

### 1. Test molecolare

È il cosiddetto “**tampone**”, il test attualmente più affidabile, quello che oggi viene utilizzato per la **diagnosi** di infezione da coronavirus. Viene prelevato con un lungo bastoncino simile ad un cotton-fioc un campione delle vie respiratorie del paziente, preferibilmente dalla mucosa naso-faringea o, laddove possibile (in ospedale), si usa espettorato o broncolavaggio o broncoaspirato. Questo campione viene quindi analizzato attraverso metodi molecolari di real-time RT-PCR (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction) per l'amplificazione dei geni virali maggiormente espressi durante l'infezione. L'analisi può essere effettuata solo in **laboratori altamente specializzati e formalmente individuati** dalle autorità sanitarie, e richiede in media dalle due alle sei ore dal momento in cui il campione viene avviato alla processazione in laboratorio.

### 2. Test antigenico

Questa tipologia di test è basata sulla ricerca, nei campioni respiratori del paziente, delle proteine virali (antigeni). Le modalità di raccolta del campione sono del tutto analoghe a quelle dei test molecolari (tampone naso-faringeo), i tempi di risposta sono molto brevi (circa **15 minuti**), ma la sensibilità e specificità di questo test sono inferiori a quelle del test molecolare, quindi le diagnosi di positività ottenute con questo test **devono essere confermate** da un secondo tampone molecolare. Questo “**tampone rapido**”, è stato recentemente introdotto per le situazioni, per esempio nello screening dei passeggeri negli aeroporti, dove è importante avere una risposta in tempi rapidi. I test antigenici esistono in versione POCT (cioè si possono effettuare al sito del prelievo), e in versione “da laboratorio” (cioè richiedono attrezzature di laboratorio).

### 3. Test sierologico classico

Mentre il “tampone”, sia esso molecolare o rapido, individua nelle secrezioni respiratorie del paziente il virus o le sue proteine, il test sierologico (o immunologico) rileva la **presenza nel sangue degli anticorpi specifici** che il sistema immunitario produce in risposta all'infezione, la loro tipologia (IgG, IgM, IgA), ed eventualmente la loro quantità. Questo test, denominato anche ELISA o CLIA o IFA a secondo della tecnologia utilizzata, richiede un prelievo di sangue venoso, e viene effettuato presso **laboratori specializzati**.

#### 4. Test sierologico rapido

I test sierologici rapidi si basano sullo stesso principio di quelli classici, ma sono semplificati e danno risposte solo di tipo qualitativo, dicono cioè soltanto se nell'organismo sono presenti gli anticorpi specifici per il virus. Questi test sono di semplice esecuzione, hanno **tempi medi di risposta di circa 15 minuti** e possono essere effettuati anche al di fuori dei laboratori: sul dispositivo di rilevazione viene depositata una goccia di sangue ottenuta con un pungidito, e la presenza di anticorpi viene visualizzata mediante la comparsa sul dispositivo di una banda colorata o di un segnale fluorescente letto con uno strumentino portatile. **L'affidabilità di questo tipo di test è tuttavia molto variabile**, e l'Organizzazione Mondiale della Sanità attualmente non raccomanda l'utilizzo di questo tipo di test per la rilevazione di anticorpi nell'assistenza ai pazienti.

È importante sottolineare, in conclusione, che i test sierologici, per la loro stessa natura, **non sono in grado di dire se il paziente ha una infezione in atto**, ma soltanto se è entrato o meno in contatto con il virus. Quando ci infettiamo il nostro organismo impiega alcuni giorni prima di produrre gli anticorpi specifici, che poi rimangono in circolazione per parecchio tempo dopo che l'infezione è stata superata ed il virus eliminato. Una persona positiva al test sierologico potrebbe quindi non avere più una infezione in corso, e viceversa un risultato negativo del test sierologico non esclude che la persona sia positiva al virus perché si è infettata da poco. Il test sierologico classico non ha pertanto valore diagnostico, se non in determinati casi, nei quali va associata la valutazione della sintomatologia e del decorso clinico del singolo paziente; la ricerca degli anticorpi specifici effettuata con i test sierologici è invece estremamente utile negli studi epidemiologici, per la valutazione della reale circolazione di un virus nella popolazione dopo un evento epidemico.

In conclusione, **i test sierologici non possono essere utilizzati per la diagnosi di infezione in atto**: a tal fine occorre utilizzare i metodi diagnostici che rilevano la presenza diretta del genoma del virus o delle sue proteine. Il **test molecolare** è considerato il gold standard per la diagnosi, mentre gli altri metodi vanno utilizzati se non si dispone della possibilità di accedere al test molecolare classico, oppure per scopi diversi dal contesto diagnostico, quale la sorveglianza epidemiologica.



Recentemente sono stati proposti sul mercato test che utilizzano come campione da analizzare la saliva. Il prelievo di saliva è più semplice e meno invasivo rispetto al tampone naso-faringeo o al prelievo di sangue, quindi questa tipologia di test potrebbe risultare utile per lo screening di grandi numeri di persone. Come per i tamponi, anche per i test salivari esistono test di tipo molecolare (che rilevano cioè la presenza nel campione dell'RNA del virus) e di tipo antigenico (che rilevano nel campione le proteine virali).

## 5. I test salivari

- **Il test salivare molecolare** testato presso il laboratorio di virologia dello Spallanzani utilizza uno dei sistemi correntemente utilizzati per i tamponi naso-faringei, che ha appena conseguito il marchio CE per l'utilizzo anche con la saliva. Questa apparecchiatura tuttavia non ha una processività elevata: riesce infatti ad effettuare solo 8 campioni per volta, con tempi di analisi dei campioni di circa un'ora. Pertanto il suo utilizzo è indicato soltanto in casi particolari, come per esempio la conferma urgente di positività riscontrate nel corso di test antigenici. In genere la saliva non si presta bene all'utilizzo con le apparecchiature di laboratorio altamente automatizzate che si usano per processare elevati volumi di campioni molecolari, perché essa ha densità variabile e creerebbe problemi ai sistemi di pescaggio ad alta automazione.
- Per quanto riguarda i **test salivari antigenici**, il nostro laboratorio ha testato due soluzioni. La prima ha mostrato livelli di sensibilità simili a quelli dei tamponi antigenici rapidi, ma il test deve essere effettuato in laboratorio, quindi, a meno che non si attivino unità di laboratorio presso i punti dove viene effettuato il prelievo, non è utilizzabile in contesti di screening rapido (es. aeroporti) dal momento che tra prelievo del campione, trasporto e accettazione in laboratorio, esecuzione del test e refertazione, i risultati, seppur più veloci ad ottenersi rispetto al test molecolare, non sono immediati. La seconda soluzione invece è a lettura visiva (c.d. "saponetta"), non richiede strumentazione di laboratorio, può essere quindi utilizzata fuori dai laboratori e dà i risultati in pochi minuti, ma applicato alla saliva (contesto diverso da quello per cui è certificato, cioè tampone), ai primi test effettuati sembrerebbe risultare meno performante rispetto al test molecolare standard.

In conclusione:

- **i test sierologici non possono essere utilizzati per la diagnosi di infezione in atto:** a tal fine occorre utilizzare i metodi diagnostici che rilevano la presenza diretta del genoma del virus o delle sue proteine (antigeni);
- **I test antigenici rapidi su tampone naso-faringeo** possono essere utili in determinati contesti, come il tracciamento dei contatti di casi positivi o lo screening rapido di numerose persone;
- **I test antigenici e molecolari su campioni di saliva** al momento difficilmente si prestano allo screening rapido di numerose persone in quanto richiedono un laboratorio attrezzato;
- **Il test molecolare** rimane a tutt'oggi il **gold standard** per la diagnosi; gli altri metodi vanno utilizzati se non si dispone della possibilità di accedere al test molecolare classico, oppure per scopi diversi dal contesto diagnostico, quale la sorveglianza epidemiologica.