

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

(Indagine del 07/03/2023)

Obiettivo

Come riportato nella circolare del Ministero della salute “Stima della prevalenza delle varianti VOC (*Variant Of Concern*) e di altre varianti di SARS-CoV-2 in Italia” n. 0007465-03/03/2023 ¹, 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 7 marzo 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:

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

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 2 marzo 2023.

Tabella 1.

Macroarea	Casi notificati il 02/03/2023	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Nord-Est	809	295
Nord-Ovest	790	293
Centro	956	312
Sud e Isole	949	313
TOTALE	3504	1213

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

Tabella 2.

Regione	Macroarea	Casi notificati il 02/03/2023	% casi nella macroarea	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Abruzzo	Sud	107	11,30%	35
Basilicata	Sud	9	0,90%	3
Calabria	Sud	99	10,40%	33
Campania	Sud	288	30,30%	94
Emilia-Romagna	Nord-Est	297	36,70%	108
Friuli Venezia Giulia	Nord-Est	80	9,90%	29
Lazio	Centro	569	59,50%	185
Liguria	Nord-Ovest	74	9,40%	28
Lombardia	Nord-Ovest	565	71,50%	208
Marche	Centro	70	7,30%	23
Molise	Sud	4	0,40%	2
P.A. Bolzano	Nord-Est	70	8,70%	26
P.A. Trento	Nord-Est	31	3,80%	12
Piemonte	Nord-Ovest	148	18,70%	55
Puglia	Sud	161	17,00%	53
Sardegna	Isole	75	7,90%	25
Sicilia	Isole	206	21,70%	68
Toscana	Centro	224	23,40%	73
Umbria	Centro	93	9,70%	31
Valle d'Aosta	Nord-Ovest	3	0,40%	2
Veneto	Nord-Est	331	40,90%	120
TOTALE		3504		1213

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 o successiva 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 16 marzo 2023.

Risultati

I risultati di seguito illustrati sono stati sviluppati in accordo con le più recenti 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 Omicron³⁻⁶.

In totale, hanno partecipato all'indagine tutte le Regioni/PPAA, ad eccezione della Valle d'Aosta, e complessivamente 98 laboratori.

Si segnala che per alcune Regioni /PPAA è stato necessario utilizzare i campioni positivi relativi alle giornate precedenti o successive la giornata indice (07/03/23).

Come mostrato in Tabella 3, da 1189 casi confermati in RT-PCR, sono stati sequenziati 741 campioni e 708 sono stati classificati in base al lignaggio (Pangolin v. 4.2).

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

86 riconducibili a	BA.2.75
228 riconducibili a	BQ.1
109 riconducibili a	XBB [∨]
242 riconducibili a	XBB.1.5

[∨]Include i relativi sotto-lignaggi, ad eccezione di XBB.1.5 (ref 6)

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 7 marzo 2023, sono:

12,0%	range (0,0% - 33,3%)	BA.2.75
29,6%	range (0,0% - 100%)	BQ.1
14,8%	range (0,0% - 50,0%)	XBB [∨]
38,4%	range (0,0% - 80,0%)	XBB.1.5

[∨]Include i relativi sotto-lignaggi, ad eccezione di XBB.1.5 (ref 6)

Tra le 86 BA.2.75 sono stati identificati 14 sotto-lignaggi; tra questi, CH.1.1 è risultato il più frequente (n=36).

Tra le 228 BQ.1 sono stati identificati 32 sotto-lignaggi, oltre al lignaggio parentale; 73 sequenze sono risultate appartenere al sotto-lignaggio prevalente BQ.1.1.

Si segnala tra le 109 sequenze riconducibili a XBB, la presenza di 81 sequenziamenti riconducibili a XBB.1.9.1/XBB.1.9.2.

Tra le 242 XBB.1.5 sono stati identificati 6 sotto-lignaggi, oltre al lignaggio parentale, risultato essere il più frequente (n=227).

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	2	84	21	21	3	6	3	8	1	14,3	28,6	14,3	38,1	4,8
BASILICATA	2	1	1	1	0	1	0	0	0	0,0	100	0,0	0,0	0,0
CALABRIA	4	27	27	26	4	14	1	7	0	15,4	53,8	3,8	26,9	0,0
CAMPANIA	3	328	60	57	8	26	4	11	8	14,0	45,6	7,0	19,3	14,0
EMILIA ROMAGNA	3	93	93	93	6	25	26	31	5	6,5	26,9	28,0	33,3	5,4
FRIULI VENEZIA GIULIA	5	21	21	17	3	3	1	10	0	17,6	17,6	5,9	58,8	0,0
LAZIO	1	29	29	22	2	6	3	11	0	9,1	27,3	13,6	50,0	0,0
LIGURIA	6	42	3	3	1	0	0	2	0	33,3	0,0	0,0	66,7	0,0
LOMBARDIA	14	109	109	107	12	20	21	45	9	11,2	18,7	19,6	42,1	8,4
MARCHE	1	25	25	24	0	8	5	11	0	0,0	33,3	20,8	45,8	0,0
MOLISE	1	6	6	2	0	0	1	1	0	0,0	0,0	50,0	50,0	0,0
PA BOLZANO	1	6	5	5	0	0	1	4	0	0,0	0,0	20,0	80,0	0,0
PA TRENTO	1	16	16	12	2	3	3	4	0	16,7	25,0	25,0	33,3	0,0
PIEMONTE	11	56	56	51	4	15	3	26	3	7,8	29,4	5,9	51,0	5,9
PUGLIA	7	13	13	13	1	5	3	4	0	7,7	38,5	23,1	30,8	0,0
SARDEGNA	10	91	30	30	9	16	1	3	1	30,0	53,3	3,3	10,0	3,3
SICILIA	7	54	54	54	13	23	6	0	12	24,1	42,6	11,1	0,0	22,2
TOSCANA	3	52	52	50	2	20	7	19	2	4,0	40,0	14,0	38,0	4,0
UMBRIA	4	38	22	22	1	11	6	4	0	4,5	50,0	27,3	18,2	0,0
VALLE D'AOSTA~	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VENETO	12	98	98	98	15	26	14	41	2	15,3	26,5	14,3	41,8	2,0
ITALIA	98	1189	741	708	86	228	109	242	43	12,0%	29,6%	14,8%	38,4%	5,1%

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

[∨]Include i relativi sotto-lignaggi, ad eccezione di XBB.1.5 (ref 6)

[§] Include i relativi sotto-lignaggi (ref 6)

~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 e, pertanto, hanno esteso il campionamento anche al giorno precedente o successiva 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 ⁷.

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 dei sotto-lignaggi BJ.1 e BM.1.1.1 con mutazione addizionale F486P nella proteina spike) è in aumento, raggiungendo una prevalenza pari a 38,4% nella presente indagine. XBB.1.5 è considerata, ad oggi, variante d'interesse (VOI) dagli organismi internazionali ^{5,6}. Al momento, non ci sono evidenze correlabili ad una maggior severità della malattia associata a XBB.1.5⁸.

BQ.1, classificata recentemente come VOI da ECDC e VUM (variante sotto monitoraggio) da WHO ^{5,6}, ha una prevalenza in questa indagine pari al 29,6%. In diminuzione anche la proporzione di sequenziamenti associati a BQ.1.1, sotto-lignaggio di BQ.1, precedentemente attenzionato per la presenza di una mutazione addizionale in un sito antigenico chiave della proteina spike (R346T)⁹ (10,3% vs. 34,2% della precedente indagine).



Si continua ad osservare una circolazione sostenuta di BA.2.75 (classificata come VOI da ECDC e come VUM da WHO ^{5,6}), con una prevalenza nazionale stimata al 12%, ed in particolare del sotto-lignaggio CH.1.1 (VUM per ECDC e WHO ^{5,6}), le cui principali caratteristiche sono tutt'oggi oggetto di investigazione.

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 0007465 del 03/03/2023 "Stima della prevalenza delle varianti VOC (Variant Of Concern) e di altre varianti di SARS-CoV-2 in Italia". <https://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/renderNormsanPdf?anno=2023&codLeg=92536&parte=1%20&serie=null>
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. 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>
4. 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>
5. WHO. Tracking SARS-CoV-2 variants. <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>
6. ECDC. SARS-CoV-2 variants of concern as of 9 March 2023. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>
7. 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>
8. 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
9. 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>