

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

(Indagine del 07/06/2022)

Obiettivo

Come riportato nella circolare n. 27691 del 01/06/2022¹, al fine di stimare la prevalenza delle varianti VOC (*Variants of Concern*), ed in particolare della variante Omicron e dei suoi sottolignaggi 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 Giugno 2022 (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 31/05/2022.

Tabella 1.

Macroarea	Casi notificati al 31/05/2022	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Nord-Est	3542	408
Nord-Ovest	5227	422
Centro	5592	423
Sud e Isole	9924	442
TOTALE	24267	1695

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 31 /05/ 2022 sul totale di casi notificati nella macroarea di riferimento (Tabella 2).

Tabella 2.

Regione	Macroarea	Casi notificati al 31/05/2022	% casi nella macroarea	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Abruzzo	Sud	644	6,5%	29
Basilicata	Sud	223	2,2%	10
Calabria	Sud	833	8,4%	37
Campania	Sud	2749	27,7%	122
Emilia-Romagna	Nord-Est	898	25,5%	104
Friuli Venezia Giulia	Nord-Est	387	11,0%	45
Lazio	Centro	3218	57,5%	243
Liguria	Nord-Ovest	565	10,8%	46
Lombardia	Nord-Ovest	3290	62,9%	265
Marche	Centro	547	9,8%	42
Molise	Sud	4	0,0%	1
P.A. Bolzano	Nord-Est	278	7,9%	32
P.A. Trento	Nord-Est	124	3,5%	15
Piemonte	Nord-Ovest	1310	25,1%	106
Puglia	Sud	1756	17,7%	78
Sardegna	Isole	1004	10,1%	45
Sicilia	Isole	2711	27,3%	120
Toscana	Centro	1430	25,6%	108
Umbria	Centro	397	7,1%	30
Valle d'Aosta	Nord-Ovest	62	1,2%	5
Veneto	Nord-Est	1837	52,1%	212
TOTALE		24267		1695

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 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 16 Giugno 2022.

Risultati

In totale, hanno partecipato all'indagine tutte le Regioni/PPAA e complessivamente 106 laboratori regionali e il Laboratorio di Sanità Militare.

Come mostrato in Tabella 3, da 3982 casi confermati in RT-PCR, sono stati sequenziati 1270 campioni e 1243 sono stati classificati in base al lignaggio (Pangolin v. 4.0.6 e Nextclade 1.11.0).

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

1243 riconducibili a SARS-CoV-2 variante omicron

di cui:

4	BA.1
767	BA.2
165	BA.4
281	BA.5
22	lignaggio non assegnato
1	XJ
1	XL
1	XM
1	XT

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 giugno 2022, sono:

100% variante omicron

di cui:

0,32% range (0% - 1,3%)	BA.1
62,98% range (0% - 85,7%)	BA.2
11,41% range (0% - 32,3%)	BA.4
23,15% range (8,0% - 100%)	BA.5
1,74% range (0% - 13,2%)	lignaggio non assegnato
0,06% range (0% - 0,4%)	XJ
0,12% range (0% - 1,3%)	XL
0,12% range (0% - 1,3%)	XM
0,09% range (0% - 0,8%)	XT

Come indicato nella Tabella 4, tra le sequenze BA.2, sono stati identificati 16 differenti sottolignaggi (BA.2.n). Il lignaggio parentale BA.2 è risultato essere il più frequentemente identificato ($n=525$), seguito dai sottolignaggi BA.2.9 ($n=95$) e BA.2.12.1 ($n=62$).

Tabella 3.

REGIONE/PA	N. Lab.	N. campioni positivi in RT-PCR	N. campioni sequenziati	N. sequenze ottenute per l'analisi	Numero										Prevalenza											
					Omicron†										Totale	Omicron†										Totale
					BA.1	BA.2	BA.4	BA.5	NA^	XJ	XL	XM	XT	BA.1		BA.2	BA.4	BA.5	NA^	XJ	XL	XM	XT			
ABRUZZO	2	657	40	40		22	11	7						40	0,0	55,0	27,5	17,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0		
BASILICATA	2	87	10	10		2	1	7						10	0,0	20,0	10,0	70,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0		
CALABRIA	4	802	40	37		29	4	4						37	0,0	78,4	10,8	10,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0		
CAMPANIA	3	221	80	75	1	64	2	6			1	1		75	1,3	85,3	2,7	8,0	0,0	0,0	1,3	1,3	0,0	100,0		
EMILIA ROMAGNA	3	99	99	99	1	48	32	18						99	1,0	48,5	32,3	18,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0		
FRIULI VENEZIA GIULIA	5	47	46	45		24	7	14						45	0,0	53,3	15,6	31,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0		
LAZIO*	1	79	79	77		46	6	25						77	0,0	59,7	7,8	32,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0		
LIGURIA	7	745	46	46		32	2	12						46	0,0	69,6	4,3	26,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0		
LOMBARDIA	17	260	258	258	1	147	39	57	13 ^v	1				258	0,4	57,0	15,1	22,1	5,0	0,4	0,0	0,0	0,0	100,0		
MARCHE	5	26	26	26		15	5	6						26	0,0	57,7	19,2	23,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0		
MOLISE	1	17	8	6		3		3						6	0,0	50,0	0,0	50,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0		
PA BOLZANO	1	10	7	7		6		1						7	0,0	85,7	0,0	14,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0		
PA TRENTO	1	10	10	10		5	3	2						10	0,0	50,0	30,0	20,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0		
PIEMONTE	11	63	63	53		26	9	11	7 [~]					53	0,0	49,1	17,0	20,8	13,2	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0		
PUGLIA	10	47	47	46		28	3	15						46	0,0	60,9	6,5	32,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0		
SARDEGNA	10	385	53	52		42	3	7						52	0,0	80,8	5,8	13,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0		
SICILIA	4	120	120	120		78	7	33	1				1	120	0,0	65,0	5,8	27,5	0,8	0,0	0,0	0,0	0,8	100,0		
TOSCANA**	3	102	91	89		47	24	18						89	0,0	52,8	27,0	20,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0		
UMBRIA	4	106	48	48		31	5	12						48	0,0	64,6	10,4	25,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0		
VALLE D'AOSTA	1	1	1	1				1						1	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0		
VENETO	11	98	98	98	1	72	2	22	1 [#]					98	1,0	73,5	2,0	22,4	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0		
ITALIA	106	3982	1270	1243	4	767	165	281	22	1	1	1	1	1243	0,32%	62,98%	11,41%	23,15%	1,74%	0,06%	0,12%	0,12%	0,09%	100,0%		

†Include il lignaggio parentale B.1.1.529 e tutti i lignaggi discendenti BA.n. Include, inoltre, i ricombinanti BA.1/BA.2 (ad es. XE, XJ, XK, etc.), come da documento WHO "Tracking SARS-CoV-2 variants" (ref. 3)

^Non Assegnato. Sequenza non attribuibile ad uno specifico lignaggio, ma riconducibile alla variante Omicron.

*Inclusi i risultati del Laboratorio di Sanità Militare: n. 8 campioni positivi in RT-PCR, n. 8 campioni sequenziati, n. 8 sequenze ottenute per l'analisi, n. 7 sequenze classificate come Omicron BA.2 e n. 1 sequenza lignaggio BA.5.

**La Regione Toscana comunica che ulteriori 11 campioni sono stati analizzati attraverso metodiche di screening, tutti positivi allo screening per Omicron lignaggio BA.2.

∇Di cui 10 riconducibili al clade 21L e 3 al clade 22B.

~Di cui uno riconducibile al clade 21L e 6 al clade 22B.

#Ricombinante BA.1/BA.2



Tabella 4.

Regione/PA	BA.2 e relativi sottolignaggi																	
	BA.2	BA.2.1	BA.2.10	BA.2.12	BA.2.12.1	BA.2.13	BA.2.18	BA.2.22	BA.2.23	BA.2.24	BA.2.3	BA.2.3.3	BA.2.35	BA.2.36	BA.2.38	BA.2.7	BA.2.9	Totale
ABRUZZO	14										1			2			5	22
BASILICATA	1																1	2
CALABRIA	24																5	29
CAMPANIA	34		1		6		1				8			6			8	64
EMILIA ROMAGNA	31		1		5		1		2		2						6	48
FRIULI VENEZIA GIULIA	8				7												9	24
LAZIO	27				3						5			2		1	8	46
LIGURIA	30				2													32
LOMBARDIA	114				15				3	1	1			1		1	11	147
MARCHE	11								1								3	15
MOLISE	3																	3
PA BOLZANO	3				1									1	1			6
PA TRENTO	3					1	1											5
PIEMONTE	14				3		1		1					2			5	26
PUGLIA	25				1												2	28
SARDEGNA	33					1	1		1					1			5	42
SICILIA	53			3	1	1			4		4	1	3				8	78
TOSCANA	24				8				1		3			1			10	47
UMBRIA	20	1			5						2						3	31
VALLE D'AOSTA																		0
VENETO	53		1	1	5	1		1			1			2	1		6	72
ITALIA	525	1	3	4	62	4	5	1	13	1	27	1	3	18	2	2	95	767

Limiti

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

- Alcune Regioni hanno segnalato difficoltà nel raggiungere la numerosità campionaria richiesta;
- 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 e la diffusione 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, che si aggiungono al flusso settimanale di sequenze caricate settimanalmente sulla piattaforma I-Co-Gen dell'Istituto Superiore di Sanità.

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

BA.1 è ormai al di sotto dell'1% del totale delle varianti Omicron identificate nel nostro Paese.

In questa ultima indagine, BA.2 rappresenta il 62,98% tra le varianti Omicron verso una prevalenza pari al 91,83% registrata nell'indagine precedente.

A fronte di questa diminuzione di BA.2, si osserva un aumento del numero di sequenze attribuibili al sottolignaggio BA.2.12.1 (62 vs 4 dell'indagine precedente) e, per quanto riguarda BA.4, e in particolare di BA.5, prevalenze pari a 11,41% e 23,15%, rispettivamente. Si ricorda che nell'indagine precedente le prevalenze stimate a livello nazionale per BA.4 e BA.5 erano pari a 0,47% e 0,41%.



Attualmente, non c'è evidenza che le infezioni causate da BA.4 e BA.5 siano associate ad una aumentata gravità delle manifestazioni cliniche rispetto a quelle causate da BA.1 e BA.2⁴.

Il numero di sequenze riconducibili a possibili ricombinanti BA.1/BA.2 risulta in diminuzione, probabilmente grazie al consolidamento dei sistemi di classificazione del genoma virale. Tuttavia, come suggerito da WHO³, sono da considerarsi sotto-lignaggi della variante omicron, e da monitorare per seguire l'evoluzione virale.

Questi risultati, per quanto non privi di limiti e *bias*, permettono di stabilire l'ormai assoluta predominanza della variante omicron nel nostro Paese, e ancora una maggiore prevalenza di BA.2

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. 27691 del 01/06/2022 "Stima della prevalenza delle varianti VOC (Variant Of Concern) e di altre varianti di SARS-CoV-2 in Italia."
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. Tracking SARS-CoV-2 variants. <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>
4. ECDC. Implications of the emergence and spread of the SARS-CoV-2 variants of concern BA.4 and BA.5 for the EU/EEA. 13 June 2022. <https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/implications-emergence-spread-sars-cov-2-variants-concern-ba4-and-ba5>