

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

(Indagine del 13/12/2022)

Obiettivo

Come riportato nella circolare n. 50099 del 13/12/2022¹, 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 13 dicembre 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 l'8 dicembre 2022.

Tabella 1.

Macroarea	Casi notificati il 08/12/2022	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Nord-Est	8660	437
Nord-Ovest	7293	431
Centro	6948	431
Sud e Isole	8260	436
TOTALE	31161	1735

L'ampiezza campionaria in ciascuna macroarea è stata quindi ridistribuita nelle Regioni/PPAA corrispondenti in base alla percentuale di casi COVID-19 positivi notificati l'8 dicembre 2022 sul totale di casi notificati nella macroarea di riferimento (Tabella 2).

Tabella 2.

Regione	Macroarea	Casi notificati il 08/12/2022	% casi nella macroarea	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Abruzzo	Sud	961	12%	51
Basilicata	Sud	129	2%	7
Calabria	Sud	635	8%	34
Campania	Sud	2488	30%	131
Emilia-Romagna	Nord-Est	3236	37%	163
Friuli Venezia Giulia	Nord-Est	870	10%	44
Lazio	Centro	3153	45%	195
Liguria	Nord-Ovest	1097	15%	65
Lombardia	Nord-Ovest	4214	58%	249
Marche	Centro	1205	17%	75
Molise	Sud	145	2%	8
P.A. Bolzano	Nord-Est	101	1%	6
P.A. Trento	Nord-Est	193	2%	10
Piemonte	Nord-Ovest	1932	26%	114
Puglia	Sud	1771	21%	93
Sardegna	Isole	339	4%	18
Sicilia	Isole	1792	22%	94
Toscana	Centro	2054	30%	127
Umbria	Centro	536	8%	34
Valle d'Aosta	Nord-Ovest	50	1%	3
Veneto	Nord-Est	4260	49%	214
TOTALE		31161		1735

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 la 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 22 dicembre 2022.

Risultati

In totale, hanno partecipato all'indagine tutte le Regioni/PPAA, e complessivamente 104 laboratori regionali e il Laboratorio di Sanità Militare.

Come mostrato in Tabella 3, da 2300 casi confermati in RT-PCR, sono stati sequenziati 1570 campioni e 1530 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:

1530 riconducibili a SARS-CoV-2 variante omicron

Tra le 1530 sequenze riconducibili alla variante omicron, sono state individuate:

95	BA.2
5	BA.4
1382	BA.5
48	Ricombinanti omicron/omicron

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 l'8 dicembre 2022, sono:

100% variante omicron

Relativamente alla variante omicron, le prevalenze stimate sono:

6,2%	range (0% - 12,8%)	BA.2
0,3%	range (0% - 14,3%)	BA.4
90,6%	range (77,3% - 100%)	BA.5
3,0%	range (0% - 10,6%)	Ricombinanti omicron/omicron

Dei 48 ricombinanti omicron/omicron, 36 sono risultati appartenere al lignaggio XBB e relativi sotto-lignaggi.

Tra le 1382 BA.5, sono stati identificati 100 sotto-lignaggi, oltre al lignaggio parentale BA.5. Un totale di 886 sequenziamenti sono risultati associati ad uno dei 37 lignaggi BQ.1.n identificati in questa indagine ; tra i sotto-lignaggi BQ.1.n, BQ.1.1 è risultato il più frequente (n=490).

BF.7.n è stata identificata in 147 sequenze, di cui 110 BF.7.

Tra le 95 BA.2, sono stati identificati 25 sotto-lignaggi, oltre al lignaggio parentale BA.2. Si segnala la presenza di 75 sequenze riconducibili a BA.2.75 e relativi sotto-lignaggi.

Tabella 3.

REGIONE/PA	N. Lab	N. campioni positivi in RT-PCR	N. campioni sequenziati	N. di sequenze ottenute per analisi	Numero					Prevalenza				
					Omicron†					Omicron†				
					BA.2	BA.4	BA.5	Ricombinanti omicron/omicron^	Totale	BA.2	BA.4	BA.5	Ricombinanti omicron/omicron^	Totale
ABRUZZO	2	61	60	60	2		58		60	3,3	0,0	96,7	0,0	100,0
BASILICATA	2	11	7	7		1	6		7	0,0	14,3	85,7	0,0	100,0
CALABRIA	4	81	38	34	1		31	2	34	2,9	0,0	91,2	5,9	100,0
CAMPANIA	3	172	100	90	2		87	1	90	2,2	0,0	96,7	1,1	100,0
EMILIA ROMAGNA	3	155	155	153	2	1	149	1	153	1,3	0,7	97,4	0,7	100,0
FRIULI VENEZIA GIULIA	5	52	52	50	2		47	1	50	4,0	0,0	94,0	2,0	100,0
LAZIO*	1	90	90	83	1		78	4	83	1,2	0,0	94,0	4,8	100,0
LIGURIA	5	439	42	42	2		38	2	42	4,8	0,0	90,5	4,8	100,0
LOMBARDIA	15	261	261	257	27		220	10	257	10,5	0,0	85,6	3,9	100,0
MARCHE	1	40	40	39	5		34		39	12,8	0,0	87,2	0,0	100,0
MOLISE	1	15	14	14			14		14	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0
PA BOLZANO	1	7	4	4			4		4	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0
PA TRENTO	1	10	10	6			6		6	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0
PIEMONTE	15	92	92	88	8		80		88	9,1	0,0	90,9	0,0	100,0
PUGLIA	11	76	74	74	1		71	2	74	1,4	0,0	95,9	2,7	100,0
SARDEGNA	10	151	32	31			31		31	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0
SICILIA	5	141	141	141	17		109	15	141	12,1	0,0	77,3	10,6	100,0
TOSCANA	3	152	107	106	7		95	4	106	6,6	0,0	89,6	3,8	100,0
UMBRIA	4	86	43	43		1	39	3	43	0,0	2,3	90,7	7,0	100,0
VALLE D'AOSTA	1	3	3	3			3		3	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0
VENETO	11	205	205	205	18	2	182	3	205	8,8	1,0	88,8	1,5	100,0
ITALIA	104	2300	1570	1530	95	5	1382	48	1530	6,2%	0,3%	90,6%	3,0%	100,0%

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

*Inclusi i risultati del Laboratorio di Sanità Militare: n. 1 campione positivo 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)

^Include 36 sequenziamenti appartenenti al lignaggio XBB e relativi sotto-lignaggi, 4 al lignaggio XBF, 2 al lignaggio XBG e 3 al lignaggio XBJ. Ulteriori 3 sequenziamenti sono stati segnalati come ricombinanti BA.5.2.1/BA.5

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 90,6% (91,5% nell'indagine precedente, dell'8 novembre 2022), con frequenze regionali/PPAA superiori all'77,3%. Stabile la numerosità dei sotto-lignaggi di BA.5 circolanti nel nostro Paese (100 vs. 112 dell'indagine precedente).

BA.4 continua il suo decremento, da una prevalenza pari a 1,95% a 0,3% in questa indagine.

Nell'ambito dei sotto-lignaggi di BA.5, analogamente a quanto segnalato in altri Paesi, in questa indagine si evidenzia BQ.1.n in significativo aumento e pari al 64,1 (vs 30,7% della precedente indagine), sul totale dei campioni BA.5. La variante BQ.1 è attenzionata a livello internazionale per la presenza di ulteriori mutazioni rispetto a BA.5, quali la R346T, nella sequenza codificante la proteina *spike*, mostrando un significativo vantaggio di crescita rispetto ad altre varianti⁵.



BF.7.n, rappresenta il 9,6% delle sequenze analizzate in questa indagine (vs. 14,7 dell'indagine precedente); BF.7 è un sottolignaggio di BA.5.

XBB (ricombinante dei sotto-lignaggi omicron BJ.1 w BM.1.1.1) viene segnalata come altamente trasmissibile e con mutazioni associabili a immune evasione³. In questa indagine XBB è stata identificata in 36 vs le 38 sequenze identificate nell'indagine precedente.

Nell'attuale scenario, in cui si nota una co-circolazione di varianti e numerosi sottolignaggi, 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. 50099 del 13/12/2022 "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>
5. <https://www.who.int/news/item/27-10-2022-tag-ve-statement-on-omicron-sublineages-bq.1-and-xbb>