

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

(Indagine del 04/04/2022)

Obiettivo

Come riportato nella circolare n. 20188 del 01/04/2022¹, al fine di stabilire una mappatura del grado di diffusione delle varianti VOC, 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 (Provincie 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 Aprile 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 31 marzo 2022.

Tabella 1.

Macroarea	Casi notificati al 31/03/2022	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Nord-Est	14405	445
Nord-Ovest	13981	443
Centro	18427	448
Sud e Isole	26382	453
TOTALE	73195	1789

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 31 Marzo 2021 sul totale di casi notificati nella macroarea di riferimento (Tabella 2).

Tabella 2.

Regione	Macroarea	Casi notificati il 31/03/2022	% casi nella macroarea	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Abruzzo	Sud	2330	9%	40
Basilicata	Sud	674	3%	12
Calabria	Sud	1933	7%	33
Campania	Sud	8393	32%	143
Emilia-Romagna	Nord-Est	4620	32%	143
Friuli Venezia Giulia	Nord-Est	1004	7%	31
Lazio	Centro	9256	50%	225
Liguria	Nord-Ovest	1524	11%	49
Lombardia	Nord-Ovest	9141	65%	289
Marche	Centro	2349	13%	57
Molise	Sud	420	2%	8
P.A. Bolzano	Nord-Est	617	4%	19
P.A. Trento	Nord-Est	444	3%	14
Piemonte	Nord-Ovest	3255	23%	103
Puglia	Sud	7129	27%	122
Sardegna	Isole	1594	6%	28
Sicilia	Isole	3909	15%	67
Toscana	Centro	5305	29%	129
Umbria	Centro	1517	8%	37
Valle d'Aosta	Nord-Ovest	61	0%	2
Veneto	Nord-Est	7720	54%	238
TOTALE		73195		1789

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 garantendo una rappresentatività geografica e per fasce di età.

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 Aprile 2022.

Risultati

In totale, hanno partecipato all'indagine tutte le Regioni/PPAA, e complessivamente 115 laboratori regionali e il Laboratorio di Sanità Militare.

Come mostrato in Tabella 3, da 8348 casi confermati in RT-PCR, sono stati sequenziati 2018 campioni e poi classificati in base al lignaggio (software Pangolin v. 4.0.5 e Nextclade 1.11.0).

In dettaglio, tra le 1986 sequenze ottenute per l'analisi, ne sono state individuate:

1986 riconducibili a SARS-CoV-2 variante omicron

di cui:

225	BA.1
1741	BA.2
2	BA.3
7	XJ
11	XL

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 aprile 2022, sono le seguenti:

100% (range: 100% -100%) variante omicron

di cui:

11,8% (range: 0% -34,5%)	BA.1
86,6% (range: 46,5% -100%)	BA.2
0,2% (range: 0% -1,2%)	BA.3
0,5% (range: 0% -11,6%)	XJ
0,9% (range: 0% - 20,9%)	XL

Tra le sequenze classificate come Omicron BA.1 o BA.2 sono stati identificati, rispettivamente, 11 e 9 differenti sotto-lignaggi (BA.1.n o BA.2.n).

Tabella 3.

REGIONE/PA	N. Laboratori	N. campioni positivi in RT-PCR	N. campioni sequenziati	N. di sequenze ottenute per analisi	Numero						Prevalenza					
					OMICRON [^]						OMICRON [^]					
					BA.1	BA.2	BA.3	XJ	XL	Totale	BA.1	BA.2	BA.3	XJ*	XL*	Totale
ABRUZZO	2	762	56	56	10	46	0	0	0	56	17,9	82,1	0,0	0,0	0,0	100,0
BASILICATA	2	448	12	12	1	11	0	0	0	12	8,3	91,7	0,0	0,0	0,0	100,0
CALABRIA	4	1997	36	33	6	25	0	0	2	33	18,2	75,8	0,0	0,0	6,1	100,0
CAMPANIA	3	1352	144	140	22	118	0	0	0	140	15,7	84,3	0,0	0,0	0,0	100,0
EMILIA ROMAGNA	3	157	157	157	10	147	0	0	0	157	6,4	93,6	0,0	0,0	0,0	100,0
FRIULI VENEZIA GIULIA	6	158	65	64	6	58	0	0	0	64	9,4	90,6	0,0	0,0	0,0	100,0
LAZIO	2*	216	216	209	19	190	0	0	0	209	9,1	90,9	0,0	0,0	0,0	100,0
LIGURIA	9	523	49	49	2	47	0	0	0	49	4,1	95,9	0,0	0,0	0,0	100,0
LOMBARDIA	17	384	384	382	37	345	0	0	0	382	9,7	90,3	0,0	0,0	0,0	100,0
MARCHE	5	61	61	61	11	50	0	0	0	61	18,0	82,0	0,0	0,0	0,0	100,0
MOLISE	1	33	31	29	10	19	0	0	0	29	34,5	65,5	0,0	0,0	0,0	100,0
PA BOLZANO	1	30	21	21	0	21	0	0	0	21	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	100,0
PA TRENTO	1	14	14	14	2	12	0	0	0	14	14,3	85,7	0,0	0,0	0,0	100,0
PIEMONTE	12	98	98	86	9	74	1	2	0	86	10,5	86,0	1,2	2,3	0,0	100,0
PUGLIA	11	123	123	122	14	108	0	0	0	122	11,5	88,5	0,0	0,0	0,0	100,0
SARDEGNA**	10	1117	43	43	9	20	0	5	9	43	20,9	46,5	0,0	11,6	20,9	100,0
SICILIA	6	102	102	102	17	84	1	0	0	102	16,7	82,4	1,0	0,0	0,0	100,0
TOSCANA***	3	201	102	102	9	93	0	0	0	102	8,8	91,2	0,0	0,0	0,0	100,0
UMBRIA	4	316	48	48	5	43	0	0	0	48	10,4	89,6	0,0	0,0	0,0	100,0
VALLE D'AOSTA	1	2	2	2	0	2	0	0	0	2	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	100,0
VENETO	13	254	254	254	26	228	0	0	0	254	10,2	89,8	0,0	0,0	0,0	100,0
ITALIA	116	8348	2018	1986	225	1741	2	7	11	1986	11,8%	86,6%	0,2%	0,5%	0,9%	100,0%

[^] Include il lignaggio parentale B.1.1.529 e tutti i lignaggi discendenti BA.n, e i ricombinanti BA.1/BA.2 (ad es. XE, XJ, XK, etc.), come da documento WHO "Tracking SARS-CoV-2 variants", ref.3.

*Include i risultati del Laboratorio di Sanità Militare: n. 31 campioni e sequenziati, risultati Omicron BA.2.

**La Regione Sardegna comunica che per 15 campioni è stato sequenziato solo il gene S con i seguenti risultati: 9 XL e 5 XJ; i risultati sul solo gene S potrebbero non essere sufficientemente supportati nella classificazione finale di un ricombinante.

***La Regione Toscana comunica, inoltre, che ulteriori 99 campioni sono stati analizzati attraverso test molecolari di screening di cui 11 risultati positivi per BA.1 e 88 positivi per BA.2

Limiti

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

- 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;
- non sono al momento disponibili dati relativi alle fasce di età dei casi selezionati per l'indagine, alla possibile appartenenza a focolai, e alla geo-localizzazione (potenzialmente utili per valutare con maggiore accuratezza la rappresentatività e la diffusione geografica).

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.

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 su un numero significativo di campioni positivi raccolti sull'intero territorio italiano.

La variante omicron risulta ormai virtualmente l'unica variante di SARS-CoV-2 circolante nel nostro Paese. Si ricorda, a tal proposito, che già nell'indagine precedente, relativa ai campioni notificati il 7 Marzo 2022, la prevalenza era stimata al 99.86%. Resta, tuttavia, da sottolineare la diversa prevalenza tra i due sotto-lignaggi BA.1 vs BA.2. In questa ultima indagine, infatti, il sotto-lignaggio BA.2 rappresenta l'86,6% tra le varianti omicron (vs. il 44,07% dell'indagine precedente). Quest'ultimo risultato è in linea con quanto riportato in altri Paesi europei e non. In Europa, l'aumento nel numero di sequenze attribuibili al sotto-lignaggio BA.2, che ha interessato in un primo momento Danimarca e Regno Unito, è stato registrato a partire dalla prima settimana del 2022.

A tal proposito si ricorda come BA.2 sia classificata tra le VOC (Variant of Concern) da ECDC (4), mentre BA.3, identificata solo in due casi in questa indagine, è classificata come VUM (Variant under Monitoring), (4).

Si sottolinea, inoltre, che BA.2 è considerata un sotto-lignaggio più trasmissibile di BA.1, ma non responsabile di malattia più grave (4).



In questa indagine sono state identificate alcune sequenze riconducibili a possibili ricombinati BA.1/BA.2 da considerare, al momento e come suggerito da WHO (3), come sotto-lignaggi della variante omicron, e da seguire con attenzione nell'evoluzione del virus SARS-CoV-2. La classificazione dei ricombinanti della variante omicron è in continuo aggiornamento man mano che vengono raccolti ed esaminati nuovi dati di sequenziamento di SARS-CoV-2.

Questi risultati, per quanto non privi di limiti e bias, permettono di stabilire l'ormai assoluta predominanza della variante omicron nel nostro Paese, e in particolare del sotto-lignaggio BA.2.

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. 20188 del 01/04/20221 "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. ECDC. SARS-CoV-2 variants of concern as of 7 April 2022
<https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>