

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

(Indagine del 06/12/2021)

Obiettivo

Come riportato nella circolare n. 055819 del Ministero della Salute pubblicata il 03/12/2021¹, 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 6 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

$$n \geq \frac{Nz_{\alpha/2}^2 p(1-p)}{\varepsilon^2(N-1) + z_{\alpha/2}^2 p(1-p)}$$

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 calcolata in base ai casi COVID-19 positivi notificati il 1 dicembre 2021.

Tabella 1.

Macroarea	Casi notificati al 01/12/2021	Ampiezza campionaria (p=5%, ε=2%)
Nord-Est	5384	423
Nord-Ovest	3983	411
Centro	2788	394
Sud e Isole	2930	399
TOTALE	15085	1627

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

Tabella 2.

Regione/PA	Macroarea	Casi notificati al 01/12/2021	% casi nella macroarea	Ampiezza campionaria ($p=5\%$, $\epsilon=2\%$)
Abruzzo	Sud	243	8,3%	33
Basilicata	Sud	46	1,6%	7
Calabria	Sud	286	9,8%	39
Campania	Sud	1087	37,1%	147
Emilia-Romagna	Nord-Est	1117	20,7%	88
Friuli Venezia Giulia	Nord-Est	746	13,9%	59
Lazio	Centro	1638	58,8%	231
Liguria	Nord-Ovest	549	13,8%	57
Lombardia	Nord-Ovest	2503	62,8%	258
Marche	Centro	475	17,0%	67
Molise	Sud	27	0,9%	4
P.A. Bolzano	Nord-Est	677	12,6%	53
P.A. Trento	Nord-Est	188	3,5%	15
Piemonte	Nord-Ovest	902	22,6%	93
Puglia	Sud	367	12,5%	50
Sardegna	Isole	145	4,9%	20
Sicilia	Isole	729	24,9%	99
Toscana	Centro	559	20,1%	79
Umbria	Centro	116	4,2%	17
Valle d'Aosta	Nord-Ovest	29	0,7%	3
Veneto	Nord-Est	2656	49,3%	208
TOTALE		15085		1627

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 14 dicembre 2021.

Risultati

In totale, hanno partecipato all'indagine tutte le Regioni/PPAA e complessivamente 114 laboratori.

Come mostrato in Tabella 3, da 3.337 casi confermati in RT-PCR, sono stati sequenziati 2.241 campioni e classificati in base al lignaggio (software Pangolin v.3.1.17, PangoLEARN 2021-11-25).

In dettaglio, tra le 2.127 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)	2.121 riconducibili a SARS-CoV-2	variante	delta
d)	4 riconducibili a SARS-CoV-2	variante	omicron

Le stime grezze di prevalenza a livello nazionale sono le seguenti:

0% (range: 0% - 0%)	variante	beta
0% (range: 0% - 0%)	variante	gamma
99,72% (range: 66,7% - 100%)	variante	delta
0,19% (range: 0% - 0,9%)	variante	omicron

Le stime di prevalenza a livello nazionale ottenute come la media delle prevalenze nelle diverse Regioni/PA pesate per il numero di casi regionali notificati il 6 dicembre 2021, sono le seguenti:

0% (range: 0% - 0%)	variante	beta
0% (range: 0% - 0%)	variante	gamma
99,53% (range: 66,7% - 100%)	variante	delta
0,32% (range: 0% - 0,9%)	variante	omicron

Sono stati segnalati 67 diversi sotto-lignaggi AY.n (variante delta). Di cui i più frequenti sono: AY.43 (25%), AY.122 (16%) ed AY.4 (15%); dei rimanenti sotto-lignaggi, 10 hanno mostrato una frequenza relativa tra l'1% ed il 10%, e 52 inferiore all'1%.

Complessivamente, nove regioni hanno notificato la presenza del lignaggio AY.4.2 (e relativi sotto-lignaggi). Nel 76% (32/42) delle sequenze con lignaggio AY.4.2 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 e una sequenza associata al lignaggio Q.4.

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	89	55	55	0	0	55	0	0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
BASILICATA	2	7	7	7	0	0	7	0	0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
CALABRIA	4	224	45	39	0	0	39	0	0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
CAMPANIA	3	150	150	140	0	0	140	0	0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
EMILIA ROMAGNA	3	106	106	106	0	0	105	1	0	0,0	0,0	99,1	0,9	0,0
FRIULI VENEZIA GIULIA	6	377	150	146	0	0	146	0	0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
LAZIO	5	515	511	435	0	0	434	0	1	0,0	0,0	99,8	0,0	0,2
LIGURIA	9	247	57	53	0	0	53	0	0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
LOMBARDIA	16	346	332	324	0	0	323	1	0	0,0	0,0	99,7	0,3	0,0
MARCHE	5	62	62	62	0	0	62	0	0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
MOLISE	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
PA BOLZANO	1	61	58	58	0	0	58	0	0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
PA TRENTO	1	15	15	14	0	0	14	0	0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
PIEMONTE	11	96	96	93	0	0	93	0	0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
PUGLIA	11	53	53	53	0	0	53	0	0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
SARDEGNA	10	223	30	30	0	0	30	0	0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
SICILIA	4	209	159	159	0	0	159	0	0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
TOSCANA	3	155	73	71	0	0	71*	0	0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
UMBRIA	4	164	44	44	0	0	44	0	0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
VALLE D'AOSTA	1	3	3	3	0	0	2	0	1	0,0	0,0	66,7	0,0	33,3
VENETO	12	234	234	234	0	0	232	2**	0	0,0	0,0	99,1	0,9	0,0
ITALIA	114	3337	2241	2127	0	0	2121	4	2	0	0	99,53	0,32	0,15

^ La variante Delta include il lignaggio B.1.617.2 e tutti i sottolignaggi AY.n come da documento ECDC SARS-CoV-2 variants of concern as of 14 December 2021. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>.

*La Regione Toscana comunica ulteriori 11 sequenze attribuibili alla variante delta identificate mediante metodiche di screening molecolari.

**La Regione Veneto comunica che i due casi di variante Omicron sono da soggetti di rientro da viaggi all'estero.

*** Stime di prevalenza a livello nazionale ottenute come la media delle prevalenze nelle diverse Regioni/PA pesate per il numero di casi regionali notificati il 6 dicembre 2021

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 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* del mese di settembre 2021, la variante delta rappresenta la variante predominante di SARS-CoV-2 nel nostro Paese (prevalenza stimata > 99%).

La variante omicron è stata segnalata in quattro casi in tre Regioni, relativamente alla data di campionamento di questa *survey* dell'inizio di dicembre.

A partire da questi risultati, per quanto non privi di limiti e *bias*, si sottolinea che la vaccinazione continua a prevenire i decessi, riduce il numero dei ricoveri nonostante il continuo predominio della variante Delta, che è fino al 60% più trasmissibile rispetto alla variante precedentemente dominante, Alfa.

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. A tal fine, si ribadisce



l'importanza di testare, tracciare e sottoporre a isolamento o quarantena i casi COVID-19 sospetti e i loro contatti.

Ringraziamenti

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

Referenze

- 1) Ministero della Salute. Circolare n. 055819 del 03/12/2021 "Stima della prevalenza delle varianti VOC (Variants 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 14 December 2021. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>