

**Stima della prevalenza delle varianti di SARS-CoV-2 in Italia
(Indagine del 04/04/2023)**

Obiettivo

Come riportato nella circolare del Ministero della salute “Stima della prevalenza delle varianti di SARS-CoV-2 in Italia” n. 10771-31/03/2023¹, al fine di stabilire una mappatura del grado di diffusione delle varianti di SARS-CoV-2 attenzionate a livello internazionale, 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 aprile 2023 (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:

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

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 30 marzo 2023.

Tabella 1.

Macroarea	Casi notificati al 30/03/2023	Ampiezza campionaria (p=5%, ε =2%)
Nord-Est	864	302
Nord-Ovest	1012	317
Centro	581	258
Sud e Isole	800	294
TOTALE	3257	1171

L'ampiezza campionaria in ciascuna macroarea è stata quindi ridistribuita nelle Regioni/PPAA corrispondenti in base alla percentuale di casi COVID-19 positivi notificati 30 marzo 2023 sul totale di casi notificati nella macroarea di riferimento (Tabella 2).

Tabella 2.

Regione	Macroarea	Casi notificati il 30/03/2023	% casi nella macroarea	Ampiezza campionaria ($p=5\%$, $\varepsilon=2\%$)
Abruzzo	Sud	137	17%	50
Basilicata	Sud	10	1%	4
Calabria	Sud	63	8%	23
Campania	Sud	276	35%	101
Emilia-Romagna	Nord-Est	246	28%	86
Friuli Venezia Giulia	Nord-Est	64	7%	23
Lazio	Centro	318	55%	141
Liguria	Nord-Ovest	80	8%	25
Lombardia	Nord-Ovest	662	65%	207
Marche	Centro	40	7%	18
Molise	Sud	8	1%	3
P.A. Bolzano	Nord-Est	37	4%	13
P.A. Trento	Nord-Est	37	4%	13
Piemonte	Nord-Ovest	265	26%	83
Puglia	Sud	144	18%	53
Sardegna	Isole	59	7%	22
Sicilia	Isole	103	13%	38
Toscana	Centro	169	29%	75
Umbria	Centro	54	9%	24
Valle d'Aosta	Nord-Ovest	5	0%	2
Veneto	Nord-Est	480	56%	167
TOTALE		3257		1171

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-2^{2,3}, 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, se possibile, 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 o successiva a quella di riferimento.

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

I dati sono stati raccolti dalle Regioni/PPAA partecipanti in un file Excel standardizzato ed inviati all'Istituto Superiore di Sanità e al Ministero della Salute il 13 aprile 2023.

Risultati

I risultati di seguito illustrati sono stati sviluppati in accordo con le indicazioni fornite dagli organismi internazionali, ECDC e WHO, sulla classificazione delle varianti, in relazione all'attuale circolazione del virus SARS-CoV-2, caratterizzata da lignaggi discendenti di Omicron⁴⁻⁷.

In totale, hanno partecipato all'indagine tutte le Regioni/PPAA, ad eccezione della Valle d'Aosta, e complessivamente 85 Laboratori Regionali ed il Laboratorio di Sanità Militare.

Si segnala che per alcune Regioni /PPAA è stato necessario utilizzare i campioni positivi relativi alle giornate precedenti o successive la giornata indice (04/04/23).

Come mostrato in Tabella 3, da 883 casi confermati in RT-PCR, sono stati sequenziati 610 campioni e 584 sono stati classificati in base al lignaggio (Pangolin v. 4.2).

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

36 riconducibili a	BA.2.75
66 riconducibili a	BQ.1
212 riconducibili a	XBB [∨]
255 riconducibili a	XBB.1.5

[∨]Include i relativi sotto-lignaggi, ad eccezione di XBB.1.5

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 2023, sono:

6,3%	range (0,0 - 21,4%)	BA.2.75
9,7%	range (0,0 - 100%)	BQ.1
36,1%	range (0,0 - 70,8%)	XBB [∨]
45,3%	range (0,0 - 66,7%)	XBB.1.5

[∨]Include i relativi sotto-lignaggi, ad eccezione di XBB.1.5

Tra le 36 BA.2.75 sono stati identificati 13 sotto-lignaggi; tra questi, CH.1.1 è risultato il più frequente (n=13).

Tra le 66 BQ.1 sono stati identificati 23 sotto-lignaggi, oltre al lignaggio parentale; 20 sequenze sono risultate appartenere al sotto-lignaggio prevalente BQ.1.1.

Si segnala tra le 212 sequenze riconducibili a XBB, la presenza di 97 sequenziamenti XBB.1.9.1. I sequenziamenti attribuibili a XBB.1.16 e relativi sotto-lignaggi sono risultati essere 4.

Tra le 255 XBB.1.5 sono stati identificati 26 sotto-lignaggi, oltre al lignaggio parentale, risultato essere il più frequente (n=175).

Tabella 3.

REGIONE/PA	N. Lab	N. campioni positivi in RT-PCR	N. campioni sequenziati	N. di sequenze ottenute per analisi	Numero					Prevalenza				
					BA.2.75 [^]	BQ.1 [§]	XBB [∨]	XBB.1.5 [§]	Altro lignaggio	BA.2.75 [^]	BQ.1 [§]	XBB [∨]	XBB.1.5 [§]	Altro lignaggio
ABRUZZO	1	28	8	8	0	0	4	4	0	0,0	0,0	50,0	50,0	0,0
BASILICATA	2	1	1	1	0	1	0	0	0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0
CALABRIA	4	25	25	23	1	4	14	3	1	4,3	17,4	60,9	13,0	4,3
CAMPANIA	3	276	82	79	4	11	17	41	6	5,1	13,9	21,5	51,9	7,6
EMILIA ROMAGNA	3	77	77	77	4	12	31	30	0	5,2	15,6	40,3	39,0	0,0
FRIULI VENEZIA GIULIA	5	24	24	22	0	5	9	8	0	0,0	22,7	40,9	36,4	0,0
LAZIO*	1	23	23	18	2	2	5	9	0	11,1	11,1	27,8	50,0	0,0
LIGURIA	6	48	6	6	0	0	2	4	0	0,0	0,0	33,3	66,7	0,0
LOMBARDIA	13	85	85	77	3	8	31	31	4	3,9	10,4	40,3	40,3	5,2
MARCHE	1	21	21	21	2	1	12	6	0	9,5	4,8	57,1	28,6	0,0
MOLISE	1	8	8	8	0	5	0	3	0	0,0	62,5	0,0	37,5	0,0
PA BOLZANO	1	3	3	3	0	0	1	2	0	0,0	0,0	33,3	66,7	0,0
PA TRENTO	1	6	6	5	0	0	2	2	1	0,0	0,0	40,0	40,0	20,0
PIEMONTE	11	40	40	39	5	1	12	21	0	12,8	2,6	30,8	53,8	0,0
PUGLIA	8	16	16	14	0	2	9	3	0	0,0	14,3	64,3	21,4	0,0
SARDEGNA	2	16	16	14	3	1	4	6	0	21,4	7,1	28,6	42,9	0,0
SICILIA	5	24	24	24	3	0	17	3	1	12,5	0,0	70,8	12,5	4,2
TOSCANA	3	48	47	47	4	5	13	25	0	8,5	10,6	27,7	53,2	0,0
UMBRIA	4	29	13	13	0	3	4	6	0	0,0	23,1	30,8	46,2	0,0
VALLE D'AOSTA~	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VENETO	10	85	85	85	5	5	25	48	2	5,9	5,9	29,4	56,5	2,4
ITALIA	85	883	610	584	36	66	212	255	15	6,3%	9,7%	36,1%	45,3%	2,6%

[^]Includi i relativi sotto-lignaggi ed i ricombinanti XBF ed XBK, che ne condividono la spike (ref 6)

[§]Includi i relativi sotto-lignaggi

[∨]Includi i relativi sotto-lignaggi, ad eccezione di XBB.1.5

*Inclusi i risultati del Laboratorio di Sanità Militare: n. 3 campioni positivi in RT-PCR, n. 3 campioni sequenziati, n. 3 sequenze ottenute per l'analisi, n. 2 sequenze classificate come BA.2.75, n. 1 sequenza classificata come XBB.1.5

~Non disponibile

Limiti

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

- la maggior parte delle Regioni ha segnalato difficoltà nel raggiungere la numerosità campionaria richiesta, anche estendendo il campionamento al giorno precedente o successivo 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 o nullo, 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 sulla piattaforma I-Co-Gen dell'Istituto Superiore di Sanità ⁸.

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

In linea con quanto atteso, la proporzione di sequenziamenti attribuibili a XBB.1.5 (ricombinante di sotto-lignaggi di BA.2, quali BJ.1 e BM.1.1.1 con una mutazione addizionale F486P nella proteina spike) si conferma in aumento, raggiungendo una prevalenza pari al 45% nella presente indagine (38,4% nell'indagine precedente). XBB.1.5 è considerata, ad oggi, variante d'interesse (VOI) dagli organismi internazionali ^{6,7}. Al momento, non ci sono evidenze correlabili ad una maggior severità della malattia associata a XBB.1.5, mentre il rischio di trasmissione risulta aumentato ⁹.

In crescita il valore complessivo delle XBB diverse da XBB.1.5 (altri ricombinanti dei sotto-lignaggi BJ.1 e BM.1.1.1; 36% vs 14,8% dell'indagine precedente). In particolare, si osserva un incremento nella proporzione di sequenziamenti attribuibili a XBB.1.9.1 (secondo lignaggio più frequente nella presente indagine, dopo XBB.1.5). XBB.1.9.1, le cui caratteristiche risultano tutt'oggi oggetto d'investigazione, è considerata VUM (variante sotto monitoraggio) da WHO ⁶. L' ECDC, inoltre, dal momento che XBB.1.9.1 presenta



mutazioni nel gene codificante la proteina Spike simili a quelle di XBB.1.5, l'ha inserita come VOI (variante di interesse) tra i lignaggi "XBB.1.5-like" ⁷.

In diminuzione la prevalenza di BQ.1, classificata come VOI da ECDC e VUM da WHO ^{6,7} (9,7% vs 29,6% dell'indagine precedente). In riduzione anche la circolazione di BA.2.75 (classificata come VOI da ECDC e come VUM da WHO ^{6,7}), con una prevalenza nazionale stimata al 6,3% (12% nell'indagine precedente).

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. 0010771-31/03/2023 "Stima della prevalenza delle varianti di SARS-CoV-2 in Italia"
<https://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/renderNormsanPdf?anno=2023&codLeg=92955&parte=1%20&serie=null>
2. ECDC Sequencing of SARS-CoV-2: first update. 18 January 2021.
<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Sequencing-of-SARS-CoV-2-first-update.pdf>
3. Guidance for representative and targeted genomic SARS-CoV-2 monitoring. 3 May 2021.
<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Guidance-for-representative-and-targeted-genomic-SARS-CoV-2-monitoring-updated-with%20erratum-20-May-2021.pdf>
4. WHO. Statement on the update of WHO's working definitions and tracking system for SARS-CoV-2 variants of concern and variants of interest <https://www.who.int/news/item/16-03-2023-statement-on-the-update-of-who-s-working-definitions-and-tracking-system-for-sars-cov-2-variants-of-concern-and-variants-of-interest>
5. ECDC. ECDC de-escalates BA.2, BA.4 and BA.5 from its list of variants of concern.
<https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/ecdc-de-escalates-ba2-ba4-and-ba5-its-list-variants-concern>
6. WHO. Tracking SARS-CoV-2 variants. <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>
7. ECDC. SARS-CoV-2 variants of concern as of 23 March 2023. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>
8. 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>



9. WHO. XBB.1.5 Updated Risk Assessment, 24 February 2023. https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/22022024xbb.1.5ra.pdf?sfvrsn=7a92619e_3