta delle informazioni cliniche	pag 9
	5.3 Esecuzione ed esecuzione dei risultati del tampone faringeo per la ricerca del virus dell' influenza	pag 10
	5.4 Altre informazioni necessarie per l'analisi dei dati	pag 11
	5.5 Invio delle schede	pag 11
6.0	Formazione	pag 12
7.0	Riservatezza delle informazioni	pag 12
8.0	Durata dello studio	pag 12
9.0	Tempi	pag 13
10.0	Risultati	pag 14
	10. 1 Popolazione studiata	pag 14
	10.2 Incidenza di accesso all' ambulatorio pediatrico per IRA	pag 15
	10.3 Incidenza di IRA per età	pag 18
	10.4 Caratteristiche cliniche dei pazienti con IRAf al momento dell' arruolamento	pag 19

10.5 Il tampone faringeo per la ricerca del virus influenzale	pag 25
10.6 Follow up e esiti degli episodi di IRAf	pag 29
10.7 Prescrizioni farmaceutiche effettuate	pag 33
11.0 Conclusioni	pag 40
12.0 Allegati	pag 49

1.0 Introduzione

Le infezioni respiratorie acute (IRA) sono ancora oggi una tra le principali cause di mortalità e morbilità sia nell'adulto che nel bambino. Negli USA circa 122 milioni di episodi respiratori ogni anno impongono una limitazione nello svolgimento delle attività quotidiane o costringono alla consultazione medica. Si stima che raffreddore, faringite, influenza, bronchite e polmonite costituiscano un quarto delle visite di un medico di medicina generale. In UK un'indagine del Committee on Child Health Service ha evidenziato che in bambini di età inferiore ai 5 anni le IRA costituiscono il 50% delle malattie, il 28% delle visite pediatriche, il 21% dei ricoveri ospedalieri e il 35% delle cause di mortalità infantile.

Gli agenti etiologici coinvolti sono numerosi e spesso causano reinfezioni nell'arco di una medesima stagione invernale: batteri, *micoplasmi*, *clamidie*. Tuttavia la causa più importante e frequente sono i virus, in particolare i virus influenzali.

Le epidemie influenzali si verificano ciclicamente in diversi paesi del mondo e possono essere causate dal virus A o B. Sebbene non si possa assolutamente generalizzare una epidemia influenzale di tipo A appare ogni 2-4 anni, mentre un'epidemia di tipo B ogni 3-6 anni ed è quasi sempre meno grave della prima.

Un episodio epidemico in una determinata area geografica segue generalmente lo stesso schema. Esordio brusco con picco massimo dell'incidenza dopo 2-3 settimane e quindi declino rapido fino ad esaurimento dopo 5-6 settimane dall'inizio. L'epidemia è di solito preceduta da casi sporadici e comunque, soprattutto in età pediatrica, dalla comparsa di IRA febbrile e aumento dell'assenteismo scolastico.

Nelle settimane che precedono la comparsa dell'epidemia gli isolamenti virali sono molto rari. Ma aumentano in modo drammatico durante la fase epidemica per poi diminuire rapidamente.

Le epidemie influenzali sono anche caratterizzate da una recrudescenza della mortalità per polmonite spesso conseguenza di una sovrainfezione batterica in pazienti già debilitati dall'episodio influenzale. Ciò è particolarmente evidente nei bambini e negli anziani.

Nonostante la malattia sia considerata benigna (45% dei pediatri di libera scelta intervistati nel 1998 non la considera un patologia grave), alcuni dati ne sottolineano invece l'importanza. Negli USA nel periodo 1957-1986 sono stati attribuiti all'influenza in media 10.000 decessi all'anno con punte di 40.000 morti in corso di epidemie influenzali. In

rapporto alle età il 20% dei decessi avvengono nei bambini, con maggior rischio al di sotto di un anno di vita.

La diagnosi definitiva di Influenza si basa sull'isolamento virale che è complesso e richiede parecchi giorni. La disponibilità di farmaci antiinfluenzali da utilizzarsi durante le primissime fasi dell'infezione ha spinto i ricercatori a sviluppare dei metodi di diagnosi rapida in grado di poter confermare nel giro di pochi minuti la presenza del virus influenzale e di poter essere effettuati in presenza del paziente. I test finora prodotti, che si basano su reazioni di tipo immunoenzimatico, pur presentando una buona specificità (90-97%) hanno ancora una sensibilità piuttosto bassa (60-80%) che peraltro varia anche considerevolmente in relazione al tipo di materiale biologico utilizzato per il prelievo (Tampone rinofaringeo, tampone faringeo, saliva etc).

La vaccinazione è senz'altro l'arma principale che abbiamo per prevenire l'influenza ed è raccomandata in tutte le persone anziane. I programmi di vaccinazione si sono dimostrati misure di provata efficacia con un buon rapporto costo-beneficio e un basso rischio di effetti collaterali, per cui la vaccinazione antiinfluenzale è stata inserita nel Piano Sanitario nazionale 1998-2000 che prevede come obiettivo la copertura del 75% per la popolazione superiore ai 65 anni di età.

Fino a pochi anni fa esistevano solamente due farmaci (amantadina e riantadina) dimostratisi moderatamente efficaci nella prevenzione e trattamento dell'influenza di tipo A. Tali farmaci erano consigliati in individui a rischio (anziani, immunodeficienze etc) non vaccinati. Tuttavia la loro diffusione è risultata essere limitata per i costi e per il rischio di insorgenza di ceppi virali resistenti.

Recentemente sono stati sperimentati due nuovi farmaci antiinfluenzali (Zanamavir e GS4071) che inibiscono la neuraminidasi, enzima essenziale per la replicazione del virus influenzale sia di tipo A che B. Tali farmaci che hanno vie di somministrazione diverse (per inalazione lo zanamavir e per os il GS4071) si sono dimostrati efficaci, soprattutto nelle persone anziane, sia nel prevenire l'influenza (zanamavir) che nel ridurre la durata della malattia e la sua gravità. In particolare sono risultati efficaci sia in pazienti con sindrome influenzale che con influenza documentata microbiologicamente. La somministrazione di tali farmaci tuttavia non è semplice in quanto nell'ambulatorio del medico non sono disponibili test diagnostici per valutare se il paziente ha l'influenza e quindi, per la scelta del

trattamento, non ci si può che basare sul criterio clinico che spesso è alquanto aspecifico, soprattutto in età pediatrica.

Nel nostro paese al pari di altri paesi occidentali è attivo un sistema di sorveglianza con lo scopo di studiare e caratterizzare i virus influenzali umani e animali al fine di evidenziare tempestivamente qualsiasi modificazione antigenica e quindi di indirizzare lo sviluppo di vaccini in grado di proteggere dall' epidemia in corso.

L'influenza in Italia è una malattia infettiva da notificare per legge solo se il caso viene confermato con l'isolamento virale. Poiché l'isolamento virale rappresenta una tecnica diagnostica molto complessa e eseguibile solamente in pochissimi laboratori e poiché le metodiche di diagnosi rapida non si sono ancora dimostrate sufficientemente sensibili e specifiche, è evidente come un sistema di sorveglianza basato solo sulla diagnosi "confermata" possa essere utile solamente per verificare la diffusione dei vari ceppi virali, ma non sia di alcuna utilità per valutare la diffusione dell'infezione a livello di popolazione.

L'Istituto Superiore di Sanità ha attivato per la stagione 1999-2000 in collaborazione con le Università di Genova e Milano, un sistema di sorveglianza dell'influenza (INFLUNET) basato su medici sentinella di medicina generale (MMG) che ha raccolto settimanalmente fino al 3 maggio 2000 i dati di frequenza sul numero di pazienti affetti dai sintomi della malattia e sul numero di isolamenti virali effettuati.

Al progetto hanno aderito 441 MMG con un totale di 593.616 assistiti suddivisi per fasce di età 0-14 anni (56.816 assistiti), 15-64 anni (416.686 assistiti), oltre 64 anni (120.114 assistiti).

Da un'analisi dei dati raccolti si può evidenziare come l'incidenza totale sia stata molto bassa fino alla fine del 1999, con un lieve incremento alla 50^a e 51^a settimana e un seguente raddoppio dell'incidenza rispetto alla settimana precedente dall'ultima settimana del 1999, che ha segnato l'inizio dell'epidemia. Dalla 52^a alla 2^a settimana di gennaio 2000 si è registrato un ulteriore aumento dell'incidenza totale fino ad arrivare ad un massimo del 13/1000. Dalla quarta settimana del 2000 l'incidenza di sindrome influenzale ha cominciato a scendere. Tra tutti i casi segnalati circa il 95% è risultato non essere vaccinato.

Il picco di manifestazioni influenzali e di isolamenti virali è stato raggiunto nelle regioni settentrionali nelle ultime due settimane di gennaio 1999, con diffusione a quelle centrali e meridionali nelle settimane successive e con circolazione del sottotipo A (H3N2) e del tipo B.

Nell'ambito di INFLUNET è stata inoltre studiata l'incidenza delle sindromi respiratorie acute, febbrili, non influenzali. Contrariamente all'influenza, l'incidenza di tale

patologia si è mantenuta costante nel periodo considerato (2.46-6.52/1000 pazienti) con un'incidenza comunque doppia nei pazienti in età pediatrica.

Al di là dei dati epidemiologici mancano nel nostro paese informazioni relative al bambino con IRA sia in termini di storia naturale della malattia che di gestione clinica. Inoltre è importante avere gli strumenti per poter quantificare i “costi” diretti e indiretti di tale patologia, al fine di pianificare interventi di prevenzione e terapia.

La rete “*Pedianet*” rappresenta un contesto ideale per studi di questo tipo che possono essere complementari ai sistemi di sorveglianza in corso nel nostro paese.

2.0 Obiettivi

- Valutare l'incidenza di accesso all' ambulatorio pediatrico per infezioni respiratorie acute (IRA).
- Valutare l'incidenza per età dell'infezione da virus dell' influenza dopo indagine diagnostica in una popolazione pediatrica italiana seguita dai Pediatri di Libera Scelta.
- Determinare il valore predittivo dei sintomi influenzali rispetto alla diagnosi di influenza effettuata con il kit rapido.
- Descrivere la gestione clinica e terapeutica del bambino con IRA con febbre in Italia con particolare attenzione al numero di giornate lavorative e scolastiche perse.

3.0: Partecipanti

Sono stati reclutati 19 PLS che operano nella regione Veneto e che utilizzano per la loro pratica clinica quotidiana il programma JB95.

Due PLS si sono ritirati durante lo studio.

4.0: Popolazione studiata

Sono stati inclusi nello studio tutti i bambini con IRA visitati dal PLS in ambulatorio o a domicilio nel periodo compreso tra il 10 novembre 1999 e il 30 marzo 2000.

Solamente i pazienti con **IRA con febbre** sono stati inclusi nello studio prospettico (vedi paragrafo 4.0).

5.0: Metodologia

5.1 Criteri di inclusione:

Sono stati inclusi nello studio tutti i bambini visitati dal PLS in ambulatorio o a domicilio dal 10 novembre 1999 al 30 marzo 2000 che hanno presentato IRA con o senza febbre.

Solamente i bambini che presentano IRA con febbre sono stati inseriti nello studio prospettico:

Definizione di IRA con febbre:

Febbre (>37.5 se di età inferiore ai 24 mesi; >38.0 se di età superiore ai 24 mesi)

Associata ad almeno uno dei seguenti segni o sintomi:

- Tosse
- Brividi
- Cefalea
- Inappetenza
- Coriza
- Mialgia
- Faringodinia
- Raucedine

5.2 Raccolta delle informazioni cliniche:

Per ogni bambino con **IRA con febbre** arruolato nella fase prospettica è stata compilata una scheda di arruolamento appositamente preparata e inserita nel software JB95 (allegato 1) contenente alcune informazioni relative al paziente e alle caratteristiche cliniche della patologia in atto.

Il numero di codice del paziente, la data di nascita, il sesso e la data della visita sono stati allegati in automatico alla scheda.

Quando il bambino arruolato si ripresentava al controllo compariva automaticamente una nuova scheda con la domanda se il bambino era guarito o meno dall' IRA. In caso di risposta affermativa compariva la scheda di chiusura (appendice 1) in cui era possibile raccogliere informazioni relative ad eventuali ricoveri o accessi al PS durante il periodo della malattia, al numero dei giorni di scuola andati perduti e alle eventuali assenze dal lavoro da parte dei genitori.

Per poter trasmettere i dati relativi a tutti i bambini arruolati nello studio prospettico doveva essere compilata la scheda di chiusura.

Per i bambini con **IRA senza febbre non è stata raccolta alcuna informazione e compilata alcuna scheda.** Le informazioni riguardanti il numero di casi per età e sesso e il giorno di visita sono state inviate a fine studio mediante una procedura automatica.

5.3 Esecuzione e trascrizione dei risultati del tampone faringeo per la ricerca del virus dell' influenza.

Al primo bambino con IRA con febbre visitato ogni giorno in ambulatorio o a domicilio è stato altresì effettuato un tampone faringeo ed effettuato il test FLU OIA (BIOSTAR) per l'identificazione del virus influenzale mediante Kit specifico fornito a tutti i PLS partecipanti.

Si tratta di un test per la diagnosi di influenza A e B. Si basa su una metodica di tipo immunoenzimatico con lettura ottica. Se sono presenti gli antigeni virali (nucleoproteine) si produce un ispessimento del "film" che posto su un piccolo specchietto produce una modificazione colorimetrica visibile ad occhio nudo. Il test consiste in 7 passaggi tra reazioni e lavaggi. Per la sua esecuzione sono necessari, secondo le istruzioni, 17 minuti (vedi allegato 2).

Qualora non fosse possibile effettuare il test in tempo reale il tampone è stato conservato a temperatura di + 4-8 gradi fino al momento del test, che doveva comunque essere effettuato non dopo le 8 ore dal prelievo.

I risultati del test sono stati trascritti nella scheda di arruolamento (allegato 1).

Considerando che nello studio sono stati arruolati i bambini con IRA con febbre visitati sia a domicilio che in ambulatorio, il campionamento scelto (primo test del giorno) non ha comportato alcun "bias" di selezione dei pazienti e quindi è stato sufficientemente rappresentativo della popolazione generale.

5.4 Altre informazioni necessarie per l'analisi.

Durante lo studio sono state raccolte e inviate le seguenti informazioni:

- Numero di casi di **IRA senza febbre** viste ogni giorno nel periodo di studio per età e sesso.
- Nei pazienti con **IRA con febbre**, le informazioni relative a SOAP, prescrizioni (terapeutiche, esami, visite specialistiche) relative al decorso dell' IRA febbrile.

La raccolta e l'invio delle suddette informazioni sono state fatte senza alcun carico di lavoro aggiuntivo per il pediatra essendo **infatti ricavate direttamente dal database JB95 e collegate mediante codice numerico (codice paziente) alla scheda di rilevazione/arruolamento.**

5.5 Invio delle schede

Una volta compilate le schede sono state inviate tramite Internet presso un server centrale già esistente ed operante presso la Società Servizi Telematici di Padova.

6.0: Formazione

Nel mese di ottobre 1999 e' stata organizzata una giornata formativa a cui sono stati invitati i pediatri partecipanti.

In tale occasione sono stati discussi gli aspetti operativi del progetto, effettuata una esercitazione pratica con i kit per la ricerca del virus dell' influenza e distribuiti il software e il materiale per effettuare i tamponi e il test rapido. E' stato inoltre distribuito un manuale operativo con il protocollo e le modalit  da seguire durante lo studio (allegato 3).

7.0: Riservatezza delle informazioni

A tutti i pazienti partecipanti allo studio prospettico   stato chiesto il consenso per l'invio e il trattamento dei dati, secondo quanto richiesto dalla legge 675/96 e 676/96.

L'ottenimento del consenso (allegato 4)   stato registrato automaticamente nel programma e ha funzionato da chiave per aprire le schede per la raccolta dati e il loro invio.

I dati sono stati inviati in forma anonima e solamente il PLS   a conoscenza dell' identit  del singolo paziente.

8.0: Durata dello studio

Per poter raccogliere il maggior numero di casi possibili lo studio ha dovuto coprire il periodo del picco stagionale delle infezioni respiratorie acute. la durata   stata quindi di 5 mesi dal 10 novembre 1999 al marzo 2000 (21 settimane).

9.0: Tempi

1)	Definizione del progetto	Giugno 1999
2)	Preparazione del software e suo collaudo	Agosto 1999
3)	Formazione PLS	Ottobre 1999
4)	Inizio trasmissione dati	Novembre 1999
5)	Report intermedio	Febbraio 2000
5)	Fine trasmissione dati	Marzo 2000
6)	Report finale	Luglio 2000
7)	Presentazione dei risultati	Settembre 2000

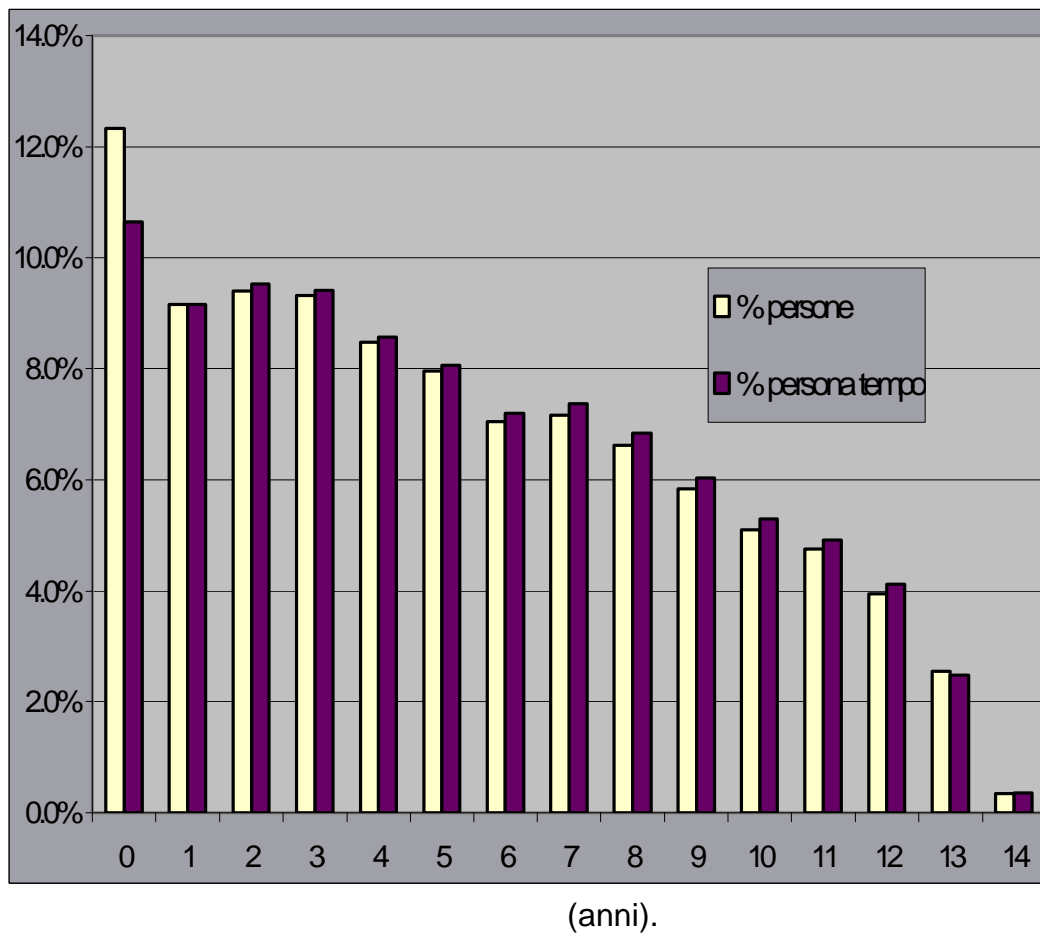
10.0 Risultati

10.1 Popolazione studiata

Allo studio hanno partecipato 17 PLS che lavorano nella regione Veneto e che seguono complessivamente 16.760 bambini (media 985 pazienti) di cui il 52 % maschi e il 48% femmine.

La figura 1 mostra la distribuzione della popolazione studiata per fasce di età e per durata del follow up, misurata come tempo persona (indicante il periodo di permanenza nello studio).

Figura 1: Distribuzione della popolazione studiata per età e durata del follow up Età



10.2 Incidenza di accesso all'ambulatorio pediatrico per infezioni respiratorie acute (con o senza febbre)

Dal 10 Novembre 1999 sino al 31 Marzo 2000 (21 settimane) i PLS partecipanti hanno registrato nei loro database 8.301 episodi di infezione respiratorie acute (IRA) in 5.558 pazienti, con una incidenza del 33.2% (5.558/16.760) nel periodo considerato. In 4135 episodi i bambini hanno presentato una sintomatologia febbrile ($T > 37.5^{\circ} C$ se di età < 24 mesi o $T > 38^{\circ} C$ se di età >24 mesi) (IRAf), mentre in 4132 episodi la febbre (secondo la definizione adottata) non era presente (IRAsf).

In tabella 1a sono riportati il numero di pazienti con IRA f e IRAsf in base al numero di episodi di malattia osservati.

Tabella 1a: Numero degli episodi di IRAsf e IRAf nei bambini studiati

N° Episodi	IRAf		IRAsf	
	N° pazienti	%	N° pazienti	%
0	2240	40.3	2394	43,1
1	2665	47.9	2403	43,2
2	518	9.3	582	10,5
3	112	2.0	131	2,4
4	17	.3	37	,7
5	6	.1	8	,1
6			3	,1
Totale	5558	100.0	5558	100,0

La Tabella 1b mostra gli episodi di IRAsf e IRAf diagnosticati per settimana.

Tabella 1b: Numero di episodi di IRA diagnosticati per settimana

anno	settimana	IRAf	IRAsf	Totale
1999	46	97	113	210
	47	205	300	505
	48	230	241	471
	49	174	218	392
	50	223	208	431
	51	231	211	442
	52	199	185	384
2000	1	192	190	382
	2	139	148	287
	3	250	160	410
	4	307	147	454
	5	306	230	536
	6	250	257	507
	7	210	200	410
	8	193	203	396
	9	178	230	408
	10	196	204	400
	11	158	151	309
	12	151	185	336
	13	128	206	334
	14	118	179	297
Totale		4135	4132	8301

La Figura 2a e la tabella 2a mostrano l'incidenza settimanale di IRA totale e di IRAsf e IRAf. Per l'IRAf, patologia oggetto del nostro studio, l'incidenza è calcolata anche in 1000 giorni persona. Nella figura 2b e tabella 2b è riportata l'incidenza stimata dell'influenza considerando i risultati del tampone faringeo.

Figura 2a: Incidenza di IRA totale, IRAf e IRAsf nel periodo di studio

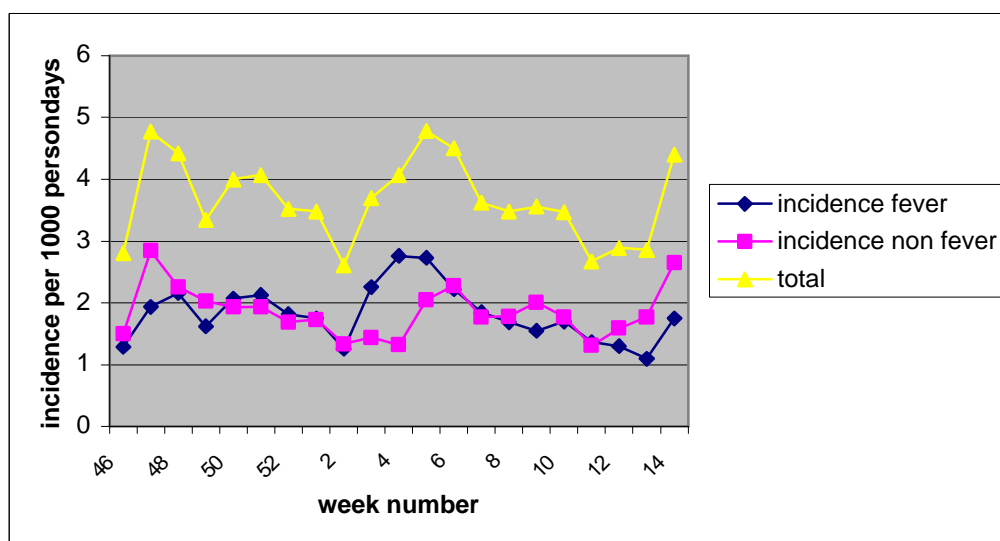


Tabella 2a: L'incidenza di IRAsf e IRAf per settimana

Anno	Settimana a	IRAf	IRAsf	totale	Incidenza IRAf (g/p)
1999	46	1,29	1,50	2,80	9,03
	47	1,94	2,84	4,77	13,58
	48	2,16	2,26	4,42	15,12
	49	1,62	2,03	3,65	11,34
	50	2,07	1,93	4,00	14,49
	51	2,13	1,94	4,07	14,91
2000	52	1,82	1,69	3,52	12,74
	1	1,75	1,73	3,48	12,25
	2	1,26	1,34	2,61	8,82
	3	2,26	1,44	3,70	15,82
	4	2,76	1,32	4,07	19,32
	5	2,73	2,05	4,78	19,11
	6	2,22	2,28	4,50	15,54
	7	1,85	1,77	3,62	12,95
	8	1,69	1,78	3,48	11,83
	9	1,55	2,01	3,56	10,85
	10	1,70	1,77	3,47	11,9
	11	1,37	1,31	2,67	9,59
	12	1,30	1,59	2,89	9,1
	13	1,10	1,77	2,86	7,7
14	1,75	2,65	4,40	12,25	
Totale		1,83	1,84	3,67	

Figura 2b: Incidenza stimata dell'influenza calcolata in base al risultato del tampone faringeo

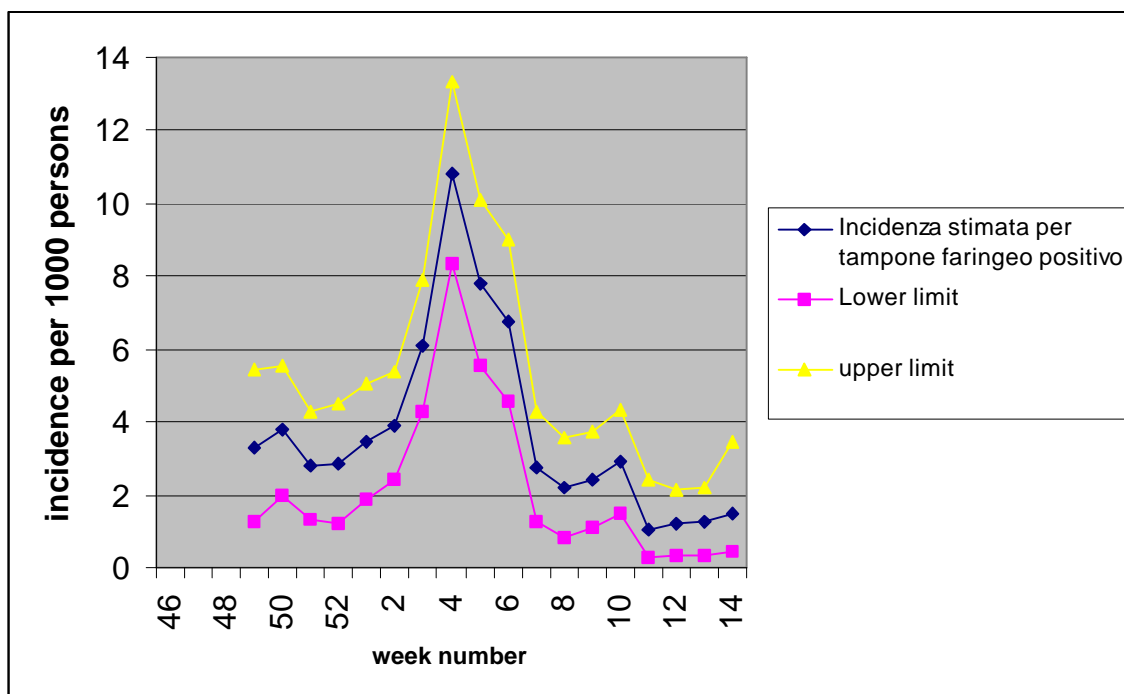


Tabella 2 b: Incidenza stimata di influenza per settimana calcolata in base al risultato del tampone faringeo

Settimana	Incidenza stimata	IC 95%
46		
47		
48		
49	3,3	1,2 - 5,4
50	3,8	2,0 - 5,5
51	2,8	1,3 - 4,3
52	2,9	1,2 - 4,5
1	3,5	1,9 - 5,1
2	3,9	2,4 - 5,4
3	6,1	4,3 - 7,9
4	10,8	8,4 - 13,3
5	7,8	5,6 - 10,1
6	6,8	4,5 - 9,0
7	2,8	1,2 - 4,3
8	2,2	0,8 - 3,6
9	2,4	1,1 - 3,7
10	2,9	1,5 - 4,3
11	1,0	0,3 - 2,4
12	1,2	0,3 - 2,1
13	1,3	0,3 - 2,2
14	1,5	0,4 - 3,5

10.3 Incidenza per età di infezioni respiratorie acute

In figura 3 e tabella 3 sono riportate le incidenze per età e tipo di infezione. L'incidenza è massima nei primi anni di vita per poi diminuire stabilmente dopo i cinque anni.

Figura 3: Incidenza per età di IRA, IRAsf e IRAf.

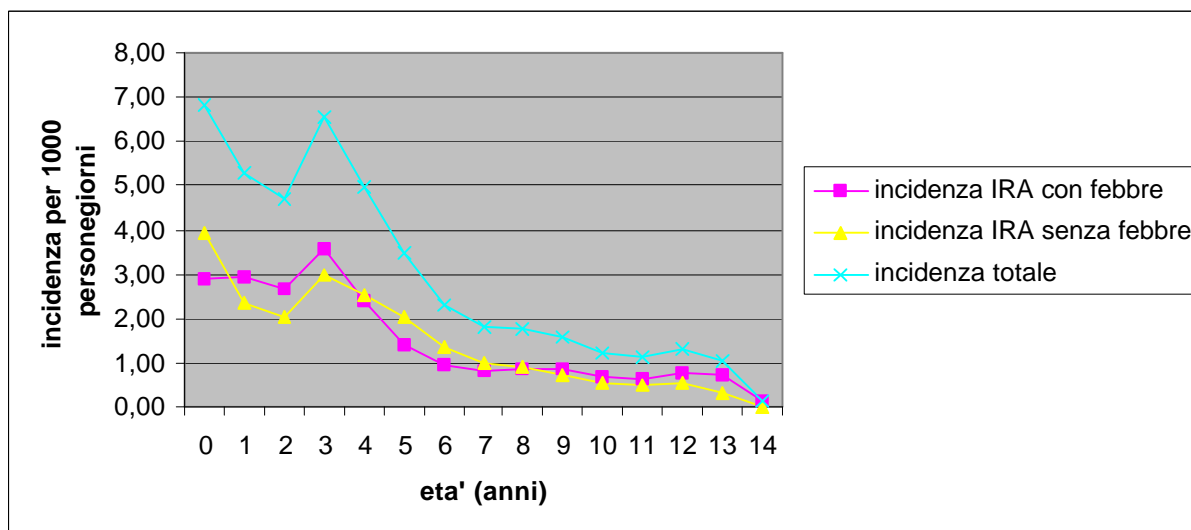


Tabella 3: Incidenza di IRAf e IRAsf (espressa in 1000 giorni/persona) per età'

Età	IRAf	IRAsf	Totale
-----	------	-------	--------

0	2,90	3,92	6,83
1	2,92	2,34	5,27
2	2,65	2,04	4,68
3	3,55	3,00	6,55
4	2,40	2,55	4,95
5	1,42	2,04	3,46
6	0,93	1,37	2,30
7	0,83	0,99	1,82
8	0,86	0,90	1,76
9	0,86	0,71	1,57
10	0,67	0,55	1,23
11	0,63	0,51	1,14
12	0,77	0,54	1,31
13	0,71	0,30	1,02
14	0,12	0,00	0,12

10.4 Caratteristiche cliniche dei pazienti con IRAf al momento dell' arruolamento

Nello studio prospettico sono stati arruolati 4017 (97.1%) dei 4135 bambini con IRA febbrile (IRAf) giunti all' osservazione dei PLS partecipanti durante il periodo dello studio.

La tabella 4 mostra il numero dei casi segnalati divisi per medico. La percentuale delle segnalazioni sul numero totale varia tra 3.7 e 9.6%. Tale dato va comunque interpretato con attenzione in quanto il periodo di osservazione per alcuni medici (pe: ID135) è stato inferiore, per 3 settimane di assenza durante il periodo epidemico.

Tabella 4: Numero dei casi segnalati da ciascun medico partecipante.

ID medico	Numero di casi	%
1	276	6,9
12	180	4,5
13	309	7,7
14	333	8,3
39	218	5,4
40	232	5,8
79	305	7,6
90	202	5,0
101	276	6,9
131	268	6,7
133	154	3,8
134	207	5,2
135	149	3,7
137	261	6,5
138	260	6,5
142	387	9,6
Totale	4017	100,0

La tabella 5 mostra la distribuzione dei casi di IRAf per eta' e sesso. Non vi e' alcuna differenza tra maschi e femmine (p=0.91)

Tabella 5: Distribuzione dei casi per età e sesso

Età	Sesso		Totale
	F	M	
0	217 11,3%	263 12,6%	480 11,9%
1	305 15,9%	324 15,5%	629 15,7%
2	292 15,2%	304 14,5%	596 14,8%
3	357 18,6%	403 19,2%	760 18,9%
4	219 11,4%	245 11,7%	464 11,6%
5	131 6,8%	126 6,0%	257 6,4%
6	81 4,2%	84 4,0%	165 4,1%
7	66 3,4%	85 4,1%	151 3,8%
8	67 3,5%	66 3,2%	133 3,3%
9	61 3,2%	54 2,6%	115 2,9%
10	41 2,1%	41 2,0%	82 2,0%
11	35 1,8%	41 2,0%	76 1,9%
12	36 1,9%	36 1,7%	72 1,8%
13	15 ,8%	21 1,0%	36 ,9%
14		1 ,0%	1 ,0%
Totale	1923	2094	4017

In tabella 6 sono riportate le malattie croniche presenti nei bambini con IRAf. 109 (2.7%) bambini presentavano almeno una patologia cronica di base. La più frequente patologia era l'asma (1.4%).

Tabella 6: Malattie croniche presenti nei bambini con IRA con febbre

	N° casi	%
Nessuna patologia	3908	97,3
Agnesia renale	1	,0
Allergia	6	,1
Asma	58	1,4
Broncodisplasia	2	,0
Cardiopatìa	4	,1
Deficit G6PD	1	,0
Dermatite	1	,0
Diabete	1	,0
Emofilia	1	,0
Epilessia	5	,1
Fibrosi cistica	2	,0
Galattosemia	1	,0
IDDM	1	,0
Ipertrafia tonsillare	1	,0
Ipoacusia neurosensoriale	1	,0
Mielomeningocele	2	,0
Paralisi	5	,1
Patologia cromosomica	5	,1
Reflusso v.u.	2	,0
Ritardo	5	,1
S nefrosica	1	,0
Sferocitosi	1	,0
Tonsillite cronica	1	,0
Trisomia 18	1	,0
Totale	4017	100,0

La vaccinazione anti-influenzale non risulta essere molto frequente e soltanto 92 dei 3242 bambini con IRAf (2.8%) e' stato vaccinato contro l'influenza nell'anno in corso. La vaccinazione è tuttavia significativamente più frequente nei bambini asmatici (13.2% v 2.7%; $p < 0.001$)

La figura 5 e le tabelle 7a e 7b mostrano la frequenza dei segni e sintomi clinici rilevata al momento dell'arruolamento. La maggior parte dei pazienti (90.2%) presentava la sintomatologia tradizionale, tuttavia otalgia e otiti erano presenti nel 5.4% dei casi. La sintomatologia all' esordio è risultata essere diversa in base all'età. Nei bambini di età inferiore all' anno, tosse inappetenza e corizza sono più frequenti, mentre con l'aumentare dell' età la febbre $> 39^{\circ}\text{C}$, la cefalea, la faringodinia e la mialgia diventano più comuni (Tabella 7b)

Figura 5: Sintomatologia presente al momento dell'arruolamento

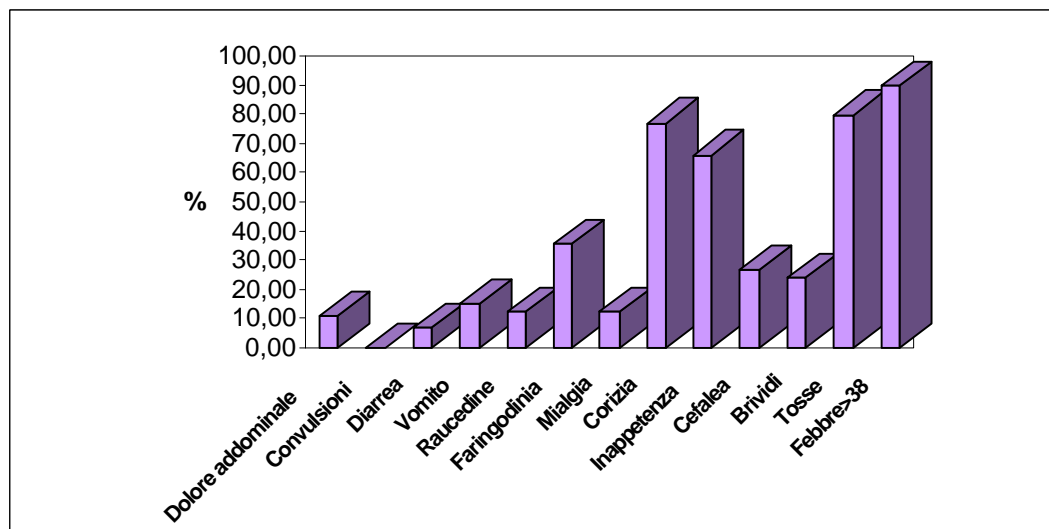


Tabella 7a: Altri sintomi presenti al momento dell' arruolamento

	N° casi	%
No altri sintomi	3623	90,
Apparato digerente	6	,1
Apparato uditivo	217	5,4
Asma	21	,5
Astenia	7	,2
Cavo orale	47	1,2
Congiuntivite	24	,6
Coxalgia bilaterale	1	,0
Dolore periorbitale	1	,0
dx		
Gonalgia	1	,0
Iperemia MT	1	,0
Irritabilità	10	,2
M.t. bilaterali	8	,2
Malattie	21	,5
dermatologiche		
Malattie virali	4	,1
Sonnolenza	3	,1
Tachipnea	1	,0
Vie respiratorie	20	,5
Totale	4017	100,0

Tabella 7b: Sintomatologia per fascia di eta' (tutti gli episodi di IRAf)

Sintomo	< 1 anno (n=480)	1-9 anni (n=3270)	10-14 anni (n=267)	p-
Febbre>39	18.5	22.8	23.2	<0.001
tosse	82.3	80.3	70.0	<0.001
Brividi	7.7	25.0	37.5	<0.001
Cefalea	1.0	27.0	72.3	<0.001
Inappetenza	64.6	67.2	55.8	0.004
Corizia	85.8	76.2	73.0	<0.001
Mialgia	2.9	12.1	32.6	<0.001
Faringodinia	8.1	37.4	58.4	<0.001
Raucedine	14.0	12.2	15.4	0.49
Vomito	12.3	15.7	8.2	0.006
Diarrea	9.6	6.5	2.2	0.001
Dolore addominale	2.3	12.6	9.0	<0.001

In tabella 7c è riportata la sintomatologia all'esordio nei bambini con asma, l'unica patologia per la quale è stato possibile effettuare tale tipo di analisi. Non esistono differenze nella sintomatologia all' esordio, se non per il dolore addominale, più frequente nei bambini asmatici.

Tabella 7c: Sintomatologia all' esordio nei bambini con asma.

Sintomo	Asma		p
	No (N=3189)	Sì (N=53)	
Febbre>39	20.9	11.3	0.29
tosse	79.1	92.5	0.057
Brividi	25.0	32.1	0.39
Cefalea	28.4	37.7	0.18
Inappetenza	65.4	62.4	0.67
Corizia	77.3	81.1	0.71
Mialgia	13.1	24.5	0.048
Faringodinia	35.9	58.5	0.003
Raucedine	12.6	18.9	0.38
Vomito	15.2	13.2	0.92
Diarrea	6.2	0	0.12
Dolore addominale	11.1	17.0	0.003

La tabella 7d riporta l'esordio della sintomatologia nei bambini vaccinati contro l'influenza. Anche in questo caso non vi è differenza tra i due gruppi di pazienti.

Tabella 7d: sintomatologia all'esordio e vaccinazione antiinfluenzale

Sintomo	non vaccinati (n=3150)	vaccinati (n=92)	p
Febbre>39	20.7	19.6	0.44
Tosse	79.1	83.7	0.28
Brividi	25.0	27.2	0.89
Cefalea	28.3	37.0	0.14
Inappetenza	65.3	66.3	0.95
Corizia	77.1	87.0	0.08
Mialgia	13.2	14.1	0.82
Faringodinia	36.4	29.3	0.34
Raucedine	12.8	7.6	0.003
Vomito	14.9	22.8	0.10
Diarrea	6.1	7.9	0.83
Dolore addominale	11.4	2.2	0.03

10.5 Il tampone faringeo per la ricerca del virus influenzale

In 1455 casi di IRAf è stato eseguito il tampone faringeo per la ricerca rapida del virus influenzale. In tabella 8 sono riportate le caratteristiche dei tamponi faringei eseguiti. I tamponi sono stati effettuati nella maggior parte dei casi (85.3%) in ambulatorio e nel 45% dei casi il test è stato effettuato entro 30 minuti dal prelievo.

461 prelievi (31.7%) sono risultati positivi. Per l'analisi dei dati abbiamo tuttavia sottratto i campioni risultati positivi durante il primo mese di studio (n=227), in quanto una verifica della loro specificità effettuata durante le prime settimane dello studio ha indicato che molti risultati dubbi o negativi erano indicati come positivi.

Tabella 8: Risultati e caratteristiche dei tamponi faringei eseguiti

	N° casi	%
<i>Tampone effettuato</i>		
Dato Mancante	52	1,3
No	2510	62,5
Si	1455	36,2
Totale	4017	100,0
<i>Sede del prelievo</i>		
Dato Mancante	58	4,0
Ambulatorio	1241	85,3
A domicilio	156	10,7
Totale	1455	100,0
<i>Tempo trascorso prima dell'esecuzione del test</i>		
Dato Mancante	128	8,8
<30 minuti	640	44,0
30 min.-2 ore	292	20,1
2-4 ore	210	14,4
4-8 ore	156	10,7
>8 ore	29	2,0
<i>Risultato</i>		
Dato Mancante	242	16,6
Positivo	461	31,7
Negativo	702	48,2
Indeterminato	50	3,4
Totale	1455	100,0

Analizzando la distribuzione tra i vari PLS dei risultati del test di diagnosi rapida effettuato sul tampone faringeo risulta che vi è una notevole diversità tra medico e medico (p<0.001) (tabella 9) anche non considerando i tamponi eseguiti durante il primo mese di studio.

Tabella 9: Distribuzione dei risultati al tampone per PLS partecipante

ID medico	Risultato		Totale
	P	Negativo	
	O		
	S		
	IT		
	I		
	V		
	O		
1	40	47	87
	46,0%	54,0%	100,0%
12	31	38	69
	44,9%	55,1%	100,0%
13	11	26	37
	29,7%	70,3%	100,0%
14	31	102	133
	23,3%	76,7%	100,0%
39	16	42	58
	27,6%	72,4%	100,0%
40	38	19	57
	66,7%	33,3%	100,0%
79	26	53	79
	32,9%	67,1%	100,0%
90	24	22	46
	52,2%	47,8%	100,0%
101	21	44	65
	32,3%	67,7%	100,0%
131	32	36	68
	47,1%	52,9%	100,0%
133	12	51	63
	19,0%	81,0%	100,0%
134	55	38	93
	59,1%	40,9%	100,0%
135	32	9	41
	78,0%	22,0%	100,0%
137	18	64	82
	22,0%	78,0%	100,0%
138	27	57	84
	32,1%	67,9%	100,0%
142	47	54	101
	46,5%	53,5%	100,0%
Totale	461	702	1163
	39,6%	60,4%	100,0%

Come si può vedere dalla tabella 10 la frequenza di positività dei tamponi effettuati nel mese di novembre è risultata notevolmente più alta di quelli effettuati nei mesi successivi. L'analisi intermedia dei risultati e un controllo diretto su alcuni test effettuati, mediante valutazione a distanza, ha dimostrato come un numero elevato di test indeterminati o negativi era stato riportato come positivo. Pertanto i risultati relativi a questo mese sono stati eliminati dall' analisi.

Tabella 10: Distribuzione dei risultati al tampone per mese di esecuzione

Anno	Mese	Risultato		Totale
		Positivo	Negativo	
1999	11	227 69,6%	99 30,4%	326 100,0%
	12	53 23,1%	176 76,9%	229 100,0%
2000	1	106 44,0%	135 56,0%	241 100,0%
	2	49 25,9%	140 74,1%	189 100,0%
	3	26 14,6%	152 85,4%	178 100,0%
Totale*		234 27,9%	603 72,1%	837 100,0%

* Escluso il mese di novembre

Escludendo i test effettuati nel mese di Novembre e correggendo per medici, esiste una correlazione significativa tra positività al tampone e numero di sintomi e con l' aumento del numeri dei sintomi la positività aumenta ($P=0.003$) (Tabella. 11).

Tabella 11: Risultati del tampone sintomatologia presente all' esordio

N° sintomi	Risultato		Totale
	Positivo	Negativo	
<3	24 19,4%	100 80,6%	124 100,0%
3-5	146 26,8%	398 73,2%	544 100,0%

6-8	59 37,1%	100 62,9%	159 100,0%
9+	5 50,0%	5 50,0%	10 100,0%
Totale	234 28,0%	603 72,0%	837 100,0%

10.6 Follow up e esiti degli episodi di IRAf

Il follow up dei bambini con IRAf prevedeva la compilazione di una scheda di chiusura con riportate alcune informazioni relative ad eventuali ricoveri ospedalieri, accessi al Pronto Soccorso, giornate di scuola perse e assenza dal lavoro dei genitori. Le schede di chiusura sono state compilate in 3879 casi di IRAf (96.5%).

In 427 casi (11.%) non era tuttavia riportata la durata della febbre (tabella 12).

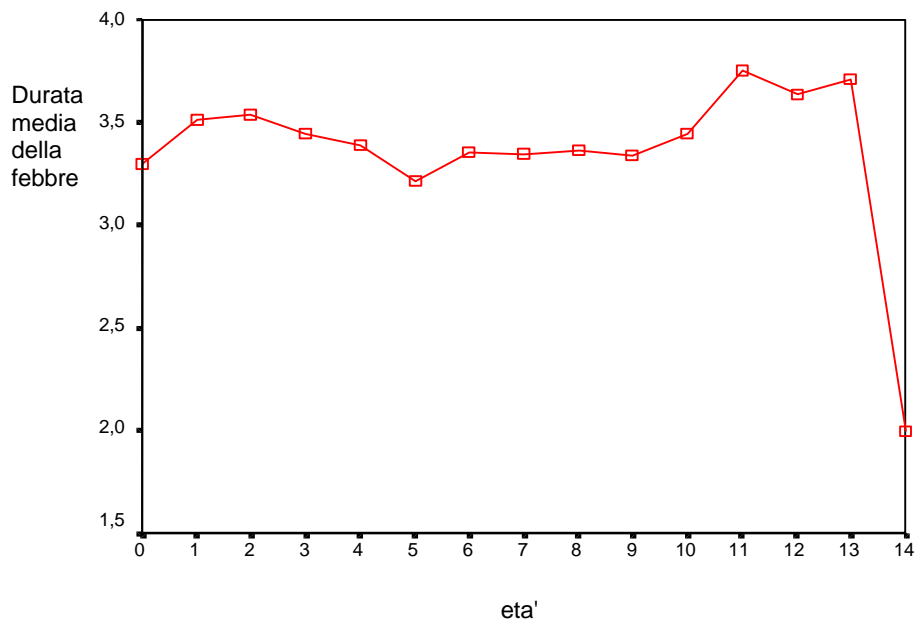
Tabella 12: Durata della febbre

	N° casi	%
Dato mancante	427	11,0
1	140	3,6
2	644	16,6
3	1301	33,5
4	784	20,2
5	336	8,7
6	140	3,6
7	62	1,6
8	24	,6
9	4	,1
10	10	,3
11	2	,1
12	1	,0
13	2	,1
14	1	,0
15	1	,0
Totale	3879	100,0

La durata media della febbre è stata di 3,43 giorni (STD:1,41). Esiste una relazione significativa tra mese di diagnosi e durata della febbre ($p < 0.001$); la durata era di 3,70 giorni in gennaio 2000 e di 3,14 giorni in novembre 1999.

Non esiste invece una correlazione tra durata della febbre ed età ($p = 0.076$) (Figura 6).

Figura 6: Durata media (giorni) della febbre per eta'



La durata della febbre è risultata essere significativamente più alta nei bambini con tampone positivo che in quelli con tampone negativo (Tabella 12b).

Tabella 12b: Durata della febbre in relazione al risultato del tampone

Risultato del tampone	N° casi	Durata della febbre (giorni)
Positivo	219	3.81
Negativo	569	3.43

$p < 0.001$

In 45 casi (1.2%) di IRAf è stato necessario un ricovero ospedaliero: in 15 casi attraverso il pronto soccorso pediatrico. In tabella 13 sono riportati il numero e il motivo dei ricoveri. La polmonite rappresenta la più frequente causa di ricovero ed è significativamente associata alla durata della degenza in ospedale (tabella 14).

Tra i bambini non-ricoverati, 84 sono stati ammessi al Pronto soccorso pediatrico, ma il 99% di questi soltanto per un giorno.

Dato l'esiguo numero di ricoveri non è stato possibile correlare il rischio di ospedalizzazione al risultato del tampone faringeo per la ricerca del virus influenzale.

Soltanto 7 ricoveri infatti sono stati effettuati in bambini in cui era stato in precedenza eseguito il tampone faringeo.

Tabella 13: Motivi del ricovero ospedaliero (diagnosi di dimissione)

	N° casi	%
DATO MANCANTE	8	17,7
ACETONEMIA	1	2,2
ADENOIDECTOMIA <28.6>	1	2,2
BRONCHIOLITE	2	4,4
BRONCHITE	5	11,1
BRONCOPOLMONITE/POLMONITE	14	31,1
COXALGIA BENIGNA <718.01>	1	2,2
ERNIA INGUINALE DX.	1	2,2
FARINGOTONSILLITE	1	2,2
GASTROENTERITE	2	4,4
LARINGOSPASMO <478.7>	1	2,2
MASTOIDITE	1	2,2
NAUSEA E VOMITO	1	2,2
OTITE MEDIA ACUTA <381>	4	8,8
VIROSI	2	4,4
TOTALE	45	100,0

Tabella 14: Durata delle degenze

Durata (giorni)	N° casi	%
Dato mancante	9	20,0
0	2	4,4
1	2	4,4
2	1	2,2
1-3	7	15,6
4-6	15	33,3
5	2	4,4
7-10	6	13,3
>10	1	2,2
Totale	45	100,0

Nessun bambino con asma o vaccinato è stato ricoverato per cui non è stato possibile valutare se la presenza di patologie associate o di vaccinazione aumentava il rischio di ospedalizzazione.

La tabella 15 riporta il numero dei giorni di scuola (materna, elementare e media) persi dai bambini di età superiore ai 3 anni. 1958 (85%) dei 2312 bambini in età scolare hanno perso almeno un giorno di scuola per un totale di quasi 14.000 giornate perdute.

Tabella 15: Giorni di scuola persi in concomitanza dell' episodio di IRAf

Giornate perdute	N° casi (%) per Età		
	3-5 anni	> 5 anni	Totale
Dato mancante	7 (0.6)	5 (0.7)	12
1-4	284 (22.9)	270 (37.7)	554
5-8	628 (50.6)	366 (51)	994
>8	322 (25.9)	76 (10.6)	398
Totale	1241	717	1958

In 457 casi (11.8%) almeno un genitore si è assentato dal lavoro per assistere il figlio malato. La tabella 16 mostra la distribuzione delle giornate lavorative perse.

Tabella 16: Giornate lavorative perse dai genitori dei bambini seguiti

Giornate perdute	N° casi	%
Dato mancante	25	,6
0	3422	88,3
1-3	263	6,8
4-6	135	3,5
6-10	46	1,2
>10	8	,2
Totale	3879	100,0

Non ci sono differenze tra i vaccinati e i non vaccinati per quanto riguarda il rischio di ricorrenze di IRAf, le giornate scolastiche perse dai bambini e l'assenza dal lavoro dei genitori.

10.7 Prescrizione farmaceutiche effettuate

In totale, 3242 bambini hanno avuto almeno un episodio di IRAf e hanno ricevuto un totale di 1872 prescrizioni farmaceutiche durante il primo episodio di IRAf.

La Tabella 17 mostra il numero di prescrizioni farmaceutiche effettuate. Nel 57,6% dei casi non e' stata effettuata alcuna prescrizione di farmaci di fascia A o B.

Tabella 17: Numero di bambini che hanno ricevuto almeno una prescrizione farmaceutica durante il primo episodio di IRA con febbre

Numero di prescrizioni	N° casi	%
0	1867	57,6
1	1038	32,0
2	225	6,9
3	79	2,4
4	23	,7
5	6	,2
6	3	,1
7	1	,0
Totale	3242	100,0

Il numero di prescrizioni farmacologiche effettuate è significativamente correlato all'età (tabella 18) ($p=0.001$).

Tabella 18: Numero di bambini che ha ricevuto almeno una prescrizione farmaceutica durante il primo episodio di IRAf per età.

Età	Prescrizione		Totale	Età	Prescrizione		Totale
	No	Sì			No	Sì	
0	235 62,8%	139 37,2%	374 100,0%	9	71 68,9%	32 31,1%	103 100,0%
1	262 55,7%	208 44,3%	470 100,0%	10	53 69,7%	23 30,3%	76 100,0%
2	267 56,4%	206 43,6%	473 100,0%	11	56 75,7%	18 24,3%	74 100,0%
3	277 48,8%	291 51,2%	568 100,0%	12	49 72,1%	19 27,9%	68 100,0%
4	198 53,7%	171 46,3%	369 100,0%	13	23 69,7%	10 30,3%	33 100,0%
5	128 57,1%	96 42,9%	224 100,0%	14		1 100,0%	1 100,0%
6	90 60,0%	60 40,0%	150 100,0%	Totale	1867 57,6%	1375 42,4%	3242 100,0%
7	81 59,1%	56 40,9%	137 100,0%				
8	77 63,1%	45 36,9%	122 100,0%				

$p < 0.001$

La prescrizione di farmaci non è risultata associata all' entità della febbre ($p=0.53$), alla sintomatologia all' esordio o alla positività del tampone faringeo ($p=0.2$)

La lista dei principi farmacologici prescritti è riportata in tabella 19. I farmaci più frequentemente prescritti sono risultati essere gli antibiotici con cui 1039 bambini (32 %) sono stati trattati

In totale sono stati prescritti:

?? 1561 farmaci in fascia A per un costo totale di Lire 33.084.300.

?? 46 farmaci in fascia B per un costo totale di Lire 549.400

?? 222 farmaci in fascia C per un totale di Lire 2.681.750.

Da notare come, mentre per quanto riguarda i farmaci in fascia A o B il dato è da considerarsi attendibile, per la fascia C si tratta probabilmente di una notevole sottostima

in quanto tali farmaci non necessitano generalmente di ricetta e pertanto non vengono di solito registrati nel database del pediatra. Ciò è confermato anche dal fatto che il paracetamolo, farmaco in fascia C utilizzato probabilmente dalla quasi totalità dei bambini con IRAf, non risulta tra le prescrizioni effettuate.

Tabella 19: Farmaci prescritti durante il primo episodio di IRA con febbre

Nome	codice ATC	N° casi	%
Codice ATC mancante		156	8.3
Apparato gastrointestinale			
Benzylamine	A01AD02	2	,1
Trimebutine	A03AA05	1	,1
Metoclopramide	A03FA01	1	,1
Cisapride	A03FA02	1	,1
Domperidone	A03FA03	11	,6
Vit. B plain	A11EA	2	,1
Vit B complex	A11EX	3	,2
Vit. C	A11GA01	2	,1
Vitamins plus minerals	A11JB	1	,1
Calcium, plain	A12AA20	1	,1
Calcium, combination	A12AX	1	,1
Tonics	A13A	2	,1
Totale		28	1.8
Ematologia			
Tranexamic acid	B02AA02	1	,1
Iron, bivalent	B03AA	1	,1
Ferric oxide	B03AB05	1	,1
Totale		3	0.3
Dermatologia			
Clotrimazole	D01AC01	2	,1
Econazole	D01AC03	1	,1
Gentamicin	D06AX07	1	,1
Clobetasone	D07AB01	2	,1
Desoximetasone	D07AC03	2	,1
Betametasone plus antibiotic	D07CC01	1	,1
Totale		9	0.6
Ormoni sistemici			
Desmopressin	H01BA02	1	,1
Betamethasone	H02AB01	30	1,6
Prednisone	H02AB07	5	,3
Levothyroxine	H03AA01	1	,1
Totale		37	2.0

Antibiotici

Amphenicols	J01BA	1	,1
Ampicillin	J01CA01	1	,1
Amoxicillin	J01CA04	565	30,2
Phenoxymethylpenicillin	J01CE02	24	1,3
Benzathine benzylpenicillin	J01CE08	1	,1
Amoxicillin+enzyme inhibitor	J01CR02	130	6,9
Cefuroxime	J01DA06	50	2,7
Cefaclor	J01DA08	119	6,4
Ceftriaxone	J01DA13	7	,4
Cefixime	J01DA23	10	,5
Cefpodoxime	J01DA33	10	,5
Ceftibuten	J01DA39	49	2,6
Sulfamethoxazole plus trimethoprim	J01EE01	6	,3
Erythromycin	J01FA01	25	1,3
Josamycin	J01FA07	1	,1
Clarithromycin	J01FA09	69	3,7
Azithromycin	J01FA10	31	1,7
Rokitamycin	J01FA12	26	1,4
Other antivirals	J05AX	2	,1
Totale		1127	60

Antineoplastici and immunomodulatori

Pidotimod	L03AX05	5	,3
Totale		5	0.3

Antiinfiammatori

Ketoprofen	M01AE03	12	,6
Flurbiprofen	M01AE09	3	,2
Nimesulide	M01AX17	5	,3
Morniflumate	M01AX22	25	1,3
Totale		45	2.1

SNC

Metamizole sodium	N02BB02	5	,3
Paracetamol	N02BE01	11	,6
Paracetamol plus codein	N02BE51	5	,3
Valproic acid	N03AG01	3	,2
Vigabatrin	N03AG04	1	,1
Niaprazine	N05CM16	2	,1
Oxtripitan	N06AX01	1	,1
Totale		28	1.7

Antiparassitari

Mebendazole	P02CA01	2	,1
Totale		2	0.1

Apparato respiratorio

Phenylephrine (nasal)	R01AA04	3	,2
Cromoglicic acid (nasal)	R01AC01	1	,1
Spaglumic acid (nasal)	R01AC05	1	,1

Corticosteroids (nasal)	R01AD	5	,3
Beclomethasone (nasal)	R01AD01	4	,2
Fluticasone (nasal)	R01AD08	1	,1
Fusafingine	R02AB03	2	,1
Salbutamol (inhalation)	R03AC02	90	4,8
Salbutamol combi (inhalation)	R03AK04	12	,6
Beclomethasone (inhalation)	R03BA01	147	7,9
Flunisolide (inhalation)	R03BA03	50	2,7
Cromoglicic acid (inhalation)	R03BC01	1	,1
Salbutamol (systemic)	R03CC02	4	,2
Clenbuterol (systemic)	R03CC13	1	,1
Adrenergics and other anti- asthmatics	R03CK	1	,1
Bromhexine	R05CB02	5	,3
Carbocisteine	R05CB03	5	,3
Mesna	R05CB05	3	,2
Ambroxol	R05CB06	9	,5
Sobrerol	R05CB07	1	,1
Tiopronin	R05CB12	7	,4
Codeine	R05DA04	1	,1
Combinations (opium alkaloids)	R05DA20	2	,1
Cough suppressants	R05DB	7	,4
Clobutinol	R05DB03	3	,2
Dropropizine	R05DB19	6	,3
Dimetindene	R06AB03	1	,1
Oxatomide	R06AE06	4	,2
Cetirizine	R06AE07	8	,4
Loratidine	R06AX13	3	,2
Ketotifen	R06AX17	1	,1
Totale		389	21.2

Organo specifici

Gentamicin (ophtalmological)	S01AA11	10	,5
Tobramycin (ophtalmological)	S01AA12	3	,2
Fisidic acid (ophtalmological)	S01AA13	1	,1
Combinations antibiotics (ophtalmological)	S01AA30	1	,1
Ofloxacin (ophtalmological)	S01AX11	2	,1
Norfloxacin (ophtalmological)	S01AX12	4	,2
Dexamethasone and anti-infectives (ophtalmological)	S01CA01	4	,2
Betamethasone and anti-infectives (ophtalmological)	S01CA05	1	,1
Hydrocortisone	S01CB03	7	,4
Antiinfectives, combinations (otological)	S02AA30	2	,1
Dexamethasone and antiinfectives (otological)	S02CA06	6	,3
Antiinfectives	S03AA	1	,1
Acetylcysteine	V03AB23	1	,1

Totale	43	2.4
Totale	1716	100.0

I codici non sono disponibili per 101 prescrizioni. In 55 casi i farmaci prescritti non avevamo un codice ATC.

1039 bambini hanno ricevuto almeno una prescrizione di antibiotico per un totale di 1127 prescrizioni. L'uso dell' antibioticoterapia non è risultato essere associato alla gravità della sintomatologia all' esordio espressa come numero di sintomi presenti. E' altresì associato alla presenza del vomito ($p < 0.03$) e, in senso negativo, alla mialgia ($p < 0.001$). L'85.5% dei bambini a cui è stato prescritto un antibiotico hanno ricevuto la prescrizione al momento della diagnosi (arruolamento nello studio), mentre il 5.6% dei bambini dopo 3 giorni dall'inizio dell' IRAf. La somministrazione combinata di più antibiotici è una evenienza rara e solamente 14 bambini hanno ricevuto due antibiotici. Gli antibiotici più frequentemente prescritti sono stati le penicilline (65%) e le cefalosporine (22%) (Tabella 20)

Tabella 20: Classi di antibiotici prescritti durante l' episodio di IRAf (prima e seconda scelta).

Tipo antibiotico	Prima scelta	%	Seconda scelta	Totale
Penicilline ad ampio spettro (J01CA)	543	51.6	10	553
Penicilline sensibili al beta-lattamasi (J01CE)	25	2.4	0	25
Penicilline resistenti ai beta-lattamasi (J01CR)	116	11.0	6	122
Macrolidi (J01FA)	129	12.3	11	140
Cefalosporine	234	22.2	4	238
Sulfamidici	6	0.5	0	6
Totale	1053	100	31	1084

In tabella 21 sono riportate le prescrizioni di antibiotico terapia per età.

Tabella 21: Antibiotico terapia per fasce di età

N° prescrizioni	ETA'			Total
	<1	1-9	10-14	
0	271 72,5%	1723 65,9%	209 82,9%	2203 68,0%
1	96 25,7%	833 31,8%	42 16,7%	971 30,0%
2	6 1,6%	52 2,0%	1 ,4%	59 1,8%
3	1 ,3%	7 ,3%		8 ,2%
6		1 ,0%		1 ,0%
Totale	374 100,0%	2616 100,0%	252 100,0%	3242 100,0%

214 bambini che hanno eseguito il tampone faringeo per la ricerca del virus influenzale sono stati trattati con antibiotici. Non esiste tuttavia una correlazione tra l'uso di antibiotici e la positività al tampone (Tabella 22). Tra i positivi (n=190), 45 bambini (23.6%) sono stati trattati con antibiotici, mentre il 34% di coloro che sono risultati negativi hanno ricevuto terapia antibiotica.

Non vi è alcuna differenza nella scelta dell' antibiotico tra i positivi e i negativi.

Tabella 22: Antibiotico terapia e risultato del tampone faringeo

Tipo di antibiotico	Tampone positivo	%	Tampone negativo	%
Penicilline ad ampio spettro(J01CA)	19	41.3	88	51.8
Penicilline sensibili al beta-lattamasi (J01CE)	1	2.2	7	4.1
Penicilline resistenti ai beta-lattamasi (J01CR)	6	13.0	23	13.5
Macrolidi (J01FA)	7	15.2	23	13.5
Cefalosporine	12	26.1	29	17.1
Sulfamidici	1	2.2	1	0.6
Totale	46		170	

11.0 Conclusioni

?? La coorte studiata per calcolare l'incidenza dell'IRA è formata da 16.760 bambini seguiti da 16 PLS nel Veneto. Nei bambini con IRA febbrile abbiamo studiato le caratteristiche della malattia, gli outcome e le prescrizioni effettuate.

Le informazioni relative ai casi di IRA seguiti dai PLS partecipanti sono state raccolte nel software JB 95, programma utilizzato di routine dai PLS partecipanti per la gestione dell' ambulatorio. Per quanto riguarda i casi di IRA febbrile è stato preparato uno speciale modulo informatico, consistente di due schede una per l'arruolamento e una di follow-up.

L' architettura del sistema, già sperimentata in precedenti lavori "Pedianet" si è confermata molto efficace. In particolare la facilità nella compilazione delle schede (pochi minuti) e la possibilità, utilizzando il database JB95, di raccogliere retrospettivamente le informazioni relative alle diagnosi e alle terapie dei pazienti visitati hanno garantito il successo di questo studio sia in termini quantitativi che qualitativi.

?? Nel periodo considerato, corrispondente al periodo classico di epidemia influenzale e di infezioni respiratorie, sono stati registrati 8301 (4132 senza febbre e 4135 con febbre) episodi di IRA in 5558 bambini (33.2%).

L'IRA è risultata essere una patologia molto frequente in età pediatrica e un terzo dei pazienti seguiti hanno sviluppato la sintomatologia caratteristica durante il periodo di studio. Sebbene non siamo ancora in grado di valutare il carico di lavoro attribuibile all'IRA svolto da ciascun PLS partecipante (stiamo raccogliendo le informazioni relative al numero di visite effettuate), possiamo facilmente ipotizzare che durante il periodo invernale la gran parte del lavoro svolto è rappresentato dall' assistenza a bambini con patologia respiratoria.

?? Per calcolare l'incidenza dell' IRA abbiamo utilizzato come denominatore non il numero totale di pazienti, ma il tempo di osservazione di ciascun paziente calcolato in relazione alla data di nascita di ciascun bambino.

L'incidenza di IRA che abbiamo osservato è stata di 3.67 casi per 1000 giorni/persona. Se consideriamo l'IRAf l'andamento è risultato costante nelle diverse settimane di studio con un aumento osservato dalla 2a alla 6a settimana di gennaio 2000. Tale

andamento è simile a quello osservato nel ambito della sorveglianza epidemiologica nazionale coordinata dall' Istituto Superiore di Sanità (Influnet).

L'incidenza di IRAf è risultata più elevata nei primi anni di vita (max a 3 anni; 3.55 per 1000g/p) con un decremento fino ai 5 anni da quando l'incidenza si è mantenuta costantemente < 1per 1000 g/p.

Abbiamo calcolato l'andamento dell'epidemia influenzale estrapolando i risultati della ricerca del virus influenzale nel tampone faringeo. Il picco di influenza da noi osservato è stato raggiunto nella quarta settimana di gennaio ed è molto simile a quello osservato nell studio ISS (10.8 verso 12.5; p=ns).

I nostri dati indicano che nel Veneto l'epidemia influenzale è durata circa 8 settimane.

?? Il 4.2% dei bambini seguiti presentava una patologia cronica di base. Nella maggior parte dei casi (55%) si trattava di asma bronchiale. In termini di sintomatologia all'esordio, di esiti, ricorrenze di IRA e di modalità prescrittive, i bambini con asma non si sono differenziati dalla popolazione studiata.

?? Solamente circa il 3% dei bambini con IRA è stato vaccinato. Questo può significare sia che la vaccinazione è molto efficace e che solamente una parte di bambini vaccinati si ammala oppure che la vaccinazione è effettivamente poco diffusa in età pediatrica.

La vaccinazione è significativamente più frequente nei bambini con asma (13.2% v 2.7%). Tuttavia, anche se non vi sono dati sull' efficacia della vaccinazione antiinfluenzale nei bambini asmatici, la copertura vaccinale osservata sembra essere notevolmente bassa. Non vi sono differenze in termini di assenze scolastiche o di giorni lavorativi persi dai genitori tra i non vaccinati e i vaccinati. Tuttavia l'impossibilità di sapere quanti sono i bambini vaccinati sulla popolazione totale dei pazienti seguiti, rende difficile qualsiasi estrapolazione dei dati relativi al vaccino antiinfluenzale.

?? 4017 (97%) dei 4135 bambini con IRA febbrile visitati, sono stati arruolati nello studio prospettico. L'elevatissima percentuale di pazienti seguiti conferma come in pediatria di famiglia sia possibile effettuare studi di coorte in grado di raccogliere importanti informazioni su casistiche molto ampie in tempi relativamente brevi.

?? La sintomatologia osservata è simile a quella già descritta in letteratura. Febbre > 38°C, tosse, corizza e inappetenza sono stati riscontrati in oltre il 65% dei bambini al momento della prima visita pediatrica. L'otalgia in presenza di otite o meno, è risultata essere presente nel 5% dei casi. Tosse, corizza e inappetenza sono significativamente più frequenti nei lattanti, mentre cefalea e faringodinia nei pazienti più grandi. Ciò è probabilmente dovuto al fatto che la sintomatologia soggettiva non è facilmente apprezzabile nei primi mesi di vita.

Contrariamente a quanto riportato in altri studi il vomito, la cefalea e la diarrea non sono frequenti nei bambini da noi studiati. Il fatto che il 13 % dei bambini con IRAf abbia avuto una temperatura < 38° C è probabilmente da correlarsi con il fatto che nello studio sono stati inclusi anche i bambini di età inferiore a 24 mesi con temperature >37.5° C.

45 bambini (1.2%) sono stati ricoverati in ospedale durante il periodo di follow up dell'IRAf. Il principale motivo del ricovero è stato nel 35% dei casi broncopolmonite. Gli accessi al Pronto soccorso sono stati ovviamente più frequenti dei ricoveri ospedalieri (3%), ma nella quasi totalità dei casi i pazienti sono stati dimessi dopo la visita.

?? Il protocollo prevedeva che al primo bambino visitato ogni giorno con IRAf venisse effettuato un tampone faringeo per la ricerca del virus influenzale. La ricerca è stata effettuata mediante l'utilizzo di un test rapido che utilizza una metodica immunoenzimatica (FLU OIA – BIOstar). L'esecuzione del test richiedeva un tempo teorico di 17 minuti con 7 "passaggi".

Il tampone è stato effettuato a 1455 bambini con IRAf e i risultati sono stati riportati in 1313 casi.

Nonostante l'elevato numero di test effettuati, questa metodica si è dimostrata macchinosa e complessa, utilizzabile solamente a fini di ricerca, ma non proponibile nella pratica clinica quotidiana. Il metodo di lettura dei risultati (valutazione controluce a occhio nudo della modalità di riflessione della luce) è molto poco specifico. Inoltre come dimostrato anche dal fatto che solo il 45% dei campioni è stato "testato" entro 30 minuti dal prelievo, il dover effettuare il test in ambulatorio risulta, nella pratica, molto complicato.

Una valutazione intermedia dei risultati del test effettuati nelle prime 3 settimane dello studio ci ha permesso di evidenziare come nel mese di novembre molti risultati negativi venissero interpretati come positivi. Questa osservazione ci ha indotto a eliminare dall'

analisi i tamponi effettuati nel primo mese di studio e di considerare solamente quelli effettuati dopo aver ridefinito con i partecipanti i criteri di lettura dei risultati del test.

Al di là delle considerazioni fin qui esposte, riteniamo che le informazioni che ci sono state fornite dall' utilizzo del tampone per la ricerca del virus influenzale, siano state molto importanti per la riuscita dello studio. Oltre ad averci dato la possibilità di stimare l'incidenza dell'influenza abbiamo infatti trovato una correlazione significativa tra numero di sintomi presenti all' esordio e tampone positivo. Inoltre la positività al tampone è associata ad una maggiore durata della febbre. Pertanto, sebbene la specificità del test utilizzato sia del 90% e la sensibilità del 85%, riteniamo di poter affermare che l'influenza sembra associarsi ad un quadro clinico più grave rispetto alle altre forme di IRA febbrile a patogenesi non da virus Influenzale.

?? La maggior parte (57.6%) dei bambini con IRA non ha ricevuto alcuna prescrizione farmaceutica di farmaci in fascia A o B. I farmaci di fascia C, che includono anche il paracetamolo non sono stati registrati in quanto non richiedono la ricetta da parte del pediatra.

1607 farmaci di fascia A o B sono stati prescritti a 1275 bambini durante il periodo dello studio. La prescrizione è risultata più frequente nel primo anno di vita, mentre non è risultata associata alla gravità della sintomatologia all' esordio o alla positività al tampone faringeo.

I farmaci più frequentemente prescritti sono stati gli antibiotici (1139/1607; 71%) con cui è stato trattato il 32% dei bambini arruolati. Nell' 85.5% dei casi l'antibiotico è stato prescritto al momento della diagnosi. La prescrizione di un antibiotico non è significativamente associata alla positività al tampone anche se la percentuale dei bambini "positivi" trattati è inferiore a quella dei "negativi" trattati (23.6% v 34%).

Questi dati confermano che almeno nella regione Veneto la maggior parte dei bambini con IRAf non riceve alcun antibiotico terapia. Esiste la possibilità che il PLS abbia prescritto la terapia antibiotica "al bisogno" e che questa non sia stata poi effettivamente assunta, tuttavia riteniamo che tale evenienza sia controbilanciata dalla possibilità che l'antibiotico "presente in casa" sia stato assunto senza essere effettivamente prescritto.

Anche se non significativo (per la bassa numerosità del campione), il minor uso dell' antibiotico nei pazienti con tampone positivo per l'influenza sembrerebbe suggerire che

un test rapido potrebbe ulteriormente ridurre l'uso non appropriato dell'antibiotico nei bambini con IRA febbrile.

?? L' 85% dei bambini studiati di età superiore ai 3 anni ha perso almeno un giorno di scuola per un totale di circa 14.000 giornate di scuola perse. Due terzi di questi bambini sono stati a casa per almeno 5 giorni. Tale percentuale si avvicina al 90% se si considerano solamente i bambini di età superiore ai 6 anni. Questo dato conferma come l'IRA sia una patologia molto importante in età pediatrica e una delle cause principali di assenza da scuola.

“Solamente” l'11% dei genitori ha perso almeno una giornata di lavoro per assistere il figlio malato. Tale percentuale è più bassa rispetto ad altre casistiche USA e nordeuropee e riflette probabilmente il fatto che in Italia esiste una famiglia allargata che è in grado di prendersi cura del bambino permettendo ai genitori di continuare a lavorare. Curiosamente tale percentuale è simile a quella osservata nello studio sulla varicella.

12.0 Pubblicazioni

Barker WH, Mullooly JP. Pneumonia and influenza deaths during epidemics: implications for prevention. *Arch Intern Med* 1982; 142: 85-89.

Simonsen L., Clarke MJ, Williamson GD, Stroup DF, Arden NH, Schonberger LB. The impact of influenza epidemics on mortality: introducing a severity index. *Am J Public Health* 1997; 87: 1944-50.

Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev* 1992; 56: 152-79.

Wright PF, Ross KB, Thompson J, Karzon DT. Influenza A infections in young children. *N Engl J Med* 1977; 296: 829-34.

Kerr AA, Downham MAPS, McQuillin J, Gardner PS. Gastric 'flu influenza B causing abdominal symptoms in children. *Lancet* 1957; i: 291-5.

Price DA, Postlethwaite RJ, Longson M. Influenzavirus A2 infections presenting with febrile convulsions and gastrointestinal symptoms in young children. *Clin Pediatr* 1976; 15: 362-67.

Paisley JW, Bruhn FW, Lauer BA, McIntosh K. Type A2 influenza viral infections in children. *Am J Dis Child* 1978; 132: 34-36.

Bennett NMck. Diagnosis of influenza. *Med J Aust* 1973; i: 19-22.

Dagan R, Hall CB. Influenza A virus infection imitating bacterial sepsis in early infancy. *Pediatr Infect Dis J* 1984; 3: 218-21.

Sanders DY, Carroll NB, Jeffreys LU, Vick SS. Outbreak of influenza A2 (Hong Kong strain) in a children's home. *South Med J* 1970; 63: 413-16.

Ryan Poirier KA. Influenza virus infection in children. *Adv Pediatr Infect Dis* 1995; 10:125-56.

Carilli AD, Gohd RS, Gordon W. A virologic study of chronic bronchitis. *N Engl J Med* 1964; 270: 123-27

Ferson MJ, Morton JR, Robertson PW. Impact of influenza on morbidity in children with cystic fibrosis. *J Paediatr Child Health* 1991; 27: 308-11.

Minor ME, Dick EC, Baker JW, Ouellette JJ, Cohen M, Reed CE. Rhinovirus and influenza A infections as precipitants of asthma. *Am Rev Respir Dis* 1976; 113: 149-53.

MacDonald KL, Osterholm MT, Hedberg CW, et al. Toxic shock syndrome: a newly recognized complication of influenza and influenza-like illness. *JAMA* 1987; 257: 1053-58.

Stockton J, Ellis JS, Saville M, Clewley JP, Zambon MC. Multiplex PCR for typing and subtyping influenza and respiratory syncytial viruses. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2990-95.

Nichol KL, Margolis KL, Wuorenma J, Von Sternberg T. The efficacy and cost effectiveness of vaccination against influenza among elderly persons living in the community. *N Engl J Med* 1994; 331: 778-84.

Belshe RB, Mendelman PM, Treanor J, et al. The efficacy of live attenuated, cold-adapted, trivalent, intranasal influenzavirus vaccine in children. *N Engl J Med* 1998; 338: 1405-12.

Hayden FG, Osterhaus ADME, Treanor JJ, et al. Efficacy and safety of the neuraminidase inhibitor zanamivir in the treatment of influenzavirus infections. *N Engl J Med* 1997; 337: 874-80.

Monto AS, Fleming DM, Henry D, et al. Efficacy and safety of the neuraminidase inhibitor zanamivir in the treatment of influenza A and B virus infections. *J Infect Dis* 1999; 180: 254-61.

Gubareva LV, Matrosovich MN, Brenner MK, Bethell RC, Webster RG. Evidence for zanamivir resistance in an immunocompromised child infected with influenza B virus. *J Infect Dis* 1998; 178: 1257-62.

Sullivan KM. Health impact of influenza in the United States. *Pharmacoeconomics* 1996; 9: (suppl 6A): 26-33.

Centers for Disease Control and Prevention. Prevention and control of influenza: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1998; 47 (RR-6): 1-26.

Nicholson KG. Use of antivirals in influenza in the elderly: prophylaxis and therapy. *Gerontology* 1996; 42: 280-289.

von Itzstein M, Wu WY, Kok GB, et al. Rational design of potent sialidase-based inhibitors of influenza virus replication. *Nature* 1993; 363:418-23.

Management of Influenza in the Southern Hemisphere Trialists Study Group. Randomised trial of efficacy and safety on inhaled zanamivir in treatment of influenza A and B virus infections. *Lancet* 1998; 352: 1877-81.

Salmaso St, Bella A, D'Ancona F, De Mei B, Mandolini D et al. La sorveglianza dell'influenza: il sistema di sorveglianza sentinella dell'influenza basata su medici di medicina generale e pediatri di libera scelta (Flu-Iss). Notiziario ISS 2000; 13: 1-4.

Allegato 1: Scheda di arruolamento e di follow up.

Scheda di arruolamento di Junior Bit

Malattie croniche NO SI

Vaccinazione antiinfluenzale NO SI NC

Sintomatologia presente

Febbre NO SI
se SI, indicate temperatura < 38° 38° - 39° > 39°

Tosse	<input type="radio"/> NO <input type="radio"/> SI	Faringodinia	<input type="radio"/> NO <input type="radio"/> SI
Brividi	<input type="radio"/> NO <input type="radio"/> SI	Raucedine	<input type="radio"/> NO <input type="radio"/> SI
Cefalea	<input type="radio"/> NO <input type="radio"/> SI	Vomito	<input type="radio"/> NO <input type="radio"/> SI
Inappetenza	<input type="radio"/> NO <input type="radio"/> SI	Diarrea	<input type="radio"/> NO <input type="radio"/> SI
Corizza	<input type="radio"/> NO <input type="radio"/> SI	Convulsioni	<input type="radio"/> NO <input type="radio"/> SI
Mialgia	<input type="radio"/> NO <input type="radio"/> SI	Dolore addominale	<input type="radio"/> NO <input type="radio"/> SI

Altro (specificare)

Tampone faringeo NO SI
se SI, sede del prelievo Ambulat. A domicilio
Tempo tra il prelievo e il test < 30 min. 30 min. - 2 h. 2 - 4 h. 4 - 8 h. > 8 h.
Risultato Positivo Negativo Indeterminato

Salva la scheda Annulla compilazione

v.1.5

Scheda di chiusura di Junior Bit

Episodio iniziale in data 07 07 2000

Durata febbre (in giorni)

Durante l'episodio di IRA si sono mai verificati:

Ricoveri in ospedale NO SI se SI, numero di giorni
Diagnosi

Accessi al P.S. NO SI se SI, numero accessi

Giorni di scuola persi NO SI se SI, numero di giorni

Assenza dal lavoro genitori NO SI se SI, numero di giorni

Salva la scheda Annulla compilazione

v.1.5

Allegato 2: Informazioni sul kit FLU OIA (BIOSTAR) per la ricerca del virus influenzale.

FLU OIA®

**An Enhanced
for the Rapid Detection
of Influenza A and B**

**For *in vitro*
Diagnostic Use Only**

**30 Test Kit
Catalogue No. FLU30**

Intended Use

The BioStar® FLU OIA® assay is an Optical ImmunoAssay (OIA) test for the qualitative, rapid detection of influenza A and B viral antigen (nucleoprotein) from nasal aspirate, nasopharyngeal swabs, throat swabs or sputum specimens. This test is intended for *in vitro* diagnostic use to aid in the diagnosis of influenza A and B viral infections. The FLU OIA test is not intended to detect influenza C. Negative test results should be confirmed by cell culture.

Summary and Explanation

Influenza is an acute, febrile viral illness caused by infection with influenza type A or B. Influenza is a communicable disease that is easily transmitted through the coughing and sneezing of aerosolized droplets containing live virus. The onset of symptoms is abrupt, occurring one to two days after exposure. Symptoms may include fever of 101° to 106°F (38.3° to 41.1°C), chills, headaches, respiratory dry cough, nasal drainage, malaise, and muscle aches. Influenza infections are usually self-limited with symptoms lasting several days.¹ Historically, influenza has caused epidemics about every one to three years for the last 400 years.¹ Worldwide cases are estimated at 350 million per year. Epidemiologically, influenza type A predominates over type B, which for most years appears infrequently. Important features are the epidemic nature of the disease, the morbidity (complications), and the mortality associated with patients at higher risk for infection, i.e., elderly persons and persons with underlying health problems.² Because the proportion of elderly persons is increasing, the number of influenza-associated deaths can be expected to increase. Early diagnosis may play a significant role toward improved management of patients at high risk for developing influenza-related complications. Antibiotics are frequently empirically prescribed for ambulatory patients complaining of upper respiratory infections, colds, and bronchitis.¹ The majority of the time, these infections are of a viral origin and do not require antibiotic therapy.¹ A rapid test for the detection of influenza A and B in a point-of-care setting is of value as a physician aid in avoiding empirical therapy or prescribing appropriate therapy. Conventional culture methods require special transport to ensure viability and require days for results. The FLU OIA test is a rapid method for the detection of influenza types A and B viral antigen (nucleoprotein) from clinical specimens. Viable virus is not required for the detection of influenza A or B antigen with this test.

Principle of the Test

The FLU OIA test involves the extraction and detection of a protein antigen unique to influenza A or B (nucleoprotein). The Optical ImmunoAssay technology enables the direct visual detection of a physical change in the optical thickness of molecular thin films. This change is a result of antigen-antibody binding on an optical surface (silicon wafer). When extracted specimen is placed directly on the optical surface, the immobilized specific antibodies capture the antigen. After washing, the substrate is added, increasing the thickness (Mass Enhancement) of the molecular thin film. This change in thickness alters the reflected light path and is visually perceived as a color change. Slight changes in optical thickness produce a distinct visible color change. A positive result appears as a purple spot on the predominant gold background. When antigen is not present in the specimen, no binding takes place. Therefore, the optical thickness remains unchanged and the surface retains the original gold color indicating a negative result (Figure 1).

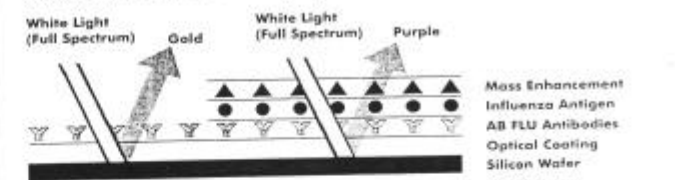


Figure 1. Illustrative side view of the test surface showing the change in optical path due to the immunological reaction of a positive specimen.

Reagents and Materials Provided

Sample Diluent	0.85% NaCl in 0.1% ProClin 300® preservative. Refrigerate or store at room temperature (2° to 30°C)	4 l ml
Reagent 1	Specimen Extraction Reagent: pH 7.0 buffer solution containing surfactant and reducing agent. Preserved with 0.1% ProClin 300 preservative. Refrigerate at 2° to 8°C	4 l ml
Reagent 2	Conjugate: pH 7.2 buffer solution containing surfactant, stabilizing proteins, 0.5% ProClin 300 preservative, and anti-influenza A and B antibodies (mouse) each conjugated to Horseradish Peroxidase (HRP). Refrigerate at 2° to 8°C	1.2 ml
Wash	Wash Solution: pH 7.2 phosphate buffer containing surfactant, 0.1% ProClin 300 preservative. Refrigerate or store at room temperature (2° to 30°C)	125 ml
Substrate	Substrate: pH 5.5 aqueous solution of tetramethylbenzidine (TMB) and hydrogen peroxide. Refrigerate at 2° to 8°C	2.0 ml
Positive Control	Formaldehyde-inactivated influenza A virus [A/Hong Kong/08 (H3N2)] suspension in a buffered protein solution, 0.03% Microcide II® preservative. Refrigerate at 2° to 8°C	0.7 ml
Negative Control	Buffered protein solution, 0.03% Microcide II preservative. Refrigerate at 2° to 8°C	0.7 ml
Extraction Tubes	Refrigerate or store at room temperature (2° to 30°C)	30 ea
Test Devices	Surface coated with a mixture of anti-influenza A and B antibodies (mouse). Refrigerate or store at room temperature (2° to 30°C)	30 ea
Transfer Pipettes	Refrigerate or store at room temperature (2° to 30°C)	30 ea
Swabs	Sterile rayon swabs	30 ea



FLU OIA[®]

Materials Required but not Provided

Accessories for collection of nasal aspirate, sputum, or nasopharyngeal specimens. Stop watch or timer.

Storage and Stability

Upon receipt, the FLU OIA kit should be stored refrigerated at 2° to 8°C, or as indicated on page 1. For user convenience, the Reagent tray may be stored at room temperature (18° to 30°C) for up to 12 hours, and then returned to refrigeration after use. As indicated under **Reagents and Materials Provided**, the Extraction Tubes, Buffered Wash Solution, and Test Devices may be stored at room temperature for convenience. If the materials and reagents are stored and handled properly, they are stable until the expiration date printed on the kit box label. If Substrate Reagent changes to a blue color, do not use. Reagents should be stored at the recommended temperature to ensure the materials remain stable until the expiration date.

Precautions

The FLU OIA test is intended for in vitro diagnostic use.

1. General Precautions

- Reagents are not interchangeable between kits.
 - Do not interchange caps among reagents as contamination may occur and compromise the test results.
 - Avoid contact of reagent bottle tips with any test or specimen.
 - The Positive Control contains formaldehyde-inactivated influenza virus (A/Hang Kong/68). Although this material has undergone inactivation, it should be treated as if capable of transmitting disease and should be disposed of accordingly.
 - For proper drop delivery, reagent bottles must be held vertically and reagents dispensed slowly as free-falling drops.
 - As with all chemicals, avoid contact with skin and eyes.
- A new Transfer Pipette should be used for each specimen and test. Do not reuse Test Devices.
 - Care should be taken not to touch the test surface or subject it to abrasion. This may cause damage to the test surface resulting in difficult test interpretation.
 - All patient specimens should be handled as though they are capable of transmitting disease. Use universal precautions specified in the OSHA Bloodborne Pathogen Rule, December, 1991. Observe established precautions against microbiological hazard throughout all procedures and dispose of specimens and extraction tubes in biohazard containers in accordance with Federal, State, and local regulations. Use of protective gloves is recommended. Washing hands thoroughly after performing the test is recommended.
 - Do not use throat swabs to collect nasopharyngeal specimens.
 - Performing the assay outside the time ranges provided can produce invalid results. Assays not falling within the time ranges should be repeated.

Specimen Collection, Preparation, and Storage

Proper collection technique is critical for the identification of influenza A or B in clinical specimens. Swabs with wooden shafts, calcium alginate, Culturette[®] EZ™ swabs, or cotton tips may interfere with the test results and should not be used for specimen collection. Using a swab not recommended by the manufacturer will require user validation. Personnel collecting specimens must be properly trained. Recommended procedures for specimen collection follows.

- Throat Swabs:** Vigorously rub a rayon throat swab on both tonsillar surfaces and the posterior pharynx. Remove swab from mouth and insert, tip down, into paper wrapper.
- Nasopharyngeal swabs:** Insert a Dacron[®] nasopharyngeal swab beneath the inferior turbinate of either nare and vigorously rub and roll against the mucosal surface. Remove swab from nose and insert, tip down, into paper wrapper.
- Nasal aspirates:** Insert a depressed bulb syringe deeply into either nare and suction while withdrawing. Expel collected specimen into a sterile cup.
- Sputum:** Obtain sputum by deep cough either spontaneously or following mechanical induction using a throat swab. Collect specimen in a sterile cup.

For specimens collected in a sterile cup such as sputum or nasal aspirate, a rayon swab should be used to thoroughly mix and absorb the specimen; then follow the FLU OIA test procedure. Throat or nasopharyngeal swab specimens should be tested directly, following the test procedure. If a viral culture is also desired, obtain FLU OIA specimens first and then follow your laboratory's viral culture procedure. **Viral transport media will dilute the specimen and should not be used prior to performing the FLU OIA test. The use of semi-solid, charcoal based, Stuarts, or Amies bacterial transport media are not recommended as they may interfere with assay performance.** All specimens may be stored refrigerated (2° to 8°C) for up to 24 hours prior to test performance.

Test Procedure

Remove reagents from refrigerated storage and allow to warm to room temperature (18° to 30°C). Store Wash at room temperature after opening kit. If stored refrigerated, Wash will take up to 2 hours to warm to room temperature.

Antigen Extraction Procedure

Remove one Extraction Tube for each specimen to be tested and place it upright in a rack or holder. Label Extraction Tubes and Test Devices with appropriate patient information. Place Test Devices on a level surface while the assay is being performed.

- Add 3 drops of Sample Diluent and 2 drops of Reagent 1 into the Extraction Tube.
- Immediately add the patient's specimen swab to the Extraction Tube. Thoroughly mix the solution with the swab so that the liquid migrates into the fiber tip. Wait at least 3 but no more than 5 minutes.

- Hold the swab shaft to the side of Extraction Tube while adding 1 drop of Reagent 2. Use swab to thoroughly mix reagents. Squeeze sides of the flexible tube and twist the shaft as the swab is withdrawn, expressing as much liquid as possible into the Extraction Tube. Discard the swab.

Assay Procedure

- Use a clean Transfer Pipette to place 1 drop of the extracted sample directly onto the center of the test surface. Wait at least 6 but no more than 7 minutes.
- Wash the test surface vigorously with Wash Solution, taking care not to exceed the capacity of the absorbent material surrounding the test surface.
Note: Vigorous washing will aid in obtaining a clean test surface. Insufficient washing may leave debris that may result in a faint ring surrounding the internal control dot. This ring effect should not be interpreted as a positive result due to lack of color shading within the ring area.
- Confirm that the blotter in the Test Device lid is in position I. Close the Test Device at the corners. Leave closed for 10 seconds to remove residual moisture from the test surface.
- Open the lid, change blotter to position II, and apply 1 drop of Substrate centrally on the test surface. Wait at least 6 but no more than 7 minutes.
Note: Do not cover entire test surface with Substrate. The unreacted areas surrounding the reaction circle serves as a negative surface control and as a reference for comparing signal intensity.
- Repeat Step #2, washing the test surface. Close the Test Device at the corners. Leave closed for 10 seconds. Open and examine for color change.
See Interpretation of Test Results.

Interpretation of Test Results

Upon completion, each test surface should be examined under a bright light source. The light must be reflected off the test surface to observe the test results. An internal control dot should be present on each test surface. It appears as a small blue/purple dot in the center of the test surface upon completion of each test. A negative test result will show only the internal control dot. A positive test result will show the internal control dot within the reaction circle. With very strong positive results, the internal control dot may be less apparent within the reaction circle.

A positive result should be reported as positive for the presence of influenza A/B antigen. A negative result should be reported as a presumptive negative for the presence of influenza A/B antigen.

Positive or Weak Positive Result

Solid blue/purple colored reaction circle of any intensity appears surrounding the internal control dot.



Strong Pos



Weak Pos

Negative Result

No blue/purple colored reaction circle of any intensity appears on the test surface. The internal control dot is in the center of the test surface. Insufficient washing of the test surface may leave debris which may result in the appearance of a faint ring surrounding the internal procedure control dot. This ring effect should not be interpreted as a positive result due to the lack of color shading within the ring area.



Negative

Invalid Result

No blue/purple internal control dot or a solid blue/purple color over entire Test Device surface. If an invalid result occurs, repeat the procedure following the instructions carefully. If the internal control dot still does not appear, call BioStar at 303.530.3888 or FAX us at 303.530.6601 (U.S.) or 303.530.6627 (EU S.).



Invalid



Invalid

Quality Control

Quality Control procedures are designed to monitor reagent performance. The Negative and Positive Controls are intended to monitor for substantial reagent failure. The Positive Control will not ensure precision at the assay cutoff. Built-in control features are described below and should be observed for each test performed. Included in the kit are Positive and Negative Control suspensions that may be utilized to monitor correct procedural technique, antigen extraction, reagent integrity, and correct interpretation of endpoints. As with any control feature or product, patient results should not be reported if control results fail to yield the expected results. Additional controls may be tested according to guidelines or requirements of local, state, and/or federal regulations or accrediting organizations. For general QC guidance, the user may wish to refer to NCCIS C24A.

Built-in Control Features

Internal Control: Each Test Device has a built-in antigen control (Internal Control), which appears as a small blue/purple dot in the center of each test surface following the completion of a test. The Internal Control, inactivated influenza B virus, serves as a reagent check for the conjugate and capture antibody. The absence of the Internal Control indicates an invalid test and test results should not be reported.
See Remedial Actions.

Test Surface Control and Reference Check: The unreacted gold test surface surrounding the internal control and test area contrasts with a positive reaction and therefore serves as a background reference for interpreting reaction color. Because the internal control and background reference are run with every patient sample, it is BioStar's recommendation to document the results of these controls for each sample performed (Quality Control Log Sheets are available upon request from BioStar).

End Result Integrity Feature: Upon completion of the test procedure, test results may be interpreted conveniently at any time. Test results do not fade, disappear, or become stronger with time. A completed Test Device may be considered a permanent record. If a Test Device is to be saved for reference, remove the blotting material in the lid and dispose of it in a biohazard container. This will prevent scratching of the test surface. The device should be closed for storage.

External Controls: Additionally, Positive and Negative Controls may be used to monitor the antigen extraction process, performance of the test reagents, and procedure technique. The Positive Control contains inactivated Influenza A virus. The Negative Control contains a protein solution. Users may wish to generate control material in alternative matrices. To use the Controls, thoroughly mix the contents by inverting 7-10 times. After adding Sample Diluent and Reagent 1 to the Extraction Tube (Step 2 of the Antigen Extraction Procedure), place 1 drop of Positive or Negative Control into Extraction Tube, or apply 1-2 drops to a clean swab and then proceed with extraction protocol in the same manner as with a patient specimen. The Positive Control should yield a positive result and the Negative Control should yield a negative result. If the expected results are not obtained, patient results should not be reported. See Remedial Actions.

The Positive Control checks the extraction process and assures detectability of influenza A. The procedural control dot assures detectability of influenza B.

Remedial Actions

When internal or external controls fail to meet the requirements for a valid test (See Interpretation of Test Results), the patient results should be considered invalid and not reported. Each laboratory should evaluate and perform remedial actions according to their established quality assurance program prior to reporting patient results. If invalid results are obtained a second time, contact BioStar Technical Services at 1-800-637-3717 (U.S.) or 303-530-3888 (Ex-U.S.).

Limitations

As with other diagnostic procedures, the results obtained with this test should be used as an adjunct to clinical observations and other information available to the physician. The following considerations are important to obtaining reliable results:

- As with other diagnostic tests, reliable results are dependent on adequate specimen collection and good sampling technique.
- Negative results can occur from inadequate sample collection or levels of antigen which fall below the limits of detection of the test.
- Because antigen detection methods do not require organism viability, the FLU OIA test may produce a positive result in the absence of living organisms.
- Negative FLU OIA test results are not intended to rule out other non-influenza viral infections.
- The potential for interference from medications such as anti-virals, anti-microbials, interferon, intranasal steroids, and anti-asthmatics has not been established.
- Assay performance was established by testing performed by individuals that included at least one registered nurse, medical technologist, nursing student and college graduate.

Expected Results

The attack rate for influenza in a given season may vary from year to year; however, rates during outbreaks may be as high as 10% to 40% over a six week period.¹ In contrast to influenza type A, the appearance of influenza type B virus in outbreaks in the U.S. is intermittent. Epidemiological patterns of influenza type B between 1979 and 1989 showed a prevalence range of 2% to 95% of all isolates identified.² In the single season of September 1996 to April 1997, influenza type B prevalence ranged 0% to 88% of isolates identified on a monthly basis. The influenza prevalence for the FLU OIA study was 40.2% for type A and 9.8% for type B.

Performance Characteristics

The performance of the FLU OIA assay was compared to conventional methods for influenza culture in an evaluation of clinical specimens. During the 1998 influenza season, a three-site study was conducted in adult and pediatric patient populations from physician offices, emergency rooms, and health clinics located in the Rocky Mountain (Site 1), Midwest (Site 2), and Southwestern (Site 3) regions. In a three-site study to compare the FLU OIA assay with culture, any combination of dual throat and dual nasopharyngeal swabs, nasal aspirate and sputum specimens were collected from 184 individuals exhibiting influenza-like symptoms. Specimens were transported in the original swab containers or in sterile disposable tubes, or cups. Viral transport media was added to all specimens intended for culture transport. Specimens were stored at 2° to 8°C for up to 24 hours until tested with the FLU OIA assay or cultured.

Results: The following results are pooled from both clinical laboratory and Point of Care (POC) testing sites. A total of 404 specimens were tested on 184 patients. The influenza prevalence rate by site, as determined by confirmed culture from any specimen type, was 56.1% at Site 1, 56.9% at Site 2, and 41.0% at Site 3.

79 Nasal Aspirates

Test Method	POS	NEG	QNS
Culture	43	36	n/a
OIA	49	30	n/a
DFA	21	26	32

112 Throat Swabs

Test Method	POS	NEG	QNS
Culture	29	83	n/a

143 Nasopharyngeal Swabs

Test Method	POS	NEG	QNS
Culture	42	101	n/a
OIA	59	84	n/a
DFA	12	28	103

70 Sputum Specimens

Test Method	POS	NEG	QNS
Culture	37	33	n/a

Of the 32 FLU OIA positive, culture negative specimens tested by RT-PCR, 21 were positive by RT-PCR, indicating that influenza viral nucleic acid was present in those specimens. Refer to the following tables and charts for detailed smear DFA and RT-PCR results. **NOTE:** 95% CI = 95% Confidence Interval.

		OIA		Nasal Aspirate Specimens (n=79)	
		+	-		
14 day culture	+	38	5	Sensitivity 88.4% (38/43) (95% CI 74.9-96.1%)	
	-	11*	25		Specificity 69.4% (25/36) (95% CI 51.9-83.7%)

* Of six specimens available for testing by DFA and/or RT-PCR, four were positive. Two were positive by DFA. Two additional specimens were positive by RT-PCR indicating the presence of viral nucleic acid.

		OIA		Nasopharyngeal Swab Specimens (n=143)	
		+	-		
14 day culture	+	35	7	Sensitivity 83.3% (35/42) (95% CI 69.4-93.0%)	
	-	24*	77		Specificity 76.2% (77/101) (95% CI 66.7-84.1%)

* Of thirteen specimens available for testing by DFA and/or RT-PCR, nine were positive. One was positive by DFA and RT-PCR. Eight were positive by RT-PCR only, indicating the presence of viral nucleic acid.

		OIA		Throat Swab Specimens (n=112)	
		+	-		
14 day culture	+	18	11	Sensitivity 62.1% (18/29) (95% CI 42.3-79.3%)	
	-	17*	66		Specificity 79.5% (66/83) (95% CI 67.3-87.6%)

* Of twelve specimens available for testing by DFA and/or RT-PCR, four were positive. One was positive by DFA and RT-PCR. Three were positive by RT-PCR only, indicating the presence of viral nucleic acid.

		OIA		Sputum Specimens (n=70)	
		+	-		
14 day culture	+	30	7	Sensitivity 81.1% (30/37) (95% CI 64.8-91.0%)	
	-	16*	17		Specificity 51.5% (17/33) (95% CI 33.5-69.2%)

* Of fifteen specimens available for testing by DFA and/or RT-PCR, seven were positive. One was positive by DFA. One was positive by DFA and RT-PCR. Five were positive by RT-PCR only, indicating the presence of viral nucleic acid.

Point of Care Results

The following table summarizes the performance of the FLU OIA test in the Point of Care setting. Assay performance was established in a physician's office laboratory (POL) in the Rocky Mountain area and in an emergency room in the Midwest. The testing was performed by RNs at the POL, and by RNs and a nursing student at the emergency room.

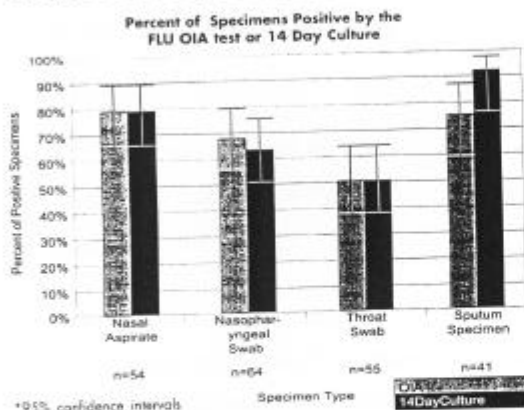
Sample Type		Point of Care	95% CI
Nasal Aspirate (n=42)	Sensitivity	90.0% (18/20)	68.3-98.8%
	Specificity	63.6% (14/22)	40.7-82.8%
Nasopharyngeal Swab (n=61)	Sensitivity	95.5% (21/22)	77.2-99.9%
	Specificity	64.1% (25/39)	47.2-78.8%
Throat Swab (n=64)	Sensitivity	80.0% (16/20)	56.3-94.3%
	Specificity	70.5% (31/44)	54.8-83.2%
Sputum (n=29)	Sensitivity	73.7% (14/19)	48.8-90.9%
	Specificity	40.0% (4/10)	12.2-73.8%

Reference Methods

Cell Culture Method: A portion of the specimen was inoculated into Rhesus Monkey Kidney (RMK) cells and tested for hemadsorption of red blood cells, as well as the appearance of cytopathic effects (CPE). Infected cells were recovered from tissue culture and confirmed for influenza A or B by direct fluorescent antibody (DFA) staining. Specimens not exhibiting hemadsorption or CPE were stained after 14 days of culture for a negative confirmation by DFA.

Smear DFA Method: Specimens were also tested for influenza by conventional procedures for smear DFA. A portion of the cell culture specimen was centrifuged and washed with saline. Specimens were confirmed by staining slides with antibodies specific for influenza A and influenza B.

RT-PCR Method: Of the 68 specimens that were FLU OIA positive, culture negative, 21 were available for RT-PCR (Reverse Transcriptase Polymerase Chain



Multiple specimens were collected from most patients. Patients were considered positive for influenza if at least one specimen type, out of a possible four collected specimen types, was culture positive. For each specimen type, the above plot shows the percent of results positive by OIA (left bar) or viral culture (right bar). These percentages were determined by dividing the number of OIA positives or culture positives for a given specimen type by n, where n = the total number of specimens positive or negative.

Analytical Specificity and Cross Reactivity

To determine the analytical specificity of the FLU OIA test, organisms from the following bacterial panel were grown in culture and tested at a concentration of at least 1×10^7 organisms per test. Cell density or viral titer was confirmed by plating an aliquot of suspension, growing the organism and counting the number of colonies or plaques formed. Viruses from the viral panel were grown in culture to a titer between 1×10^6 to 1×10^{10} TCID₅₀/ml and tested. Egg-grown influenza C virus tested at a hemagglutination (HA) titer of 1:128. None of the organisms nor viruses listed below gave a positive result in the FLU OIA test.

Bacterial Panel

- | | |
|------------------------------|---------------------------------------|
| Acinetobacter calcoaceticus | Neisseria meningitidis |
| Bacteroides fragilis | Neisseria mucosa |
| Bordetella pertussis | Neisseria sicca |
| Candida albicans | Neisseria subflava |
| Chlamydia trachomatis LGV-2 | Proteus mirabilis |
| Corynebacterium diphtheriae | Proteus vulgaris |
| Enterococcus | Pseudomonas aeruginosa |
| Enterococcus faecalis | Salmonella choleraesuis sub minnesota |
| Enterococcus gallinarum | Serratia marcescens |
| Escherichia coli | Staphylococcus aureus |
| Gardnerella vaginalis | Staphylococcus aureus (Cowen I) |
| Haemophilus aphrophilus | Staphylococcus epidermidis |
| Haemophilus influenzae | Stomatococcus meningolyticus |
| Haemophilus parainfluenzae | Streptococcus group A |
| Haemophilus paraprofitus | Streptococcus group A (mucoid) |
| Klebsiella pneumoniae | Streptococcus group B |
| Lactobacillus casei | Streptococcus group C |
| Lactobacillus fermentum | Streptococcus group D |
| Lactobacillus plantarum | Streptococcus group F |
| Legionella pneumophila | Streptococcus group G |
| Listeria monocytogenes | Streptococcus viridans |
| Moraxella catarrhalis | Streptococcus mutans |
| Mycobacterium avium | Streptococcus pneumoniae |
| Mycobacterium intracellulare | Streptococcus sanguis |
| Mycobacterium tuberculosis | Tarulisopsis glabrata |
| Neisseria gonorrhoeae | |

Viral Panel

- | | |
|--|------------------------------------|
| Adenovirus Type 5 (Adenoid 75) | Influenza C/Taylor/1233/47 |
| Adenovirus Type 7A (S-1058) | Measles virus (Edmonston) |
| Coronavirus Type 229E (229E) | Parainfluenza virus Type 1 (VP1) |
| Coxsackievirus Type A9 (Gaggit) | Parainfluenza virus Type 2 (Green) |
| Coxsackievirus Type A21 (Kuykendall) | Parainfluenza virus Type 3 (C243) |
| Coxsackievirus Type B5 (Faulkner) | Rhinovirus Type 2 (HGP) |
| Cytomegalovirus AD-169 (AD-169 Strain) | Rhinovirus Type 16 (I-CV15) |
| Echovirus Type 11 (Gregory) | RSV (Lang Strain) |
| HSV Type 1 (Maya Strain) | Varicello-zoster virus (VZ-10) |
| HSV Type 2 (MS Strain) | |

Analytical Sensitivity

The analytical sensitivity was evaluated using 11 influenza strains, 7 influenza A and 4 influenza B strains. Duplicate dilutions of each viral strain were prepared in phosphate buffered saline and tested according to the FLU OIA Test Procedure. Viral detection limit tested in the FLU OIA test (TCID₅₀/test) was determined by inoculating dilutions in cell culture to estimate TCID₅₀.

Viral Strain	Viral Type	Detection Limit
Hong Kong/68 H3N2	A	2.6 x 10 ⁶
Shangdong/9/93 H3N2	A	1.2 x 10 ⁶
Texas/36/91 H1N1	A	7.1 x 10 ⁶
Wuhan/359/95 H3N2	A	1.3 x 10 ⁶
Bayern/7/95 H1N1	A	2.3 x 10 ⁶
Singapore/1/37 H2N2	A	5.0 x 10 ⁶
Hong Kong/1/56/97 H5N1	A	5.3 x 10 ⁶
Panama/45/90	B	1.3 x 10 ⁶
Beijing/1/84/93	B	9.4 x 10 ⁶
Guangdong/5/94	B	6.0 x 10 ⁶
Victoria/2/87	B	1.2 x 10 ⁶

Reactivity

To demonstrate reactivity across a broad spectrum of influenza strains, the FLU OIA test was performed on a number of additional human and non-human strains, and found to be reactive.

- | | |
|---------------------------------|-------------------------------------|
| A/NWS/23 (H1N1) | A/Chicken/Hong Kong/1203/97 (H5N1) |
| A/Swine/1976/31 | A/Duck/Pennsylvania/10218/84 (H5N2) |
| A/New Jersey/8/76 (HwN1) | A/Shearwater/Australia/1/72 (H6N5) |
| A/Japan/170/62 (H2N2) | A/Equine 1/Prague/1/56 (H7N7) |
| A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) | A/Turkey/Oregon/1/74 (H7N3) |
| A2/Taiwan/1/64 (H2N2) | A/Turkey/Ontario/6118/68 (H8N4) |
| A/Pan Chalmers/1/73 (H3N2) | A/Chick/Germany/NV48 (H10N7) |
| A/Victoria/3/75 (H3N2) | A/Duck/England/56 (H11N6) |
| A/Duck/Ukraine/1/63 (H3N8) | A/Duck/Alberta/60/76 (H12N6) |
| A/Duck/Czechoslovakia/56 (H4N6) | A/Gull/Maryland/704/77 (H13N6) |

Interfering Substances

Whole blood and several OTC products were tested and did not interfere with the FLU OIA assay at the levels tested: whole blood (2%), 4 mouthwashes (25%), 3 throat sprays (25%), 3 cough lozenges (25%), 3 nasal sprays (25%) and 3 cough/cold elixirs (25%). A listing of over-the-counter products is available from BioStar Technical Services.

Reproducibility

Reproducibility testing was conducted at three sites, four laboratories (including one family practice office, one emergency room and two central laboratories), on three consecutive days, with eight blinded samples each day (n=96). Samples consisted of throat swabs spiked with negative control, low, medium, and high influenza A antigen levels. The concentration of the low-level spiked samples was 4-fold higher than the assay's minimal detectable limit. This testing resulted in an overall reproducibility of 99.0%.

References

- Bels FB. Orthomyxoviridae Influenza Virus. In: Mandell GJ, Bennet JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases, 4th ed. New York: Churchill Livingstone, 1995: 1546-1566.
- Prevention and Control of Influenza. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). Morbidity and Mortality Weekly Report, Vol. 45, No. 88, May 3, 1996.
- Gonzales R, et al. Analytic Prescribing for Adults With Colds, Upper Respiratory Infections, and Bronchitis by Ambulatory Care Physicians. JAMA 1997; 278:901-904.
- Boa PK, et al. Cocirculation of Two Evolutionary Lineages of Influenza Type B Virus Since 1983. Virology 1990; 175: 59-68.

DuPont is a trademark of the DuPont Company.
 ProCin 200 is a trademark of Rohm and Haas.
 Culturette and EZ are trademarks of Becton Dickinson Microbiology Systems.
 Microplate II is a trademark of Amresco.
 Patents issued:
 US Patent 4,558,012 US Patent 5,418,136 US Patent 5,494,801
 US Patent 5,468,806 US Patent 5,550,063 US Patent 5,541,057
 US Patent 5,629,214 US Patent 5,639,671
 EP 0,493,484 EP 0,092,688 EP 0,539,383

Additional patents pending.
 BioStar, **BIOSTAR** and OIA are registered trademarks of BioStar, Inc.
 BioStar Holdings Limited Level 4, 616 St. Kilda Rd.
 Melbourne Vic. 3004 Australia



Allegato 3: Manuale operativo

1.0: Criteri di inclusione

Verranno arruolati nello studio tutti i bambini visitati dal PLS in ambulatorio o a domicilio del 1 novembre 1999 al 30 marzo 2000 che presentano IRA con febbre o senza febbre:

Definizione di IRA con febbre:

Febbre (>37.5 se di età inferiore ai 24 mesi; >38.0 se di età superiore ai 24 mesi)

Associata ad almeno uno dei seguenti segni o sintomi:

Tosse

Coriza (almeno uno dei seguenti: iperemia mucosa e timpanica, congestione nasale, cute del volto arrossata)

Faringodinia

Raucedine

2.0: Installazione del software “IRA”

Il software in CD contenente le schede per la raccolta dei dati verrà installato e collegato automaticamente al programma JB95.

Come Installare il software “IRA”

1. Inserire il CD
2. Il software “IRA” si installerà automaticamente seguendo le indicazioni presenti nelle finestre che compariranno.

3.0: Arruolamento

Ogniqualvolta si presenterà un bambino con **IRA con o senza febbre** digitare sul campo “testata” del JB95 la diagnosi corrispondente.

Come digitare sul campo “testata” la diagnosi di IRA:

- 1) “Clickare” la croce a sinistra.
- 2) Selezionare nel menù “capitoli” la voce *malattie respiratorie acute*
- 3) Selezionare la diagnosi esatta *IRA con febbre o IRA senza febbre*.
- 4) Fare doppio “click” sulla diagnosi selezionata per riportarla sulla testata.

3.1 IRA senza febbre

Per i bambini con **IRA senza febbre non dovrà essere raccolta alcuna informazione specifica e compilata alcuna scheda**. Si andrà pertanto avanti secondo quanto avviene normalmente.

Le informazioni riguardanti il numero di casi per età e sesso e il giorno di visita verranno inviate a fine studio mediante una procedura automatica.

3.2 IRA con febbre

I bambini con **IRA con febbre verranno arruolati nella fase prospettica dello studio secondo quanto indicato nel paragrafo successivo**.

4.0 Studio prospettico dei bambini che presentano IRA con febbre.

4.1 Arruolamento

Una volta digitata sulla testata la diagnosi IRA con febbre comparirà automaticamente una finestra con la domanda:

“Si desidera inserire questo paziente nello studio IRA ?”

“Clickare” quindi la risposta “Sì”.

Comparirà quindi un'altra finestra con la domanda:

“E' stato ottenuto il consenso per la raccolta e la trasmissione dei dati relativi allo studio IRA ?”

Se il consenso è stato ottenuto (vedi paragrafo 4.2) “clickare” la risposta “Sì” e quindi andare avanti.

SE IL CONSENSO NON E' STATO OTTENUTO E REGISTRATO NON SARA' POSSIBILE PROSEGUIRE

4.2: Richiesta del consenso informato.

Sebbene i dati vengano inviati, secondo quanto prescritto dalle leggi 675/96 e 676/96, in forma anonima è necessario richiedere il consenso almeno ad un genitore del bambino (nel caso dei

bambini più grandi anche al bambino stesso) per poter utilizzare a fini di ricerca le informazioni relative alla loro salute . Il modulo di consenso da utilizzare è in allegato .

Al fine di valutare l'incidenza dell' IRA con febbre sarà necessario che il PLS tenga un riferimento sul numero dei paziente con IRA con febbre che non daranno il consenso al trattamento dei dati. Tale informazione sarà comunicata a fine studio.

Una volta ottenuto il consenso a partecipare allo studio, questo dovrà essere registrato nel software (vedi sopra) per passare alla compilazione delle schede e poter, quindi, considerare i bambini **definitivamente arruolati.**

4.3: Raccolta delle Informazioni e Compilazione delle Schede

Sono presenti due diversi tipi di schede:

La scheda di arruolamento: dovrà essere compilata al momento dell' arruolamento

La scheda di chiusura: E' una scheda di follow-up dovrà essere compilata al momento della guarigione.

QUADRO 1: REGOLE GENERALI PER LA COMPILAZIONE DELLE SCHEDE

1. La presenza del simbolo ? al lato destro del campo da compilare indica che sono presenti risposte predefinite. Per andare avanti **clickare** su ? e selezionare dalla lista che apparirà, la voce più indicata.
2. Alla fine della compilazione della scheda “**salvare la scheda**”, e confermare la selezione non perdere le informazioni registrate.
3. **Completare sempre tutti i campi.** Se non si conosce la risposta selezionare, dove presente, la voce NC (Non Conosciuto).
4. I campi indicati “*Se Sì ...*” o “*Se NO ...*” si aprono solamente se viene selezionata la risposta corrispondente.
5. Taluni campi (relativi alle diagnosi) sono liberi e, se del caso, dovranno essere digitate le diagnosi che si riterranno opportune.
6. Una volta compilate le schede potranno essere riaperte e ricorrette prima di essere inviate.

4.3.1: Compilazione della scheda di arruolamento

Non appena un bambino con **IRA con febbre** verrà arruolato si aprirà la scheda di arruolamento contenente alcune informazioni relative al paziente e alle caratteristiche cliniche della patologia in atto.

Per quanto riguarda eventuali **malattie croniche** presenti riportare, se più di tre, le più importanti.

La **vaccinazione antiinfluenzale** si considera eseguita se dopo il settembre 1999.

Per **coriza** si intende almeno uno dei seguenti segni o sintomi (iperemia delle mucose, cute del volto arrossata, congestione nasale).

Per **convulsioni** si intendono convulsioni febbrili.

Poiché al momento dell' arruolamento in un sottogruppo di pazienti verrà effettuato il tampone faringeo, la scheda di arruolamento contiene anche informazioni relative all' esecuzione del tampone stesso e il risultato (vedi paragrafo 4.4)

Se il tampone non è stato eseguito (non si tratta del primo paziente della giornata) selezionare la risposta "No".

Qualora il tampone sia stato eseguito (selezionare la risposta "Sì" e compilare i campi successivi). Per sede si intende dove è stato effettuato il tampone e non dove è stato eseguito il test.

Il numero di codice del paziente la data di nascita, il sesso e la data della visita verranno allegati in automatico alla scheda.

4.3.2: Compilazione della scheda di chiusura

Al momento del controllo successivo (apertura del programma) all' arruolamento di ogni bambino con IRA con febbre comparirà una finestra con la domanda:

"Questo bambino è guarito dall' IRA ?"

Se il bambino è guarito dall' episodio di IRA clickare il tasto "Sì".

Si aprirà quindi la scheda di chiusura in cui si dovrà rispondere se vi sono stati eventuali ricoveri (specificare la diagnosi di dimissione) o accessi al PS durante il periodo dell' IRA e quanti giorni di scuola sono andati perduti a causa dell' episodio di IRA.

Inoltre si chiede di indicare il numero di giornate lavorative complessive (madre e padre) perse per accudire al bambino malato.

Se il bambino non è guarito dall' episodio di IRA clickare il tasto "No" e continuare normalmente la registrazione delle informazioni nel JB95. Alla successiva apertura del programma si riaprirà la stessa finestra fin tanto che il bambino non verrà considerato guarito.

Per tutti i bambini arruolati nello studio prospettico dovrà essere compilata la scheda di chiusura.

4.4 Esecuzione e trascrizione dei risultati del tampone faringeo per la ricerca del virus dell'influenza.

Al **primo bambino con IRA con febbre che verrà visitato ogni giorno in ambulatorio o a domicilio** verrà altresì effettuato un tampone faringeo ed effettuato il test rapido per l'identificazione del virus influenzale mediante Kit specifico fornito a tutti i PLS partecipanti.

Qualora non sia possibile effettuare il test in tempo reale il tampone verrà conservato a temperatura di + 4-8 gradi fino al momento del test, che dovrà comunque essere effettuato non dopo le 8 ore dal prelievo.

I risultati del test verranno trascritti nella scheda di arruolamento vedi 4.3.1.

Le modalità di esecuzione del test sono riportate in appendice 3.

I Kit dovranno essere conservati in frigorifero a +4 - 6 gradi.

Poiché indicativamente ciascun PLS dovrà effettuare 100-120 esami durante il periodo di studio (circa 4 kits) i kits verranno inviati tramite corriere all' indirizzo indicato dal PLS.

4.5: Invio delle schede

Una volta compilate le schede verranno inserite automaticamente nel canale di invio (posta in uscita) tramite internet. Non appena ci si collegherà ad internet le schede giacenti verranno automaticamente inviate al server centrale situato presso la Società Servizi Telematici di Padova.

5.0 Altre informazioni da raccogliere.

Per l'analisi dei dati sarà necessario raccogliere anche le seguenti informazioni:

- Numero di IRA senza febbre viste ogni giorno per età e sesso.
- Numero complessivo di visite effettuate ogni settimana nel periodo di studio.
- Nei pazienti con **IRA con febbre**, le informazioni relative a SOAP, prescrizioni (terapeutiche, esami, visite specialistiche) relative al decorso dell' IRA febbrile.

La raccolta e l'invio delle suddette informazioni avverranno senza alcun carico di lavoro aggiuntivo per il pediatra. Verranno infatti ricavate direttamente dal database JB95 e inviate automaticamente al momento del collegamento (le informazioni relative a SOAP, prescrizioni (terapeutiche, esami, visite specialistiche) o attraverso una query specifica che verrà

effettuata a fine studio (numero di IRA senza febbre/die, per età e sesso; numero complessivo di visite effettuate ogni settimana nel periodo di studio).

**IL PEDIATRA E' INVITATO A COMPLETARE I CAMPI DEL JB95 RELATIVI ALLE
PRESCRIZIONI E IL SOAP PER OGNI BAMBINO CON IRA CON FEBBRE
ARRUOLATO NELLO STUDIO**

Allegato 4:

Studio IRA: Nota Informativa E Modulo Di Consenso Per Il Trattamento Di Dati Sensibili

Gentile Genitore/i,

desideriamo informarLa che la legge n. 675/96 prevede la tutela delle persone e di altri soggetti rispetto al trattamento dei dati personali. Ai sensi della legge indicata, tale trattamento deve essere improntato ai principi di correttezza, liceità e trasparenza e tutelando la riservatezza e i diritti delle persone i cui dati sono oggetto di trattamento.

In particolare, per i trattamenti di dati idonei a rivelare l'origine razziale ed etnica, le convinzioni religiose, filosofiche o di altro genere, le opinioni politiche, l'adesione a partiti, sindacati, associazioni od organizzazioni a carattere religioso, filosofico, politico o sindacale, nonché i dati personali idonei a rivelare lo stato di salute e la vita sessuale, possono essere oggetto di trattamento solo con il consenso scritto dell'interessato e previa autorizzazione del Garante per la protezione dei dati (articolo 22 della legge 675/96)

Ai sensi dell'articolo 10 della legge predetta, Le forniamo quindi le seguenti informazioni.

1. Il trattamento che intendiamo effettuare per il suddetto studio:

- a) riguarda i dati "sensibili" necessari a realizzare uno studio epidemiologico sulle infezioni respiratorie acute in età pediatrica e sono inclusi esclusivamente dati relativi alla salute del piccolo paziente.
- b) la finalità del trattamento è quella di realizzare uno studio epidemiologico sulle infezioni respiratorie acute in età pediatrica, i risultati saranno utili per migliorare la qualità dell'assistenza sanitaria futura per i bambini affetti da questa malattia.
- c) i dati saranno raccolti dal suo pediatra, il quale li inserirà in una scheda, su supporto informatizzato, che sarà inviata al centro di coordinamento della ricerca; la scheda conterrà i dati sanitari ma non quelli anagrafici, che resteranno nella esclusiva disponibilità del medico curante; la scheda sarà identificata solo da un codice che potrà essere decodificato solo dal suo pediatra. In questo modo solo il pediatra potrà, in caso sia necessario per interessi relativi alla salute del paziente stesso, ricostruirne l'identità anagrafica;
- d) i dati, anonimizzati nella forma indicata sopra, verranno elaborati assieme a quelli degli altri pazienti; i risultati della ricerca (da cui, ovviamente, non sarà possibile ricostruire l'identità dei pazienti) potranno essere comunicati o diffusi in rapporti, pubblicazioni, comunicazioni a convegno o altre forme di comunicazione scientifica.

2. Il permesso di utilizzare questi dati è facoltativo e l'eventuale mancato consenso non avrà alcuna conseguenza sul rapporto di assistenza sanitaria.

3. Il titolare del trattamento è la Società Servizi Telematici, via Altinate 139, Padova.

4. Al titolare del trattamento Lei potrà rivolgersi per far valere i Suoi diritti così come previsti dall'articolo 13 della legge n. 675/96, che per Sua comodità riproduciamo integralmente:

Il/La sottoscritto/a, acquisite le informazioni di cui all'articolo 10 della legge 675/96, acconsente al trattamento dei dati personali relativi al proprio figlio minore, dichiarando di avere avuto, in particolare, conoscenza che i dati medesimi rientrano nel novero dei dati "sensibili" di cui all'articolo 22 della legge citata, vale a dire i dati "idonei a rivelare l'origine razziale ed etnica, le convinzioni religiose, filosofiche o di altro genere, le opinioni politiche, l'adesione a partiti, sindacati, associazioni od organizzazioni a carattere religioso, filosofico, politico o sindacale, nonché i dati personali idonei a rivelare lo stato di salute e la vita sessuale".

Luogo Data

Firme dei genitori (anche un solo genitore)

Nome Cognome
Nome Cognome

Firma del paziente (se capace di comprendere)

Nome Cognome

Allegato 4: Art. 13, Legge 675/1996 : Diritti dell'interessato

1. In relazione al trattamento di dati personali l'interessato ha diritto:

- a) di conoscere, mediante accesso gratuito al registro di cui all'articolo 31, comma 1, lettera a), l'esistenza di trattamenti di dati che possono riguardarlo;
- b) di essere informato su quanto indicato all'articolo 7, comma 4, lettere a), b) e h);
- c) di ottenere, a cura del titolare o del responsabile, senza ritardo:

1. la conferma dell'esistenza o meno di dati personali che lo riguardano, anche se non ancora registrati, e la comunicazione in forma intellegibile dei medesimi dati e della loro origine, nonché della logica e delle finalità su cui si basa il trattamento; la richiesta può essere rinnovata, salva l'esistenza di giustificati motivi, con intervallo non minore di novanta giorni;

2. la cancellazione, la trasformazione in forma anonima o il blocco dei dati trattati in violazione di legge, compresi quelli di cui non è necessaria la conservazione in relazione agli scopi per i quali i dati sono stati raccolti o successivamente trattati;

3. l'aggiornamento, la rettificazione ovvero, qualora vi abbia interesse, l'integrazione dei dati;

4. l'attestazione che le operazioni di cui ai numeri 2) e 3) sono state portate a conoscenza, anche per quanto riguarda il loro contenuto, di coloro ai quali i dati sono stati comunicati o diffusi, eccettuato il caso in cui tale adempimento si riveli impossibile o comporti un impiego di mezzi manifestamente sproporzionato rispetto al diritto tutelato;

d) di opporsi, in tutto o in parte, per motivi legittimi, al trattamento dei dati personali che lo riguardano, ancorché pertinenti allo scopo della raccolta;

e) di opporsi, in tutto o in parte, al trattamento di dati personali che lo riguardano, previsto a fini di informazioni commerciali o di invio di materiale pubblicitario o di vendita diretta ovvero per il compimento di ricerche di mercato o di comunicazione commerciale interattiva e di essere informato dal titolare, non oltre il momento in cui i dati sono comunicati o diffusi, della possibilità di esercitare gratuitamente tale diritto.

2. Per ciascuna richiesta di cui al comma 1, lettera c), numero 1), può essere chiesto all'interessato, ove non risulti confermata l'esistenza di dati che lo riguardano, un contributo spese, non superiore ai costi effettivamente sopportati, secondo le modalità ed entro i limiti stabiliti dal regolamento di cui all'articolo 33, comma 3.

3. I diritti di cui al comma 1 riferiti ai dati personali concernenti persone decedute possono essere esercitati da chiunque vi abbia interesse.

4. Nell'esercizio dei diritti di cui al comma 1 l'interessato può conferire, per iscritto, delega o procura a persone fisiche o ad associazioni.

5. Restano ferme le norme sul segreto professionale degli esercenti la professione di giornalista, limitatamente alla fonte della notizia.