



2021

Stima della prevalenza delle varianti VOC (*Variants of Concern*) in Italia: B.1.1.7, B.1.351, P.1 e B.1.617.2, e altre varianti di SARS-CoV-2 (indagine del 22/6/2021)



Obiettivo

Come riportato nella circolare n. 27401 del Ministero della Salute pubblicata il 18/06/2021 (1), al fine di stabilire una mappatura del grado di diffusione in Italia delle varianti di SARS-CoV-2 appartenenti ai lignaggi B.1.1.7, B.1.351, P.1, B.1.617.2, e altre varianti, è stata realizzata una indagine rapida 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 l'identificazione di possibili casi di infezione riconducibili a queste varianti, tra i campioni con risultato positivo per SARS-CoV-2 in RT-PCR.

Metodologia

Questa indagine prende in considerazione i campioni notificati il 22 Giugno 2021 (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 calcolata in base ai casi COVID-19 positivi notificati il 16 Giugno 2021.

Tabella 1.

Macroarea	Casi notificati al 16/06/2021	Ampiezza campionaria ($p=5\%$, $\varepsilon=2\%$)
Nord-Est	192	138
Nord-Ovest	337	198
Centro	290	180
Sud e Isole	581	261
TOTALE	1400	777

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 16 Giugno 2021 sul totale di casi notificati nella macroarea di riferimento (Tabella 2).

Tabella 2.

Regione	Macroarea	Casi notificati al 16/06/2021	% casi nella macroarea	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Abruzzo	Sud	27	5%	12
Basilicata	Sud	16	3%	8
Calabria	Sud	66	11%	30
Campania	Sud	167	29%	74
Emilia-Romagna	Nord-Est	73	38%	52
Friuli Venezia Giulia	Nord-Est	23	12%	17
Lazio	Centro	143	49%	88
Liguria	Nord-Ovest	21	6%	13
Lombardia	Nord-Ovest	256	76%	149
Marche	Centro	29	10%	18
Molise	Sud	1	0%	1
P.A. Bolzano	Nord-Est	8	4%	6
P.A. Trento	Nord-Est	4	2%	3
Piemonte	Nord-Ovest	59	18%	35
Puglia	Sud	112	19%	50
Sardegna	Isole	24	4%	11
Sicilia	Isole	168	29%	75
Toscana	Centro	106	37%	66
Umbria	Centro	12	4%	8
Valle d'Aosta	Nord-Ovest	1	0%	1
Veneto	Nord-Est	84	44%	60
TOTALE		1400		777

Tenendo conto del fatto che sul territorio circolano varianti con diverse prevalenze, 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 4.5% nelle 4 macro-aree considerate.

Inoltre, in riferimento al protocollo ECDC sul sequenziamento del SARS-CoV-2 (2), con l'ampiezza campionaria scelta, è possibile osservare in ogni macroarea varianti che circolano intorno all'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 1 Luglio 2021.

Risultati

In totale, hanno partecipato all'indagine tutte le Regioni/PPAA e complessivamente 113 laboratori.

Come mostrato in tabella 3, da 854 casi confermati in RT-PCR, sono stati sequenziati 772 campioni e classificati in base al lignaggio (software Pangolin v. 3.1.5, 15.06.2021).

In dettaglio, tra le 736 sequenze ottenute per l'analisi ne sono state individuate:

393	riconducibili a SARS-CoV-2	lignaggio	B.1.1.7
0	riconducibili a SARS-CoV-2	lignaggio	B.1.351
92	riconducibili a SARS-CoV-2	lignaggio	P.1
196	riconducibili a SARS-CoV-2	lignaggio	B.1.617.2
10	riconducibili a SARS-CoV-2	lignaggio	B.1.525
1	riconducibili a SARS-CoV-2	lignaggio	P.2

Le stime di prevalenza a livello nazionale, ottenute come la media delle prevalenze nelle diverse Regioni/PA pesate per il numero di casi regionali notificati dal 21 al 23 Giugno 2021, sono le seguenti:

57.8% (range: 16.7%-100%)	lignaggio	B.1.1.7
0.0% (range: 0.0%-0.0%)	lignaggio	B.1.351
11.8% (range: 0%-37.5%)	lignaggio	P.1
22.7% (range: 0%-70.6%)	lignaggio	B.1.617.2
1.4% (range: 0%-11.1%)	lignaggio	B.1.525
0.2% (range: 0%-1.5%)	lignaggio	P.2



In totale, 44 genomi tra i 736 analizzati (6%) sono riconducibili a lignaggi diversi da quelli oggetto dell'indagine.

In particolare, la Tabella 4 mostra il numero e la distribuzione per Regione di 20 dei 44 genomi riconducibili a SARS-CoV-2 *Variants of Interest* (VOI) o *Variants Under Monitoring* (VUM) secondo la classificazione di ECDC pubblicata il 24 Giugno 2021 (3). In particolare:

- il lignaggio B.1.621 in 6 casi in 4 Regioni;
- il lignaggio B.1.1.318 in 1 caso in Lombardia;
- il lignaggio B.1.526 (variante Iota) in 2 casi in Liguria;
- il lignaggio C.36+L452R in 8 casi in Lombardia;
- il lignaggio C.37 (variante Lambda) in 3 casi (1 in Piemonte e 2 in Sicilia).

Tabella 3.

REGIONE/PA	N. Laboratori	N. campioni positivi in RT-PCR	N. campioni sequenziati	N. di sequenze ottenute per analisi	Numero							Prevalenza					
					B.1.1.7	B.1.351	P.1	B.1.617.2	B.1.525	P.2	Altre varianti	B.1.1.7	B.1.351	P.1	B.1.617.2	B.1.525	P.2
ABRUZZO	2	23	16	16	7	0	0	9	0	0	0	43,8%	-	-	56,3%	-	-
BASILICATA	2	13	13	8	8	0	0	0	0	0	0	100,0%	-	-	-	-	-
CALABRIA	2	37	30	30	15	0	3	9	3	0	0	50,0%	-	10,0%	30,0%	10,0%	-
CAMPANIA	3	110	95	95	56	0	10	28	0	0	1	58,9%	-	10,5%	29,5%	-	-
EMILIA ROMAGNA	2	56	56	56	36	0	7	13	0	0	0	64,3%	-	12,5%	23,2%	-	-
FRIULI VENEZIA GIULIA	7	17	17	17	4	0	0	12	0	0	1	23,5%	-	-	70,6% [§]	-	-
LAZIO	19	117	117	106	29	0	39*	37	0	0	1	27,4%	-	36,8%	34,9%	-	-
LIGURIA	7	9	6	6	1	0	1	2	0	0	2	16,7%	-	16,7%	33,3%	-	-
LOMBARDIA	15	168	152	144	64	0	4	55	4	0	17 [^]	44,4%	-	2,8%	38,2%	2,8%	-
MARCHE	4	9	9	9	3	0	1	4	1	0	0	33,3%	-	11,1%	44,4%	11,1%	-
MOLISE	1	6	6	6	6	0	0	0	0	0	0	100,0%	-	-	-	-	-
PA BOLZANO	1	5	5	5	2	0	0	3	0	0	0	40,0%	-	-	60,0%	-	-
PA TRENTO	1	3	3	2	2	0	0	0	0	0	0	100,0%	-	-	-	-	-
PIEMONTE	13	46	46	40	28	0	0	2	0	0	10	70,0%	-	-	5,0%	-	-
PUGLIA	9	37	37	37	30	0	0	6	0	0	1	81,1%	-	-	16,2%	-	-
SARDEGNA	4	17	12	12	2	0	0	8	0	0	2	16,7%	-	-	66,7%	-	-
SICILIA	4	81	68	68	56	0	4	2	1	1	4	82,4%	-	5,9%	2,9%	1,5%	1,5%
TOSCANA	3	59	43	43	23	0	14	3	1	0	2	53,5%	-	32,6%	7,0%	2,3%	-
UMBRIA	4	13	13	8	4	0	3	0	0	0	1	50,0%	-	37,5%	-	-	-
VALLE D'AOSTA	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	100,0%	-	-	-	-	-
VENETO	9	27	27	27	16	0	6**	3	0	0	2	59,3%	-	22,2%	11,1%	-	-
ITALIA	113	854	772	736	393	0	92	196	10	1	44	57,8%	-	11,8%	22,7%	1,4%	0,2%

[^] di cui 1 VOC B.1.1.7+E484K

* di cui 37 P.1.1

** P.1.1

[§] vedi limiti

Tabella 4.

REGIONE	VARIANT OF INTEREST	VARIANTS UNDER MONITORING			
	B.1.621	B.1.1.318	B.1.526	C.36+L452R	C.37
CAMPANIA	1				
LAZIO	1				
LIGURIA			2		
LOMBARDIA		1		8*	
PIEMONTE					1
SICILIA					2
TOSCANA	2				
VENETO	2				
Totale	6	1	2	8	3

*Di cui 7 appartenenti al sotto-lignaggio C.36.3

Limiti

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

- Il metodo di campionamento potrebbe essere disomogeneo e non random in alcune Regioni/PPAA.
- 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 individuata.
- 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 geografica).
- In Regioni con un numero esiguo di casi notificati il 22 Giugno 2021, il campionamento è stato esteso ai casi notificati durante la giornata precedente e/o successiva al 22 Giugno 2021.
- Le stime di prevalenza in Regioni con un numero esiguo di casi notificati possono essere distorte dalla presenza di cluster di variante Delta. In queste Regioni, infatti, i campioni selezionati provengono necessariamente dal tracciamento dei casi positivi alla variante Delta notificati la settimana precedente questa indagine rapida (§ per esempio come segnalato dal Friuli Venezia Giulia).



Conclusioni

A seguito di segnalazioni di diverse varianti di SARS-CoV-2 nel Paese si è ritenuto opportuno organizzare ripetute indagini di prevalenza rapide sul territorio nazionale.

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

Tra le cosiddette *Variants of Concern* (VOC):

- il lignaggio B.1.1.7 (variante Alfa), segnalato nella totalità delle Regioni/PPAA, suggerisce la sua diffusione sul territorio nazionale. Tuttavia, la prevalenza nazionale stimata nell'indagine rapida precedente (18 Maggio 2021) pari a 88,1% è ora scesa a 57,8%. Un caso riconducibile a VOC B.1.1.7+E484K è stato riportato in Lombardia;
- il lignaggio B.1.351 (variante Beta) non è stato riportato in nessuna Regione/PPAA in questa indagine;
- il lignaggio P.1 (variante Gamma) ha una prevalenza pari a 11,8% (nella precedente era 7,3%). In numeri assoluti appare in diminuzione in diverse Regioni ed in particolare, in Abruzzo (0 vs 5 dell'indagine precedente), in Campania (10 vs 22 dell'indagine precedente), in Emilia Romagna (7 vs 13 dell'indagine precedente); in aumento, ad esempio, in Toscana (14 vs 5 dell'indagine precedente) e Veneto (6 vs 1 dell'indagine precedente);
- il lignaggio B.1.617.2 (variante Delta) è stimato avere una prevalenza nazionale pari al 22,7% e identificato in 16 Regioni/PA.

Tra le cosiddette *Variants of Interest* (VOI):

- il lignaggio B.1.525 (variante Eta) è stato individuato in 10 casi vs 17 dell'indagine precedente, e in questa indagine, come numero assoluto, in aumento in particolare in Calabria (3 vs 1 dell'indagine precedente) e in Lombardia (4 vs 0 dell'indagine precedente);
- il lignaggio B.1.621 è stato individuato in 6 casi in 4 Regioni.

Tra le altre cosiddette *Variants under Monitoring* (VUM):

- il lignaggio P.2 (variante Zeta) è stato individuato solo in 1 caso in Sicilia;
- il lignaggio C.36+L452R è stata individuato in 8 casi vs 19 dell'indagine precedente;
- il lignaggio C.37 (variante Lambda) è stato individuato in 3 casi (1 in Piemonte e 2 in Sicilia) vs 1 caso nell'indagine precedente;
- il lignaggio B.1.1.318 in 1 caso vs 2 dell'indagine precedente.



A partire da questi risultati, per quanto non privi di limiti e *bias*, si propongono le seguenti riflessioni:

- nel contesto italiano, in cui la campagna di vaccinazione non ha ancora raggiunto coperture sufficienti, la diffusione di varianti a maggiore trasmissibilità può avere un impatto rilevante. Mentre la variante Alfa (B.1.1.7), se pur ancora predominante, vede diminuita la sua prevalenza a livello nazionale, dall'indagine si evince che la variante Gamma (P.1 e suoi sottolignaggi) ha una prevalenza in leggero aumento rispetto alla precedente indagine e che la variante Delta (B.1.167.2) è in aumento. Rispetto a questo ultimo dato bisogna però considerare che la prevalenza potrebbe essere sovrastimata a causa della presenza di numerosi focolai (che vengono identificati e quindi indagati in maniera più estesa) nelle varie Regioni/PPAA Italiane;
- nell'attuale scenario europeo e nazionale, caratterizzato dalla circolazione di diverse varianti di SARS-CoV-2, è necessario continuare a monitorare con grande attenzione, in coerenza con le raccomandazioni nazionali ed internazionali e con le indicazioni ministeriali, la loro diffusione ed, in particolare, di quelle a maggiore trasmissibilità o con mutazioni correlate a potenziale evasione della risposta immunitaria;
- inoltre, al fine di contenerne ed attenuarne l'impatto, è importante mantenere l'incidenza a valori che permettano il sistematico tracciamento della maggior parte dei casi positivi e, per quanto possibile, il sequenziamento massivo di SARS-CoV-2 per individuare precocemente e controllare l'evoluzione di varianti genetiche nel nostro Paese.

Ringraziamenti

Si ringraziano tutte le Regioni/PPAA e tutti i laboratori che hanno partecipato a questa indagine.

Referenze

- 1) Ministero della Salute Circolare n. del 18-06-2021 "27401 del Ministero della Salute pubblicata il 18/06/2021 (1) " Stima della prevalenza delle varianti VOC (Variant of Concern) in Italia: lineage B.1.1.7, P.1, B.1.617. (1,2 o 3) e B.1.351, e altre varianti del virus SARS-CoV-2".
- 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) ECDC SARS-CoV-2 variants of concern as of 24 June 2021. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>.