

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

(Indagine del 07/02/2023)

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. 0004365-06/02/2023 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 7 febbraio 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 01 febbraio 2023.

Tabella 1.

Macroarea	Casi notificati il 01/02/2023	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Nord-Est	1373	345
Nord-Ovest	1176	330
Centro	1226	335
Sud e Isole	1469	353
TOTALE	5244	13632

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 01/02/2023	% casi nella macroarea	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Abruzzo	Sud	145	9,9%	35
Basilicata	Sud	27	1,8%	7
Calabria	Sud	158	10,8%	38
Campania	Sud	345	23,6%	83
Emilia-Romagna	Nord-Est	488	35,5%	122
Friuli Venezia Giulia	Nord-Est	118	8,6%	30
Lazio	Centro	714	58,2%	194
Liguria	Nord-Ovest	113	9,6%	32
Lombardia	Nord-Ovest	746	63,4%	209
Marche	Centro	93	7,6%	26
Molise	Sud	20	1,4%	5
P.A. Bolzano	Nord-Est	68	5,0%	17
P.A. Trento	Nord-Est	46	3,4%	12
Piemonte	Nord-Ovest	314	26,7%	88
Puglia	Sud	242	16,5%	58
Sardegna	Isole	153	10,4%	37
Sicilia	Isole	377	25,7%	90
Toscana	Centro	285	23,2%	78
Umbria	Centro	134	10,9%	37
Valle d'Aosta	Nord-Ovest	3	0,3%	1
Veneto	Nord-Est	653	47,6%	164
TOTALE		5244		1363

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 16 febbraio 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 94 laboratori regionali e il Laboratorio di Sanità Militare.

Si segnala che per alcune Regioni /PPAA è stato necessario utilizzare i campioni positivi relativi alle giornate precedenti e/o successive la giornata indice (07/02/23).

Come mostrato in Tabella 3, da 1219 casi confermati in RT-PCR, sono stati sequenziati 903 campioni e 813 sono stati classificati in base al lignaggio (Pangolin v. 4.2).

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

812 riconducibili a SARS-CoV-2 variante omicron

Tra le 812 sequenze riconducibili alla variante omicron, sono state individuate:

1	BA.1
98	BA.2
1	BA.4
545	BA.5
167	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 7 febbraio 2023, sono:

99,9% (range: 97,4% - 100%) variante omicron

Relativamente alla variante omicron, le prevalenze stimate sono:

0.1%	range (0% - 3,4%)	BA.1
13.0%	range (0% - 31,0%)	BA.2
0.1%	range (0% - 2,6%)	BA.4
66.1%	range (40,0 - 100%)	BA.5
20.7%	range (0% - 50,0%)	Ricombinanti omicron/omicron

Tra le 545 BA.5, sono stati identificati 65 sotto-lignaggi. Un totale di 461 sequenziamenti sono risultati associati ad uno dei 39 lignaggi BQ.1.n identificati in questa indagine; tra i sotto-lignaggi BQ.1.n, BQ.1.1 è risultato il più frequente (n=278).

Tra le 98 BA.2, sono stati identificati 18 sotto-lignaggi, oltre al lignaggio parentale BA.2; 81 sequenze sono risultate appartenere a sotto-lignaggi di BA.2.75.

Dei 167 ricombinanti omicron/omicron, 145 sono risultati associati a XBB e relativi sotto-lignaggi; XBB.1.5 è risultato essere il più frequente (n=108). Si segnala, inoltre, la presenza di 21 sequenziamenti associati a XBB.1.9 / XBB.1.9.1.

Tabella 3.

REGIONE/PA	N. Lab	N. campioni positivi in RT-PCR	N. campioni sequenziati	N. di sequenze ottenute per analisi	Numero							Prevalenza						
					Omicron†						Altro‡	Omicron†						Altro‡
					BA.1	BA.2	BA.4	BA.5	Ricombinanti omicron/omicron [∇]	Totale Omicron		BA.1	BA.2	BA.4	BA.5	Ricombinanti omicron/omicron [∇]	Totale Omicron	
ABRUZZO	2	27	27	27		5		19	3	27		0,0	18,5	0,0	70,4	11,1	100	0,0
BASILICATA	1	2	2	2				2		2		0,0	0,0	0,0	100	0,0	100	0,0
CALABRIA	4	55	42	38			1	27	9	37	1	0,0	0,0	2,6	71,1	23,7	97,4	2,6
CAMPANIA	3	347	81	81		6		68	7	81		0,0	7,4	0,0	84,0	8,6	100	0,0
EMILIA ROMAGNA	3	120	120	119		11		78	30	119		0,0	9,2	0,0	65,5	25,2	100	0,0
FRIULI VENEZIA GIULIA	4	31	31	31		6		20	5	31		0,0	19,4	0,0	64,5	16,1	100	0,0
LAZIO*	2	39	39	29		4		21	4	29		0,0	13,8	0,0	72,4	13,8	100	0,0
LIGURIA	6	46	10	10		1		4	5	10		0,0	10,0	0,0	40,0	50,0	100	0,0
LOMBARDIA	15	117	117	117		12		62	43	117		0,0	10,3	0,0	53,0	36,8	100	0,0
MARCHE	1	23	23	22				16	6	22		0,0	0,0	0,0	72,7	27,3	100	0,0
MOLISE	1	5	5	5				5		5		0,0	0,0	0,0	100	0,0	100	0,0
PA BOLZANO	1	7	7	7		2		4	1	7		0,0	28,6	0,0	57,1	14,3	100	0,0
PA TRENTO	1	13	13	9				5	4	9		0,0	0,0	0,0	55,6	44,4	100	0,0
PIEMONTE	11	51	51	47		9		32	6	47		0,0	19,1	0,0	68,1	12,8	100	0,0
PUGLIA	8	29	29	28		2		24	2	28		0,0	7,1	0,0	85,7	7,1	100	0,0
SARDEGNA	10	93	93	29	1	9		15	4	29		3,4	31,0	0,0	51,7	13,8	100	0,0
SICILIA	5	40	40	40		9		19	12	40		0,0	22,5	0,0	47,5	30,0	100	0,0
TOSCANA	3	66	65	64		10		44	10	64		0,0	15,6	0,0	68,8	15,6	100	0,0
UMBRIA	4	27	27	27		1		26		27		0,0	3,7	0,0	96,3	0,0	100	0,0
VALLE D'AOSTA^	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VENETO	9	81	81	81		11		54	16	81		0,0	13,6	0,0	66,7	19,8	100	0,0
ITALIA	94	1219	903	813	1	98	1	545	167	812	1	0,1%	13,0%	0,1%	66,1%	20,7%	99,9%	0,1%

†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 XBB.1.5)

∇Include 145 sequenziamenti riconducibili al lignaggio XBB e relativi sotto-lignaggi, 16 al lignaggio XBF, 1 al lignaggio XBJ e 5 al lignaggio XBK.

§Include un sequenziamento riconducibile al lignaggio XAY

^Non disponibile

Limiti

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

- la maggior parte delle Regioni hanno segnalato difficoltà nel raggiungere la numerosità campionaria richiesta e hanno esteso il campionamento anche al giorno precedente o successivo 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 relative alla tipizzazione genomica sui campioni positivi raccolti sull'intero territorio italiano.

BA.5 rimane predominante, con una prevalenza a livello nazionale pari a 66.1% (86,3% nell'indagine precedente, del 10 gennaio 2023), con frequenze regionali/PPAA comprese tra il 40% ed il 100%. In diminuzione la numerosità dei sotto-lignaggi di BA.5 circolanti nel nostro Paese (65 vs. 89 dell'indagine precedente).

In diminuzione la proporzione, sul totale dei sequenziamenti, di BQ.1.n (56,7% vs 65,0% 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 (34.2% vs 36.7% dell'indagine precedente).

La proporzione di XBB.1.5, discendente di XBB che è ricombinante dei sotto-lignaggi omicron BJ.1 e BM.1.1.1 di BA.2, risulta in crescita (13.3% vs 1.0% dell'indagine precedente). XBB.1.5 è in aumento in Europa (<https://gisaid.org/>) e predominante negli Stati Uniti. Al momento non ci sono evidenze correlabili ad una maggior severità della malattia associata



a XBB.1.5, e moderate evidenze che correlano questa variante a ad una più elevata immuno-evasività e trasmissibilità⁶.

Ancora in crescita la prevalenza di BA.2 (13.0% vs. 9,8% dell'indagine precedente).

In accordo con quanto rilevato in altri Paesi europei (<https://gisaid.org/>), si osserva un aumento nella proporzione di sequenziamenti attribuibili a CH.1.1 (4.6% vs. 2.6% dell'indagine precedente), le cui principali caratteristiche sono tutt'oggi oggetto di investigazione.

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.

Si raccomanda di garantire una quota di campioni positivi eleggibili al sequenziamento per continuare un adeguato monitoraggio delle varianti del virus SARS-CoV-2.

Ringraziamenti

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

Referenze

1. Ministero della Salute. Circolare n 0004365 del 06/02/2023 "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=92055&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. WHO. XBB.1.5 Updated Rapid Risk Assessment, 25 January 2023. https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/25012023xbb.1.pdf?sfvrsn=c3956081_1