

**Stima della prevalenza delle varianti VOC (*Variant Of Concern*)
e di altre varianti
di SARS-CoV-2 in Italia**

(Indagine del 04/10/2022)

Obiettivo

Come riportato nella circolare n. 41224-30/09/2022¹, al fine di stimare la prevalenza delle varianti VOC (*Variants of Concern*), ed in particolare della variante Omicron e dei suoi sotto-lignaggi in Italia, è stata realizzata una indagine rapida (*quick survey*) coordinata dall'Istituto Superiore di Sanità con il supporto della Fondazione Bruno Kessler e in collaborazione con il Ministero della Salute, le Regioni e le PPAA (Province Autonome). L'obiettivo di questa indagine è di identificare, tra i campioni con risultato positivo per SARS-CoV-2 in RT-PCR, possibili casi di infezione riconducibili a queste varianti.

Questa valutazione ha preso in considerazione i campioni notificati il 4 ottobre 2022 (prime infezioni non *follow-up*) da analizzare tramite sequenziamento genomico.

La dimensione campionaria per Regione/PA è stata calcolata da Fondazione B. Kessler. Il campione necessario n per poter osservare una variante con prevalenza p sul territorio nazionale in una popolazione di ampiezza N (popolazione dei positivi notificati) e stimare questa prevalenza con una precisione ε e livello di confidenza $(1 - \alpha)\%$ è dato dalla seguente formula

$$n \geq \frac{N z_{\alpha/2}^2 p(1-p)}{\varepsilon^2 (N-1) + z_{\alpha/2}^2 p(1-p)}$$

Sono state considerate 4 macroaree (nomenclatura NUTS): Nord-Ovest (Piemonte, Valle d'Aosta, Liguria, Lombardia), Nord-Est (Trentino-Alto Adige, Veneto, Friuli-Venezia Giulia, Emilia-Romagna), Centro (Toscana, Umbria, Marche, Lazio), Sud e Isole (Abruzzo, Molise, Campania, Puglia, Basilicata, Calabria, Sardegna, Sicilia).

Assumendo di voler stimare una prevalenza del 5% con precisione 2% in queste macroaree la tabella 1 riporta i valori dell'ampiezza campionaria richiesta in base ai casi COVID-19 positivi notificati il 28/09/2022.

Tabella 1.

Macroarea	Casi notificati al 28/09/2022	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Nord-Est	10755	440
Nord-Ovest	10948	439
Centro	7059	431
Sud e Isole	7870	437
TOTALE	36632	1747

L'ampiezza campionaria in ciascuna macroarea è stata quindi ridistribuita nelle Regioni/PPAA corrispondenti in base alla percentuale di casi COVID-19 positivi notificati il 28/09/2022 sul totale di casi notificati nella macroarea di riferimento (Tabella 2).

Tabella 2.

Regione	Macroarea	Casi notificati al 28/09/2022	% casi nella macroarea	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Abruzzo	Sud	1036	13%	57
Basilicata	Sud	221	3%	13
Calabria	Sud	932	12%	52
Campania	Sud	2388	30%	132
Emilia-Romagna	Nord-Est	3129	29%	128
Friuli Venezia Giulia	Nord-Est	1149	11%	47
Lazio	Centro	3209	45%	196
Liguria	Nord-Ovest	921	8%	37
Lombardia	Nord-Ovest	6546	60%	262
Marche	Centro	1130	16%	69
Molise	Sud	126	2%	7
P.A. Bolzano	Nord-Est	579	5%	24
P.A. Trento	Nord-Est	696	6%	29
Piemonte	Nord-Ovest	3415	31%	137
Puglia	Sud	1359	17%	75
Sardegna	Isole	494	6%	28
Sicilia	Isole	1314	17%	73
Toscana	Centro	1883	27%	115
Umbria	Centro	837	12%	51
Valle d'Aosta	Nord-Ovest	66	1%	3
Veneto	Nord-Est	5202	48%	212
TOTALE		36632		1747

Si calcola che, con l'ampiezza campionaria scelta, sia possibile stimare prevalenze intorno a 1%, 10% o 50% con precisione rispettivamente intorno a 0.9%, 2.7% e 4.6% nelle 4 macro-aree considerate. Inoltre, seguendo il protocollo ECDC sul sequenziamento del SARS-CoV-2², con l'ampiezza campionaria scelta è possibile osservare in ogni macro-regione varianti che circolano intorno allo 0.5-1% con un livello di confidenza del 95%.

Il campione richiesto per l'indagine è stato selezionato dalle Regioni/PPAA in modo casuale fra i campioni positivi assicurando una rappresentatività geografica e per fasce di età.

Per garantire il raggiungimento della numerosità campionaria richiesta, in caso di scarsità di campioni eleggibili per il sequenziamento, era possibile estendere la scelta casuale ai casi notificati nella giornata precedente a quella di riferimento, e di specificarlo nei risultati riportati.

I laboratori individuati dalle Regioni/PPAA hanno selezionato i campioni da sottoporre a sequenziamento.

I dati sono stati raccolti in un file Excel standardizzato per le Regioni/PPAA partecipanti ed inviati all'Istituto Superiore di Sanità e al Ministero della Salute il 13 ottobre 2022.

Risultati

In totale, hanno partecipato all'indagine tutte le Regioni/PPAA, e complessivamente 100 laboratori regionali e il Laboratorio di Sanità Militare.

Come mostrato in Tabella 3, da 2323 casi confermati in RT-PCR, sono stati sequenziati 1557 campioni e 1545 sono stati classificati in base al lignaggio (Pangolin v. 4.1.3).

In dettaglio, tra le sequenze ottenute per l'analisi, ne sono state individuate:

1545	riconducibili a SARS-CoV-2	variante	omicron
di cui:			
1		BA.1	
33		BA.2	
59		BA.4	
1447		BA.5	
5		Altro	

Le stime di prevalenza a livello nazionale, ottenute come la media delle prevalenze nelle diverse Regioni/PPAA pesate per il numero di casi regionali notificati il 4 ottobre 2022, sono:

100%	(range: 100% - 100%)	variante	omicron
di cui:			
0,07%	range (0% - 2,3%)	BA.1	
2,33%	range (0% - 6,3%)	BA.2	
4,27%	range (0% - 25%)	BA.4	
93,01%	range (75% - 100%)	BA.5	
0,32%	range (0% - 1,9%)	Altro	

Tra le 1447 BA.5, sono stati identificati 63 sotto-lignaggi, oltre al lignaggio parentale BA.5; BA.5.2 è risultato essere il più frequente ($n=371$), seguito da BA.5.1 ($n=234$), BA.5.2.1 ($n=230$) e BF.7 ($n=147$).

Tra le 59 BA.4, sono stati identificati 4 sotto-lignaggi, oltre al lignaggio parentale BA.4; BA.4.6 è risultato il prevalente ($n=44$).

Tra le 33 BA.2, sono stati identificati 13 sotto-lignaggi, oltre al lignaggio parentale BA.2. Si segnala la presenza di 21 sequenze riconducibili a BA.2.75 e relativi sotto-lignaggi.

Un totale di 5 sequenze classificate come "Altro" includono ricombinanti omicron: in particolare, 2 XBB.1 e 3 XAZ.

Tabella 3.

REGIONE/PA	N. Lab	N. campioni positivi in RT-PCR	N. campioni sequenziati	N. di sequenze ottenute per analisi	Numero						Prevalenza					
					Omicron†					Totale	Omicron†					Totale
					BA.1	BA.2	BA.4	BA.5	Altro^		BA.1	BA.2	BA.4	BA.5	Altro^	
ABRUZZO	2	54	52	52				51	1	52	0,0	0,0	0,0	98,1	1,9	100,0
BASILICATA	2	33	13	13				13		13	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0
CALABRIA	4	56	55	52				52		52	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0
CAMPANIA	3	132	65	62		1		61		62	0,0	1,6	0,0	98,4	0,0	100,0
EMILIA ROMAGNA	3	130	130	123		1	3	119		123	0,0	0,8	2,4	96,7	0,0	100,0
FRIULI VENEZIA GIULIA	5	122	62	62		2	2	57	1	62	0,0	3,2	3,2	91,9	1,6	100,0
LAZIO*	1	74	74	73		3	4	66		73	0,0	4,1	5,5	90,4	0,0	100,0
LIGURIA	5	312	37	37				37		37	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0
LOMBARDIA	16	333	322	317		9	16	290	2	317	0,0	2,8	5,0	91,5	0,6	100,0
MARCHE	1	43	43	43	1	2		40		43	2,3	4,7	0,0	93,0	0,0	100,0
MOLISE	1	14	7	7				7		7	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0
PA BOLZANO	1	11	7	7				7		7	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0
PA TRENTO	1	16	16	12			3	9		12	0,0	0,0	25,0	75,0	0,0	100,0
PIEMONTE	11	159	159	154		3	13	137	1	154	0,0	1,9	8,4	89,0	0,6	100,0
PUGLIA	9	30	20	16		1	1	14		16	0,0	6,3	6,3	87,5	0,0	100,0
SARDEGNA	10	119	44	44			4	40		44	0,0	0,0	9,1	90,9	0,0	100,0
SICILIA	4	92	92	92		3	2	87		92	0,0	3,3	2,2	94,6	0,0	100,0
TOSCANA**	3	153	107	107		3	1	103		107	0,0	2,8	0,9	96,3	0,0	100,0
UMBRIA	4	222	54	54				54		54	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0
VALLE D'AOSTA	1	4	4	4				4		4	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0
VENETO	13	214	214	214		5	10	199		214	0,0	2,3	4,7	93,0	0,0	100,0
ITALIA	100	2323	1577	1545	1	33	59	1447	5	1545	0,07%	2,33%	4,27%	93,01%	0,32%	100,0%

†Include il lignaggio parentale B.1.1.529 e tutti i lignaggi discendenti e i ricombinanti omicron/omicron, come da documento WHO "Tracking SARS-CoV-2 variants" (ref 3).

*Inclusi i risultati del Laboratorio di Sanità Militare: n. 2 campioni positivi in RT-PCR, n. 1 campione sequenziato, n. 1 sequenza ottenuta per l'analisi, n. 1 sequenza classificata come Omicron (n. 1 sequenza lignaggio BA.5.2)

** La Regione Toscana comunica che ulteriori 46 campioni sono stati analizzati attraverso metodiche di screening; tutti sono risultati positivi allo screening per Omicron BA.5.

^ Include 2 sequenziamenti attribuibili al lignaggio ricombinante XBB.1, di cui uno comunicato dalla Regione Abruzzo ed uno dalla Regione Friuli Venezia Giulia, e 3 sequenziamenti attribuibili al lignaggio ricombinante XAZ, di cui 2 comunicati dalla Regione Lombardia e 1 dalla Regione Piemonte.

Limiti

Tra i possibili limiti dell'indagine vanno menzionati i seguenti punti:

- alcune Regioni hanno segnalato difficoltà nel raggiungere la numerosità campionaria richiesta e hanno esteso il campionamento anche al giorno precedente a quello di riferimento;
- in alcune Regioni/PPAA il metodo di campionamento potrebbe essere disomogeneo e non random;
- per alcune Regioni, essendo bassa la numerosità della popolazione, il numero di sequenze è esiguo, per cui la presenza di varianti virali circolanti potrebbe non essere stimata correttamente.

Conclusioni

Per stimare la prevalenza delle varianti di SARS-CoV-2 circolanti nel Paese si è ritenuto opportuno organizzare ripetute indagini di prevalenza rapide sul territorio nazionale che si aggiungono al flusso settimanale di sequenze caricate settimanalmente sulla piattaforma I-Co-Gen dell'Istituto Superiore di Sanità⁴.

Quest'ultima indagine, che ha visto la partecipazione di tutte le Regioni/PPAA e di un elevato numero di laboratori distribuiti nelle diverse aree del Paese, ha permesso di ottenere informazioni accurate relative alla tipizzazione genomica sui campioni positivi raccolti sull'intero territorio italiano.

BA.5 rimane ampiamente predominante, con una prevalenza a livello nazionale pari a 93 % (94,4% nell'indagine precedente, del 6 settembre 2022) ed un *range* compreso fra il 75 % e il 100%. Ancora in aumento la numerosità dei sotto-lignaggi di BA.5 circolanti nel nostro Paese (63 vs. 32 dell'indagine precedente).

Si osserva una crescita, se pur contenuta, dei valori di prevalenza di BA.2 (2,3% vs. 1,1% dell'indagine precedente) e un incremento nella proporzione di sequenziamenti attribuibili a BA.2.75 (e relativi sotto-lignaggi), oggetto di monitoraggio a livello internazionale³.

Stabile la prevalenza nazionale di BA.4 (4,3% vs. 4,4% dell'indagine precedente). Tuttavia, la proporzione di sequenziamenti attribuibili al sotto-lignaggio BA.4.6, oggetto di monitoraggio a livello internazionale³, è in aumento.



XBB è una variante ricombinante di due sotto-lignaggi BM.1.1.1(BA.2.75.3.1.1.1) and BJ.1 (BA.2.10.1.1.), altamente trasmissibili e con mutazioni associabili ad immune evasione³.

Nell'attuale scenario è necessario continuare a monitorare con grande attenzione, in coerenza con le raccomandazioni nazionali ed internazionali e con le indicazioni ministeriali, la diffusione delle varianti virali, e in particolare di quelle a maggiore trasmissibilità e/o con mutazioni correlate a potenziale evasione della risposta immunitaria.

Ringraziamenti

Si ringraziano tutte le Regioni/PPAA e tutti i laboratori che hanno partecipato a questa indagine.

Referenze

1. Ministero della Salute. Circolare n. 41224-30/09/2022 “Stima della prevalenza delle varianti VOC (Variant Of Concern) e di altre varianti di SARS-CoV-2 in Italia.”
2. ECDC. Sequencing of SARS-CoV-2: first update. <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Sequencing-of-SARS-CoV-2-first-update.pdf>
3. WHO. Tracking SARS-CoV-2 variants. <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>
4. Ministero della Salute. Circolare n. 0017975 del 17/03/2022 “Strategie di sequenziamento per l’identificazione delle varianti di SARS-CoV-2 ed il monitoraggio della loro circolazione in Italia – indicazioni ad interim”. <https://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/renderNormsanPdf?anno=2022&codLeg=86233&parte=1%20&serie=null>