



2021

**Prevalenza delle varianti VOC (Variant Of Concern)
appartenenti ai lignaggi
B.1.1.7, P.1, B.1.617.2 e B.1.351
e di altre varianti in Italia**

(Indagine del 18/5/2021)

Obiettivo

Come riportato nella circolare n. 21661 del Ministero della Salute pubblicata il 14/05/2021 (1), al fine di stabilire una mappatura del grado di diffusione in Italia delle varianti di SARS-CoV-2 appartenenti ai lignaggi B.1.1.7, P.1, B.1.617.2, B.1.351 e altre varianti, 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 valutazione prende in considerazione i campioni COVID-19 positivi notificati il **18 Maggio 2021**, (prime infezioni non follow-up) confermati in real-time PCR (RT-PCR), da analizzare tramite sequenziamento genomico.

La dimensione campionaria per Regione/PA è stata calcolata dalla 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, basandosi sui risultati relativi alla prevalenza della variante P.1 nell'indagine precedente, la tabella 1 riporta i valori dell'ampiezza campionaria richiesta in base ai casi COVID-19 positivi notificati il 13 Maggio 2021.

Tabella 1.

Macroarea	Casi notificati al 13/05/2021	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Nord-Est	1304	340
Nord-Ovest	2246	382
Centro	1677	361
Sud e Isole	2858	399
TOTALE	8085	1482

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 13 Maggio 2021 sul totale di casi notificati nella macroarea di riferimento (tabella 2).

Tabella 2.

Regione	Macroarea	Casi notificati al 13/05/2021	% casi nella macroarea	Ampiezza campionaria ($p=5\%$, $\varepsilon=2\%$)
Abruzzo	Sud	89	3%	13
Basilicata	Sud	91	3%	13
Calabria	Sud	327	11%	46
Campania	Sud	1110	39%	154
Emilia-Romagna	Nord-Est	618	47%	161
Friuli Venezia Giulia	Nord-Est	100	8%	26
Lazio	Centro	654	39%	141
Liguria	Nord-Ovest	115	5%	20
Lombardia	Nord-Ovest	1396	62%	237
Marche	Centro	233	14%	50
Molise	Sud	12	0%	2
P.A. Bolzano	Nord-Est	65	5%	17
P.A. Trento	Nord-Est	53	4%	14
Piemonte	Nord-Ovest	706	31%	120
Puglia	Sud	554	19%	77
Sardegna	Isole	72	3%	10
Sicilia	Isole	603	21%	84
Toscana	Centro	651	39%	140
Umbria	Centro	139	8%	30
Valle d'Aosta	Nord-Ovest	29	1%	5
Veneto	Nord-Est	468	36%	122
TOTALE		8085		1482

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 4.6% nelle 4 macro-aree considerate.

Inoltre, seguendo il protocollo ECDC sul sequenziamento del SARS-CoV-2 (2), con l'ampiezza campionaria scelta è possibile osservare in ogni macro-regione varianti che circolino 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 regionali 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 27 Maggio 2021.

Risultati

In totale, hanno partecipato all'indagine tutte le Regioni/PPAA e complessivamente 116 laboratori.

Come mostrato in tabella 3, da 2568 casi con infezione da virus SARS-CoV-2 confermata in RT PCR, sono stati sequenziati 1663 campioni, classificate con il software Pangolin versione 2.4.2 (Pango_version v 1.2.6, del 19 maggio 2021), di questi:

- a) 1.442 riconducibili a SARS-CoV-2 B.1.1.7
- b) 123 riconducibili a SARS-CoV-2 P.1
- c) 7 riconducibili a SARS-CoV-2 B.1.351
- d) 18 riconducibili a SARS-CoV-2 B. 1.617.2 (n=16) e B.1.617.1 (n=2)
- e) 17 riconducibili a SARS-CoV-2 B.1. 525
- f) 0 riconducibili a SARS-CoV-2 P.2

Le stime di prevalenza a livello nazionale, ottenute come la media delle prevalenze nelle diverse Regioni pesate per il numero di casi regionali notificati il 13 Maggio 2021, sono le seguenti:

- a) B.1.1.7 88.1% (range: 40%-100%)
- b) P.1 7.3% (range: 0%-60%)
- c) B.1.351 0.3% (range: 0%-2.1%)
- d) B.1.617.1 e B.1. 617.2 1.0% (range: 0%-3.4%)
- e) B.1.525 0.8% (range: 0%-16.7%)
- f) P. 2 0%

Si sottolinea la presenza di una sequenza genomica riconducibile a VOC B.1.1.7+E484K riportata dalla Regione Lombardia.

Relativamente al punto (b), si evidenziano 5 P.1 segnalate con mutazione P681H e 1 P.1 con mutazione W152L.

Relativamente al punto (d), le varianti cosiddette indiane sono state identificate in alcuni casi autoctoni (13) e in 1 da un caso di rientro. Per i restanti 4 casi tale informazione non è nota.

In totale, 44 genomi tra i 1632 sequenziati (2,7%) sono riconducibili a lignaggi diversi da quelli oggetto dell'indagine.

In particolare, la Tabella 4 mostra il numero e la distribuzione per Regione di 30 dei 44 genomi riconducibili a SARS-CoV-2 *Variants of Interest* o *Variants Under Monitoring* (VUM) secondo la classificazione di ECDC pubblicata il 24 Maggio 2021 (3). Tra questi, si evidenziano 19 genomi riconducibili a C.36+ L452R indentificati in 8 Regioni.



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	P.1	B.1.351	B.1.617.1/2	P.2	B.1.525	Altre varianti	B.1.1.7	P.1	B.1.351	B.1.617.1/2	P.2	B.1.525
ABRUZZO	2	134	48	48	33	5	0	0	0	8	2	68,8	10,4	-	-	-	16,7
BASILICATA	2	27	13	13	12	0	0	0	0	0	1	92,3	-	-	-	-	-
CALABRIA	2	108	46	46	42	3	0	0	0	1	0	91,3	6,5	-	-	-	2,2
CAMPANIA	3	634	230	230	206	22	0	0	0	0	2	89,6	9,6	-	-	-	-
EMILIA ROMAGNA	2	173	173	173	154	13	0	2 [^]	0	2	2	89,0	7,5	-	1,2	-	1,2
FRIULI VENEZIA GIULIA	7	42	27	27	26	0	0	0	0	0	1	96,3	-	-	-	-	-
LAZIO	12	170	170	148	95	42	2	5	0	0	4	64,2	28,4	1,4	3,4	-	-
LIGURIA	7	80	20	20	17	2	0	0	0	0	1	85,0	10,0	-	-	-	-
LOMBARDIA	14	282	244	238	212	5	2	6	0	0	13 [§]	89,1	2,1	0,8	2,5	-	-
MARCHE	5	37	19	19	34 [*]	0	0	0	0	2	1	91,9	-	-	-	-	10,5
MOLISE	1	5	5	5	2	3	0	0	0	0	0	40,0	60,0	-	-	-	-
PA BOLZANO	1	41	17	17	11	6 ^{**}	0	0	0	0	0	64,7	35,3	-	-	-	-
PA TRENTO	1	11	11	11	10	1	0	0	0	0	0	90,9	9,1	-	-	-	-
PIEMONTE	10	143	143	143	134	4	0	1 [^]	0	0	5	93,7	2,8	-	0,7	-	-
PUGLIA	11	96	95	95	94	0	0	1	0	0	0	98,9	-	-	1,1	-	-
SARDEGNA	10	55	35	35	34	0	0	1	0	0	0	97,1	-	-	2,9	-	-
SICILIA	5	290	147	145	127	7	3	0	0	4	4	87,6	4,8	2,1	-	-	2,8
TOSCANA	3	56	44	43	37	5 ^{***}	0	0	0	0	1	86,0	11,6	-	-	-	-
UMBRIA	3	42	34	34	28	4	0	0	0	0	2	82,4	11,8	-	-	-	-
VALLE D'AOSTA	1	5	5	5	5	0	0	0	0	0	0	100,0	-	-	-	-	-
VENETO	14	137	137	137	129	1	0	2	0	0	5	94,2	0,7	-	1,5	-	-
ITALIA	116	2568	1663	1632	1442	123	7	18	0	17	44	88,1	7,3	0,3	1,0	0	0,8

[^] di cui 1 B.1.617.1

^{*} La Regione Marche comunica che dei 34 campioni positivi per B.1.1.7, 18 sono risultati positivi al test di screening e 16 sono stati sequenziati

^{**} di cui 4 con mutazione P681H

^{***} di cui 1 con mutazione P681H e 1 con mutazione W152L

[§] di cui 1 VOC B.1.1.7+484K

Tabella 4.

REGIONE/PA	VARIANT OF INTEREST	VARIANTS UNDER MONITORING				
	B.1.620	B.1.1.318	B.1.1.519	B.1.214.2	C.36+L452R	C.37
EMILIA ROMAGNA					2	
FRIULI VG					1	
LAZIO		1	2*			1**
LIGURIA					1	
LOMBARDIA		1			10	
PIEMONTE				1	1	
SICILIA					2	
TOSCANA					1	
UMBRIA			2			
VENETO	3				1	
Totale	3	2	4	1	19	1

* Per 1 campione non è riportata la mutazione T478K nel gene codificante la proteina *spike*.

** Non sono state riportate le mutazioni L452Q, F490S nel gene codificante la proteina *spike*.

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 individuata.
- 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 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/PA 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.

La rilevazione del lignaggio B.1.1.7 nella totalità delle Regioni/PPAA partecipanti è indicativa di una sua ampia diffusione sul territorio nazionale. La prevalenza nazionale stimata nella indagine rapida precedente del 20 Aprile pari a 91.6% è ora pari a 88,1%. Un caso riconducibile a VOC B.1.1.7+E484K è stato riportato dalla Regione Lombardia.

P.1 ha una prevalenza pari al 7.3% (nella precedente era 4.5%). In numeri assoluti appare in diminuzione in Toscana (5 vs 16 dell'indagine precedente) e in aumento in Campania, Molise, PA Bolzano, Sicilia.

B.1.351 è stata segnalato in questa indagine in 7 casi vs i 4 dell'indagine precedente.

B.1.617 (di cui 16 sottolignaggio 2 e 2 sottolignaggio 1) ha una prevalenza dell'1%.

Tra le cosiddette *Variant of Interest* (VOI), il lignaggio B.1.525 è stato segnalato in 17 casi vs gli 11 dell'indagine precedente, e in questa indagine come numero assoluto in aumento in particolare in Abruzzo e in Sicilia.

Tra le altre cosiddette *Variant under Monitoring*, la variante C.36+L452R è stata identificata in 8 Regioni ed in particolare in Lombardia.

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

- nel contesto italiano, in cui la campagna di vaccinazione sta accelerando anche se non ha ancora raggiunto coperture sufficienti, la diffusione di varianti a maggiore trasmissibilità può avere un impatto rilevante. Mentre la variante B.1.1.7 è ancora predominante, particolare attenzione va riservata alla variante P.1, la cui prevalenza è in leggero aumento rispetto alla precedente indagine. La variante B.1.167.2 è stata identificata in 16 casi totali di cui diversi autoctoni;
- nell'attuale scenario europeo e nazionale, caratterizzato dalla circolazione di diverse varianti, è necessario continuare a monitorizzare con grande attenzione, in coerenza con le raccomandazioni nazionali ed internazionali e con le indicazioni ministeriali, la diffusione delle varianti stesse di SARS-CoV-2;
- 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.

Ringraziamenti

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

Referenze

¹ Ministero della Salute Circolare n. 21661 del 14-05-2021 "Indagine rapida per la valutazione della prevalenza in Italia delle varianti VOC (Variant Of Concern): lineage B.1.1.7, P.1, B.1.617 e B.1.351 e altre varianti (Variant Of Interest, VOI) tra cui lineage P.2 e lineage B.1.525."

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 24 May 2021. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>.