



# *Ministero della Salute*

DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE SANITARIA

DIREZIONE GENERALE DEI DISPOSITIVI MEDICI E DEL SERVIZIO FARMACEUTICO

## **OGGETTO: Uso dei test molecolare e antigenico su saliva ad uso professionale per la diagnosi di infezione da SARS-CoV-2.**

Considerando le nuove evidenze scientifiche e le indicazioni pubblicate dal Centro Europeo per la Prevenzione e il Controllo delle Malattie (ECDC)<sup>1</sup>, e tenendo conto delle circolari n. 705 del 08/01/2021 “Aggiornamento della definizione di caso COVID-19 e strategie di testing”, e n. 5616 del 15/02/2021 “Aggiornamento sull’uso dei test antigenici e molecolari per la rilevazione di SARS-CoV-2” si forniscono aggiornamenti sull’impiego dei test salivari per la diagnosi di infezione da SARS-CoV-2.

Il test molecolare su campione nasofaringeo e orofaringeo rappresenta il *gold standard* internazionale per la diagnosi di COVID-19 in termini di sensibilità e specificità. La metodica di real-time RT-PCR (*Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction*), che è quella più diffusa fra i test molecolari, permette, attraverso l’amplificazione dei geni virali maggiormente espressi, di rilevare la presenza del genoma virale oltre che in soggetti sintomatici, anche in presenza di bassa carica virale, spesso pre-sintomatici o asintomatici. Alla luce dell’emergenza di mutazioni del gene che codifica per la proteina *spike*, si sconsiglia l’utilizzo di test basati esclusivamente sul gene S per il rilevamento dell’infezione da SARS-CoV-2 mediante test molecolari.

In caso di mancata e pronta disponibilità di test molecolari, o in condizioni d’urgenza determinate dalla necessità di prendere decisioni di sanità pubblica in tempi rapidi, si può ricorrere ai test antigenici sempre su campione nasofaringeo e orofaringeo, quali i test antigenici da eseguire in laboratorio, oppure ai test antigenici rapidi con lettura in fluorescenza o basati su microfluidica con lettura in fluorescenza, che rispondano alle caratteristiche di sensibilità e specificità minime (sensibilità  $\geq 80\%$  e specificità  $\geq 97\%$ , con un requisito di sensibilità più stringente ( $\geq 90\%$ ) in contesti a bassa incidenza).

Le indicazioni sull’uso di test molecolari e antigenici su campione nasofaringeo e orofaringeo in persone con sintomi o senza sintomi sono riportate nelle circolari n. 705 dell’08/01/2021 e n. 5616 del 15/02/2021.

La presenza di SARS-CoV-2 è stata dimostrata anche nei campioni salivari in individui asintomatici o pre-sintomatici<sup>2</sup>. La saliva conterrebbe una carica virale significativamente più elevata in pazienti con fattori di rischio per COVID-19 di grave entità (sesso maschile, età avanzata, specifiche

---

<sup>1</sup> European Centre for Disease Prevention and Control. Considerations for the use of saliva as sample material for COVID-19 testing. 3 May 2021. Stockholm: ECDC; 2021. A

<sup>2</sup> Huang, N., Pérez, P., Kato, T. et al. SARS-CoV-2 infection of the oral cavity and saliva. Nat Med (2021). <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01296-8>

condizioni patologiche respiratorie, cardiovascolari, oncologiche sottostanti e altre condizioni patologiche sistemiche e immunosoppressive) e sembrerebbe correlata ai sintomi di COVID-19, in particolare ad ageusia /disgeusia.<sup>2</sup>

L'uso della saliva per la diagnosi di infezione da SARS-CoV-2 prevede un metodo di raccolta non invasivo, tuttavia la corretta raccolta del campione salivare è un passaggio cruciale. I campioni di saliva possono essere eterogenei (saliva orale, saliva orofaringea posteriore) e le diverse tecniche e sedi di raccolta<sup>3</sup> possono avere un impatto sulla sensibilità del metodo.<sup>4</sup> Inoltre i campioni di saliva possono essere mucosi e viscosi, determinando difficoltà di lavorazione con i metodi e le attrezzature automatizzate di estrazione dell'RNA o di estrazione/amplificazione esistenti.<sup>5</sup>

Ad oggi, i test diagnostici commerciali con marchio CE disponibili nell'UE/SEE convalidati su campioni salivari e ad esclusivo uso professionale sono test molecolari, test antigenici di laboratorio, test antigenici rapidi (immunocromatografici) per la rilevazione degli antigeni nucleoproteici virali SARS-CoV-2. L'attuale elenco dei test antigenici rapidi concordato dall'Health Security Committee (HSC) include test la cui performance è stata misurata sulla base di campioni nasali, orofaringei o nasofaringei. Esistono test antigenici rapidi che sono stati validati negli Stati membri dell'UE sulla base di campioni alternativi, come saliva, espettorato e/o feci, ed è in discussione l'opportunità di includere anche questi test nell'elenco dei test antigenici rapidi concordato dall'HSC.

Nel complesso, gli studi disponibili indicano una sensibilità diagnostica variabile dei test molecolari su campioni di saliva, in relazione alla tecnica di raccolta: una sensibilità maggiore è stata rilevata nella saliva orofaringea posteriore del primo mattino, mentre una sensibilità inferiore è stata osservata con la tecnica del “general spitting”.<sup>4</sup> Inoltre, la sensibilità diminuisce dopo i primi cinque giorni dall'inizio dei sintomi<sup>6 7</sup>.

---

<sup>3</sup> Saliva orale raccolta mediante dispositivi, sputo generale “*general spitting*” (raccolta della saliva accumulata a livello del pavimento orale), saliva orofaringea posteriore del primo mattino, sbavatura “*drooling*” (raccolta di saliva intera in assenza di stimolazione), sputo faringeo posteriore “*posterior pharyngeal spitting*” (raccolta di secrezioni respiratorie miste, provenienti dalle vie aeree superiori e inferiori).

<sup>4</sup> Bastos ML, Perlman-Arrow S, Menzies D, Campbell JR. The Sensitivity and Costs of Testing for SARS-CoV-2 Infection With Saliva Versus Nasopharyngeal Swabs: A Systematic Review and Meta-analysis.

<sup>5</sup> Tan SH, Allicock O, Armstrong-Hough M, Wyllie AL. Saliva as a gold-standard sample for SARS-CoV-2 detection. *Lancet Respir Med.* 2021 Apr 19:S2213-2600(21)00178-8. doi: 10.1016/S2213-2600(21)00178-8. Epub ahead of print. PMID: 33887248; PMCID: PMC8055204.

<sup>6</sup> Wyllie AL, Fournier J, Casanovas-Massana A, Campbell M, Tokuyama M, Vijayakumar P, et al. Saliva or Nasopharyngeal Swab Specimens for Detection of SARS-CoV-2. *New England Journal of Medicine.* 2020;383(13):1283-6.

<sup>7</sup> Nacher M, Mergeay-Fabre M, Blanchet D, Benoit O, Pozl T, Mesphoule P, et al. Prospective Comparison of Saliva and Nasopharyngeal Swab Sampling for Mass Screening for COVID-19. *Frontiers in Medicine.* 2021 February-23;8(176)

La tecnica dell'amplificazione mediata da loop di trascrizione inversa (RT-LAMP) permette di ottenere risultati in un tempo inferiore rispetto alla RT-PCR, e l'esame può essere effettuato anche presso il punto di assistenza o cura. Tuttavia sono necessari ulteriori studi per convalidare i test RT-LAMP su saliva: la sensibilità è stata riportata come equivalente<sup>8</sup> o inferiore<sup>9</sup> a quella della RT-PCR. La saliva è stata valutata come possibile substrato per i test antigenici basati su strumentazione automatica di laboratorio, con lettura in chemiluminescenza. Al momento, il repertorio disponibile di tali test marcati CE-IVD per la matrice salivare è limitato, ma è in corso di ampliamento. Il confronto con il test molecolare indica per la saliva una sensibilità simile a quella osservata per il tampone nasofaringeo.<sup>10</sup>

Infine, la saliva è stata valutata come possibile substrato per i test antigenici rapidi basati sul flusso laterale<sup>11</sup> ed è stata riportata una minore sensibilità rispetto al test RT-PCR su saliva.

### **Impiego del test salivare**

Il campione di saliva può essere considerato un'opzione per il rilevamento dell'infezione da SARS-CoV-2 qualora non sia possibile ottenere tamponi oro/nasofaringei.

### ***Testing di individui sintomatici***

La saliva può essere utilizzata come alternativa ai tamponi oro/nasofaringei per l'identificazione di infezione da SARS-CoV-2 preferibilmente entro i primi cinque giorni dall'inizio dei sintomi.

### ***Screening di individui asintomatici***

Il campione di saliva può essere considerato un'opzione per il rilevamento dell'infezione da SARS-CoV-2 in individui asintomatici sottoposti a screening ripetuti per motivi professionali o di altro tipo, per aumentare l'accettabilità di test ripetuti, in particolare:

- se vengono sottoposti a screening individui molto anziani o disabili,

---

<sup>8</sup> Bikos DA, Hwang C, Briley KA, Parker A, Loveday EK, Rodriguez M, et al. SLAMP: A Rapid Fluorometric RT-LAMP Assay for Sensitive and Specific Detection of SARS-CoV-2 from Human Saliva. medRxiv2021. p. 2021.03.31.21254634.

<sup>9</sup> Nagura-Ikeda M, Imai K, Tabata S, Miyoshi K, Murahara N, Mizuno T, et al. Clinical Evaluation of Self Collected Saliva by Quantitative Reverse Transcription-PCR (RT-qPCR), Direct RT-qPCR, Reverse Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification, and a Rapid Antigen Test To Diagnose COVID-19. J Clin Microbiol. 2020 Aug 24;58(9)

<sup>10</sup> Amendola A, Sberna G, Lalle E, Colavita F, Castilletti C, Menchinelli G, Posteraro B, Sanguinetti M, Ippolito G, Bordi L, Capobianchi MR, On Behalf Of Inmi Covid-Study Group. Saliva Is a Valid Alternative to Nasopharyngeal Swab in Chemiluminescence-Based Assay for Detection of SARS-CoV-2 Antigen. J Clin Med. 2021 Apr 2;10(7):1471.

<sup>11</sup> Sberna G, Lalle E, Capobianchi MR, Bordi L, Amendola A. Letter of concern re: "Immunochromatographic test for the detection of SARS-CoV-2 in saliva. J Infect Chemother. 2021 Feb;27(2):384-386.

- in caso di carenza di tamponi.

### ***Testing nei bambini***

I dati sull'uso della saliva in pazienti pediatriche sono limitati, anche se, data la semplificazione della tecnica di prelievo i test salivari possono rappresentare uno strumento utile per il monitoraggio e controllo dell'infezione da SARS-CoV-2 in ambito scolastico. Alcuni studi pubblicati nel 2020 hanno rilevato sensibilità comprese tra il 53 e il 73%.<sup>12 13 14 15</sup>

### **Note sull'utilizzo**

Si evidenzia che l'utilizzo dei test salivari sopra menzionati va condotto in coerenza con la normativa sui Dispositivi medico-diagnostici in vitro, e che i soggetti preposti all'organizzazione di attività di screening devono garantire che la raccolta e le fasi successive avvengano secondo le indicazioni previste dal fabbricante.

### **Segnalazione di caso COVID-19 ai fini della sorveglianza**

Ai fini della sorveglianza nazionale COVID-19 (sia per il flusso di casi individuali, coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS), che per quello aggregato, coordinato dal Ministero della Salute) i test molecolari su campione salivare dovranno essere segnalati nel sistema di sorveglianza.

### **Obbligo di tracciabilità di tutti i test nei sistemi informativi regionali**

Gli esiti dei test molecolari su campione salivare, anche se effettuati da laboratori, strutture e professionisti privati accreditati dalle Regioni, devono essere inseriti nel sistema informativo regionale di riferimento.

---

<sup>12</sup> Chia Yin Chong, Kai-Qian Kam, Jiahui Li, Matthias Maiwald, Liat Hui Loo, Karen Donceras Nadua, Natalie Woon Hui Tan, Chee Fu Yung, Koh Cheng Thoon, Saliva Is Not a Useful Diagnostic Specimen in Children With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19).

<sup>13</sup> Han M, Seong M, Kim N, Shin S, Cho S, Park H, et al. Viral RNA Load in Mildly Symptomatic and Asymptomatic Children with COVID-19, Seoul, South Korea.

<sup>14</sup> Yee R, Truong TT, Pannaraj PS, Eubanks N, Gai E, Jumarang J, et al. Saliva Is a Promising Alternative Specimen for the Detection of SARS-CoV-2 in Children and Adults. J Clin Microbiol. 2021 Jan 21;59(2) Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33239380>

<sup>15</sup> Borghi E, Massa V, Carmagnola D, Dellavia C, Parodi C, Ottaviano E, Sangiorgio A, Barcellini L, Gambacorta G, orlanini F, Zuccotti GV; UNIMI SAL Study group. Saliva sampling for chasing SARS-CoV-2: A Game-changing strategy. Pharmacol Res. 2021 Mar;165:105380. doi: 10.1016/j.phrs.2020.105380. Epub 2020 Dec 16. PMID: 33338623; PMCID: PMC7832951.

Si invita a voler dare la massima diffusione alla presente nota circolare ai servizi e ai soggetti interessati.

IL DIRETTORE GENERALE

DIREZIONE GENERALE DELLA  
PREVENZIONE SANITARIA

*\*f.to* Dott. Giovanni Rezza

IL DIRETTORE GENERALE

DIREZIONE GENERALE DEI  
DISPOSITIVI MEDICI E DEL SERVIZIO  
FARMACEUTICO

*\*f.to* Dott. Achille Iachino

*Referenti del procedimento DGPREV:*

Il Direttore dell'Ufficio 5  
Dott. Francesco Maraglino

Dott.ssa Monica Sane Schepisi  
Dott.ssa Anna Caraglia  
Dott.ssa Jessica Iera

*Referenti del procedimento DGFDM*

Il Direttore dell'Ufficio 4  
Dott.ssa Antonella Colliardo

Dott.ssa Gloria Ippoliti

*\*“firma autografa sostituita a mezzo stampa, ai sensi dell'art. 3, comma 2, del d. Lgs. N. 39/1993”*