

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

(Indagine del 10/01/2023)

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. 0000534 del 05/01/2023 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 10 gennaio 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 5 gennaio 2023.

Tabella 1.

Macroarea	Casi notificati il 5/1/2023	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Nord-Est	4405	413
Nord-Ovest	2987	399
Centro	3591	406
Sud e Isole	7254	434
TOTALE	17877	1652

L'ampiezza campionaria in ciascuna macroarea è stata quindi ridistribuita nelle Regioni/PPAA corrispondenti in base alla percentuale di casi COVID-19 positivi notificati 5 gennaio 2023 sul totale di casi notificati nella macroarea di riferimento (Tabella 2).

Tabella 2.

Regione	Macroarea	Casi notificati il 5/1/2023	% casi nella macroarea	Ampiezza campionaria ($p=5\%$, $\epsilon=2\%$)
Abruzzo	Sud	716	9,9%	43
Basilicata	Sud	147	2,0%	9
Calabria	Sud	740	10,2%	44
Campania	Sud	1775	24,5%	106
Emilia-Romagna	Nord-Est	1186	29,3%	121
Friuli Venezia Giulia	Nord-Est	391	9,7%	40
Lazio	Centro	1874	52,2%	212
Liguria	Nord-Ovest	310	10,4%	42
Lombardia	Nord-Ovest	1987	66,5%	264
Marche	Centro	496	13,8%	56
Molise	Sud	111	1,5%	7
P.A. Bolzano	Nord-Est	73	1,8%	8
P.A. Trento	Nord-Est	146	3,6%	15
Piemonte	Nord-Ovest	667	22,3%	89
Puglia	Sud	1615	22,3%	96
Sardegna	Isole	390	5,4%	24
Sicilia	Isole	1960	24,3%	105
Toscana	Centro	831	23,1%	94
Umbria	Centro	390	10,9%	44
Valle d'Aosta	Nord-Ovest	23	0,8%	4
Veneto	Nord-Est	2249	55,6%	229
TOTALE		17877		1652

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 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 19 gennaio 2023.

Risultati

In totale, hanno partecipato all'indagine tutte le Regioni/PPAA, ad esclusione della Valle d'Aosta per la mancata disponibilità di campioni SARS-CoV-2 positivi idonei per sequenziamento NGS, e complessivamente 98 laboratori regionali e il Laboratorio di Sanità Militare.

Come mostrato in Tabella 3, da 1542 casi confermati in RT-PCR, sono stati sequenziati 1191 campioni e 1173 sono stati classificati in base al lignaggio (Pangolin v. 4.2).

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

1173 riconducibili a SARS-CoV-2 variante omicron

Tra le 1173 sequenze riconducibili alla variante omicron, sono state individuate:

100	BA.2
4	BA.4
1024	BA.5
45	Ricombinanti omicron/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 10 gennaio 2023, sono:

100% (range: 100% - 100%) variante omicron

Relativamente alla variante omicron, le prevalenze stimate sono:

9,8%	range (0% - 25,8%)	BA.2
0,3%	range (0% - 11,1%)	BA.4
86,3%	range (74,2% - 100%)	BA.5
3,6%	range (0% - 9,5%)	Ricombinanti omicron/omicron

Tra le 1024 BA.5, sono stati identificati 89 sotto-lignaggi, oltre al lignaggio parentale BA.5. Un totale di 762 sequenziamenti sono risultati associati ad uno dei 41 lignaggi BQ.1.n identificati in questa indagine; tra i sotto-lignaggi BQ.1.n, BQ.1.1 è risultato il più frequente (n=430). BF.7.n è stata identificata in 86 sequenze, di cui 70 BF.7.

Tra le 100 BA.2, sono stati identificati 18 sotto-lignaggi, oltre al lignaggio parentale BA.2. Si segnala la presenza di 82 sequenze riconducibili a 14 sotto-lignaggi di BA.2.75; tra questi, CH.1.1 è risultato prevalente (n=31).

Dei 45 ricombinanti omicron/omicron, 27 sono risultati associati a XBB e relativi sottolignaggi, di cui 12 XBB.1.5 identificati in questa indagine.

Tabella 3.

REGIONE/PA	N. Lab	N. campioni positivi in RT-PCR	N. campioni sequenziati	N. di sequenze ottenute per analisi	Numero					Prevalenza				
					Omicron†					Omicron†				
					BA.2	BA.4	BA.5	Ricombinanti omicron/omicron^	Totale	BA.2	BA.4	BA.5	Ricombinanti omicron/omicron^	Totale
ABRUZZO	2	43	43	43	2		41		43	4,7	0,0	95,3	0,0	100
BASILICATA	2	17	9	9		1	8		9	0,0	11,1	88,9	0,0	100
CALABRIA	4	61	48	44	2		41	1	44	4,5	0,0	93,2	2,3	100
CAMPANIA	3	127	96	90	3		86	1	90	3,3	0,0	95,6	1,1	100
EMILIA ROMAGNA	3	119	119	119	6		113		119	5,0	0,0	95,0	0,0	100
FRIULI VENEZIA GIULIA	5	35	35	35	5		29	1	35	14,3	0,0	82,9	2,9	100
LAZIO*	1	34	34	31	8		23		31	25,8	0,0	74,2	0,0	100
LIGURIA	5	120	14	14			13	1	14	0,0	0,0	92,9	7,1	100
LOMBARDIA	14	167	159	158	14		135	9	158	8,9	0,0	85,4	5,7	100
MARCHE	1	35	35	35	2	1	31	1	35	5,7	2,9	88,6	2,9	100
MOLISE	1	8	8	8	1		7		8	12,5	0,0	87,5	0,0	100
PA BOLZANO	1	3	3	3			3		3	0,0	0,0	100,0	0,0	100
PA TRENTO	1	14	14	13	1		12		13	7,7	0,0	92,3	0,0	100
PIEMONTE	11	77	77	75	7	1	62	5	75	9,3	1,3	82,7	6,7	100
PUGLIA	9	81	76	76	6		70		76	7,9	0,0	92,1	0,0	100
SARDEGNA	10	105	26	25	1		23	1	25	4,0	0,0	92,0	4,0	100
SICILIA	5	105	105	105	11		84	10	105	10,5	0,0	80,0	9,5	100
TOSCANA	3	129	88	88	12		71	5	88	13,6	0,0	80,7	5,7	100
UMBRIA	4	104	44	44	5		36	3	44	11,4	0,0	81,8	6,8	100
VALLE D'AOSTA									n.d.^					
VENETO	13	158	158	158	14	1	136	7	158	8,9	0,6	86,1	4,4	100
ITALIA	98	1542	1191	1173	100	4	1024	45	1173	9,8%	0,3%	86,3%	3,6%	100%

†Include il lignaggio parentale B.1.1.529 e tutti i lignaggi discendenti. Include, inoltre, i ricombinanti omicron/omicron, come da documento WHO "Tracking SARS-CoV-2 variants" (ref 3)

*Include i risultati del Laboratorio di Sanità Militare: n. 1 campione positivo in RT-PCR, n. 1 campione sequenziato, n. 1 sequenza ottenuta per l'analisi, n. 1 sequenza classificata come Omicron (n. 1 sequenza lignaggio BF.7)

^Include 27 sequenziamenti riconducibili al lignaggio XBB e relativi sotto-lignaggi, 13 al lignaggio XBF, 1 al lignaggio XBG, 3 al lignaggio XBJ e 1 al lignaggio XBD. ^Non disponibile

Limiti

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

- alcune Regioni hanno segnalato difficoltà nel raggiungere la numerosità campionaria richiesta e hanno esteso il campionamento anche al giorno precedente 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, 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 settimanalmente sulla piattaforma I-Co-Gen dell'Istituto Superiore di Sanità⁴.

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 accurate relative alla tipizzazione genomica sui campioni positivi raccolti sull'intero territorio italiano.

BA.5 risulta ampiamente predominante, con una prevalenza a livello nazionale pari a 86,3% (90,6% nell'indagine precedente, del 13/12/2022), con frequenze regionali/PPAA superiori al 74%. Rimane elevata la numerosità dei sotto-lignaggi BA.5 circolanti nel nostro Paese (89 vs. 100 dell'indagine precedente).

Ancora in aumento la proporzione, sul totale dei sequenziamenti, di BQ.1.n (65,0% vs 57,9% della precedente indagine). BQ.1.1, attenzionato per la presenza di una mutazione addizionale in un sito antigenico chiave della spike (R346T)⁵, si conferma stabile e maggioritario nel nostro Paese (36.7% vs 32.0% dell'indagine precedente).



Sebbene la proporzione di XBB.n (ricombinante dei sotto-lignaggi omicron BJ.1 e BM.1.1.1 segnalato come altamente trasmissibile e con caratteristiche correlabili a immuno-evasione⁶) risulti stabile, il numero di sequenziamenti attribuibili al sotto-lignaggio internazionalmente attenzionato XBB.1.5, risulta contenuto, anche se in crescita (12 vs. 1 dell'indagine precedente). XBB.1.5, caratterizzato dalla mutazione addizionale S486P nella proteina *spike*, ha mostrato un importante vantaggio di diffusione negli Stati Uniti rispetto alle varianti circolanti, come plausibile conseguenza della combinazione tra una più elevata immuno-evasività e trasmissibilità^{6,7}. Al momento non ci sono evidenze correlabili ad una maggior severità della malattia associata a XBB.1.5.

Stabile la prevalenza nazionale di BA.4 (0,3% vs. 0.3% dell'indagine precedente), mentre la prevalenza di BA.2 risulta in crescita (9,8% vs 6,2% dell'indagine precedente). In accordo con quanto rilevato in altri Paesi europei (<https://gisaid.org/>), si osserva un aumento nella proporzione di sequenziamenti attribuibili al sotto-lignaggio CH.1.1 (2.6% vs. 1.0% dell'indagine precedente), le cui principali caratteristiche sono oggetto di investigazione. Stime preliminari condotte nel Regno Unito, hanno evidenziato un vantaggio di crescita di CH.1.1 rispetto al sotto-lignaggio attualmente predominante BQ.1.1⁸.

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. 0000534 del 05/01/2023 "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=91582&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. Tracking SARS-CoV-2 variants. <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>
4. 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>

5. 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>
6. ECDC. Implications for the EU/EEA of the spread of the SARS-CoV-2 Omicron XBB.1.5 sub-lineage.
<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/TAB-Implications%20for%20the%20EU-EEA%20of%20the%20spread%20of%20the%20SARS-CoV-2%20Omicron%20XBB.1.5%20sub-lineage.pdf>
7. WHO. XBB.1.5 Rapid risk assessment, 11 January 2023. https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/11jan2023_xbb15_rapid_risk_assessment.pdf
8. UKHSA. SARS-CoV-2 variants of concern and variants under investigation in England. Technical briefing 49.
https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/1129169/variant-technical-briefing-49-11-january-2023.pdf