

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

(Indagine del 08/11/2022)

Obiettivo

Come riportato nella circolare n. 45451 del 04/11/2022¹, 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 l'8 novembre 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 03/11/2022.

Tabella 1.

Macroarea	Casi notificati il 03/11/2022	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Nord-Est	8694	436
Nord-Ovest	11885	442
Centro	8297	435
Sud e Isole	10120	440
TOTALE	38996	1753

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 03/11/2022 sul totale di casi notificati nella macroarea di riferimento (Tabella 2).

Tabella 2.

Regione	Macroarea	Casi notificati al 03/11/2022	% casi nella macroarea	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Abruzzo	Sud	1040	10%	45
Basilicata	Sud	220	2%	10
Calabria	Sud	879	9%	38
Campania	Sud	2728	27%	118
Emilia-Romagna	Nord-Est	1698	20%	85
Friuli Venezia Giulia	Nord-Est	1131	13%	57
Lazio	Centro	4023	48%	210
Liguria	Nord-Ovest	953	8%	36
Lombardia	Nord-Ovest	7945	67%	295
Marche	Centro	953	11%	50
Molise	Sud	83	1%	4
P.A. Bolzano	Nord-Est	365	4%	19
P.A. Trento	Nord-Est	313	4%	16
Piemonte	Nord-Ovest	2917	25%	108
Puglia	Sud	1840	18%	80
Sardegna	Isole	1056	10%	46
Sicilia	Isole	2274	22%	99
Toscana	Centro	2612	31%	137
Umbria	Centro	709	9%	38
Valle d'Aosta	Nord-Ovest	70	1%	3
Veneto	Nord-Est	5187	60%	259
TOTALE		38996		1753

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 17 novembre 2022.

Risultati

In totale, hanno partecipato all'indagine tutte le Regioni/PPAA, e complessivamente 106 laboratori regionali e il Laboratorio di Sanità Militare.

Come mostrato in Tabella 3, da 2009 casi confermati in RT-PCR, sono stati sequenziati 1533 campioni e 1490 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:

1489 riconducibili a SARS-CoV-2 variante omicron
1 riconducibile ad altra variante di SARS-CoV-2

Tra le 1489 sequenze riconducibili alla variante omicron, sono state individuate:

59	BA.2
28	BA.4
1364	BA.5
38	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 novembre 2022, sono:

99,84% (range: 83,3% - 100%)	variante omicron
0,16% (range: 0% - 16,7%)	altra variante

Relativamente alla variante omicron, le prevalenze stimate sono:

3,98%	range (0% - 10,9%)	BA.2
1,95%	range (0% - 4,9%)	BA.4
91,53%	range (81,8% - 100%)	BA.5
2,39%	range (0% - 13,2%)	Ricombinanti omicron/omicron

Tutti i ricombinanti omicron/omicron sono risultati appartenere al lignaggio XBB.1.

La singola sequenza classificata come "altro" è risultata appartenere al lignaggio ricombinante omicron/delta XAY.1.

Tra le 1364 BA.5, sono stati identificati 112 sotto-lignaggi, oltre al lignaggio parentale BA.5. Un totale di 450 sequenziamenti sono risultati associati ad uno dei 30 lignaggi BQ.1.*n* identificati in questa indagine (con una prevalenza pari a 30.7%); tra BQ.1.*n*, BQ.1.1 è risultato il più frequente (*n*=245).

BF.7.*n* è stata identificata in 220 sequenze (con una prevalenza pari a 14.7%), di cui 179 BF.7.

Tra le 28 BA.4, sono stati identificati 4 sotto-lignaggi, oltre al lignaggio parentale BA.4; BA.4.6 è risultato il prevalente (*n*=21).

Tra le 59 BA.2, sono stati identificati 25 sotto-lignaggi, oltre al lignaggio parentale BA.2. Si segnala la presenza di 42 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†				Altro [∨]	Totale	Omicron†				Altro [∨]	Totale
					BA.2	BA.4	BA.5	Ricombinanti omicron/omicron [^]			BA.2	BA.4	BA.5	Ricombinanti omicron/omicron [^]		
ABRUZZO	2	33	41	41		2	39			41	0,0	4,9	95,1	0,0	0,0	100,0
BASILICATA	2	9	6	6			6			6	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0
CALABRIA	4	41	40	38	1		37			38	2,6	0,0	97,4	0,0	0,0	100,0
CAMPANIA	3	111	95	91	4	2	84	1		91	4,4	2,2	92,3	1,1	0,0	100,0
EMILIA ROMAGNA	3	93	93	93	3	4	85	1		93	3,2	4,3	91,4	1,1	0,0	100,0
FRIULI VENEZIA GIULIA	5	78	69	67	1	1	64	1		67	1,5	1,5	95,5	1,5	0,0	100,0
LAZIO*	1	130	129	116	3	1	109	3		116	2,6	0,9	94,0	2,6	0,0	100,0
LIGURIA	6	221	36	36			35	1		36	0,0	0,0	97,2	2,8	0,0	100,0
LOMBARDIA	16	333	329	319	20	5	288	6		319	6,3	1,6	90,3	1,9	0,0	100,0
MARCHE	1	41	41	41	2		39			41	4,9	0,0	95,1	0,0	0,0	100,0
MOLISE	1	10	10	9			9			9	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0
PA BOLZANO	1	8	6	6			5		1	6	0,0	0,0	83,3	0,0	16,7	100,0
PA TRENTO	1	7	7	3			3			3	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0
PIEMONTE	15	97	97	95	2	4	89			95	2,1	4,2	93,7	0,0	0,0	100,0
PUGLIA	10	55	55	55	6	1	45	3		55	10,9	1,8	81,8	5,5	0,0	100,0
SARDEGNA	10	225	46	46	4	1	41			46	8,7	2,2	89,1	0,0	0,0	100,0
SICILIA	5	120	119	114	5		94	15		114	4,4	0,0	82,5	13,2	0,0	100,0
TOSCANA**	3	106	84	84	2	1	80	1		84	2,4	1,2	95,2	1,2	0,0	100,0
UMBRIA	4	113	52	52			51	1		52	0,0	0,0	98,1	1,9	0,0	100,0
VALLE D'AOSTA	1	3	3	3			3			3	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0
VENETO	12	175	175	175	6	6	158	5		175	3,4	3,4	90,3	2,9	0,0	100,0
ITALIA	106	2009	1533	1490	59	28	1364	38	1	1490	3,98%	1,95%	91,53%	2,39%	0,16%	100,00%

†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. 4 campioni positivi in RT-PCR, n. 3 campioni sequenziati, n. 3 sequenze ottenute per l'analisi, n. 3 sequenze classificate come Omicron (n. 2 sequenza lignaggio BA.5, n.1 ricombinante XBB.1)

[^]Tutti i ricombinanti omicron/omicron segnalati sono XBB.1

[∨]Segnalato un ricombinante XAY.1

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 91,5% (93% nell'indagine precedente, del 4 ottobre 2022), con frequenze regionali/PPAA superiori all'81,8%. Ancora in aumento la numerosità dei sotto-lignaggi di BA.5 circolanti nel nostro Paese (112 vs. 63 dell'indagine precedente).

La prevalenza di BA.4 diminuisce da 4.3% a 1.95% in questa indagine. Si dimezza la proporzione di BA.4.6 (da 2.8% a 1.4% di questa indagine).

Analogamente a quanto segnalato in altri Paesi in questa indagine si evidenziano BQ.1.n in significativo aumento, con una prevalenza pari a 30.7%. In particolare, la variante BQ.1 è attenzionata a livello internazionale per la presenza di ulteriori mutazioni rispetto a BA.5, (quali ad esempio la mutazione R346T caratteristica di BQ.1.1), nella sequenza codificante la proteina spike, mostrando un significativo vantaggio di crescita rispetto ad altre varianti⁵.



Il sotto-lignaggio XBB è una variante ricombinante di due sotto-lignaggi omicron (BJ.1 e BM.1.1.1) altamente trasmissibili e con mutazioni potenzialmente associate a immune evasione. In questa indagine un sottolignaggio di XBB (XBB.1) è stato identificato in 38 sequenze (prevalenza 2.4%) vs le 2 sequenze identificate nell'indagine precedente.

BF.7.n, sotto-lignaggi di BA.5, presentano una prevalenza del 14,7% in questa indagine. BF.7 è in crescita su scala globale.

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. 45451-04/11/2022 "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. WHO. TAG-VE statement on Omicron sublineages BQ.1 and XBB
<https://www.who.int/news/item/27-10-2022-tag-ve-statement-on-omicron-sublineages-bq.1-and-xbb>