

**Stima della prevalenza delle varianti VOC (*Variants of Concern*) in Italia:
beta, gamma, delta, omicron e altre varianti di SARS-CoV-2**

(Indagine del 20/12/2021)

Obiettivo

Come riportato nella circolare n. 58252 del Ministero della Salute pubblicata il 17/12/2021¹, al fine di stimare la prevalenza delle varianti VOC (Variants of Concern) in Italia: beta, gamma, delta, omicron e altre varianti di SARS-CoV-2, 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 (Provincie 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 20 Dicembre 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 dicembre 2021.

Tabella 1.

Macroarea	Casi notificati al 16/12/2021	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Nord-Est	7082	431
Nord-Ovest	8564	436
Centro	4887	420
Sud e Isole	5576	426
TOTALE	26109	1713

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

Tabella 2.

Regione/PA	Macroarea	Casi notificati al 16/12/2021	% casi nella macroarea	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Abruzzo	Sud	506	9,1%	39
Basilicata	Sud	125	2,2%	10
Calabria	Sud	929	16,7%	71
Campania	Sud	1770	31,7%	134
Emilia-Romagna	Nord-Est	2077	29,3%	126
Friuli Venezia Giulia	Nord-Est	914	12,9%	56
Lazio	Centro	2652	54,3%	227
Liguria	Nord-Ovest	1011	11,8%	52
Lombardia	Nord-Ovest	5304	61,9%	269
Marche	Centro	753	15,4%	65
Molise	Sud	10	0,2%	1
P.A. Bolzano	Nord-Est	442	6,2%	27
P.A. Trento	Nord-Est	266	3,8%	17
Piemonte	Nord-Ovest	2197	25,7%	112
Puglia	Sud	596	10,7%	46
Sardegna	Isole	294	5,3%	23
Sicilia	Isole	1346	24,1%	102
Toscana	Centro	1222	25,0%	105
Umbria	Centro	260	5,3%	23
Valle d'Aosta	Nord-Ovest	52	0,6%	3
Veneto	Nord-Est	3383	47,8%	205
TOTALE		26109		1713

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%.

Per l'indagine, è stato richiesto alle Regioni/PPAA di selezionare il campione 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 dicembre 2021.

Risultati

In totale, hanno partecipato all'indagine tutte le Regioni/PPAA e complessivamente 117 laboratori regionali e il Laboratorio di Sanità Militare.

Come mostrato in Tabella 3, da 6443 casi confermati in RT-PCR, sono stati sequenziati 2194 campioni e classificati in base al lignaggio (software Pangolin v. 3.1.17 e PangoLEARN 2021-12-06).

In dettaglio, tra le 2139 sequenze ottenute per l'analisi ne sono state individuate:

a)	0 riconducibili a SARS-CoV-2	variante	beta
b)	0 riconducibili a SARS-CoV-2	variante	gamma
c)	1676 riconducibili a SARS-CoV-2	variante	delta
d)	462 riconducibili a SARS-CoV-2	variante	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 il 16 dicembre 2021, sono le seguenti:

0% (range: 0% - 0%)	variante	beta
0% (range: 0% - 0%)	variante	gamma
79% (range: 35% - 97%)	variante	delta
21% (range: 3% - 65%)	variante	omicron

Sono stati segnalati 78 diversi sotto-lignaggi AY.n (variante delta), di cui i più frequenti sono: AY.43 (23,8%), AY.122 (15,5%) e AY.4 (14,4%).

Complessivamente, sette Regioni/PA hanno notificato sequenze appartenenti al lignaggio AY.4.2 (e relativi sotto-lignaggi); nel 52% (38/73) di queste sono state identificate le mutazioni Y145H e A222V (delta plus).

E' stata, inoltre, identificata una sequenza associata al lignaggio B.1.640, attualmente considerata Variant Under Monitoring (VUM)³.

Tabella 3.

REGIONE/PA	N. Laboratori	N. campioni positivi in RT-PCR	N. campioni sequenziati	N. di sequenze ottenute per analisi	Numero					Prevalenza				
					BETA	GAMMA	DELTA [^]	OMICRON [†]	Altre varianti	BETA	GAMMA	DELTA	OMICRON [†]	Altre varianti
ABRUZZO	2	179	63	62	0	0	52	10	0	0,0	0,0	83,9	16,1	0,0
BASILICATA	2	131	10	10	0	0	5	5	0	0,0	0,0	50,0	50,0	0,0
CALABRIA	4	475	80	71	0	0	69	2	0	0,0	0,0	97,2	2,8	0,0
CAMPANIA	3	1770	134	131	0	0	114	17	0	0,0	0,0	87,0	13,0	0,0
EMILIA ROMAGNA	3	133	133	133	0	0	111	22	0	0,0	0,0	83,5	16,5	0,0
FRIULI VENEZIA GIULIA	6	254	60	59	0	0	54	5	0	0,0	0,0	91,5	8,5	0,0
LAZIO*	6	362	339	318	0	0	262	55	1	0,0	0,0	82,4	17,3	0,0
LIGURIA	10	610	52	48	0	0	42	6	0	0,0	0,0	87,5	12,5	0,0
LOMBARDIA	16	460	350	339	0	0	202	137	0	0,0	0,0	59,6	40,4	0,0
MARCHE**	5	92	68	67	0	0	63	4	0	0,0	0,0	94,0	6,0	0,0
MOLISE	1	7	7	7	0	0	6	1	0	0,0	0,0	85,7	14,3	0,0
PA BOLZANO	1	94	45	45	0	0	43	2	0	0,0	0,0	95,6	4,4	0,0
PA TRENTO	1	17	17	17	0	0	13	4	0	0,0	0,0	76,5	23,5	0,0
PIEMONTE	11	126	126	123	0	0	98	25	0	0,0	0,0	79,7	20,3	0,0
PUGLIA	11	59	57	57	0	0	44	13	0	0,0	0,0	77,2	22,8	0,0
SARDEGNA	10	338	31	30	0	0	25	5	0	0,0	0,0	83,3	16,7	0,0
SICILIA	5	354	246	246	0	0	203	43	0	0,0	0,0	82,5	17,5	0,0
TOSCANA***	3	260	84	84	0	0	42	42	0	0,0	0,0	50,0	50,0	0,0
UMBRIA	4	498	68	68	0	0	24	44	0	0,0	0,0	35,3	64,7	0,0
VALLE D'AOSTA	1	5	5	5	0	0	3	2	0	0,0	0,0	60,0	40,0	0,0
VENETO	12	219	219	219	0	0	201	18	0	0,0	0,0	91,8	8,2	0,0
ITALIA	117	6443	2194	2139	0	0	1676	462	1	0	0	79,0	21,0	0

[^] La variante Delta include il lignaggio B.1.617.2 e tutti i sotto-lignaggi AY.n come da documento ECDC SARS-CoV-2 variants of concern as of 22 December 2021. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>.

[†]La variante Omicron include il lignaggio B.1.529 e tutti i sotto-lignaggi BA.n come da documento ECDC SARS-CoV-2 variants of concern as of 22 December 2021. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>.

*inclusi i risultati del laboratorio di Sanità Militare: n. 43 positivi, n. 20 campioni sequenziati, n. 20 sequenze ottenute per analisi, n. 14 Delta (di cui 3 con lignaggio AY.n), n. 5 Omicron, n. 1 lignaggio B.1.640

**incluso il risultato del laboratorio di Sanità Militare: n. 1 positivo, n. 1 campione sequenziato, n. 0 sequenze ottenute per analisi.

***La Regione Toscana comunica che ulteriori 95 campioni sono stati analizzati attraverso metodiche di screening; di questi, 67 sono risultati positivi allo screening per Delta, e 28 sono risultati positivi allo screening per Omicron.

Limiti

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

- differenze regionali relative al *timing* diverso di introduzione della variante omicron possono aver determinato la variabilità tra Regioni/PPAA;
- 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;
- 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

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.

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.

In linea con i risultati della *quick survey* precedente, la variante delta – nel giorno di raccolta dei campioni - era ancora predominante nel nostro Paese (prevalenza stimata 79%).

La variante omicron, rispetto all'indagine del 6 dicembre, mostrava una prevalenza in continua e rapida crescita, stimata quindi intorno al 21%.

Confrontato con il dato percentuale ottenuto nello screening su "sospette" omicron, basato su screening rapidi eseguiti in PCR (prevalenza pari a circa il 28%), il dato mostra una certa discordanza che sembra principalmente dovuta alla mancata partecipazione all'attività di screening da parte di alcune regioni, tra le quali il Veneto e la Liguria. Le stime di prevalenza per queste ultime due Regioni, che al 20 dicembre notificavano come omicron circa l'8% dei casi totali, ha contribuito in maniera non trascurabile al valore inferiore ottenuto nella *survey*.

Inoltre, il numero complessivo dei campioni sequenziati è risultato leggermente inferiore al numero dei campioni analizzati nella procedura di screening rapido in quanto non tutti questi risultavano eligibili per il sequenziamento successivo.



Questi risultati, per quanto non privi di limiti e *bias*, permettono di fare alcune considerazioni relativamente alla rapida diffusione della variante omicron, in linea con quanto già descritto in altri Paesi Europei. Inoltre, sottolineano la necessità di non sottovalutare la presenza della variante delta, che ancora co-circola nel Paese.

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 ed 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. 58252-17/12/2021 "Stima della prevalenza delle varianti VOC (Variant Of Concern) in Italia: beta, gamma, delta, omicron 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 December 2021. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>