



# *Ministero della Salute*

## *Consiglio Superiore di Sanità*

### **Sessione L (2014-2017)**

Presidente: Prof.ssa Roberta Siliquini

Segretario Generale: Dr.ssa Gaetana Ferri

### **Sezione I**

Presidente: Prof. Rocco Bellantone

### **Gruppo di Lavoro**

### **“NIPT 2”**

***“Impatto socio-economico del test  
del cfDNA/NIPT in Sanità pubblica”***

# Indice

<b>Gruppo di Lavoro “NIPT 2” della Sezione I del Consiglio Superiore di Sanità</b> .....	3
<b>Premessa</b> .....	4
<b>1. Introduzione</b> .....	8
1.1 Il test cfDNA/NIPT: vantaggi.....	8
1.2 Il test cfDNA/NIPT: limiti.....	8
1.2.1 I fallimenti ( <i>no-result</i> ).....	8
1.2.2 Gravidanze Gemellari.....	9
1.2.3 Oltre le Trisomie 21, 18 e 13.....	9
1.3 Consulenza.....	10
1.3.1 Consulenza <i>pre-test</i> .....	10
1.3.2 Consulenza <i>post-test</i> .....	11
1.4 Prescrivibilità del test.....	11
<b>2. Aspetti giuridici</b> .....	12
2.1 Profili generali.....	12
2.2 Analisi comparativa internazionale .....	14
<b>3. Accreditamento/Criteri minimi di qualità dei Centri che eseguono il cfDNA/NIPT</b> .....	18
3.1 Figure professionali/Ruolo Società scientifiche.....	18
3.2 Criteri minimi di qualità dei Centri che eseguono il test cfDNA/NIPT.....	18
3.3 Test combinato.....	19
3.3.1 Qualità dello screening combinato.....	19
<b>4. Esempi di implementazione del test cfDNA/NIPT</b> .....	21
4.1 Introduzione.....	21
4.2 Opzione I: il test cfDNA/NIPT come screening universale.....	21
4.2.1 Criticità cliniche.....	23
4.3 Opzione II: Il test cfDNA/NIPT come screening contingente dopo il Test Combinato.....	23
4.3.1. Il test cfDNA/NIPT nelle gestanti con un rischio compreso tra 1:11 e 1:1.000 dopo il Test Combinato.....	23
4.3.2. Il test cfDNA/NIPT alle gestanti con un rischio compreso tra 1:101 e 1:1.000 dopo il Test Combinato.....	25
4.3.3. Estensibilità dello screening delle trisomie 18 e 13.....	26
<b>5. Le evidenze di impatto economico</b> .....	27
5.1 Le evidenze di costo efficacia e di budget impact sul test cfDNA/NIPT.....	27
5.2 Simulazione di costi dei modelli di implementazione del cfDNA/NIPT in Italia.....	32
<b>6. Raccomandazioni sull’uso del test del cfDNA/NIPT</b> .....	36
<b>Bibliografia</b> .....	37

**Consiglio Superiore di Sanità**  
Sessione L (2014-2017)  
**Sezione I** (Presidente: Prof. Rocco Bellantone)  
**Gruppo di Lavoro “NIPT 2”**

**“Analisi previsionale dell’impatto socio-economico dei test cfDNA/NIPT in sanità pubblica”**

**Coordinatore:**

**Prof. Bruno Dallapiccola** *Vice Presidente Sezione I CSS*

Professore Ordinario di Genetica Medica, Direttore Scientifico IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma -  
Componente Comitato Nazionale per la Bioetica (Presidenza Consiglio dei Ministri)

**Segretario tecnico:**

**Dr. Stefano Moriconi** *Segretario Sezione I del Consiglio Superiore di Sanità*

Dirigente medico, Direzione Generale Organi Collegiali tutela della Salute, Ministero della Salute

**Componenti:**

**Prof.ssa Roberta Siliquini** *Presidente Consiglio Superiore di Sanità*

Professore Ordinario in Igiene e Medicina Preventiva, Direttore Scuola Specializzazione in Igiene e Medicina Preventiva, Università di Torino

**Prof.ssa Eleonora Porcu** *Vice Presidente Consiglio Superiore di Sanità*

Professore Associato in Ginecologia e Ostetricia Università di Bologna - Responsabile Struttura Semplice di Infertilità e Procreazione Medicalmente Assistita Policlinico Universitario S.Orsola-Malpighi, Bologna

**Dott. Raffaele Tuccillo** *Consigliere Sezione I CSS*

Giudice, Referendario del TAR Calabria

**Prof. Claudio Jommi**

Professore Associato di Economia Aziendale, Dipartimento di Scienze del Farmaco, Università del Piemonte Orientale -  
Coordinatore Scientifico Osservatorio Farmaci, Cergas Bocconi - Presidente Associazione Italiana di Economia Sanitaria

**Prof. Giuseppe Ettore** *Componente “Comitato Percorso Nascita nazionale” (DM 12/2014)*

Dipartimento Materno Infantile, ARNAS (Azienda Ospedaliera di Rilievo Nazionale Alta Specializzazione) “Garibaldi”

**Dott.ssa Valentina Gemignani**

Dirigente, Direttore dell’Ufficio di Gabinetto del Ministero dell’Economia e delle Finanze

**Dr. Antonio Novelli**

Direttore U.O.C. Laboratorio di Genetica Medica, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

**Prof. Paolo Volpe**

Direttore U.O.C. di Medicina Fetale e Diagnosi Prenatale, ASL Bari - Centro di Riferimento Regionale per la Diagnosi e Gestione della Patologia Fetale

**Sezione I CSS**

**Dott.ssa Federica Miragliotta**

*Sezione I Consiglio Superiore di Sanità* - Direzione Generale Organi Collegiali tutela della Salute, Ministero della Salute

**D.G. Programmazione sanitaria**

**Dr.ssa Rosetta Cardone**

Dirigente medico, Direzione Generale della Programmazione Sanitaria, Ministero della Salute

**Esperti in audizione:**

**Prof. Antonio Amoroso** *Presidente Società Italiana di Genetica Umana - SIGU*

**Prof. Giuseppe Rizzo** *Presidente Società Italiana di Ecografia Ostetrica e Ginecologica e Metodologie Biofisiche - SIEOG*

## Premessa

Le tecniche di screening e di diagnosi prenatale comprendono indagini strumentali e di laboratorio, che hanno l'obiettivo di identificare la maggior parte delle anomalie fetali, comprese alcune patologie cromosomiche, in particolare la Sindrome di Down (SD), l'aneuploidia più comune. La diagnosi prenatale di queste malattie si effettua sui campioni biologici acquisiti con tecniche di prelievo invasive, in particolare l'amniocentesi e la villocentesi, che tuttavia comportano potenziali rischi per la gravidanza e, per questo, di solito dovrebbero essere riservate alle gestanti che, in base ad un test di screening, risultino ad alto rischio.

Il primo test di screening per la SD, utilizzato a partire dagli anni '70, si basava sull'età materna, ed aveva una sensibilità del 33% circa, ed un tasso di risultati falsi positivi (*False Positive Rate - FPR*) del 5%. Il test presentava due problematiche: non individuava i feti affetti dalla SD concepiti dalle donne giovani (la percentuale più importante), e si associava ad un aumento del FPR, legato al progressivo incremento dell'età media al parto, attualmente attestata in Italia su 33,5 anni. Per questo, dagli anni '90, è stato adottato il Test Combinato, che integra l'età materna con alcuni *marker* ecografici e biochimici, consentendo di raggiungere una sensibilità dell'85-90% ed un FPR del 5%.

Una scoperta fortemente innovativa degli ultimi anni è stata la dimostrazione, a partire dal I trimestre di gravidanza, della presenza, nel DNA libero circolante nel sangue materno, di una quota di origine fetale (placentare; cosiddetto cell free DNA o cfDNA), pari a circa il 10% del totale. Questo DNA può essere analizzato in maniera non-invasiva ed utilizzato per indagare alcune patologie genetiche del feto. Si stima che l'utenza del cfDNA, anche definito "NIPT" (*Non-Invasive Prenatal Testing*) in Italia sia pari a circa 50.000 madri/anno e che ogni settimana 500-1000 campioni siano commissionati a laboratori stranieri. Tuttavia, negli ultimi mesi, alcune strutture private hanno iniziato ad eseguire il test in Italia, condividendo il *tech-transfer* delle aziende internazionali che per prime hanno commercializzato il test.

Il cfDNA/NIPT, in quanto analisi del DNA, è un test genetico a tutti gli effetti. Tuttavia, è un test di screening, perciò non diagnostico, e pertanto i risultati positivi che predicono un rischio elevato di aneuploidia fetale devono essere confermati con un test diagnostico invasivo, preferibilmente sugli amniociti o sui villi coriali.

La paziente che intende sottoporsi al cfDNA/NIPT deve ricevere, attraverso un colloquio pre-test con uno specialista in Ostetricia e Ginecologia e/ con uno specialista in Genetica Medica e, se indicato, una consulenza genetica con uno specialista in Genetica Medica, le informazioni

necessarie a comprendere le caratteristiche del test e soprattutto i suoi limiti, anche in rapporto alle altre tecniche di diagnosi prenatale disponibili, i dati di sensibilità e specificità, il valore predittivo positivo (PPV) e negativo (NPV), parametri su cui si basa l'interpretazione clinica del risultato. La gestante, prima del test, deve sottoscrivere un consenso informato sintetico, chiaro ed esaustivo nei contenuti.

La crescente utilizzazione del cfDNA/NIPT ha fatto emergere alcune criticità. Infatti, mentre alcuni Centri applicano correttamente un protocollo informativo attraverso la consulenza pre- e post-test, altri disattendono queste regole basilari di buona pratica clinica e le pazienti che intendono sottoporsi al test lamentano una serie di problemi, come ad esempio la disinformazione rispetto ai suoi limiti, l'assenza della consulenza collegata al test, l'inadeguatezza del consenso informato, la pubblicità ingannevole.

Nel 2015, il Consiglio Superiore di Sanità ha redatto le linee-guida sullo "Screening prenatale non invasivo basato sul DNA (*Non Invasive Prenatal Testing - NIPT*)" [[http://www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_2381\\_allegato.pdf](http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2381_allegato.pdf)].

Questo documento ha esaminato criticamente i diversi aspetti del cfDNA/NIPT, compresa l'appropriatezza del test, che deve essere preceduto da un controllo ecografico fetale accurato associato alla valutazione di marker biochimici materni (Test Combinato) attorno alla 11-14 settimana di gestazione, da parte di operatori accreditati. Nel caso in cui i dati ecografici suggeriscano un aumento del rischio di patologia cromosomica nel feto, si deve valutare l'opportunità di eseguire direttamente la diagnosi prenatale invasiva per lo studio del cariotipo fetale, eventualmente integrato da altre tecniche (ad es. *Chromosomal Microarray Analysis*), per elevare il potere diagnostico nei confronti degli sbilanciamenti submicroscopici, che assommano a circa il 3% dei casi (6% in presenza di difetti eco-evidenziati). Al momento si raccomanda che il cfDNA/NIPT sia limitato allo screening delle trisomie 21, 18 e 13, in quanto l'analisi delle altre aneuploidie, delle microdelezioni e delle microduplicazioni, non è stata ancora validata. In analogia con quanto avviene nella refertazione degli screening sul siero materno il cui risultato viene espresso come rischio numerico, anche per il test cfDNA/NIPT il valore del rischio post-test deve essere espresso preferenzialmente come rapporto numerico, e non come "rischio alto" o "basso", oppure come "trisomia evidenziata" o "esclusa". L'espressione numerica di un rischio rende di fatto maggiormente trasparente la comunicazione con la gestante circa il significato dell'esame eseguito. Il Centro che offre il test deve essere in grado di garantire la consulenza genetica post-test ed il completo supporto alla paziente durante l'intero percorso diagnostico prenatale; deve anche farsi

carico del *follow-up* della gravidanza e, in particolare, del suo esito. Inoltre, i fallimenti (*no result*) riconducibili all'inadeguatezza per campione per la bassa concentrazione del cfDNA, devono essere accuratamente monitorati mediante un percorso specifico, in quanto proprio in quelle gravidanze si ha un aumentato rischio per aneuploidie fetali (nella fattispecie trisomia 13 e 18). In quei casi è importante valutare i risultati del Test Combinato, sia nella sua componente ecografica che in quella biochimica, che si sono dimostrate clinicamente molto utili nel valutare l'opportunità di eseguire o meno una procedura invasiva di diagnosi prenatale.

I laboratori che eseguono il test *home-made* devono documentare di avere validato internamente la metodica, di garantire regolarmente la calibrazione degli strumenti e la loro manutenzione, di disporre di personale dotato di competenze specifiche sulle tecniche di sequenziamento di seconda generazione (NGS) o di *microarray* o della tecnologia su cui si basa il test cfDNA/NIPT offerto, e di partecipare periodicamente ai controlli esterni di qualità.

Le linee-guida del Ministero della Salute hanno anche considerato gli aspetti etici del test, focalizzandoli su alcuni punti centrali: il cfDNA/NIPT è lo screening prenatale per la trisomia 21 più sensibile, tra quelli attualmente disponibili, consente di ridurre i casi falsi negativi per SD e non incentiva l'uso inappropriato di indagini prenatali, anzi riduce il ricorso alle indagini diagnostiche invasive ed il conseguente rischio di aborto collegato a quelle tecniche (32). L'interesse medico e sociale del test risiede nella sua capacità di stimare la probabilità che il feto sia affetto dalle più comuni aneuploidie cromosomiche, in particolare le trisomie 21, 18 e 13, con una specificità significativamente superiore ad ogni altra tecnica di screening oggi disponibile. Il cfDNA/NIPT ha una sensibilità significativamente superiore rispetto al Test Combinato per lo screening della trisomia 21, ma non delle trisomie 18 e 13. Inoltre, le linee-guida hanno discusso genericamente l'impatto socio-economico dell'introduzione del cfDNA/NIPT nel Sistema Sanitario Nazionale (SSN). Dato che il test si basa su una tecnica di laboratorio automatizzabile, i suoi costi potrebbero essere significativamente abbattuti attraverso la sua centralizzazione. Al momento, il cfDNA/NIPT viene eseguito a totale carico delle gestanti, soprattutto ricorrendo al servizio offerto da gruppi privati, con costi medi compresi tra € 500 e 800 a campione. Nell'ambito delle strutture pubbliche, la Regione Toscana ha deliberato (07.04.2015) la sperimentazione clinica biennale di questo test per lo screening della trisomia 21 presso i propri laboratori, con un contributo alla spesa, da parte delle gestanti, di € 300 (54). La regione Emilia Romagna, con determinazione n.3223/2015 dell'Agenzia Sanitaria e Sociale Regionale, ha costituito un gruppo di lavoro multidisciplinare con il compito di valutare l'inserimento del test cfDNA/NIPT per le aneuploidie dei cromosomi 13,18 e 21

nell'attuale percorso delle indagini prenatali (55). La regione Puglia ha deliberato il 05.08.2015 l'approvazione di un progetto regionale per lo screening molecolare non invasivo (56). Il tariffario nomenclatore del SSN prevede un onere di € 922,89 per le indagini citogenetiche sui villi coriali e € 595,11 per quelle sugli amniociti. Tali costi sono comprensivi della consulenza, dell'ecografia, del prelievo e dell'analisi del cariotipo. L'accesso alle analisi cromosomiche a carico del SSN, basato sulle tecniche invasive, è regolamentato dall'età materna  $\geq 35$  anni e/o da un aumento del rischio ( $\geq 1:250$ ) di patologia fetale in base allo screening combinato (età + traslucenza nucale [NT]+ dosaggio di PAPP-A/ $\beta$ HCG). Il Test Combinato comporta per il SSN un onere di circa € 150 (ecografia per la NT + dosaggio di PAPP-A/ $\beta$ HCG + consulenza) ed un contributo alla spesa da parte della gestante di circa € 60 (variabile tra € 50 e 80). La sensibilità dell'indagine è circa dell'85-90% e la specificità del 95% per la trisomia 21, comportando la necessità di confermare i risultati "positivi" con le tecniche invasive, in circa il 5% dei casi. Inoltre, nella popolazione dei casi "positivi" allo screening è incluso anche il 90-95% dei feti affetti dalle trisomie 18 e 13, le più comuni aneuploidie autosomiche dopo la trisomia 21.

E' stato dimostrato che l'uso del cfDNA/NIPT, in ragione della sua maggiore specificità, ridurrebbe il ricorso alle tecniche invasive di diagnosi prenatale, offrendo alle gestanti un test più accurato per lo screening della trisomia 21. Per questi motivi è stato proposto che il Ministero della Salute e le Regioni, nell'occasione dell'aggiornamento dei protocolli regionali per la gravidanza fisiologica e dei percorsi per l'accesso alla diagnosi prenatale invasiva, prendano in considerazione l'introduzione del cfDNA/NIPT come test di screening di prima o di seconda scelta, per il monitoraggio delle principali aneuploidie autosomiche, e che il test venga effettuato presso un numero ristretto di laboratori certificati ed autorizzati a livello nazionale.

# 1. Introduzione

## 1.1 Il cfDNA/NIPT: vantaggi

Il cfDNA/NIPT è l'analisi attualmente accreditata della più elevata sensibilità e specificità per lo screening della SD e, di conseguenza, comporta il minor numero di risultati falsi positivi. Per questo, rappresenta una valida alternativa/integrazione ai metodi attuali di screening, impiegati nella ricerca delle aneuploidie fetali nel I e nel II trimestre di gravidanza.

Numerosi studi hanno validato, a livello clinico, il cfDNA/NIPT e ne hanno determinato un'utilizzazione esponenziale. Le Linee-guida/Raccomandazioni nazionali ed internazionali e del Ministero della Salute Italiano distinguono i dati di validazione (sensibilità, specificità, valore predittivo positivo e negativo) in base alle anomalie cromosomiche indagate:

- Trisomia 21: sensibilità 99,2%, falsi positivi 0,1%; Trisomia 18: sensibilità 96,3%, falsi positivi 0,1%; Trisomia 13: sensibilità 91%, falsi positivi 0,1%;
- Aneuploidie dei cromosomi sessuali: X0 [monosomia X]; XXX [triplo X], XXY [sindrome di Klinefelter], XYY [maschio -YY]: sensibilità 90,3 - 93%, falsi positivi 0,4%;
- Delezioni sindromiche: non sono ancora state validate a livello clinico; appartengono alle anomalie cromosomiche rare, che comprendono circa il 17% delle aberrazioni cromosomiche riscontrate nelle gravidanze monitorizzate per età materna.

## 1.2 Il cfDNA/NIPT: limiti

### 1.2.1 I fallimenti (*no-result*)

Un importante limite clinico del cfDNA/NIPT è la possibilità che l'analisi non sia in grado di fornire un risultato ("*no-result*"), un evento atteso nell'1-4% nelle diverse casistiche. In questi casi, la ripetizione del prelievo ematico nella madre permette di recuperare il risultato in circa la metà delle gravidanze. Pertanto, il cfDNA/NIPT si associa ad un fallimento nello 0,5-2% delle pazienti sottoposte allo screening. Tra le possibili cause di fallimento appaiono significativi la precocità dell'epoca gestazionale al momento del prelievo (<11 settimane), il BMI e l'età materna, i livelli di PAPP-A e  $\beta$ HCG, fattori che si associano ad una riduzione delle concentrazioni del DNA fetale nel circolo materno, tali da rendere più difficile o impossibile l'analisi di laboratorio. Uno studio prospettico, su un campione di circa 16.000 pazienti, ha riportato un fallimento del test in circa il 3% delle gravidanze. In questo gruppo erano presenti 3 (7,3%) dei 41 feti con trisomia 21, 1 (9,1%)

degli 11 con trisomia 18 e 2 (50%) dei 4 con trisomia 13 (39). La gestione clinica delle pazienti che non ricevono un risultato conclusivo dopo il cfDNA/NIPT è ancora oggetto di dibattito nella comunità scientifica internazionale. Infatti, il ricorso ad una procedura invasiva in tutte queste gravidanze ridurrebbe in maniera significativa i vantaggi del cfDNA/NIPT in termini di riduzione del numero delle amniocentesi e delle villocentesi. Allo stesso tempo, la mancata esecuzione di un esame diagnostico in questi casi ridurrebbe in maniera significativa la sensibilità del cfDNA/NIPT nello screening delle principali trisomie sulla popolazione ostetrica generale. Di conseguenza, la sensibilità effettiva del cfDNA/NIPT e la potenziale riduzione del numero delle procedure diagnostiche invasive sono anche legate alla gestione riservata al gruppo delle gravidanze senza risultato dopo il cfDNA/NIPT. Uno studio relativo ad oltre 10.000 gravidanze ha evidenziato che, nei casi di fallimento del cfDNA/NIPT, la disponibilità dei risultati del Test Combinato offre informazioni cliniche utili per la gestante circa la decisione sul sottoporsi o meno ad un esame diagnostico invasivo (45).

### **1.2.2 Gravidanze gemellari**

Le gravidanze gemellari dizigoti sono in progressivo aumento per l'aumento del ricorso alle tecniche di fecondazione assistita, anche se, negli ultimi anni, specifiche politiche sanitarie sono riuscite in alcune nazioni a contenere il fenomeno. In queste gravidanze, l'eventuale presenza della trisomia 21 interessa, salvo casi eccezionali, un solo feto. Di conseguenza, il cfDNA/NIPT è meno sensibile ed aumenta significativamente la percentuale dei "no-result" per effetto della "diluizione" dei cromosomi della placenta affetta con il DNA che proviene dalla placenta non affetta.

### **1.2.3 Oltre le trisomie 21, 18 e 13**

L'aumento della NT si associa spesso ad anomalie strutturali fetali, genetiche e sindromiche, con una frequenza tanto più elevata quanto maggiore è il suo spessore (**Tabella 1**). Per questo, i feti che evidenziano un aumento della NT in un'ecografia del I trimestre (soprattutto se >99° percentile: 3,5mm – 1% delle gestanti) vengono inseriti in un percorso diverso, che comprende alcuni esami specialistici (ad es. esami genetici, ecocardiografia fetale). In questi casi, i campioni biologici prelevati con una tecnica invasiva (villocentesi, amniocentesi) possono essere analizzati con indagini ad alta risoluzione (ad es. tecniche di *microarray* se il cariotipo è normale), in grado di diagnosticare gli sbilanciamenti genomici al di sotto della definizione dei preparati cromosomici standard (microdelezioni, microduplicazioni). È stato dimostrato che i feti con valori di NT  $\geq 3,5$  mm

hanno un rischio significativamente più elevato di essere affetti da anomalie cromosomiche non diagnosticabili con il cfDNA/NIPT, che possono essere invece individuate con i test diagnostici basati su tecniche invasive, utilizzando la citogenetica integrata e supportata da tecniche di microarray genomici (53). Di conseguenza, in queste gravidanze il test di prima scelta è quello invasivo e non il cfDNA/NIPT.

Presso i Centri specializzati, l'esame ecografico del I trimestre può essere integrato con la ricerca di altri *marker* di patologia fetale, in grado di aumentarne la sensibilità e la specificità, oppure con una valutazione dell'anatomia fetale.

**Tabella 1.** Aumento della translucenza nucale in rapporto all'esito della gravidanza nei feti euploidi

Valori di NT	Cariotipo normale		Vivi non affetti
	Morte fetale	Anomalie maggiori	
< 95 <sup>mo</sup> centile	1,3%	1,6%	97%
95 <sup>mo</sup> -99 <sup>mo</sup> centili	1,3%	2,5%	93%
3,5-4,4 mm	2,7%	10,0%	70%
4,5-5,4 mm	3,4%	18,5%	50%
5,5-6,4 mm	10,1%	24,2%	30%
≥6,5 mm	19,0%	46,2%	15%

## 1.3 Consulenza

### 1.3.1 Consulenza *pre-test*

La disponibilità delle tecniche che utilizzano il DNA fetale per la ricerca delle anomalie genetiche nel corso della gravidanza rende tassativa la consulenza pre-test, che rappresenta lo strumento di elezione per informare la gestante/coppia sulle diverse opzioni disponibili. Infatti, è stato dimostrato che la comprensione delle potenzialità e dei limiti del cfDNA/NIPT è fortemente compromessa, in assenza della consulenza.

La consulenza pre-test deve affrontare alcuni aspetti principali: informare la gestante che il test è opzionale; chiarire il significato di screening; illustrare le patologie cromosomiche oggetto dell'indagine e confrontarle o con quelle indagate con altri test, compresi quelli basati sull'analisi dei villi coriali e degli amniociti, anche in relazione all'età materna; definire i limiti del test in

termini di sensibilità e specificità, considerando l'origine embriologica del DNA fetale (placentare) presente nel circolo materno, prendendo come riferimento i risultati delle indagini sul liquido amniotico (che hanno sensibilità e specificità stimate del 100%); informare sulla possibilità di fallimento del test e sulle conseguenti implicazioni cliniche; illustrare le caratteristiche del referto e la disponibilità della consulenza genetica post-test, quando necessario; informare che l'ecografia ostetrica del primo trimestre (ed eventuale test combinato nel caso di modello di applicazione contingente) è fondamentale per verificare l'appropriatezza dell'esecuzione del test e lo deve precedere.

La consulenza pre-test deve essere effettuata da uno specialista in Ostetricia e Ginecologia e/o da uno specialista in Genetica Medica.

### **1.3.2 Consulenza *post-test***

In presenza di un risultato del cfDNA/NIPT che riveli un alto rischio di aneuploidia, la consulenza post-test deve essere sempre garantita e conclusa con una relazione scritta. Un risultato ad alto rischio di aneuploidia prevede che la gestante possa effettuare, in esenzione e convenzione con il SSN, le indagini genetiche pertinenti, basate su protocolli invasivi (villocentesi, amniocentesi), in accordo con quanto previsto dal Decreto Ministeriale per l'appropriatezza prescrittiva dei test genetici (Allegato 2 Genetica, colonna C, C027, pag.41).

## **1.4 Prescrivibilità del test**

Dato che il cfDNA/NIPT, validato per le principali aneuploidie autosomiche (trisomie 21, 18 e 13), ha una sensibilità e specificità maggiore rispetto agli altri metodi di screening, appare giustificata la sua implementazione, in considerazione dell'assenza di rischi per la madre ed il feto. Tuttavia, una decisione di questo tipo, pur in presenza di una scelta informata da parte della gestante (v. consulenza), è fortemente influenzata da ragioni di natura economica.

Come già anticipato, a fronte dei costi indicati nel tariffario del SSN, lo screening non invasivo combinato (NT + dosaggio di PAPP-A/ $\beta$ HCG) comporta per la gestante una spesa media di € 60), a fronte di € 300 richiesti per il cfDNA/NIPT, in base a quanto stabilito dall'unica esperienza regionale italiana.

La previsione di congrui costi a carico della gestante per la partecipazione alla spesa del test consente di rendere prescrivibile il cfDNA/NIPT.

## 2. Aspetti Giuridici

### 2.1. Profili generali

Dall'esame degli ordinamenti giuridici europei e statunitensi non emergono specifici interventi normativi diretti ad analizzare l'impatto economico dei cfDNA/NIPT e le conseguenti ricadute applicative sulla diffusione dei test e sulla complessiva spesa a carico dei servizi sanitari pubblici.

In prospettiva *de iure condendo*, la previsione, tramite un atto normativo, dei criteri e delle modalità di svolgimento del test appare necessaria per superare alcune criticità, anche etiche, connesse alla diffusione e all'utilizzo non disciplinato dei test, come già evidenziato nelle Linee-Guida sullo "Screening prenatale non invasivo basato sul DNA" del Consiglio Superiore della Sanità ([http://www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_2381\\_allegato.pdf](http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2381_allegato.pdf)).

Le principali problematiche attengono, tra l'altro, al rispetto del protocollo informativo di consulenza, precedente e successivo al test, alla completezza e alla chiarezza delle informazioni fornite alla paziente al momento dell'acquisizione del consenso, alla pubblicità ingannevole o non veritiera sugli effetti, sul contenuto e sull'oggetto del test.

Le problematiche descritte producono inevitabili conseguenze sul piano giuridico, anche senza esaminare le implicazioni connesse alla proprietà intellettuale (23) e alla conservazione dei dati acquisiti attraverso il test (13). L'informazione non corretta o non completa e la diagnosi non idonea possono determinare forme di responsabilità (43) suscettibili di essere analizzate, in una prospettiva soggettiva, su diversi piani o livelli: una responsabilità della struttura derivante dalla sua inadeguatezza o dal mancato rispetto degli obblighi comportamentali; una responsabilità del singolo professionista per negligenza o per violazione delle prescrizioni in tema di consenso informato; una responsabilità degli organi tenuti al controllo per omessa vigilanza sulle strutture ovvero sui protocolli da adottare e concretamente adottati.

In considerazioni delle articolate implicazioni, si possono segnalare vari interventi, sia in ambito regionale che statale, per individuare linee-guida e percorsi diagnostici diretti a disciplinare sia la fase precedente che successiva allo svolgimento del test. In questo senso, ad esempio, con l'Accordo ai sensi dell'articolo 4 del d.lgs. 28 agosto 1997, n. 281, tra il Governo, le Regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano sul documento recante "Attuazione delle linee-guida per le attività di genetica medica"(2), del 26.11.2009, le Regioni si sono impegnate, tra l'altro, ad adottare: percorsi diagnostici-assistenziali aderenti a Linee-Guida, con particolare riferimento alle "Linee-guida per le attività di genetica medica" del 2004 (3), che prevedano un'adeguata

consulenza genetica pre- e post-test ed una comprensiva ed esaustiva informazione alle pazienti ed ai familiari; procedure di accreditamento delle strutture che erogano prestazioni di genetica medica (laboratori e strutture cliniche), con l'introduzione di specifici criteri, tra cui la partecipazione ai controlli esterni di qualità ed i relativi meccanismi di partecipazione (4). Merita, tuttavia, rilievo anche l'intesa, ai sensi dell'articolo 8, comma 6, della legge 5 giugno 2003, n. 131, tra il Governo, le Regioni e le Province autonome di Trento e di Bolzano sul documento recante: "Linee di indirizzo sulla genomica in sanità pubblica" del 13 marzo 2013 (25).

La delicatezza del tema si coglie, in particolare, esaminandone le implicazioni etiche, emotive e sociali, la sua interferenza con l'autonomia riproduttiva e con il bene giuridico sul quale è destinato ad incidere, con particolare riferimento all'interruzione volontaria della gravidanza (24).

Alla luce delle criticità sottolineate e in considerazione del possibile impatto economico del test sul Sistema Sanitario Nazionale, il temperamento tra i vari interessi sottesi al suo svolgimento appare adeguatamente tutelato, subordinando il rimborso dei relativi oneri economici al rispetto rigoroso dei protocolli o delle linee-guida (si veda, ad esempio, l'Accordo tra il Ministero della salute, le Regioni e le Province autonome di Trento e di Bolzano sul documento recante: "Linee-guida per le attività di genetica medica" del 15 luglio 2009) (4), che comprendano obblighi comportamentali e prescrizioni strutturali e dimensionali per i centri che se ne occupano (si veda anche il "Piano regionale della rete delle strutture pubbliche di diagnostica di Laboratorio" adottato dai Ministeri della salute e dell'economia e delle finanze ai sensi dell'art. 1, comma 796, let. o) della l. 296/06) (1).

In ambito regionale, merita rilievo il decreto del Commissario ad Acta della Regione Lazio del 18.11.2015, n. U00549 (16) che ha istituito la rete specialistica disciplinare dei Laboratori di Genetica Medica regionali, in attuazione dei Programmi operativi 2013-2015, con la precisazione che dall'entrata in vigore dell'atto, tutte le attività di genetica medica dovevano essere ricondotte sotto la responsabilità della disciplina di riferimento e quindi di uno dei laboratori di Genetica Medica della Rete regionale. I laboratori di Genetica Medica vengono quindi classificati e distinti in due livelli, in base a specifici dati strutturali e competenze acquisite.

In ogni caso, al fine di assicurare un'adeguata qualità del servizio e di ottimizzare l'efficienza delle strutture, la soluzione preferibile appare quella di subordinare il rimborso da parte del SSN ad un accreditamento che sia idoneo a valutare la qualità del servizio in relazione alla specificità e alle peculiarità del cfDNA/NIPT, secondo quanto indicato al successivo paragrafo 3.

## 2.2. Analisi comparativa internazionale

A fine meramente esemplificativo della diffusione del cfDNA/NIPT e del suo impatto economico sui servizi sanitari, viene riportata la situazione vigente in alcuni ordinamenti giuridici particolarmente rappresentativi, anche con l'obiettivo di valutare le scelte alternative che sono state effettuate.

### STATI UNITI

Negli Stati Uniti, i test prenatali non invasivi (cfDNA/NIPT) non sono regolamentati da una disciplina specifica, ma ricadono nella più generale nozione dei dispositivi in vitro (*in vitro diagnostic devices* - IVDs) e, in particolare, nel sottoinsieme dei cosiddetti *laboratory developed tests* (LDTs), cioè degli IDV destinati ad uso clinico, realizzati all'interno di un singolo laboratorio. I laboratori, compresi quelli in cui si effettuano LDTs, sono sottoposti alle disposizioni del *Clinical Laboratory Improvement Amendments* (CLIA) del 1988, che fissa gli standard qualitativi per i test di laboratorio non finalizzati alla ricerca, realizzati su campioni prelevati dal corpo umano, destinati a fornire informazioni per la diagnosi, la prevenzione o il trattamento di patologie o disabilità o altri stati di salute. Il CLIA prescrive che ogni laboratorio rispetti i requisiti previsti dalle norme federali e operi sulla base di una certificazione. Spetta al *Department of Health & Human Services* (HHS) certificare i laboratori che eseguono test non sperimentali.

I requisiti posti dal CLIA attengono alla capacità di svolgere i test di laboratorio in modo preciso e affidabile. La certificazione non verifica i test ai fini della commercializzazione, né riguarda la validità clinica dei LDTs. È la *Food and Drug Administration* (FDA) a certificare la validità clinica durante il procedimento di autorizzazione precedente l'ingresso sul mercato. Inoltre, la FDA svolge controlli per garantire l'appropriatezza della ideazione e realizzazione dei dispositivi (30), nonché la loro sicurezza e consistenza. La FDA, fino a poco tempo fa, aveva scelto di non esercitare il proprio potere autoritativo in materia di LDTs. Tuttavia, le tipologie di LDTs sono mutate radicalmente negli ultimi decenni, divenendo più complesse; analogamente, è evoluto il *business model* applicato allo sviluppo di queste tecniche da parte degli operatori. In conseguenza, sono aumentati i rischi potenziali per i pazienti, circostanza che ha spinto la FDA ad esercitare il proprio potere regolatorio sulla verifica per l'immissione sul mercato (quanto meno di alcune categorie di LDTs), nonché sui requisiti qualitativi di sistema, e a rafforzare la regolazione su altri aspetti, tra cui la registrazione, l'elencazione e la notificazione di eventuali disfunzioni o di altri eventi negativi.

Il 31 luglio 2014, come richiesto dalla sezione 1143 del *Food and Drug Administration Safety and Innovation Act* (FDASI), la FDA ha comunicato al Congresso la propria intenzione di pubblicare una linea-guida, anticipando il contenuto di due documenti (37): a) *Framework for Regulatory Oversight of LDTs* e b) *FDA Notification and Medical Device Reporting for LDTs*. Il 3 ottobre 2014 ha, inoltre, annunciato di avere reso pubblici i testi, avviando una consultazione di 120 giorni, conclusasi il 2 febbraio 2015 (19).

Il 16 novembre 2015 la FDA ha pubblicato lo studio di 20 casi di LDTs, tra cui il cfDNA/NIPT, in merito al quale ha posto in rilievo la mancanza di evidenze cliniche sulla capacità di rilevare e predire le aneuploidie in misura percentualmente adeguata, nonché l'emergere di numerosi risultati falsi positivi quando esteso alla popolazione generale. La FDA ha pertanto paventato il rischio di indurre le donne che riportano risultati falsi positivi ad interrompere la gravidanza dei feti non affetti e le donne con risultati falsi negativi a proseguire la gravidanza anche in presenza di alterazioni genetiche non rilevate dallo screening (20).

## **CANADA**

Il sistema delle fonti canadesi è molto complicato, perché è un ordinamento federale con tre territori e dieci province, alcune delle quali di tradizione *civil law* (quelle francesi) ed altre di tradizione *common law*. Sono state emanate solo linee-guida elaborate da Enti privati, associazioni di medici ed operatori, che peraltro non hanno alcun contenuto prescrittivo/autoritativo ma rivestono solo valore scientifico.

A titolo esemplificativo può essere preso come riferimento l'Ontario dove tre compagnie private (programmi *Panorama*, *Verifi* e *Harmony Prenatal Test*) offrono, in regime convenzionato, a spese dell'*ON Ministry of Health and Long-Term Care* (34), il cfDNA/NIPT alle gestanti residenti che abbiano alcuni criteri idonei a definire un possibile rischio (35): un'età  $\geq 40$  anni al momento del parto; un risultato positivo allo screening biochimico sul sangue materno; una NT  $\geq 3,5$  mm; precedenti gravidanze con anomalie cromosomiche. Per ottenere il rimborso del test, il *Provincial Council for Maternal and Child Health* (PCMCH) ha stabilito che la presenza degli indicatori di rischio debba essere attestata da un medico e che la gravidanza non sia gemellare. In alternativa, è possibile attestare altri indicatori di rischio, ad esempio la presenza di difetti fetali (potenzialmente predittivi delle trisomie 21, 18 e 13) individuati con l'ecografia; un rischio di aneuploidia per le trisomie 21, 18 o 13 superiore a quello definito da un risultato positivo con un *multiple marker test*, valutato attraverso diversi indicatori di rischio (da analizzare con maggiore

rigore nelle donne <40 anni); i rischi connessi al genere, ad esempio una malattia limitata ad un sesso o una aneuploidia dei cromosomi sessuali (rilevata con l'ecografia), oppure il rischio di un difetto della determinazione sessuale (eco-evidenziato) (33).

## BELGIO

Il *Belgian Health Care Knowledge Centre (KCE)*, un Ente che opera sotto la supervisione del *Minister of Public Health and Social Affairs* belga, ha presentato nel 2014 una ricerca rivolta ad integrare gli aspetti medici ed economici del cfDNA/NIPT, con specifico riferimento alla prevenzione della trisomia 21 (29). Tale analisi ha preliminarmente evidenziato come una rilevante percentuale delle donne (spesso di età più avanzata) tenda a sottoporsi direttamente ai test invasivi (senza alcun tipo di screening), cercando da subito una maggiore certezza della diagnosi. Verosimilmente queste donne considererebbero il cfDNA/NIPT preferibile, qualora fosse disponibile, in base alla sua accuratezza diagnostica, equivalente a quella della villocentesi, ma inferiore a quella dell'amniocentesi.

Al momento, si sottopongono ai test invasivi anche le gestanti che all'esame ecografico mostrano un valore di NT >3,5 mm. Le pazienti che hanno valori <3,5 mm, si sottopongono ad uno screening per quantizzare il rischio, combinando il valore della NT ai test biochimici basati su *markers* ematici. Il calcolo si basa perciò sulla NT, sui *markers* sierici, sull'età e sulla familiarità per la trisomia 21 o altre aneuploidie. Se il rischio è >1:300 non si eseguono altri test; se è <1:300 si effettuano indagini invasive. Il limite di questo screening è che è dipendente dall'operatore.

Questo protocollo comporta, per l'individuazione di un caso di trisomia 21, un costo medio di € 86.944. Lo studio belga ha quindi valutato due diversi modelli per l'introduzione del cfDNA/NIPT, al fine di calcolare il rispettivo vantaggio, a parità di costo per il servizio sanitario: 1) cfDNA/NIPT come metodo di *triage*; 2) cfDNA/NIPT come metodo di screening. A causa del suo elevato costo (€ 460 presso l'Ospedale Universitario di Lovanio), il cfDNA/NIPT è stato inizialmente utilizzato per il *triage* tra le gestanti positive allo screening, destinate ad un test invasivo. Tuttavia, a causa del crescente numero di casi patologici riscontrati dal cfDNA/NIPT anche sulle gravidanze a basso rischio, insieme alla prospettiva di ridurre i suoi costi, si è concretizzata la possibilità di offrire il cfDNA/NIPT come metodo di screening primario, in sostituzione dei test biochimici in associazione con l'esame ecografico. È stata addirittura prospettata l'opzione di utilizzare il cfDNA/NIPT per la diagnosi della SD (perciò non solo come screening), ma al momento questo obiettivo appare ancora non realistico. Relativamente alla prima ipotesi (cfDNA/NIPT come *triage*), è stato

sottolineato come l'apprezzabile specificità e soprattutto l'elevatissima sensibilità del cfDNA/NIPT non giustificano il suo impiego come test di seconda linea. Pensato per contenere i costi, il test sarebbe offerto alle pazienti con un rischio  $>1:300$ ; i casi positivi sarebbero poi indirizzati ai test invasivi. Relativamente alla seconda ipotesi (cfDNA/NIPT come screening), è stata sottolineata la maggiore specificità e sensibilità del test rispetto agli attuali sistemi di screening e perciò la conseguente ulteriore riduzione dei test invasivi (la percentuale delle donne che ritiene lo screening attuale non risolutivo si affiderebbe al cfDNA/NIPT); è stato considerato l'aumento della percentuale delle donne che, avendo i requisiti, si sottoporrebbero effettivamente al test di screening, che salirebbe dall'80% al 90%; inoltre, la drastica riduzione dei falsi negativi, nonché degli aborti legati alle tecniche invasive e la riduzione delle nascite di bambini affetti da trisomia 21, dato che le madri abortiscono l'89-97% dei feti affetti.

## **SVIZZERA**

Il Dipartimento federale dell'interno ha deciso che, a partire dal 15 luglio 2015, l'AOMS (Assicurazione obbligatoria delle cure medico-sanitarie) si doveva assumersi i costi del "test del primo trimestre", che fa riferimento al rischio di trisomia basato su fattori specifici della gravidanza (tra cui l'età della madre), la NT evidenziata con ecografia ed i risultati delle analisi dei marcatori biochimici. In presenza di un rischio elevato, i costi sono coperti anche per i test prenatali non invasivi (17). I costi dell'amniocentesi e della villocentesi erano già rimborsati dall'Assicurazione. Pertanto, tra la 6 e la 10 settimana di amenorrea, il ginecologo informa e consiglia le donne circa le possibilità e le conseguenze dello screening finalizzato ad individuare la trisomia. Se la donna acconsente, nel corso della 10 settimana le viene prelevato un campione di sangue per l'analisi dei marcatori, e tra la 12 e la 14 settimana viene eseguita un'ecografia. Se dallo screening non emergono dati allarmanti ed il rischio di trisomia 21, 18 e 13 è  $<1:1000$ , non vengono raccomandate altre indagini, oltre ai controlli di routine previsti durante la gravidanza. Se il rischio è  $\geq 1:1000$ , alla gestante viene proposto di eseguire un test prenatale non invasivo. Qualora l'esito sia negativo, non vengono indicate altre indagini rispetto ai controlli effettuati di routine nel corso della gravidanza. Viceversa, nel caso di un risultato positivo, si raccomanda di confermarlo con un test invasivo, in quanto è noto che i test prenatali non invasivi possono fornire risultati falsi positivi.

### **3. Accreditamento/criteri minimi di qualità dei Centri che eseguono il cfDNA/NIPT**

#### **3.1 Figure professionali/Ruolo delle Società Scientifiche**

I test basati sulle tecniche di sequenziamento di seconda generazione e su piattaforme genomiche richiedono un'interazione tra le diverse figure professionali coinvolte nella diagnosi prenatale (in primo luogo i genetisti e gli ostetrici), che è superiore a quella richiesta dai test genetici tradizionali. Ciò consente di ottimizzare la definizione dell'ambito dell'indagine e delle sue finalità e di stabilire di volta in volta gli approfondimenti necessari.

#### **3.2 Criteri minimi di qualità dei Centri che eseguono il test cfDNA/NIPT**

I laboratori che si accingono ad implementare e ad offrire queste indagini, in rapporto alle tecnologie disponibili, devono possedere le competenze, comprese quelle bioinformatiche, necessarie a caratterizzare le varianti di potenziale rilevanza clinica, in particolare attraverso l'uso di database e strumenti informatici aggiornati, e devono essere certificati (ISO 15189 o simili; *Laboratory accreditation and certification*; <http://www.eurogentest.org/>).

I test basati sul cfDNA, in quanto analisi del DNA, sono a tutti gli effetti analisi genetiche. I risultati ottenuti ed i dati di sensibilità e specificità devono essere interpretati alla luce dei risultati emersi dalle analisi citogenetiche effettuate sul citotrofoblasto e sugli amniociti. Il cfDNA/NIPT deve essere collegato e preceduto dal Test Combinato, effettuato da operatori accreditati nell'esame delle 11-14 settimane (v. paragrafo successivo); in alternativa si deve misurare la NT. Nel caso in cui il Test Combinato suggerisca un aumento del rischio di patologia cromosomica nel feto, è necessario valutare l'opportunità di eseguire direttamente una diagnosi prenatale invasiva per analizzare il cariotipo fetale, integrandolo eventualmente con altre tecniche (ad es. *array-CGH*), per aumentare il potere diagnostico nei confronti degli sbilanciamenti submicroscopici patogenetici (40, 51).

E' necessario che le donne che intendono sottoporsi al cfDNA/NIPT ricevano preliminarmente, attraverso un colloquio e, se indicato, una consulenza genetica, le informazioni necessarie a comprendere le caratteristiche del test ed i suoi limiti, anche in rapporto alle altre tecniche di screening/diagnosi prenatale disponibili, e, prima del test, sottoscrivano un consenso informato.

Il Centro che offre il test deve essere in grado di garantire la consulenza genetica post-test ed il completo supporto alla paziente durante l'intero percorso diagnostico. Deve, inoltre, farsi carico del follow-up della gravidanza, con particolare riferimento al suo esito.

### **3.3 Test Combinato**

Il Test Combinato viene attualmente offerto, su base nazionale, per lo screening delle anomalie cromosomiche, nel I trimestre di gravidanza, in alcuni Paesi, tra cui l'Inghilterra, la Danimarca e l'Australia. La sua efficacia, sulla popolazione complessiva delle gravidanze, in tutte le fasce di età materna, è stata documentata da diverse pubblicazioni scientifiche.

Il passaggio dallo screening per la trisomia 21 basato sull'età materna, al Test Combinato ha determinato, in Danimarca, il dimezzamento del numero degli esami prenatali invasivi (da 7.524 a 3.510), con una proporzionale riduzione del numero degli aborti correlati alla tecnica e, contemporaneamente, ha consentito di aumentare la percentuale delle diagnosi corrette dei feti affetti, dal 50% a circa il 90%. Lo screening combinato per la trisomia 21, a 11-13 settimane, permette, utilizzando le stesse valutazioni ecografiche e biochimiche, di identificare anche la maggior parte dei feti affetti dalle trisomie 18 e 13. E' stato anche dimostrato che la misurazione della NT è un valido metodo per identificare i feti a rischio per altre anomalie cromosomiche (39), per malformazioni congenite maggiori (43) e per alcune sindromi genetiche.

#### **3.3.1 Qualità dello screening combinato**

Una condizione fondamentale, in grado di assicurare che i risultati del Test Combinato siano affidabili, è quella di prevedere che gli operatori che eseguono l'ecografia, il laboratorio che effettua il test, gli strumenti per i dosaggi biochimici e l'algoritmo per il calcolo del rischio, siano sottoposti ad un processo di accreditamento e di controllo periodico della qualità dei risultati. L'assenza di criteri omogenei nella valutazione delle varie componenti del Test Combinato influisce infatti negativamente sull'accuratezza dello screening, diminuendone la sensibilità ed aumentando la percentuale dei casi falsi positivi, con ripercussioni sia sull'affidabilità generale del metodo, sia sulle ricadute che un risultato impreciso avrebbe sulla gestione della singola gravidanza. La *Fetal Medicine Foundation* (FMF) è l'organizzazione *non-profit* britannica che ha contribuito maggiormente alla validazione dello screening combinato attraverso la più ampia produzione scientifica presente sull'argomento e l'istituzione di un sistema di accreditamento e controllo periodico della qualità

dello screening su base internazionale (50). Questo sistema viene attualmente raccomandato ed utilizzato come riferimento in varie linee-guida nazionali ed internazionali. La FMF britannica certifica gli operatori che hanno frequentato e superato il corso *online*, che abbiano inviato tre immagini di misurazione della NT ed abbiano svolto una prova pratica in grado di valutarne la competenza. La prova pratica si svolge in Italia a cura della SIEOG, attraverso una rete di centri diffusi sul territorio nazionale, che comunica alla FMF il superamento della prova pratica. La FMF esegue poi un *audit* annuale su tutti gli operatori, basato sull'invio di immagini e la distribuzione delle misurazioni della NT. Attualmente è possibile ottenere la certificazione in Italia presso la FMF-Italia ([www.fmfitalia.org](http://www.fmfitalia.org)).

## 4. Esempi di implementazione del test cfDNA/NIPT

### 4.1 Introduzione

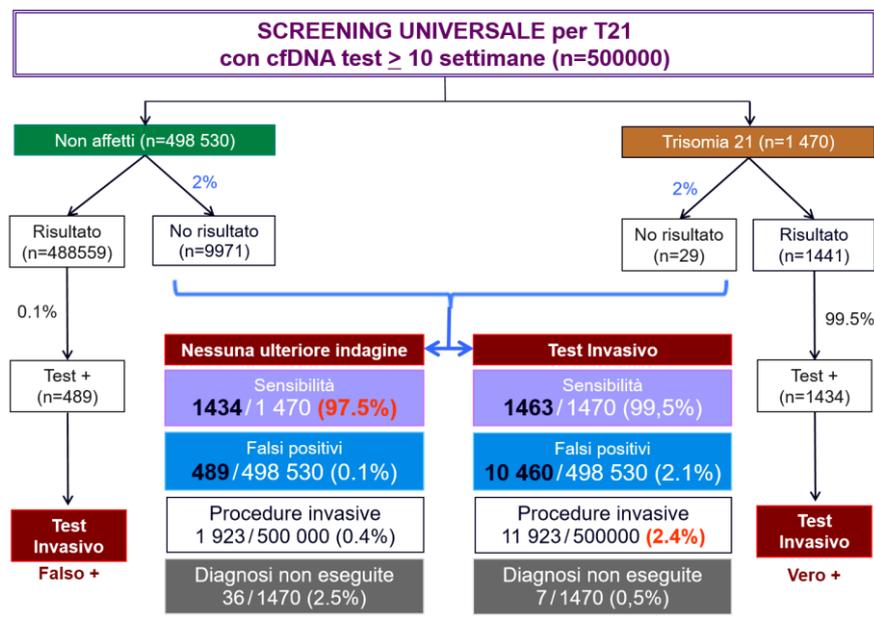
L'implementazione del cfDNA/NIPT nella pratica clinica può essere realizzata con due modelli alternativi: il cfDNA/NIPT come test di prima scelta, a partire dalla 10 settimana di gestazione, in sostituzione dell'attuale Test Combinato (cfDNA/NIPT come screening universale); oppure essere riservato ad una specifica sottopopolazione individuata con lo screening combinato (Test Contingente). Nel secondo caso, i costi possono essere proporzionati alle risorse economiche, definendo a priori la percentuale dell'utenza a carico del SSN attraverso l'individuazione di soglie (*cut-off*) di rischio congrue alla disponibilità economica ed al migliore compromesso tra la *performance* globale dello screening ed i criteri clinici comprovati dalla letteratura scientifica. La definizione di queste soglie è strettamente correlata a due fattori principali: il costo della prestazione e le risorse economiche messe a disposizione dal SSN, al netto della partecipazione diretta del paziente alla spesa.

Si possono ipotizzare diverse strategie, basate sull'uso del cfDNA/NIPT come screening universale o contingente ai risultati del test combinato. La prevalenza stimata della trisomia 21 è stata fissata in 0,3% ed i dati sulla *performance* del cfDNA/NIPT sono stati ricavati da una meta-analisi comprensiva della maggior parte degli studi pubblicati (21). I dati sulla prevalenza dei feti trisomici e non affetti, in relazione alle varie soglie di rischio dopo il Test Combinato, sono stati ricavati da uno studio prospettico su 11.692 gravidanze (22, 26).

### 4.2 Opzione I: Il test del cfDNA/NIPT come screening universale

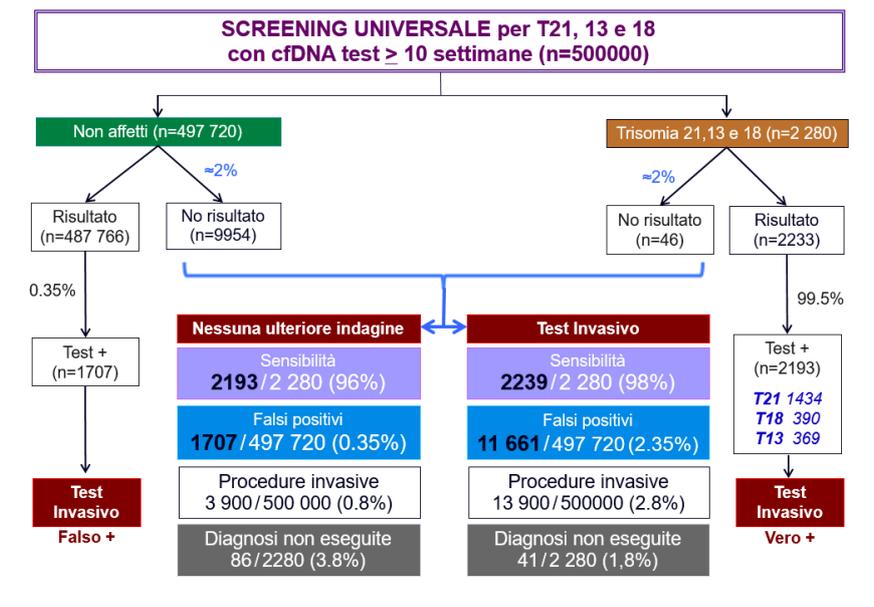
Secondo il modello dello screening universale, il cfDNA/NIPT viene offerto a tutte le gestanti e sostituisce *in toto* il Test Combinato. Questo approccio permetterebbe di diagnosticare il 97,5% dei casi di trisomia 21, con un tasso di procedure invasive dello 0,3% (**Figura 1**). Tuttavia, si deve prevedere che circa il 2% delle gestanti non avrebbe alcun risultato, a causa del fallimento del test cfDNA/NIPT, e che questo gruppo comprende anche le gravidanze di feti affetti.

**Figura 1.** Esempio di implementazione utilizzando il cfDNA/NIPT come screening universale per la trisomia 21 in sostituzione del Test Combinato, con due strategie riguardo la sottopopolazione del 2% dei fallimenti (no risultato): nessuna ulteriore indagine oppure test invasivo.



Se il gruppo dei fallimenti fosse considerato ad alto rischio, questo implicherebbe un aumento di circa il 2% del ricorso alle tecniche invasive e della sensibilità per la trisomia 21. Inoltre, nel caso in cui il cfDNA/NIPT fosse utilizzato anche per valutare il rischio di trisomia 18 e 13, sarebbe necessario prevedere un ulteriore aumento dei falsi positivi, pari a circa lo 0,25% (22, 26) (**Figura 2**).

**Figura 2.** Esempio di implementazione utilizzando il cfDNA/NIPT come screening universale per le più frequenti trisomie (21, 18, 13) in sostituzione del Test Combinato, con due strategie riguardo la sottopopolazione del 2% dei fallimenti (no risultato): nessuna ulteriore indagine oppure test invasivo.



#### 4.2.1 Criticità cliniche

Dal punto di vista clinico, il principale svantaggio di questa strategia è la mancata identificazione dei feti che presentano un aumento della NT, a rischio per patologie genetiche rare. Inoltre si determinerebbe un ritardo di circa otto settimane nella diagnosi di alcune importanti e gravi malformazioni fetali (ad es. acrania), facilmente identificabili con le ecografie eseguite tra le 11 e le 13 settimane, in occasione della misurazione della NT. Di fatto, queste malformazioni verrebbero diagnosticate solo in occasione dell'ecografia morfologica, attorno alla 20 settimana. Un ulteriore svantaggio è il fallimento del test nel 2% dei casi, anche dopo ripetizione del prelievo, nonché le problematiche associate alla gravidanza gemellare (ulteriore 2%).

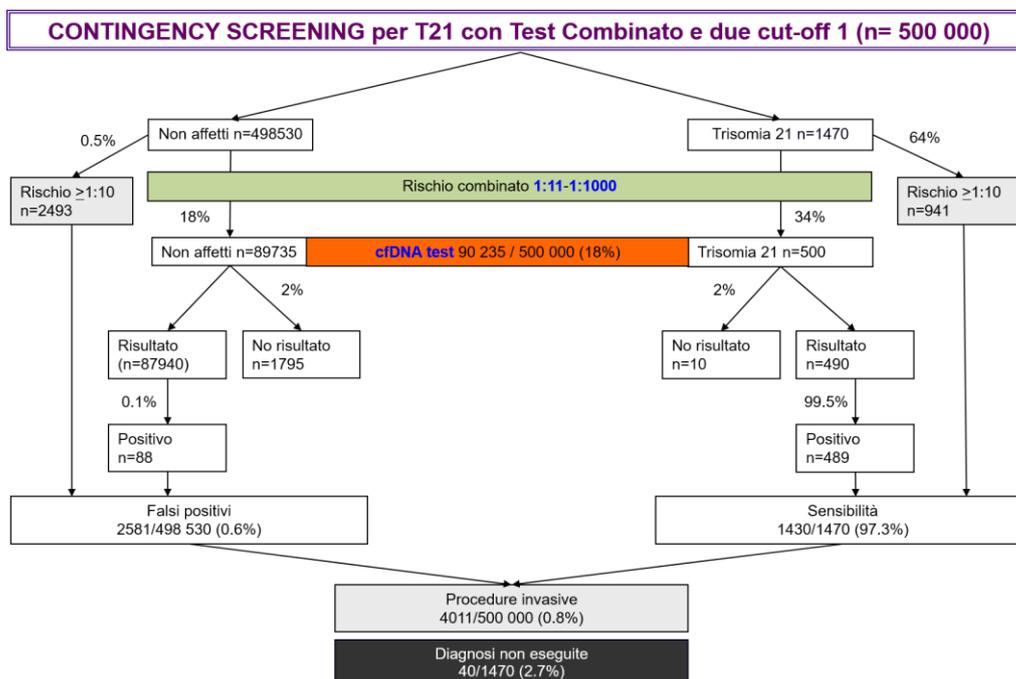
### 4.3 Opzione II: Il test cfDNA/NIPT come screening contingente dopo il Test Combinato

#### 4.3.1 Il test cfDNA/NIPT nelle gestanti con un rischio compreso tra 1:11 e 1:1.000 dopo il Test Combinato

Questo modello prevede che a tutte le gestanti sia offerta la possibilità di sottoporsi al Test Combinato, in accordo con le linee-guida dell'Istituto Superiore di Sanità e del Ministero della Salute. L'esperienza clinica e scientifica del Test Combinato ha ampiamente dimostrato che nel gruppo delle gravidanze con un rischio  $\geq 1:10$  sono presenti numerosi feti affetti dalle trisomie 21, 18, 13 e/o da altre anomalie non identificabili con il cfDNA/NIPT, sia di natura cromosomica/genomica/genetica (altre trisomie, delezioni, duplicazioni), sia da difetti strutturali maggiori. Pertanto, l'utilizzo del cfDNA/NIPT in questi casi non è utile nel assicurare la gestante sulla salute del feto. In questi casi dovrebbe essere discussa una procedura diagnostica invasiva (villocentesi o amniocentesi), a prescindere dal risultato di ogni altro test di screening. Nel gruppo delle gravidanze con un rischio  $< 1:1.000$  è compreso circa il 2% dei feti con trisomia 21 e l'80% delle gravidanze normali. Di conseguenza, la prevalenza della trisomia 21 in questo gruppo è molto bassa (circa 1:9.000), una percentuale in grado di assicurare le gestanti (22).

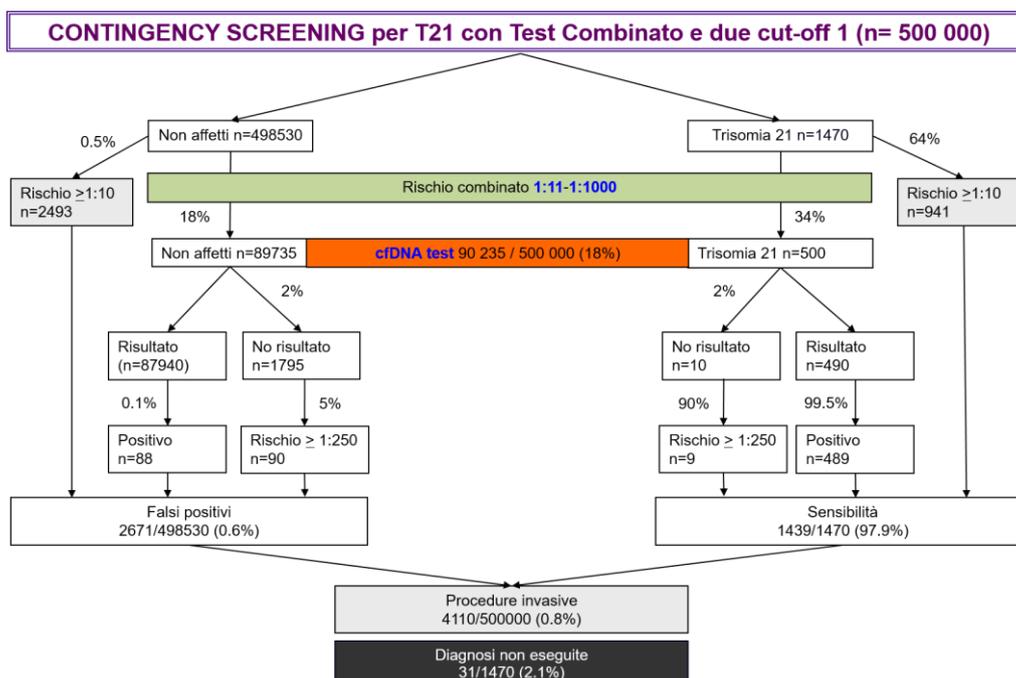
L'utilizzo del cfDNA/NIPT nel gruppo con un rischio compreso tra 1:11 e 1:1.000 implica la sua disponibilità nel 18% della popolazione generale. Ciò comporterebbe una sensibilità del 97,5% per la trisomia 21 ed un tasso di procedure invasive dello 0,8% (**Figura 3**).

**Figura 3.** Strategia contingente con il Test Combinato offerto a tutte le gravidanze e cfDNA/NIPT solo alle pazienti con un rischio combinato compreso tra 1: 11 e 1:1000 e ricorso a nessun'altra indagine nei casi di fallimento (no risultato) dopo cfDNA/NIPT.



Se le gravidanze con un rischio combinato compreso tra 1:11 e 1:250, ma senza risultato dopo il cfDNA/NIPT, venissero avviate ad un esame invasivo, aumenterebbe solo marginalmente sia il tasso dei falsi positivi che la sensibilità (**Figura 4**).

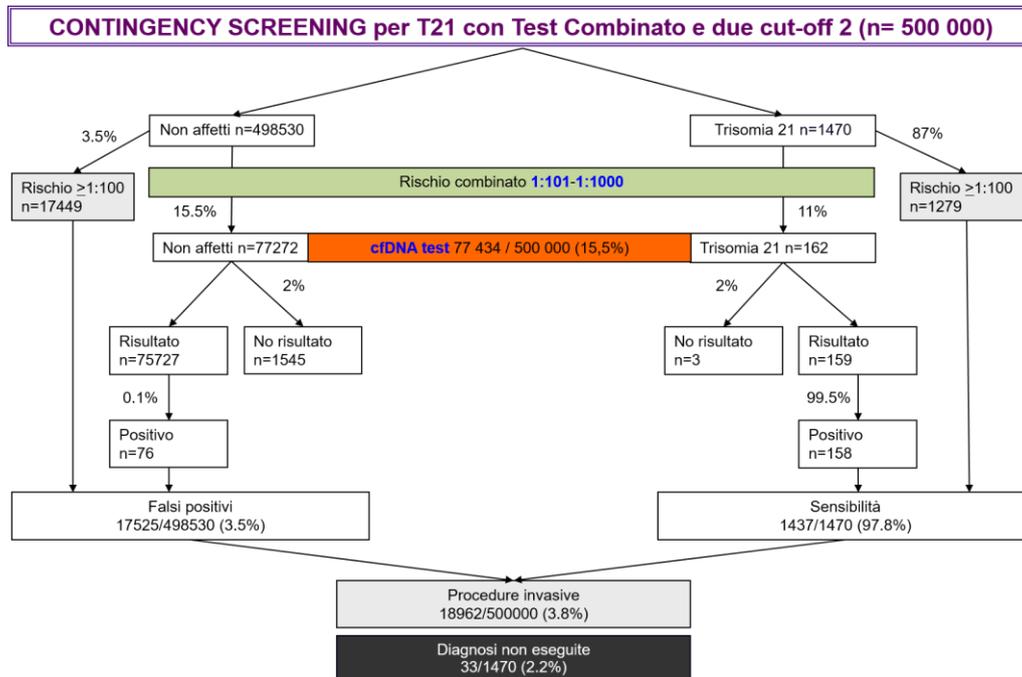
**Figura 4.** Strategia contingente con Test Combinato in tutte le gravidanze e cfDNA/NIPT alle pazienti con un rischio combinato compreso tra 1 su 11 e 1 su 1000 e villocentesi nei casi di fallimento (no risultato) dopo cfDNA/NIPT e rischio combinato superiore a 1 su 250.



### 4.3.2 Il cfDNA/NIPT alle gestanti con un rischio compreso tra 1:101 e 1:1.000 dopo il Test Combinato

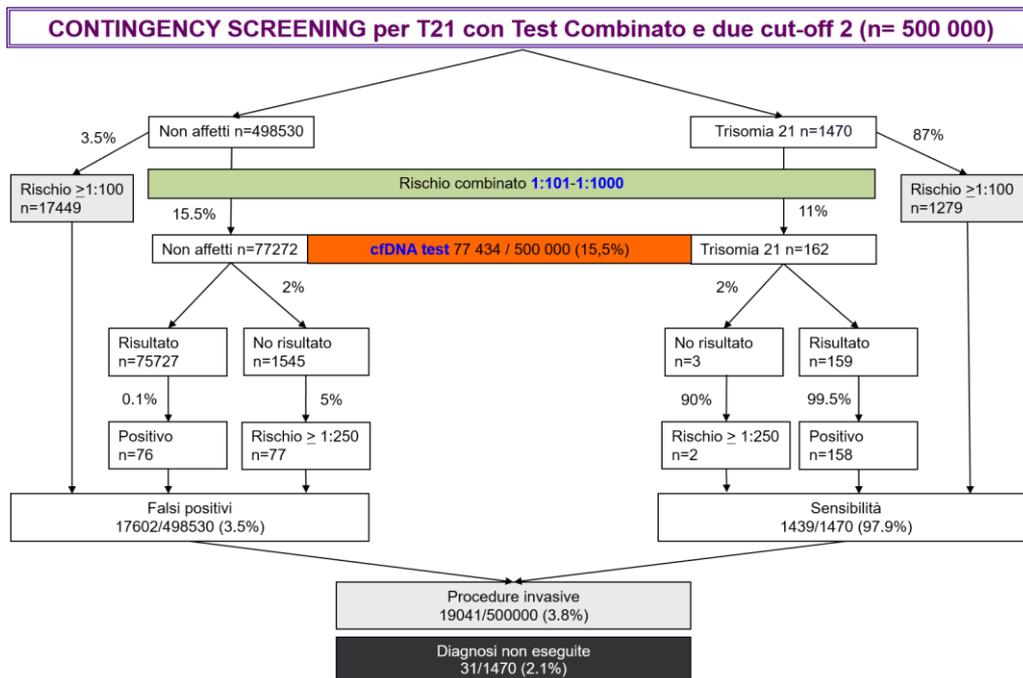
Questo modello prevede che a tutte le gestanti venga offerta la possibilità di sottoporsi al Test Combinato, in accordo con le linee-guida dell'Istituto Superiore di Sanità e del Ministero della Salute. A differenza della strategia precedente, la soglia per l'esecuzione diretta di un esame invasivo scenderebbe a 1:100, con un conseguente aumento della percentuale dei falsi positivi. L'utilizzo del cfDNA/NIPT nel gruppo con un rischio compreso tra 1:101 e 1:1000 comporterebbe l'esecuzione del test nel 15,5% della popolazione generale ed una sensibilità del 97,8% per la trisomia 21, con un tasso di tecniche invasive del 3,8% (**Figura 5**).

**Figura 5.** Strategia contingente con il Test Combinato offerto a tutte le gravidanze e cfDNA/NIPT solo alle pazienti con rischio combinato compreso tra 1:101 e 1:1000 e nessun'altra indagine nei casi di fallimento (no risultato) dopo cfDNA/NIPT.



Se il gruppo delle gravidanze con un rischio combinato compreso tra 1:11 e 1:250, ma senza risultato dopo il cfDNA/NIPT, venisse avviato ad un esame invasivo, aumenterebbe solo marginalmente sia il tasso dei falsi positivi, sia la sensibilità (**Figura 6**).

**Figura 6.** Strategia contingente con il Test Combinato offerto in tutte le gravidanze e il cfDNA/NIPT solo alle pazienti con un rischio combinato compreso tra 1: 101 e 1:1000 e ricorso alla villocentesi nei casi di fallimento (no risultato) dopo il cfDNA/NIPT e con un rischio combinato >1:250.



#### 4.3.3 Estensibilità dello screening delle trisomie 18 e 13.

L'estensione dello screening alle trisomie 18 e 13 non cambierebbe in modo significativo la sensibilità totale, in quanto l'integrazione del Test Combinato e del cfDNA/NIPT avrebbe una sensibilità elevata anche per queste trisomie. Inoltre, l'estensione del test alle trisomie 18 e 13 non produrrebbe un aumento del ricorso alle tecniche invasive nel caso in cui i fallimenti venissero gestiti in base al rischio combinato.

## 5. Le evidenze di impatto economico

### 5.1 Le evidenze di costo-efficacia e di *budget impact* del cfDNA/NIPT

La valutazione dell'impatto economico di un nuovo intervento sanitario (tecnologia/programma, ecc.) comprende le analisi costo-efficacia, finalizzate a misurare la coerenza, per ogni paziente, tra i costi ed i benefici incrementali prodotti dallo stesso intervento (il cosiddetto *value for money*) e l'analisi dell'impatto sul *budget*, finalizzata a stimare i costi incrementali complessivi generati da tale intervento, rispetto alla sua mancata introduzione. Nello specifico, per costo-efficacia si intende il rapporto tra il costo incrementale e l'efficacia incrementale di due alternative per lo stesso problema di salute, dove il costo e l'efficacia vengono misurati nel lungo periodo, ovvero fino a quando gli effetti differenziali delle due alternative si esauriscono (la prospettiva temporale nelle analisi di costo-efficacia è spesso *lifetime*). L'esito finale di un'analisi di costo-efficacia è il Rapporto Incrementale di Costo-Efficacia (RICE), ovvero la differenza di costo rispetto alla differenza di beneficio ( $\Delta C/\Delta B$ ). Oltre alla definizione di un valore puntuale del RICE, è importante capire quanto il RICE si modifichi con il variare, entro *range* ragionevoli, del valore dei diversi parametri inseriti nel modello (analisi di sensibilità) e/o quale sia la probabilità che il nuovo intervento sanitario venga accettato per le diverse soglie di accettabilità del RICE.

L'analisi di costo-efficacia presenta numerose problematiche di tipo metodologico ed interpretativo. Gli aspetti che condizionano tali analisi comprendono:

- la prospettiva adottata nella valutazione dei costi: dai costi sostenuti dal sistema sanitario a quelli della società nel suo complesso;
- gli indicatori di beneficio: si prediligono indicatori trasversali rispetto ai diversi possibili interventi oggetto dell'analisi, quali la remissione della patologia e la sopravvivenza dei pazienti, eventualmente integrati con evidenze sulla qualità della vita (QALYs – *Quality Adjusted Life Years Saved*), qualora essi siano misurabili/stimabili;
- i modelli utilizzati nell'analisi: le valutazioni economiche spesso ricorrono a modelli per estrapolare i dati di efficacia rilevanti e stimare, in base ai percorsi prospetticamente simulati, i costi evitati nel tempo. Tali modelli presentano, a volte, un livello di complessità tale da

richiedere trasparenza da parte di chi li propone, e riproducibilità da parte di chi li deve utilizzare per raccomandare un nuovo intervento sanitario o deciderne la rimborsabilità/prezzo. Le evidenze sulla costo-efficacia del cfDNA/NIPT dipendono da diversi fattori. Tra essi assumono rilevanza la prospettiva adottata e la dimensione dello screening (universale vs contingente successivamente al Test Combinato). In genere, i benefici sono misurati in termini di numero dei casi di anomalia cromosomica individuati, ma non mancano analisi che introducono il numero degli aborti spontanei evitati e la qualità di vita dei pazienti. Inoltre, i modelli utilizzati per la valutazione prospettica del profilo di costo e beneficio includono ipotesi circa i comportamenti delle gestanti, quali il tasso di accettazione del test, la probabilità di un'indagine invasiva e di interruzione della gravidanza successiva ad un test positivo.

In termini generali, le analisi di costo-efficacia mostrano che (i) il cfDNA/NIPT utilizzato nei programmi di screening universale (Opzione I) presenta valori di costo-efficacia ragionevoli nella prospettiva sociale, ma non in quella del sistema sanitario. L'uso in programmi di screening universale pone importanti problemi di impatto sulla spesa, a meno che il test non venga offerto a prezzi sensibilmente inferiori rispetto a quelli attuali prevalenti sul mercato. Qualora si utilizzino programmi di screening contingente, la costo-efficacia del cfDNA/NIPT, pur con qualche elemento di incertezza, sembra essere maggiormente ragionevole (**Tabella 2**).

Gran parte degli studi sono stati effettuati negli USA. Nello specifico, la costo-efficacia nelle diverse opzioni è stata stimata (50), adottando la prospettiva: (i) sociale (nella quale sono stati incorporati i costi dello screening e quelli diretti ed indiretti *lifetime*); (ii) del terzo pagatore, con esclusione dei costi indiretti; (iii) del sistema sanitario nel breve periodo, con inclusione dei soli costi associati allo screening. I benefici sono misurati in termini di casi di trisomia 21 individuati. Da tale analisi emerge come, nella prospettiva sociale, lo screening universale sia dominante (meno costoso e più efficace), rispetto a tutte le altre opzioni considerate (nessuno screening, solo test combinato, screening contingente). Se si adotta la prospettiva a breve del pagatore sanitario, il costo incrementale per caso evitato dello screening contingente è, rispetto al solo test combinato, di circa 25.000 \$, mentre il passaggio dallo screening contingente allo screening universale comporta un costo per caso individuato di 250.000 \$. L'analisi di sensibilità mostra un'importante variazione del RICE al variare del costo (diretto ed indiretto) *lifetime* della trisomia 21 e del prezzo del cfDNA/NIPT (al *baseline* il prezzo del cfDNA/NIPT è di 400 \$).

Un recente studio negli USA (18) ha analizzato la costo-efficacia del cfDNA/NIPT rispetto ai metodi di screening tradizionali del I trimestre. I costi sono valutati nella prospettiva sociale e *lifetime*,

ovvero incorporando i costi evitati associati alla gestione di un paziente affetto da una patologia cromosomica. L'analisi mostra un *break-even* dei costi per caso individuato ad un costo del cfDNA/NIPT di 453 \$.

Con riferimento agli studi europei, Beulen et al. (7), adottando la prospettiva del sistema sanitario olandese e considerando i soli costi dello screening e dei test diagnostici invasivi, hanno integrato la valutazione di costo-efficacia del cfDNA/NIPT con un'analisi di impatto sulla spesa sostenuta dal sistema sanitario olandese. Pur suggerendo, come gli altri ricercatori, che la scelta più efficace sarebbe l'applicazione del cfDNA/NIPT come metodo universale di screening, gli autori hanno mostrato che l'aumento della spesa sarebbe difficilmente sostenibile (circa 73 milioni di € in più rispetto al test tradizionale, contro i 10 milioni di € in più per l'attivazione del test come screening contingente). L'uso del cfDNA/NIPT come test di screening principale è perciò vincolato ad un significativo abbattimento dei costi e perciò del prezzo dell'analisi. Una valutazione dell'impatto sulla spesa è stata effettuata anche in uno studio inglese (49). L'incremento di spesa in caso di screening universale sarebbe di 115 milioni di €, rispetto al solo Test Combinato, mentre l'impatto di una strategia contingente non supererebbe gli 11 milioni di €.

Uno studio svedese (12), che ha utilizzato i dati di *real-life* provenienti dallo *Swedish National Quality Register*, ha analizzato la costo-efficacia del cfDNA/NIPT nello screening contingente. Questa indagine, condotta nella prospettiva del sistema sanitario, ha evidenziato una ragionevole costo-efficacia, a condizione che solo poche pazienti richiedano successivamente ulteriori accertamenti diagnostici. Neyt et al. (37) hanno analizzato, con riferimento al sistema sanitario belga, l'impatto dell'introduzione di cfDNA/NIPT ed hanno mostrato come, nel caso dello screening universale, il costo del test cfDNA/NIPT dovrebbe scendere a 150 € per arrivare ad una situazione di *break-even* (stesso costo per caso individuato con i metodi tradizionali), mentre l'utilizzo contingente del test risulterebbe *cost-saving*.

Questi studi presentano due importanti limiti. Sotto il profilo metodologico, sono stati utilizzati modelli di valutazione del percorso del paziente popolati da dati ad alto tasso di incertezza (e variabilità tra i diversi Paesi), tra cui l'accettazione del test ed il tasso di interruzione della gravidanza dopo la conferma della patologia fetale. In secondo luogo, quando la valutazione di costo-efficacia viene effettuata *life-time*, sono incorporati, con un discutibile approccio etico, i costi evitati attraverso la migliore identificazione dei feti a rischio e la successiva interruzione della gravidanza. Infine, in nessuno degli studi è stato affrontato il possibile cambiamento del comportamento delle gestanti nei diversi scenari di compartecipazione alla spesa per il test.

Nonostante tali limiti, la variabilità dei risultati ottenuti e le ovvie incertezze circa la trasferibilità *tout court* dei risultati al contesto italiano, questi studi offrono importanti spunti di riflessione per il nostro Paese.

Tabella 2. Principali evidenze di costo-efficacia sul cfDNA/NIPT successive all'anno 2013 (segue)

Studio	Paese	Anno	Tipologia di studio	Prospettiva	Orizzonte temporale	Comparatori	Indicatore	Costo Test cfDNA/NIPT	Risultati	Budget Impact
Ohno et al, 2013	USA	2012	Modello	Società	Lifetime	cfDNA/NIPT seguito da amniocentesi (screening) vs cfDNA/NIPT non seguito da amniocentesi (diagnosi)	ICER: Δ Costo per QALY	\$ 795 (€ 619)	ICER: \$ 7.687 (€ 5.983) per QALY	
O'Leary et al, 2013	AUS	nd	Modello	Terzo pagatore	Breve termine	cfDNA/NIPT contingente a FTS (pazienti a rischio >1:300) vs FTS	Costo medio per caso T21 identificato ICER: Δ Costi per caso T21 identificato	\$ 743 (€ 578)	Costo per caso T21 identificato: \$56.360 (€ 43.867) vs \$51.372 (€ 39.985) ICER: \$83.724 (€ 65.167) per caso T21 identificato	Costo totale di \$3,91 (€ 3,04) milioni vs \$3,57 (€ 2,79) milioni in due anni
Song et al, 2013	USA	2013	Modello	Società	Lifetime	cfDNA/NIPT (prima linea su donne > 35 anni o con storia di rischio familiare; contingente a FTS alto rischio) vs FTS cfDNA/NIPT (prima linea su donne > 35 anni o con storia di rischio familiare; contingente a FTS alto rischio) vs INT (FTS + quadruple screening test)	Costo medio per caso T21 identificato ICER: Δ Costi per caso T21 identificato	\$ 795 (€ 619)	Costo per caso T21 identificato: FTS \$ 1.125k (€ 876k) ; INT \$ 1.042k (€ 811k); cfDNA/NIPT contingente \$ 705,5k (€ 549k) cfDNA/NIPT dominante	cfDNA/NIPT \$ 3,40 (€ 2,65) mld; FTS \$ 3,79 (€ 2,95) mld; INT \$ 3,92 (3,07) mld
Ayres et al, 2014	USA	2014	Modello	Sistema sanitario	Breve termine	1. cfDNA/NIPT screening universale vs FTS 2. cfDNA/NIPT prima linea donne > 35 anni + contingente FTS a alto rischio vs FTS 3. cfDNA/NIPT prima linea donne > 40 anni + contingente FTS a alto rischio vs FTS 4. cfDNA/NIPT in prima linea per pazienti > 40 anni + contingente FTS a alto rischio vs FTS	ICER: Δ Costi per caso T21 identificato; Δ Costi per aborto spontaneo evitato	Aus\$ 575 (€ 391)	1. ICER: Aus\$ 957k (€ 650k) (caso identificato); Aus\$ 1.308k (€ 889k) (aborto evitato) 2. ICER: Aus\$ 294k (€ 200k) (caso identificato); Aus\$ 237k (€ 161k) (aborto evitato) 3. ICER: cfDNA/NIPT dominante su FTS 4. ICER: cfDNA/NIPT dominante su FTS	
Beulen et al, 2014	Olanda	2014	Modello	Sistema sanitario	Breve termine	cfDNA/NIPT contingente a FTS (pazienti a rischio) vs FTS cfDNA/NIPT come screening universale vs FTS	ICER: Δ Costi per caso T21 identificato; Δ Costi per bambino nato con T21; Δ Costi per aborto spontaneo evitato	€ 776	ICER, a seconda degli indicatori di beneficio varia da - da € 94k (caso identificato) a € 737k (aborto spontaneo evitato) nel caso di test contingente - da € 460k (caso identificato) a € 3.875k (aborto spontaneo evitato) nel caso di test universale	cfDNA/NIPT universale € 119 milioni; cfDNA/NIPT contingente € 56,1 milioni; FTS € 46,3 milioni

Tabella 2. Principali evidenze di costo-efficacia sul cfDNA/NIPT successive all'anno 2013

Studio	Paese	Anno	Tipologia di studio	Prospettiva	Orizzonte temporale	Comparatori	Indicatore	Costo Test cfDNA/NIPT	Risultati	Budget Impact
Benn et al, 2014	USA	2014	Modello	Sistema sanitario	Lifetime	cfDNA/NIPT screening universale vs FTS per T21, 18, 13 a Mx cfDNA/NIPT screening contingente vs FTS per T21, 18, 13 a Mx	Costo cfDNA/NIPT di break-even (al quale le due strategie hanno lo stesso costo)	nd	Valore di break-even - screening universale: \$ 744 - screening contingente: \$ 486	
Neyt et al, 2014	Belgio	2014	Modello	Sistema sanitario	Breve termine	cfDNA/NIPT contingente a FTS (pazienti a rischio) vs FTS cfDNA/NIPT screening universale vs FTS	Costo per caso T21 identificato ICER: Δ Costi per caso T21 identificato	€ 460	Costo per caso di T21 identificato: FTS € 87k; cfDNA/NIPT contingente € 78k; cfDNA/NIPT universale € 840k cfDNA/NIPT contingente meno costoso ma meno efficace (in termini di casi T21 identificati) ICER screening inversale: € 840k (break-even rispetto a FTS a € 150)	FTS € 14,7 milioni; cfDNA/NIPT contingente € 13,1 milioni; cfDNA/NIPT universale € 50,8 milioni
Walker et al, 2015	USA	nd	Modello, con determinazione "endogena" del livello ottimale di 'risk cut-off'	Società, Terzo pagatore, Sistema sanitario	Lifetime	cfDNA/NIPT contingente a FTS (pazienti a rischio) vs FTS cfDNA/NIPT come screening universale vs FTS	ICER: Δ Costi per caso T21 identificato	\$ 400 (€ 301)	Prospettiva sociale: screening universale con cfDNA/NIPT dominante Terzo pagatore / Sistema sanitario - cfDNA/NIPT contingente dominante su FTS - cfDNA/NIPT universale: ICER pari a \$203k (€ 153k) / \$264k (€ 199k) per caso T21 aggiuntivo identificato in prospettiva terzo pagatore / sistema sanitario	
Conner et al, 2015	Sw	2006-2011	Studio real-life (registro)	Sistema sanitario	-	Diverse strategie di screening tra le quali l'utilizzo di cfDNA/NIPT contingente nelle pazienti a rischio intermedio	Costo per caso T21 identificato	nd	Costo per caso T21 identificato compreso tra € 19.000 e € 77.000 (il costo più elevato si ha nel caso di utilizzo di cfDNA/NIPT a livello universale)	
Taylor-Phillips et al, 2015	UK	2014	Modello	Sistema sanitario	-	Diverse strategie di screening per T21, T18, T13	Costo per caso T21 identificato	£ 232 (€ 288)	Costo per caso identificato compreso tra € 17.953 (£14.472) per il test combinato, € 18.325-31.256 (£ 14.764-25.196) per l'approccio cfDNA/NIPT contingente a seconda dei diversi profili di rischio, e € 105.082 (£ 84.709) nel caso di utilizzo di cfDNA/NIPT come screening universale	Impatto sulla spesa (milioni di € / £) compreso tra € 18,52 (£14,93) per il test combinato, € 18,67-€ 36,01 (£ 15,05-£ 29,03) per l'approccio cfDNA/NIPT contingente a seconda dei diversi profili di rischio, e € 133,08 (£ 107,8) nel caso di utilizzo di cfDNA/NIPT come screening universale
Fairbrother et al, 2016	USA	2015	Modello	Sistema sanitario	Lifetime	cfDNA/NIPT screening universale vs FTS per T21, 18, 13	Costo cfDNA/NIPT di break-even (al quale le due strategie hanno lo stesso costo)	nd	Valore di break-even per screening universale: \$ 453 (€ 408)	

FTS: First Trimester Screening; INT: Integrated Screening; ICER (RICE) = Incremental Cost-Effectiveness Ratio  
Tasso di cambio medio annuale £/€, \$/€ e Aus\$/€ desunto da <http://www.bancaditalia.it/> (ultimo accesso 19 Marzo 2016)

## 5.2 Simulazione dei costi dei modelli di implementazione del test cfDNA/NIPT in Italia

Non esistono ad oggi evidenze di costo-efficacia e di *budget impact* per l'Italia. E' tuttavia possibile presentare una simulazione di impatto sulla spesa delle tre strategie di implementazione del cfDNA/NIPT. L'analisi dei costi si riferisce al processo di screening e non include i costi evitati *lifetime*, sia perché si tratta di valutazioni di impatto sulla spesa che hanno un orizzonte temporale limitato, sia per la discutibilità etica di tali valutazioni.

La **Tabella 3** riassume i costi legati a ciascuna delle strategie descritte. I vari tipi di indagine sono stati così valorizzati:

- Test cfDNA/NIPT = € 300;
- Test Combinato = € 150 (Ecografia per NT a carico del SSN - € 90; Esame biochimico a carico della gestante - € 60)<sup>1</sup>
- Villocentesi = € 900;
- Amniocentesi = circa € 600.

Per ogni strategia vengono riportati separatamente i diversi parametri a seconda del tipo di gestione riservata al gruppo delle gravidanze senza risultato dopo il cfDNA/NIPT. I costi sono stimati su una popolazione campione di 500.000 gravidanze, assimilabili allo scenario italiano.

**Tabella 3.** Fattibilità, sensibilità, falsi positivi, tasso di villocentesi e costi delle diverse strategie di screening per la trisomia 21.

Strategia	Fattibilità	Sensibilità	Falsi +	Invasive	Costi
<b>Test combinato universale</b>	100%	90%	5%	5,3%	98.850.000 €
<b>cfDNA test universale</b>					
Nessuna altra indagine in caso di fallimento	98% (*)	97,5%	0,1%	0,4%	151.730.700 €
Villocentesi in caso di fallimento	98% (*)	99,5%	2,1%	2,4%	160.730.700 €
<b>Test combinato + cfDNA se rischio 1:11-1:1000</b>					
Nessuna altra indagine in caso di fallimento	100%	97,3%	0,6%	0,8%	105.530.400 €
Villocentesi in caso di fallimento e rischio ≥ 1:250	100%	97,9%	0,6%	0,8%	105.619.500 €
<b>Test combinato + cfDNA se rischio 1:101-1:1000</b>					
Nessuna altra indagine in caso di fallimento	100%	97,8%	3,5%	3,8%	115.247.400 €
Villocentesi in caso di fallimento e rischio ≥ 1:250	100%	97,9%	3,5%	3,8%	115.318.500 €

(\*) Gravidanze gemellari (2%) escluse dallo screening universale con cfDNA: riduzione della fattibilità a 96%

<sup>1</sup> E' possibile che venga fornita una seconda Ecografia a carico della paziente, ma tale ipotesi non è stata inserita nella simulazione in quanto non riflette un uso efficiente delle risorse.

A seconda degli scenari individuati, il Test Contingente produrrebbe un costo aggiuntivo di 6,7/16,5 milioni di € in più, mentre l'effetto economico dell'offerta come screening universale sarebbe decisamente superiore (tra i 52,9 e i 61,9 milioni di €).

La **Tabella 4** illustra il costo che dovrebbe essere sostenuto per il cfDNA/NIPT per avere un impatto neutrale sulla spesa complessiva, ovvero una spesa identica a quella sostenuta per il Test Combinato. Tale costo varia tra 176 e 194 €, nel caso dello screening universale, ed a valori molto variabili nel caso dello screening contingente (da 87 a 225 €).

**Tabella 4.** Costo del cfDNA/NIPT per mantenere la spesa sugli stessi valori del Test Combinato nei diversi modelli di implementazione del nuovo test.

Strategia	Costo cfDNA
<b>Test combinato universale</b>	-
<b>cfDNA test universale</b>	
Nessuna altra indagine in caso di fallimento	194 €
Villocentesi in caso di fallimento	176 €
<b>Test combinato + cfDNA se rischio 1:11-1:1000</b>	
Nessuna altra indagine in caso di fallimento	225,5 €
Villocentesi in caso di fallimento e rischio $\geq 1:250$	224,5 €
<b>Test combinato + cfDNA se rischio 1:101-1:1000</b>	
Nessuna altra indagine in caso di fallimento	88 €
Villocentesi in caso di fallimento e rischio $\geq 1:250$	87 €

Nella **Tabella 5** viene riportata la stima dei costi dei diversi modelli di implementazione con vari ipotetici costi del cfDNA/NIPT, dagli € 300 attuali fino ad un minimo di € 50. Si può notare che per costi  $\leq$  € 150, il costo del modello universale diventa inferiore a quello dei modelli contingenti. In questo caso, la riduzione del costo generata dal cfDNA/NIPT potrebbe determinare un ampliamento della popolazione candidabile al test, abbassando progressivamente il valore soglia da 1:1000 fino a 1:250.

**Tabella 5.** Confronto dei costi dei diversi modelli di implementazione del cfDNA/NIPT in rapporto a diversi ipotetici costi del test.

Stima del costo totale per diversi costi ipotetici del cfDNA Test					
Strategia	300 €	200 €	150 €	100 €	50 €
<b>Test combinato universale</b>	98.850.000				
<b>cfDNA test universale</b>					
Nessuna altra indagine in caso di fallimento	151.730.700	101.730.700	76.730.700	51.730.700	26.730.700
Villocentesi in caso di fallimento	160.730.700	110.730.700	84.730.700	60.730.700	35.730.700
<b>Test combinato + cfDNA se rischio 1:11-1:1000</b>					
Nessuna altra indagine in caso di fallimento	105.530.400	96.556.900	92.070.150	87.583.400	83.096.650
Villocentesi in caso di fallimento e rischio $\geq$ 1:250	105.619.500	96.646.000	92.159.250	87.672.500	83.185.750
<b>Test combinato + cfDNA se rischio 1:101-1:1000</b>					
Nessuna altra indagine in caso di fallimento	115.247.400	107.520.200	103.656.600	99.793.000	95.929.400
Villocentesi in caso di fallimento e rischio $\geq$ 1:250	115.318.500	107.591.300	103.727.700	99.864.100	95.973.500

Nella **Tabella 6** è riportata una stima dell'aumento del costo dello screening contingente per effetto di una soglia inferiore progressivamente più bassa, considerando una soglia superiore fissata a 1:11 (soluzione più economica), per due diversi costi del cfDNA/NIPT (€ 300 e € 200). Una riduzione del costo del cfDNA/NIPT a € 200 consentirebbe una riduzione della soglia inferiore a 1:2500, con un effetto complessivo sulla spesa molto simile a quello ipotizzato per una soglia <1000 ed un costo del cfDNA/NIPT di € 300.

**Tabella 6.** Sensibilità e costi complessivi al variare della soglia inferiore con due diversi costi del cfDNA/NIPT.

Strategia con diversi cut-off	Sensibilità	Costo per 2 diversi costi del cfDNA Test	
		300 €	200 €
1/11 – 1/1000	97,9	105.619.500 €	
1/11 – 1/1500	98,2	110.200.000 €	
1/11 – 1/2000	98,5	114.200.000 €	
1/11 – 1/2500	98,7	116.200.000 €	103.700.000 €
1/11 – 1/4000	99,0	125.200.000 €	109.700.000 €
1/11 – 1/6000	99,3	137.200.000 €	117.700.000 €
1/11 – 1/8000	99,4	153.700.000 €	128.700.000 €

Con la progressiva riduzione della soglia inferiore, si tende ad applicare il cfDNA/NIPT alle popolazioni con un rischio di trisomia 21 sempre più basso, con il conseguente aumento esponenziale del costo per singolo caso di trisomia 21 diagnosticato. Questo fenomeno si traduce in un aumento esponenziale del costo di un modello di implementazione del cfDNA/NIPT per piccoli miglioramenti della sensibilità oltre il 98-99%. Si stima che il costo per ogni feto affetto da trisomia 21 diagnosticato dal cfDNA/NIPT nella sottopopolazione con rischio <1:2500, ad un costo del test di € 200, sia di circa € 2.500.000. La preselezione della popolazione sulla quale applicare il cfDNA/NIPT attraverso il Test Combinato come screening preliminare permette di evitare l'uso del nuovo test nelle fasce della popolazione con bassa prevalenza della trisomia 21.

La tabella 7 fornisce un ausilio per aiutare il lettore a comprendere come sono stati raccolti i dati presenti nelle elaborazioni e nelle simulazioni presentate nel paragrafo relativo alle evidenze di impatto economico.

**Tabella 7.** Modalità di raccolta dei dati presenti nelle elaborazioni e simulazioni delle evidenze di impatto economico.

Parametro	Dato elaborato	Fonte
Numero di gravidanze in Italia ogni anno	500.000	ISTAT (dato arrotondato per eccesso sul numero dei nati)
Numero di trisomie 21 a 12 settimane di gestazione attese ogni anno in Italia	~1.470	Kagan et al., Ultrasound Obstet Gynecol. 2015;45(1):42-7
Numero di donne che al test combinato hanno un rischio 1:11 - 1:1.000, attese ogni anno in Italia	~ 90.000 (18%)	Gil et al., Ultrasound Obstet Gynecol. 2016;47(1):45-52
Numero di donne per le quali il test NIPT non fornisce risultato	~ 0.5-2%	Norton ME et al. N Engl J Med. 2015;72(17):1589-1597; Revello R et al. Ultrasound Obstet Gynecol. 2016; Jan 7.doi:10.1002/luog.1585

## 6. Raccomandazioni sull'uso del test del cfDNA/NIPT

- ⇒ Il cfDNA/NIPT è il test di screening prenatale dotato al momento di maggiore sensibilità e specificità per lo screening della trisomia 21.
- ⇒ Il cfDNA/NIPT riduce il ricorso alle indagini diagnostiche invasive, che hanno costi più elevati, e, di conseguenza, riduce il rischio di aborto collegato a quelle tecniche.
- ⇒ Il cfDNA/NIPT non fornisce un risultato in circa il 2% dei casi, per l'inadeguatezza del campione correlata alla bassa concentrazione del cfDNA nel plasma materno; al momento non sono disponibili studi in grado di chiarire se questi fallimenti si associno alla presenza, nel feto, di altre anomalie cromosomiche al di fuori delle trisomie 13 e 18.
- ⇒ La letteratura suggerisce che l'utilizzo del cfDNA/NIPT come screening contingente dopo il Test Combinato (eseguito da operatori certificati) sia il modello migliore per quanto attiene al rapporto costo/beneficio, almeno nella prospettiva del sistema sanitario.
- ⇒ L'utilizzo del cfDNA/NIPT come screening contingente dopo il Test Combinato (eseguito da operatori certificati) ha un limitato impatto complessivo sulla spesa sanitaria, a differenza dello screening universale, ed appare in grado di superare il problema dei casi senza risultato.
- ⇒ L'estensione del cfDNA/NIPT alle trisomie 18 e 13, utilizzandolo come screening contingente, non aumenterebbe il ricorso alle tecniche invasive, qualora i casi senza risultato fossero gestiti con il Test Combinato.
- ⇒ Il cfDNA/NIPT deve essere offerto nell'ambito di una consulenza con specialisti di genetica medica e/o di Ostetricia e Ginecologia, integrata da un esaustivo consenso informato [[http://www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_2381\\_allegato.pdf](http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2381_allegato.pdf)], nel quale deve essere fatto specifico riferimento alla volontà di essere o di non essere informati su eventuali risultati incidentali, clinicamente rilevanti, emersi dall'analisi.

Il Gruppo di Lavoro raccomanda pertanto che il cfDNA/NIPT venga preso in considerazione per la sua implementazione a livello nazionale e per l'inclusione nei LEA, secondo il modello indicato nel presente documento, ovvero di screening contingente dopo il Test Combinato.

## Bibliografia

1. “Piano regionale della rete delle strutture pubbliche di diagnostica di Laboratorio” adottato dai Ministeri della salute e dell’economia e delle finanze ai sensi dell’art. 1, comma 796, let. o) della l. 296/06.
2. Accordo ai sensi dell’articolo 4 del d.lgs. 28.8.1997, n. 281, tra il Governo, le Regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano sul documento recante “Attuazione delle linee guida per le attività di genetica medica”, del 26.11.2009.
3. Accordo tra il Ministero della salute, le Regioni e le Province autonome di Trento e di Bolzano sul documento recante le “Linee guida per le attività di genetica medica” del 15 luglio 2004.
4. Accordo tra il Ministero della salute, le Regioni e le Province autonome di Trento e di Bolzano sul documento recante: “Linee-guida per le attività di genetica medica” del 15 luglio 2009.
5. Ayres AC, Whitty JA, Ellwood DA. A cost-effectiveness analysis comparing different strategies to implement noninvasive prenatal testing into a Down syndrome screening program. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2014;54(5):412-417.
6. Benn P, Curnow KJ, Chapman S, Michalopoulos SN, Hornberger J, Rabinowitz M. An Economic analysis of cell-free DNA non-invasive prenatal testing in the US general pregnancy population. *PLoS One.* 2015; 10(7):e0132313.
7. Beulen L, Grutters JPC, Faas BH, Feenstra I, van Vugt JM, Bekker MN. The consequences of implementing non-invasive prenatal testing in Dutch national health care: a cost-effectiveness analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014; 182: 53–61.
8. Bevilacqua E, Gil MM, Nicolaidis KH, Ordoñez E, Cirigliano V, Dierickx H, Willems PJ, Jani JC. Performance of screening for aneuploidies by cell-free DNA analysis of maternal blood in twin pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;45(1):61-66.
9. Brandon SW, Richard EN, Brian RJ. A Cost-effectiveness analysis of first trimester non-invasive prenatal screening for fetal trisomies in the United States. *PLoS One.* 2015;10(7), e0131402.
10. Cass. civ., Sez. 3, 10 dicembre 2013, n. 27528, in *Giur. it.* 2014, 7, 1587 ss., con nota di Coppo.
11. Cass. Sez. Un., 22 dicembre 2015, n. 25767, in *Ced Cassazione.*
12. Conner P, Gustafsson S, Kublickas M. First trimester contingent testing with either nuchal translucency or cell-free DNA. Cost efficiency and the role of ultrasound dating. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2015;94(4):368–375.
13. Cook-Deegan R, Conley JM, Evans JP, Vorhaus D. The next controversy in genetic testing: clinical data as trade secrets? *Eur J Hum Genet.* 2013;21(6),585–588.
14. Cuckle H, Maymon R. Development of prenatal screening - A historical overview. *Semin Perinatol.* 2016;4.pii:S0146-0005(15)00157-3.
15. Dar P, Curnow KJ, Gross SJ, Hall MP, Stosic M, Demko Z, Zimmermann B, Hill M, Sigurjonsson S, Ryan A, Banjevic M, Kolacki PL, Koch SW, Strom CM, Rabinowitz M, Benn P. Clinical experience and follow-up with large scale single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal aneuploidy testing. *Am J Obstet Gynecol.* 2014;211(5):527.e1-527.e17.
16. Decreto del Commissario ad Acta 18 novembre 2015, n. U00549, Istituzione della rete specialistica disciplinare dei Laboratori di Genetica Medica in attuazione dei Programmi Operativi 2013-2015. Approvazione del documento relativo alla “Rete dei laboratori di Genetica Medica della Regione Lazio” in *Bollettino Ufficiale della Regione Lazio* n. 96 del 1 dicembre 2015.
17. Dipartimento Federale dell’Interno DFI, Ufficio Federale della Sanità Pubblica UFSP, Divisione comunicazione e campagne, Scheda informativa del 7 luglio 2015 (*Screening prenatale per individuare la trisomia*).
18. Fairbrother G, Burigo J, Sharon T, Song K. Prenatal screening for fetal aneuploidies with cell free DNA in the general pregnancy population: a cost-effectiveness analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29(7):1160-1164.

19. Food and Drug Administration, *Laboratory Developed Tests*, da [www.fda.gov](http://www.fda.gov).
20. Food and Drug Administration, Office of the Commissioner, Office of Public Health Strategy and Analysis, *The Public Health Evidence for FDA Oversight of Laboratory Developed Tests: 20 Case Studies*.
21. Gil MM, Quezada MS, Revello R, Akolekar R, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015;45(3):249-266.
22. Gil MM, Revello R, Poon LC, Akolekar R, Nicolaides KH. Clinical implementation of routine screening for fetal trisomies in the UK NHS: cell-free DNA test contingent on results from first-trimester combined test. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016;47(1):45-52.
23. Graff GD, Phillips D, Lei Z, Oh S, Nottenburg C, Pardey PG. Not quite a myriad of gene patents. *Nature Biotechnol*. 2013;31(5):404-408.
24. In questo senso, si vedano tra le altre: Cass. civ., Sez. 3, 10 dicembre 2013, n. 27528, in *Giur. it.*, 2014, 7, 1587 ss., con nota di Coppo; Cass., Sez. Un., 22 dicembre 2015, n. 25767, in *Ced Cassazione*.
25. Intesa, ai sensi dell'articolo 8, comma 6, della legge 5 giugno 2003, n. 131, tra il Governo, le Regioni e le Province autonome di Trento e di Bolzano sul documento recante: "Linee di indirizzo sulla genomica in sanità pubblica" del 13 marzo 2013.
26. Kagan KO, Wright D, Nicolaides KH. First-trimester contingent screening for trisomies 21, 18 and 13 by fetal nuchal translucency and ductus venosus flow and maternal blood cell-free DNA testing. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015;45(1):42-7.
27. Kagan KO, Wright D, Maiz N, Pandeva I, Nicolaides KH. Screening for trisomy 18 by maternal age, fetal nuchal translucency, free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008;32(4):488-492.
28. Kagan KO, Wright D, Valencia C, Maiz N, Nicolaides KH. Screening for trisomies 21, 18 and 13 by maternal age, fetal nuchal translucency, fetal heart rate, free beta-hCG and pregnancy-associated plasma protein-A. *Hum Reprod*. 2008;23(9):1968-75.
29. KCE REPORT 222Cs (*The non-invasive prenatal test (nipt) for trisomy 21 – health economic aspects*), da [kce.fgov.be](http://kce.fgov.be).
30. La section 201(h) del FD&C, come modificata dal *Medical Device Amendments (MDA)* nel 1976, definisce il significato di *device* come ogni "instrument, apparatus, implement, machine, contrivance, implant, in vitro reagent, or other similar or related article, including any component, part, or accessory" (1) che sia ufficialmente riconosciuto nel *United States Pharmacopeia and The National Formulary (USP-NF)*; (2) destinato all'uso diagnostico, al trattamento o alla prevenzione di patologie, nell'uomo o negli animali, o (3) destinato a interessare il corpo o una sua funzione, nell'uomo o negli animali, senza conseguire il proprio obiettivo primario mediante un'azione chimica né metabolica.
31. Linee-Guida, Screening prenatale non invasivo basato sul DNA (Non Invasive Prenatal Testing – NIPT), Ministero della Salute, Consiglio Superiore di Sanità, Sezione 1, Maggio 2015. [www.salute.gov.it](http://www.salute.gov.it)
32. Hui L, Tabor A, Walker SP, Kilby M. How to safeguard competency and training in invasive prenatal diagnosis: 'the elephant in the room'. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016;47(1):8-13.
33. List of indications for which the MOHLTC will currently fund NIPT, da [www.cheo.on.ca](http://www.cheo.on.ca).
34. MOHLTC – Ministry of Health and Long-term Care è il piano di finanziamento delle cure sanitarie per i cittadini dell'Ontario.
35. MOHLTC prior approval for full payment of insured out-of-country health services for diagnostic laboratory services, fonte [www.health.gov.on.ca](http://www.health.gov.on.ca).

36. Morris S, Karlsen S, Chung N, Hill M, Chitty LS. Model-based analysis of costs and outcomes of non-invasive prenatal testing for Down's syndrome using cell free fetal DNA in the UK National Health Service. *PLoS One*. 2014;9(4):e93559.
37. Neyt M, Hulstaert F, Wilfried G. Introducing the non-invasive prenatal test for trisomy 21 in Belgium: a cost-consequences analysis. *BMJ Open*. 2014;4(11): e005922.
38. Notification to Congress: FDA's Laboratory Developed Tests Framework, da [www.fda.gov](http://www.fda.gov).
39. Norton ME, Jacobsson B, Swamy GK, Laurent LC, Ranzini AC, Brar H, Tomlinson MW, Pereira L, Spitz JL, Holleman D, Cuckle H, Musci TJ, Wapner RJ. Cell-free DNA analysis for noninvasive examination of trisomy. *N Engl J Med*. 2015;72(17):1589-1597.
40. Novelli A, Grati FR, Ballarati L, Bernardini L, Bizzoco D, Camurri L, Casalone R, Cardarelli L, Cavalli P, Ciccone R, Clementi M, Dalprà L, Gentile M, Gelli G, Grammatico P, Malacarne M, Nardone AM, Pecile V, Simoni G, Zuffardi O, Giardino D. Microarray application in prenatal diagnosis: a position statement from the cytogenetics working group of the Italian Society of Human Genetics (SIGU). *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2012;39(4):384-388.
41. Ohno M, Caughey A. The role of noninvasive prenatal testing as a diagnostic versus a screening tool--a cost-effectiveness analysis. *Prenat Diagn*. 2013;33(7):630-635.
42. O'Leary P, Maxwell S, Murch A, Hendrie D. Prenatal screening for Down syndrome in Australia: costs and benefits of current and novel screening strategies. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2013;53(5):425-433.
43. Pergament D, Ilijic K. The legal past, present and future of prenatal genetic testing: professional liability and other legal challenges affecting patient access to services. *J Clin Med*. 2014;3:1437-1465.
44. Persico N, Boito S, Ischia B, Cordisco A, De Robertis V, Fabietti I, Periti E, Volpe P, Fedele L, Rembouskos G. Cell-free DNA testing in the maternal blood in high-risk pregnancies after first trimester combined screening. *Prenat Diagn*. 2016;36(3):232-236.
45. Revello R, Sarno L, Ispas A, Akolekar R, Nicolaides KH. Screening for trisomies by cell-free DNA testing of maternal blood: consequences of failed result. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016; doi:10.1002/uog.15851.
46. Quezada MS1, Gil MM, Francisco C, Oròsz G, Nicolaides KH. Screening for trisomies 21, 18 and 13 by cell-free DNA analysis of maternal blood at 10-11 weeks' gestation and the combined test at 11-13 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015;45(1):36-41.
47. Rose NC, Benn P, Milunsky A. Current controversies in prenatal diagnosis 1: should NIPT routinely include microdeletions/microduplications? *Prenat Diagn*. 2016;36:10-14.
48. Song K, Musci TJ, Caughey AB. Clinical utility and cost of non-invasive prenatal testing with cfDNA analysis in high-risk women based on a US population. *J Matern Fetal Neonat Med*. 2013;26(12):1180-1185.
49. Taylor-Phillips S, Freeman K, Geppert J, Agbebiyi A, Uthman OA, Madan J, Clarke A, Quenby S, Clarke A. Accuracy of non-invasive prenatal testing using cell-free DNA for detection of Down, Edwards and Patau syndromes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2016;6(1):e010002.
50. Walker BS, Nelson RE, Jackson BR, Grenache DG, Ashwood E, Schmidt RL. A cost-effectiveness analysis of first trimester non-invasive prenatal screening for fetal trisomies in the United States. *PLoS One*. 2015;10(7):e0131402.
51. Wapner RJ, Martin CL, Levy B, Ballif BC, Eng CM, Zachary JM, Savage M, Platt LD, Saltzman D, Grobman WA, Klugman S, Scholl T, Simpson JL, McCall K, Aggarwal VS, Bunke B, Nahum O, Patel A, Lamb AN, Thom EA, Beaudet AL, Ledbetter DH, Shaffer LG, Jackson L. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med*. 2012;367(23):2175-84.
52. Wright D, Syngelaki A, Bradbury I, Akolekar R, Nicolaides KH. First-trimester screening for trisomies 21, 18 and 13 by ultrasound and biochemical testing. *Fetal Diagn Ther*. 2014;35(2):118-126.
53. Yang X, Li R, Fu F, Zhang Y, Li D, Liao C. Submicroscopic chromosomal abnormalities in fetuses with increased nuchal translucency and normal karyotype. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2016;Mar 21:1-14.

54. Regione Toscana delibera n.422 del 07.04.2015 Codice proposta N°2015DG00000000507 con oggetto aggiornamento protocollo regionale per la gravidanza fisiologica e percorso regionale per l'accesso alla diagnosi prenatale invasiva.

55. Regione Emilia Romagna determinazione n.3223/2015 dell'Agenzia Sanitaria e Sociale Regionale; Gruppo di Lavoro Regionale Test Prenatali Non Invasivi (NIPT).

56. Regione Puglia delibera del DG N.1470 del 05.08.2015 con oggetto: screening molecolare prenatale non invasivo: validazione clinica e modelli di implementazione e dell'annessa scheda finanziaria.

#### Riferimenti Nazionali ed internazionali:

Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Anthony R. Gregg, Brian G. Skotko, Judith L. Benkendorf, Kristin G. Monaghan, Komal Bajaj, Robert G. Best, Susan Klugman, and Michael S. Watson; on behalf of the ACMG Noninvasive Prenatal Screening Work Group.* **American College of Medical Genetics and Genomics STATEMENT Volume 18 | Number 10 | October 2016 | Genetics in medicine**

Microarrays and Next Generation Sequencing Technologies: The Use Of Advanced Genetic Diagnostic Tool In Obstetrics and Gynecology. **American College of Obstetricians and Gynecologists, Committee Opinion Number 682, 2016**

**Linee-Guida, Screening prenatale non invasivo basato sul DNA (Non Invasive Prenatal Testing – NIPT), Ministero della Salute, Consiglio Superiore di Sanità, Sezione 1, Maggio 2015. [www.salute.gov.it](http://www.salute.gov.it)**

Non-invasive prenatal testing: ethical issues 2017. Nuffield Council on Bioethics 28 Bedford Square London WC1B 3JS. <http://nuffieldbioethics.org/project/non-invasive-prenatal-testing/findings/>

**Offering prenatal diagnostic tests: European guidelines for clinical practice.** Skirton H, Goldsmith L, Jackson L, Lewis C and Chitty L (2014) *European Journal of Human Genetics* 22: 580-6.