



Regione
Lombardia

Regione Lombardia - Giunta
DIREZIONE GENERALE WELFARE
PREVENZIONE

Piazza Città di Lombardia n.1
20124 Milano

Tel 02 6765.1

www.regione.lombardia.it

welfare@pec.regione.lombardia.it

Protocollo G1.2021.0017579 del 19/03/2021

Ai Direttori Generali
ATS
ASST
Fondazioni IRCCS di diritto pubblico

Ai Laboratori
Rete Regionale Covid

e, p.c.

LORO SEDI

Oggetto : Indicazioni per l'identificazione delle varianti di SARS-CoV-2 VOC 202012/01, P1 e 501.V2 e nuove varianti

Fermo restando l'applicazione di quanto previsto dalle Circolari Ministeriali 0000644-08/01/2021-DGPRES-DGPRES-P, 0003787-31/01/2021-DGPRES-DGPRES-P (e successivi aggiornamenti) e richiamata la nota regionale G1.2021.0010705 del 17/02/2021 si forniscono i seguenti aggiornamenti.

Premessa

Il sequenziamento dell'intero genoma, o almeno dell'intero gene S, di SARS-CoV-2 è il metodo di elezione per confermare l'infezione con una variante specifica.

In seguito all'incremento della prevalenza delle *variant of concern* VOC (i.e. B.1.1.7/501Y.V1, B.1.351/501Y.V2, P.1/501Y.V3) sono stati sviluppati metodi alternativi al sequenziamento ovvero saggi PCR basati sull'identificazione dei polimorfismi di singoli nucleotidi per l'identificazione rapida di queste varianti.

Questi saggi offrono la possibilità di fornire risposte in tempi rapidi (un paio d'ore) circa la possibile

Responsabile del procedimento: DANILO CEREDA

presenza di VOC e possono essere introdotti come test di screening nei laboratori che già svolgono attività diagnostica molecolare per SARS-CoV-2.

A parte l'identificazione rapida delle VOC, va ricordato e sottolineato che le mutazioni caratteristiche di tali varianti (Delta 69-70, N501Y, E484K) possono emergere e fissarsi anche su *backbone* genetici autoctoni e che la loro presenza può alterare significativamente le caratteristiche biologiche e la risposta vaccinale. Quindi, l'identificazione delle mutazioni, più che delle varianti di origine, ha un significato di sanità pubblica.

Impiego dei test di screening basati su PCR (a supporto del sequenziamento)

Obiettivi dell'utilizzo dei test di screening sono:

- il monitoraggio dei focolai per identificare rapidamente le VOC e attivare la risposta;
- il monitoraggio dei soggetti con storia di viaggio (come nel periodo Dicembre 2020-Gennaio2021);
- l'identificazione del livello di circolazione delle VOC a bassa prevalenza (P1 e 501.V2).

Tutti i campioni positivi che corrispondono ai criteri descritti dalla circolare 0000644-08/01/2021-DGPRES-DGPRES-P sono da sottoporre a screening PCR per VOC ad eccezione dei casi di reinfezione e di positività in seguito alla vaccinazione per i quali è opportuno procedere direttamente al sequenziamento.

Si indica l'utilizzo di test di screening in grado di discernere la **variante VOC 202012/01** (ovvero lineaggio B.1.1.7, variante UK) dalle altre ed in considerazione dell'attuale situazione epidemiologica delle VOC nel nostro Paese è necessario sequenziare:

- **Tutti** i campioni presunti **P1 e 501.V2** (ovvero i campioni con presenza di mutazione 484) cosiddette varianti sudafricana e brasiliana;

può essere inoltre opportuno, previo raccordo con le ATS e/o i laboratori di riferimento regionali (Sacco Prof. Gismondo/Unimi Prof.ssa Pariani/IRCCS San Matteo di Pavia Prof Baldanti), in casi specifici, sequenziare:

- **Un sottogruppo** (10-15%) dei campioni **VOC 202012/01** (cosiddetta variante UK) per monitorare l'eventuale evoluzione (acquisizione di nuove mutazioni);
- **Un sottogruppo** (10-15%) dei campioni **non-VOC** per monitorare l'introduzione di eventuali nuove varianti.

In relazione al flusso per le genotipizzazioni di cui alla nota G1.2021.0010705 del 17/02/2021 si segnalano i seguenti aggiornamenti

TRACCIATO GENOTIPIZZAZIONE

1. ID ACCETTAZIONE
2. NOME
3. COGNOME
4. DATA DI NASCITA (GG/MM/AAAA)
5. SESSO (M/F)
6. COMUNE DI DOMICILIO (COME PER IL FLUSSO TAMPONI)
7. DATA INIZIO SINTOMI (GG/MM/AAAA)
8. DATA RICEZIONE (GG/MM/AAAA)
9. REFERTO (GG/MM/AAAA) (E' la data di rilascio del referto di genotipizzazione)

Responsabile del procedimento: DANILO CEREDA

10. OSPEDALE DI PROVENIENZA
11. ESITO: POSITIVO / NEGATIVO / NON VALUTABILE / **ALTRO**
12. CODICE FISCALE (COME PER IL FLUSSO TAMPONI)
13. TELEFONO PAZIENTE (INSERIRE UN SOLO NUMERO TELEFONICO AD ESEMPIO 333111222333)
14. SETTING (UTILIZZARE STESSI SETTING UTILIZZATI PER I TAMPONI MOLECOLARI)
15. PROVENIENZA (COME PER IL FLUSSO TAMPONI)
16. MATERIALE (COME PER IL FLUSSO TAMPONI)
17. MOTIVO GENOTIPIZZAZIONE (VEDI CODIFICA MOTIVO)
18. MOTIVO GENOTIPIZZAZIONE SPECIFICO (Campo testo, max 255 caratteri da valorizzare in caso di ALTRO nel campo "motivo Genotipizzazione")
19. METODICA SANGERGENES/NGS : SANGER/NGS/RT-PCR, specifica la metodica utilizzata
20. TIPO VARIANTE VOC (VEDI CODIFICA VARIANTI)
21. CODICE GISAID: Codifica GISAID, lunghezza massima 255 caratteri
- 22: **LINEAGE**: codifica lineage della variante, utilizzato in caso di variante con codice "99"

CODIFICA ESITO

POSITIVO: positivo per VOC (positivo per variante ricercata)

NEGATIVO: negativo per VOC (negativo per variante ricercata)

NON VALUTABILE: sequenziamento fallito/analisi eseguita fallita

ALTRO: positivo per altre varianti (positivo per varianti diverse dalle specifiche ricercate)

CODIFICA MOTIVI

"1" : campionamento random

"2" : Viaggio in zone con alta incidenza di varianti

"3" : Aumento dei casi o cambiamento nella trasmissibilità e/o virulenza in un'area o focolaio

"4" : reinfezione

"5" : individui vaccinati contro SARS-CoV-2 che successivamente si infettano nonostante una risposta immunitaria al vaccino

"6" : amplificazione negativa del gene S

"99": nessuno dei motivi, specificare nel campo aggiuntivo "**MOTIVO GENOTIPIZZAZIONE SPECIFICA**"

CODIFICA VARIANTI

"1" variante VOC202012/01 - lineage B.1.1.7 cosiddetta "UK"

"2" variante 501Y.V2 - lineage B.1.351 cosiddetta "Sudafricana"

"3" variante - lineage P.1 cosiddetta "Brasile"

"4" variante compatibile con VOC Sudafricana o Brasiliana 501Y.V2 (variante sudafricana) - lineage B.1.351 oppure (variante Brazil) - lineage P.1 ma non definita

"5" variante B.1.525 cosiddetta "nigeriana"

"6" variante - lineage P.2

"99" variante non identificata, richiede la valorizzazione del capo LINEAGE

Responsabile del procedimento: **DANILO CEREDA**

Nota: Nel caso di campo non valorizzato ed esito POSITIVO si assume che la variante sia presente ma non identificata

Ad esempio

una variante VOC202012/01 identificata con metodo di screening deve essere inserita con

11. ESITO: **POSITIVO**
19. METODICA: **RT-PCR**
20. TIPO VARIANTE: 1

Assenza di variate con metodo di screening deve essere inserita con

11. ESITO: **NEGATIVO**
19. METODICA: **RT-PCR**
20. TIPO VARIANTE:

Identificazione di variante diverse dalle specifiche ricercate

11. ESITO: **ALTRO**
19. METODICA: **SANGER**
20. TIPO VARIANTE: **99**
22: LINEAGE: **lineage XXX**

Ulteriori indicazioni

Per quanto riguarda la codifica della prestazione, la relativa tariffa e le modalità di refertazione si rimanda a successivo atto deliberativo della DG Welfare in fase d'adozione. Si conferma già da ora l'esenzione della compartecipazione alla spesa. In attesa di valutare i volumi di attività, le prestazioni si ritengono ricomprese negli attuali contratti per l'attività ambulatoriale.

Le presenti indicazioni potranno modificarsi alla luce di nuovi indirizzi ministeriali.

Si invitano le ATS a diffondere l'informativa alle strutture/soggetti interessati.

Cordiali saluti

LA DIRIGENTE

MARIA GRAMEGNA

Copia analogica sottoscritta con firma a mezzo stampa predisposta secondo l'articolo 3 del D.lgs 39/1993 e l'articolo 3bis, comma 4bis c

Responsabile del procedimento: **DANILO CEREDA**