

**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 20/7/2021)



Obiettivo

Come riportato nella circolare n. 32266 del Ministero della Salute pubblicata il 16/07/2021 (1), al fine di stabilire una mappatura del grado di diffusione delle varianti VOC di SARS-CoV-2: B.1.1.7, B.1.351, P.1, B.1.617.2 (varianti definite alfa, beta, gamma e delta, rispettivamente) e altre varianti di SARS-CoV-2, 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 20 Luglio 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 15 Luglio 2021.

Tabella 1.

Macroarea	Casi notificati al 15/07/2021	Ampiezza campionaria ($p=5\%$, $\varepsilon=2\%$)
Nord-Est	551	252
Nord-Ovest	480	237
Centro	586	258
Sud e Isole	838	299
TOTALE	2455	1046

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 15 Luglio 2021 sul totale di casi notificati nella macroarea di riferimento (Tabella 2).

Tabella 2.

Regione	Macroarea	Casi notificati al 15/07/2021	% casi nella macroarea	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Abruzzo	Sud	50	6%	18
Basilicata	Sud	5	1%	2
Calabria	Sud	32	4%	12
Campania	Sud	234	28%	83
Emilia-Romagna	Nord-Est	167	30%	76
Friuli Venezia Giulia	Nord-Est	21	4%	10
Lazio	Centro	353	60%	155
Liguria	Nord-Ovest	31	6%	16
Lombardia	Nord-Ovest	381	79%	187
Marche	Centro	40	7%	18
Molise	Sud	10	1%	4
P.A. Bolzano	Nord-Est	22	4%	10
P.A. Trento	Nord-Est	23	4%	11
Piemonte	Nord-Ovest	68	14%	34
Puglia	Sud	42	5%	15
Sardegna	Isole	112	13%	40
Sicilia	Isole	353	42%	125
Toscana	Centro	173	30%	76
Umbria	Centro	20	3%	9
Valle d'Aosta	Nord-Ovest	0	0%	0
Veneto	Nord-Est	318	58%	145
TOTALE		2455		1046

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 macroaree 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 29 Luglio 2021.

Risultati

In totale, hanno partecipato all'indagine tutte le Regioni/PPAA e complessivamente 123 laboratori.

Come mostrato in tabella 3, da 1.973 casi confermati in RT-PCR, sono stati sequenziati 1.325 campioni e classificati in base al lignaggio (software Pangolin v. 3.1.7, 2021-07-09).

In dettaglio, tra le 1.309 sequenze ottenute per l'analisi ne sono state individuate:

49 riconducibili a SARS-CoV-2	lignaggio	B.1.1.7
0 riconducibili a SARS-CoV-2	lignaggio	B.1.351
16 riconducibili a SARS-CoV-2	lignaggio	P.1
1266 riconducibili a SARS-CoV-2	lignaggio	B.1.617.2
0 riconducibili a SARS-CoV-2	lignaggio	B.1.525
0 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 20 luglio 2021, sono le seguenti:

3,2% (range: 0,0%-14,7%)	lignaggio	B.1.1.7
0,0% (range: 0,0%-0,0%)	lignaggio	B.1.351
1,4% (range: 0,0%-16,7%)	lignaggio	P.1
94,8% (range: 80%-100%)	lignaggio	B.1.617.2
0% (range: 0.0%-0.0%)	lignaggio	B.1.525
0% (range: 0.0%-0.0%)	lignaggio	P.2



In totale, 7 genomi tra i 1309 analizzati (0.5%) sono riconducibili a lignaggi diversi da quelli oggetto dell'indagine.

In particolare, la Tabella 4 mostra il numero e la distribuzione per Regione dei 6 genomi riconducibili a SARS-CoV-2 *Variants of Interest* (VOI) o *Variants Under Monitoring* (VUM) secondo la classificazione di ECDC pubblicata il 22 luglio 2021 (3). In particolare:

- il lignaggio B.1.621 in 1 caso in Veneto;
- il lignaggio P.3 (variante Theta) in 1 caso in Sicilia;
- il lignaggio B.1.1.318 in 1 caso in Lombardia;
- il lignaggio C.36+L452R in 3 casi in Lombardia.

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	45	28	28	3	0	1	24	0	0	0	10,7	0,0	3,6	85,7	0,0	0,0
BASILICATA	2	2	2	2	0	0	0	2	0	0	0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
CALABRIA	2	33	15	12	0	0	2	10	0	0	0	0,0	0,0	16,7	83,3	0,0	0,0
CAMPANIA	3	233	83	83	3	0	3	77	0	0	0	3,6	0,0	3,6	92,8	0,0	0,0
EMILIA ROMAGNA	2	127	127	127	9	0	0	118	0	0	0	7,1	0,0	0,0	92,9	0,0	0,0
FRIULI VENEZIA GIULIA	7	44	30	30	0	0	0	29	0	0	1	0,0	0,0	0,0	96,7	0,0	0,0
LAZIO	20	132	132	132	5	0	2	125	0	0	0	3,8	0,0	1,5	94,7	0,0	0,0
LIGURIA	8	75	16	15	0	0	0	15	0	0	0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
LOMBARDIA	15	220	220	214	3	0	3^	204^^	0	0	4	1,4	0,0	1,4	95,3	0,0	0,0
MARCHE	7	49	18	18	3	0	0	46*	0	0	0	6,1	0,0	0,0	93,9	0,0	0,0
MOLISE	1	15	15	15	0	0	0	15	0	0	0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
PA BOLZANO	1	14	10	10	0	0	0	10	0	0	0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
PA TRENTO	1	11	11	11	1	0	0	10	0	0	0	9,1	0,0	0,0	90,9	0,0	0,0
PIEMONTE	12	57	57	55	2	0	0	53	0	0	0	3,6	0,0	0,0	96,4	0,0	0,0
PUGLIA	9	75	75	75	11	0	2	60	0	0	0	14,7	0,0	2,7	80,0	0,0	0,0
SARDEGNA	10	330	64	63	0	0	0	63	0	0	0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
SICILIA	4	152	146	144	6	0	3	134	0	0	1	4,2	0,0	2,1	93,1	0,0	0,0
TOSCANA	3	135	117	117	0	0	0	117	0	0	0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
UMBRIA	4	78	13	13	0	0	0	13	0	0	0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
VALLE D'AOSTA	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
VENETO	9	145	145	144	3	0	0	140	0	0	1	2,1	0,0	0,0	97,2	0,0	0,0
ITALIA	123	1973	1325	1309	49	0	16	1266	0	0	7	3,2	0,0	1,4	94,8	0,0	0,0

^ di cui 1 P.1.1

^^ di cui 1 AY.3

* La Regione Marche comunica che dei 46 campioni positivi per VOC Delta, 31 sono risultati positivi al test di screening e 15 sono stati sequenziati.

Tabella 4.

REGIONE	VARIANTS OF INTEREST		VARIANTS UNDER MONITORING	
	B.1.621	P.3	B.1.1.318	C.36+L452R
LOMBARDIA			1	3*
SICILIA		1		
VENETO	1			
Totale	1	1	1	3

*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 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 geografica).

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.1.617.2 (variante Delta) ha una prevalenza superiore al 94% ed è segnalata in tutte le Regioni/PA, sostituendo *de facto* la variante Alfa, ora presente solo al 3,2% in questa indagine rapida rispetto al 57,8% dell'indagine precedente;

- il lignaggio P.1 (variante Gamma) ha una prevalenza pari all'1,4% (nella precedente era 11,8%). In numeri assoluti appare in diminuzione in tutte le Regioni/PA.

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

- il lignaggio B.1.525 (variante Eta) non è stato segnalato in nessuna Regione/PA rispetto ai 10 casi dell'indagine precedente;
- il lignaggio B.1.621 è stato segnalato in un solo caso in Veneto;
- il lignaggio P.3 (variante Theta) in un caso in Sicilia.

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

- il lignaggio P.2 (variante Zeta) non è stato segnalato in nessuna Regione/PA;
- il lignaggio C.36+L452R (sottolignaggio C.36.3) è stata individuato in 3 casi tutti in Lombardia;
- il lignaggio B.1.1.318 in 1 caso in Lombardia.

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

- la diffusione di varianti a maggiore trasmissibilità può avere un impatto rilevante. La variante Delta (B.1.167.2) è da considerarsi predominante in questa indagine rapida, avendo sostituito per la prima volta la variante Alfa (B.1.1.7). Questo dato, peraltro atteso, è in linea con quanto osservato in altri Paesi Europei. La variante Delta è, infatti, caratterizzata da una trasmissibilità dal 40 al 60% più elevata rispetto alla variante Alfa, ed è associata ad un rischio relativamente più elevato di infezione in soggetti non vaccinati o parzialmente vaccinati;
- la prevalenza della variante Gamma (P.1) è diminuita drasticamente in tutto il Paese;
- 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 e il rapido diffondersi di varianti virali nel nostro Paese;

- come riportato nel Rapporto n. 5 dell'ISS, pubblicato il 23 Luglio 2021, aumenta in Italia la capacità di genotipizzazione: nel mese di Giugno è stata pari al 9,3% dei casi COVID-19 positivi riportati al Sistema di Sorveglianza Integrata COVID-19.

Ringraziamenti

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

Referenze

- 1) Ministero della Salute Circolare n. 32226 del 16/07/2021 "Stima della prevalenza delle varianti VOC (Variants of Concern) in Italia: B.1.1.7, B.1.351, P.1, B.1.617.2 e altre varianti di 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 22 July 2021. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>.