



*Ministero della Salute*

*Consiglio Superiore di Sanità*

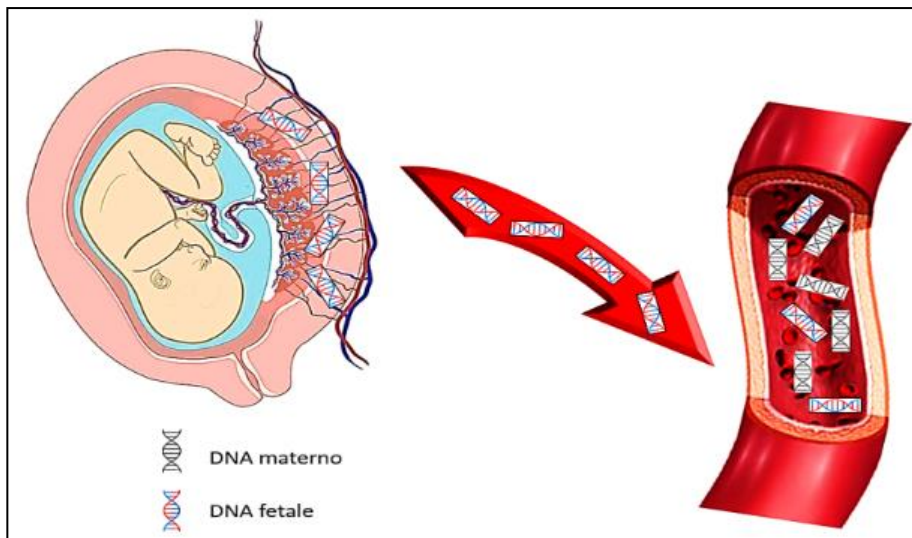
Sessione LII (2019-2022)

Presidente: Prof. Franco Locatelli

## Sezione I

Presidente: Prof. Bruno Dallapiccola  
Segretario tecnico: Dr. Stefano Moriconi

# “Screening del DNA fetale non invasivo (NIPT) in sanità pubblica”



Coordinatore: Prof. Bruno Dallapiccola

9 marzo 2021

## INDICE

Premessa .....	3
Sintesi .....	4
Raccomandazioni .....	5
1. Introduzione.....	7
2. Colloquio Informativo .....	8
3. Opzioni di Screening disponibili.....	10
4. Cell-Free Dna Screening: Stato dell'arte.....	12
4.1. Tecnologie Disponibili .....	12
4.2. Cfdna Test per T21, T18, T13 .....	13
4.3. Cfdna Test per Aneuploidie Dei Cromosomi Sessuali.....	14
4.4. Cfdna Test per Sesso Fetale .....	15
4.5. Cfdna Test per Microdelezioni Con Punti Rottura Ricorrenti.....	16
4.6. Cfdna Test per Sbilanciamenti Genomici Di Grande Taglia ( $\geq 7-10\text{mb}$ ) .....	16
4.7. Cfdna Test per Triploidie .....	17
4.8. Cfdna per Condizioni Monogeniche.....	17
4.9. Frazione Fetale e Risultati Inconclusivi.....	18
5. Aspetti etici e giuridici.....	19
<i>Profili etici della diagnosi genetica non invasiva.....</i>	19
6. Le analisi di impatto economico del test cfDNA/NIPT .....	23
6.1 Le analisi di impatto economico ed i modelli di implementazione del Test cfDNA/NIPT .....	24
6.2 Le evidenze di impatto economico del Test cfDNA/NIPT .....	26
6.3 Un'analisi di impatto sulla spesa delle diverse strategie di screening .....	29
6.4 Conclusioni .....	31
<b>Allegato 1:</b> I modelli di implementazione del test cfDNA/NIPT per le trisomia 21 .....	33
- Screening universale (Modello 1).....	33
- Test cfDNA/NIPT contingente nelle gestanti con un rischio compreso tra 1:11 e 1:1.000 dopo il Test Combinato (Modello 2.1).....	34
- Test cfDNA/NIPT alle gestanti con un rischio compreso tra 1:101 e 1:1.000 dopo il Test Combinato (Modello 2.2).....	35
<b>Allegato 2:</b> Servizi di offerta ed implementazione regionale del NIPT .....	37
<b>Allegato 3:</b> Modello di Consenso Informato per lo screening prenatale non invasivo.....	38
Glossario e acronimi.....	44
Bibliografia .....	47
Gruppo di lavoro "NIPT 3" Sezioni I Consiglio Superiore di Sanità.....	54

## Premessa

Nel 2015, il Consiglio Superiore di Sanità, Sezione I, 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)].<sup>1</sup> Questo documento ha esaminato criticamente i diversi aspetti del NIPT, compresa l’appropriatezza del test, che deve essere preceduto da un controllo ecografico accurato del feto e dalla valutazione di alcuni marker biochimici sul sangue materno attorno alla 11-14 settimana di gestazione (test combinato), da parte di operatori accreditati. Le Linee-guida hanno anche affrontato genericamente l’impatto socio-economico dell’introduzione del NIPT nel Sistema Sanitario Nazionale (SSN). Rendendosi necessario un approfondimento di questo aspetto, un Gruppo di Lavoro della Sezione I del Consiglio Superiore di Sanità ha redatto successivamente un documento sull’*“Impatto socio-economico dei test cfDNA/NIPT in sanità pubblica”*, che è stato approvato all’unanimità il 14 giugno 2016. Questo nuovo documento ha anche proposto una regolamentazione del test NIPT, raccomandando che: 1. sia offerto nell’ambito di una consulenza rilasciata da specialisti di Genetica Medica e/o di Ostetricia e Ginecologia ed esperti in diagnosi prenatale, integrata da un esaustivo consenso informato nel quale deve essere fatto specifico riferimento ai limiti e alle potenzialità del test; 2. venga eseguito presso un numero ristretto di laboratori certificati ed autorizzati a livello nazionale; 3. sia proposto come test di screening, al fine di allineare l’Italia agli altri Paesi europei, nella previsione di un imminente uso programmato ed allargato di questa tecnica; 4. sia presa in considerazione la sua implementazione a livello nazionale e l’inclusione nei livelli essenziali di assistenza (LEA), per permettere a tutte le gestanti la possibilità di accedere in maniera omogenea su tutto il territorio nazionale.

La crescente utilizzazione del NIPT ha fatto emergere nel nostro Paese diverse criticità. Infatti, mentre alcune Regioni, nell’occasione dell’aggiornamento dei protocolli per la gravidanza fisiologica e dei percorsi per l’accesso alla diagnosi prenatale invasiva, hanno preso in considerazione l’introduzione del NIPT come test di screening di prima o di seconda linea, con delibere che prevedono progetti pilota o la compartecipazione alla spesa da parte dell’utente, altre Regioni hanno disatteso questi aggiornamenti creando disomogeneità tra le donne che in gravidanza possono accedere a questi percorsi e quelle che possono accedere solo privatamente, con la conseguenza che non sempre vengono seguite le regole della buona pratica clinica e le gestanti che intendono sottoporsi al test lamentano una serie di problemi, quali la disinformazione rispetto ai suoi limiti, l’assenza della consulenza collegata al test, l’inadeguatezza del consenso informato, la pubblicità ingannevole.

Questo nuovo documento redatto dal Gruppo di Lavoro ha l'obiettivo di fornire un aggiornamento in base alle più recenti evidenze scientifiche e migliorare gli aspetti organizzativi, centralizzando e certificando i test e i laboratori che lo eseguono, raccomandando alle istituzioni che il test, oltre a garantire l'accuratezza diagnostica, l'efficacia clinica nel rispetto degli aspetti etici e giuridici, venga utilizzato per monitorare le principali aneuploidie autosomiche e sia incluso nei LEA e/o nei percorsi regionali della gravidanza.

Le Raccomandazioni che seguono offrono pertanto il qualificato contributo scientifico di questo CSS con la finalità di implementare a livello nazionale il test cfDNA/NIPT, proponendone l'inserimento nei LEA in considerazione non solo della sua appropriatezza e sicurezza, ma anche dell'incisivo e positivo impatto economico sulla spesa sanitaria.

Al fine di analizzare l'offerta a livello regionale del NIPT e il suo impatto economico, in considerazione anche della diversa posizione regionale verso la rimborsabilità del test, sono state interpellate alcune Aziende, rappresentative dell'offerta di tali test (Illumina, Natera, Perkin Elmer e Roche), che hanno fornito indicazioni in relazione alle richieste formulate dal Gruppo di Lavoro attraverso un questionario.

## SINTESI

**L'utilizzo del test cfDNA/NIPT come screening contingente dopo il Test Combinato** (eseguito da operatori certificati) **ha un impatto minore sulla spesa sanitaria** rispetto allo screening universale. Il test non fornisce un risultato in circa 1-3% dei casi a causa l'inadeguatezza quantitativa o qualitativa del campione. La ripetizione del test su un secondo prelievo ematico nella gestante permette di ottenere un risultato in circa il 50% dei casi non conclusivi dal primo prelievo.

Il test cfDNA/NIPT, ad oggi, mostra **sensibilità e specificità sufficientemente validate per le sole trisomie dei cromosomi 13, 18 e 21**; può essere valutata caso per caso l'indagine del sesso fetale.

Trattandosi di un **test prenatale di screening**, i risultati ad alto rischio devono essere confermati con un esame diagnostico appropriato sui campioni di liquido amniotico o sui villi coriali prelevati mediante amniocentesi o villocentesi. Circa l'erogazione dei test di conferma, i LEA (D.M. 09.12.2015 *"Condizioni di erogabilità e indicazioni di appropriatezza prescrittiva delle prestazioni di assistenza ambulatoriale erogabili nell'ambito del Servizio Sanitario Nazionale"*) prevedono una voce di rimborso (C27) da parte del SSN relativa all'analisi citogenetica "per la conferma di aneuploidie riscontrate nel DNA fetale sul sangue materno per le aneuploidie validate dalle Linee-Guida e dalle Società Scientifiche Nazionali ed Internazionali". In base a tali disposizioni, al momento, il SSN garantisce l'erogazione del percorso diagnostico di conferma per i risultati ad alto rischio solo relativamente alle trisomie 21, 18 e 13.

Relativamente alla sicurezza del test, è importante che i reagenti e i materiali utilizzati per la taratura e il controllo, nonché il programma elaboratore, specificamente destinati alla valutazione del rischio della trisomia 21 (T21), siano provvisti di marchiatura CE/IVD, in ottemperanza al D.lgs. 332/2000 "Attuazione della direttiva 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro" ed al nuovo Regolamento UE 2017/746, che entrerà in vigore il 26 maggio 2022. Pertanto, sarà obbligatorio che la marchiatura CE-IVD copra tutti i target genetici indagati dal test, e non solo la T21.

## **RACCOMANDAZIONI**

Il Gruppo di Lavoro:

**R1. Raccomanda di inserire il test cfDNA/NIPT nei Livelli Essenziali di Assistenza (LEA) e/o nei percorsi regionali della gravidanza fisiologica come indagine di seconda scelta, per lo screening delle trisomie 13,18,21** garantendone l'erogazione secondo criteri da definire in applicazione del punto R2, al fine di consentire il rispetto dell'appropriatezza ed evitare l'esecuzione di analisi inutili o addirittura dannose (art.59 del D.P.C.M. 12 gennaio 2017 Assistenza specialistica ambulatoriale per le donne in stato di gravidanza e a tutela della maternità).

**R2. Raccomanda di definire le condizioni di erogabilità delle prestazioni di cui al punto R1 e di autorizzare la prescrizione di queste analisi solo da parte di esperti in medicina fetale** (specialisti in genetica medica e/o ginecologia e ostetricia).

**R3. Raccomanda di garantire che le analisi cfDNA/NIPT siano eseguite esclusivamente presso strutture specializzate nazionali con comprovata esperienza e/o che abbiano integrato nei processi produttivi interni tecnologie validate (*technology transfer* da aziende commerciali internazionali), che siano dotate di infrastrutture e competenze, comprese quelle bioinformatiche, indispensabili per analizzare ed interpretare i dati. I criteri di accreditamento delle strutture** devono includere la verifica di un'adeguata certificazione (ISO 15189 o simili; *Laboratory accreditation and certification*; <http://www.eurogentest.org/>) e la partecipazione regolare a controlli di qualità nazionali ed internazionali (EMQN/GenQA).

**R4. Raccomanda di sviluppare un modello *hub and spoke nazionale***, mediante una pianificazione ed un accordo interregionale, al fine garantire che i test cfDNA/NIPT siano eseguiti presso un ristretto numero di centri (*hub*) con comprovata esperienza, selezionati in base a criteri oggettivi che tengano conto del bacino

di utenza a cui afferiscono dai centri periferici (*spoke*). La centralizzazione abbatterebbe significativamente gli attuali costi del test. Raccomandano di eseguire il test cfDNA/NIPT utilizzando tecniche di automatizzazione al fine di standardizzare le variabili tecniche.

**R5. Raccomanda che le gestanti** che intendano sottoporsi al test cfDNA/NIPT **ricevano preliminarmente, attraverso un colloquio dedicato, le informazioni necessarie** a comprendere le caratteristiche del test, le sue performance cliniche ed i limiti, anche in rapporto alle altre tecniche di diagnosi e screening prenatale disponibili, **e che sottoscrivano, insieme all'operatore sanitario con documentata formazione nell'ambito del test cfDNA/NIPT, che ha effettuato il colloquio, il consenso informato quale requisito indispensabile per una scelta consapevole.**

**R6. Raccomanda che il test cfDNA/NIPT sia preceduto da un controllo ecografico, nell'ambito del Test Combinato,** effettuato da operatori accreditati, per valutare in prima istanza la translucenza nucale; qualora i risultati ecografici ed i dati anamnestici suggeriscano un aumento del rischio di patologia fetale, sia offerta una consulenza con l'esperto di medicina fetale per definire l'opportunità di una diagnosi prenatale invasiva mediante villocentesi o amniocentesi.

**R7. Raccomanda di utilizzare il test cfDNA/NIPT come screening contingente dopo il Test Combinato** (eseguito da operatori certificati) che, rispetto all'uso come screening universale, presenta **migliori evidenze internazionali di costo-efficacia, ha un impatto minore sulla spesa** per l'individuazione delle principali aneuploidie cromosomiche **e supera il problema dei casi senza risultato.**

**R8. Raccomanda che i test basati sul cfDNA, che riportano la frazione fetale ed una sua soglia minima, siano preferiti nella valutazione completa** dei risultati del test, in considerazione dell'impatto della frazione fetale sull'accuratezza, **sia nelle gravidanze gemellari che in quelle singole.**

**R9. Raccomanda che nelle gravidanze gemellari venga misurata la frazione fetale prediligendo i test che verificano che ogni gemello sia sufficientemente rappresentato** (superando il *cut-off* minimo per gemello, stabilito per le gravidanze singole), rispetto a quelli in cui viene misurata la frazione fetale totale.

**R10. Raccomanda che le società scientifiche promuovano comunicazioni dedicate, dirette alle gestanti per divulgare informazioni scientificamente corrette e prive di conflitti di interesse, relative alle prestazioni e alle reali potenzialità e ai limiti del test.**

## 1. Introduzione

Una scoperta rivoluzionaria, nell'ambito degli screening prenatali, è stata la dimostrazione della presenza nel sangue materno, a partire dal primo trimestre di gravidanza, di DNA libero (o *cell-free DNA*, cfDNA) di origine placentare citotrofoblastica (*cell-free fetal DNA*, cffDNA). Il cffDNA può quindi essere analizzato, con diversi approcci tecnologici, per indagare alcune patologie genetiche del concepito, in particolare per determinare il rischio che il feto sia affetto da una aneuploidia.

Il test cfDNA o NIPT è un test di screening genetico e pertanto la sua introduzione in ambito clinico si inserisce nel contesto di questo tipo di analisi.<sup>2</sup> Wilson e Jungner nel 1968<sup>3</sup> hanno definito i criteri degli screening e le condizioni che presentano le caratteristiche per essere sottoposte allo screening, in base alla possibilità di essere riconosciute in una fase precoce e in base alla disponibilità di un trattamento accettabile.<sup>3</sup> Si tratta di criteri particolarmente importanti quando lo screening viene implementato in un contesto di sanità pubblica. Questi criteri mantengono, a distanza di anni, la loro attualità, in quanto sono in grado di migliorare la salute della popolazione, attraverso il trasferimento nella pratica clinica dei progressi della genetica. Di fatto, un numero crescente di malattie può ora essere individuato nella fase presintomatica utilizzando approcci diagnostici di tipo genomico.<sup>4,5</sup>

Il CDC *Office of Public Health Genomics* (OPHG) ha sviluppato, tra il 2000 e il 2004, l'*ACCE model project*, un modello ancora oggi in uso in tutto il mondo, per stabilire le modalità di validazione dei nuovi test genetici,<sup>6</sup> che prevede tra l'altro che l'introduzione di ogni nuovo test genetico sia preceduto dalla definizione delle caratteristiche di prestazione, funzionalità pratica e impatto clinico, ovvero, di validità analitica, validità clinica e utilità clinica.

La validità analitica è definita dalle *performance* del test, dalla sensibilità e dalla specificità. La sensibilità analitica di un test (tasso di veri positivi o tasso di rilevamento o *detection rate*, DR), nel caso degli screening delle aneuploidie fetali, fa riferimento alla capacità del test di identificarle. Essa è strettamente correlata al tasso di falsi negativi (FNR, 1-sensibilità), ovvero alla percentuale di campioni che presentano l'anomalia indagata, ma che vengono classificati erroneamente dal test come "negativi" o "a basso rischio". Per valutare la sensibilità di un nuovo test cfDNA, il laboratorio generalmente usa campioni di plasma materno provenienti da gravidanze con aneuploidia fetale nota. La specificità analitica (tasso di veri negativi) si riferisce alla capacità del test di riportare un risultato negativo quando non è presente un'anomalia. Essa è strettamente correlata al tasso di falsi positivi (FPR, pari a 1-specificità), ovvero alla percentuale di campioni senza l'anomalia che vengono classificati erroneamente dal test come "positivi" o "ad alto rischio". Per valutare la

specificità di un nuovo test cfDNA, il laboratorio di solito usa campioni di plasma materno provenienti da gravidanze senza aneuploidia.

La validità clinica rappresenta la *performance* in ambito clinico. Essa si distingue dalla validità analitica sui campioni di laboratorio controllati, in quanto le *performance* analitiche potrebbero non essere le stesse sulla popolazione clinica reale. In particolare, in ambito clinico, è rilevante che un risultato positivo corrisponda alla reale presenza di un feto affetto (valore predittivo positivo, PPV) e che un risultato negativo corrisponda ad un feto senza la condizione indagata (valore predittivo negativo, NPV). Per conoscere tali parametri è importante tenere in considerazione la prevalenza della patologia indagata nella popolazione in esame. Anche applicando un test di screening con prestazioni quasi perfette, un risultato positivo potrebbe corrispondere ad un falso positivo se la patologia indagata è rara. Inoltre, quando si esegue un test cfDNA, alcune caratteristiche legate alla complessità biologica, ad esempio un mosaicismo feto-placentare, un *vanishing twin*, il livello della frazione fetale ed eventuali anomalie cromosomiche materne possono influenzare i valori predittivi.<sup>7</sup> Sono quindi necessari studi clinici, preferibilmente indipendenti, prospettici, con follow-up alla nascita di tutti i neonati, per valutare accuratamente i valori predittivi nella popolazione generale.

L'utilità clinica valuta se lo screening per specifiche condizioni migliori in modo tangibile il percorso clinico e gli esiti della gravidanza. Un parametro frequentemente utilizzato in questa valutazione è la riduzione delle diagnosi prenatali invasive, in quanto questo dato ha un impatto diretto sul percorso clinico.<sup>8,9</sup> D'altro canto, una riduzione drastica delle procedure invasive potrebbe avere ripercussioni sull'incremento dei tassi di aborto e delle complicanze associate della gravidanza, a causa della riduzione della capacità di mantenere l'addestramento degli operatori.<sup>10</sup> Infine, è difficile stabilire l'utilità clinica dello screening delle trisomie 13 (T13) e 18 (T18), in quanto non vengono mai indagate separatamente dalla T21, e per lo più vengono identificate con l'ecografia.

## 2. Colloquio informativo, consulenza pre- e post-test cfDNA/NIPT

In epoca prenatale sono disponibili vari test di screening e test diagnostici che si differenziano tra loro per la tipologia delle informazioni offerte e la *performance*, così come per i vantaggi e i limiti. Quando si prende in considerazione un test di screening, non si deve dimenticare che non esistono test superiori agli altri in termini assoluti ed in ogni circostanza; pertanto la scelta del test è il frutto di una interazione tra l'operatore



che elabora una consulenza mirata alle caratteristiche della paziente e la paziente con il suo processo decisionale articolato.

Ogni paziente dovrebbe ricevere un colloquio informativo focalizzato su tutti i test disponibili, sia per lo screening che per la diagnosi delle aneuploidie fetali. È indispensabile che il medico che gestisce la gravidanza sia preparato a discutere non solo del rischio delle anomalie cromosomiche, ma anche dei benefici e dei limiti relativi ai diversi test disponibili, siano essi diagnostici o di screening. In caso contrario è necessario avvalersi di uno specialista in medicina fetale. Il test che dovrebbe essere eseguito è idealmente il risultato di una scelta consapevole della paziente basata sulle informazioni ricevute, sul contesto clinico della gravidanza, sulle risorse assistenziali disponibili, ma anche sui valori, gli interessi e gli obiettivi specifici della paziente. Inoltre, ad ogni paziente dovrebbe essere lasciata la possibilità di scegliere tra i test di screening e quelli diagnostici, e, analogamente, ogni paziente dovrebbe essere messa nella condizione di accettare o declinare liberamente, dopo la consulenza, i test proposti. La stessa articolazione è valida sia per le strutture pubbliche che per quelle private.

Per quanto riguarda la letteratura internazionale sull'argomento, il percorso delle informazioni sui test di screening è stato delineato a partire dal 2007 da specifiche linee-guida redatte dalle società scientifiche degli ostetrici e ginecologi statunitensi (ACOG), canadesi (SCOG) e inglesi (NICE, RCOG) e, dal 2009, dalle linee-guida "*Gravidanza fisiologica*" dell'Istituto Superiore di Sanità (SNLG-ISS),<sup>11-16</sup> nelle quali è chiaramente indicato che "il percorso per la diagnosi prenatale della sindrome di Down deve essere offerto a tutte le donne". È anche riportato che l'informazione sui test di screening deve essere offerta alla donna al primo contatto con il professionista che l'assiste, in un contesto in grado di offrire la possibilità di avviare una discussione. L'informazione sui test, siano essi di screening o diagnostici, deve includere le caratteristiche del test (affidabilità), le modalità di esecuzione e una descrizione esaustiva della condizione che viene indagata e, infine, la necessità di esplicitare "Il diritto della donna di accettare o meno il test".

Il colloquio pre-test del cfDNA/NIPT è fondamentale per fornire informazioni aggiornate e chiare sui vantaggi e sui limiti di questo test di screening e le implicazioni dei risultati, sia ad alto che a basso rischio, anche in relazione al tipo di anomalia identificata.

Trattandosi di un test di screening e considerate le diverse cause biologiche alla base della possibile discordanza tra il risultato del NIPT ed il reale assetto genomico del feto (ad es. mosaicismi feto-placentari, gemello riassorbito e assetto cromosomico materno), i risultati ad alto rischio devono essere confermati mediante un esame diagnostico appropriato, in epoca prenatale o postnatale.<sup>17</sup>

Nel caso di un risultato a basso rischio, la donna deve essere informata che il test non fornisce la certezza che il feto sia sano, stante il rischio di un falso negativo per le condizioni indagate e l'impossibilità di analizzare

le condizioni che non vengono indagate dal test.

Nei casi in cui il NIPT fornisce un esito non informativo, anche dopo l'analisi di un secondo campione, si raccomanda di offrire alla gestante una consulenza genetica, per valutare il percorso più appropriato, anche in base ai risultati delle indagini ecografiche e degli eventuali test di screening eseguiti in precedenza, all'epoca gestazionale, all'anamnesi clinica, al rischio a priori e alla disponibilità della gestante a sottoporsi ad un prelievo invasivo.<sup>17,18</sup>

È possibile che in rari casi il cfDNA/NIPT fornisca un risultato del sesso fetale discordante rispetto a quello determinato dall'ecografia. In questi casi è opportuno che il laboratorio verifichi i dati grezzi e il processo di analisi e, qualora non venga risolta la discordanza, proceda ad un'ulteriore indagine ecografica per confermare il sesso fenotipico, riveda i dati anamnestici della paziente ed escluda la presenza di eventuali gemelli riassorbiti, un trapianto/trasfusione materna o una condizione genetica nota legata alle patologie dello sviluppo sessuale. Qualora il problema non venga risolto, è necessario valutare, in sede di consulenza genetica, l'opportunità di eseguire un'amniocentesi per indagare la causa della discrepanza.<sup>17,18</sup>

### 3. Opzioni di screening disponibili

Nel corso degli ultimi due decenni, si sono sviluppati numerosi metodi per la valutazione del rischio di anomalie cromosomiche, basati sulla ricerca di marcatori biochimici, ecografici o sulla loro combinazione. Le diverse strategie sono variegata, comprendendo sia i test effettuati in un'unica fase nel primo o nel secondo trimestre, sia quelli sequenziali o contingenti effettuati in trimestri diversi.

#### Triplo Test

Si tratta di un test esclusivamente biochimico, proposto da Wald nel 1999<sup>19</sup> che consiste nella determinazione della concentrazione ematica materna dell'alfa-fetoproteina (AFP), dell'estriolo non coniugato (uE3) e della gonadotropina corionica totale (hCG), tra la 15a e la 18a settimana di gravidanza. Consente di individuare circa il 65% dei feti con T21, con una percentuale di falsi positivi del 5%.

#### Translucenza Nucale (NT)

È un metodo esclusivamente ecografico, seguito tra la 11a e la 13a + 6 settimana. Consente di individuare il 75% dei feti affetti da T21, con una percentuale di falsi positivi del 5%. Vengono utilizzati valori soglia di NT diversi per le varie epoche gestazionali, calcolate misurando il CRL. I criteri tecnici per una corretta misurazione ecografica della NT sono stati stabiliti dalla *Fetal Medicine Foundation* (FMF) di Londra, che accredita gli operatori attraverso una prova teorico-pratica. Mediante un software specifico fornito dalla FMF

agli operatori accreditati, può essere calcolato il rischio individuale delle gestanti di avere un feto affetto da T21.<sup>20</sup>

#### Test Combinato

Consiste nel calcolo del rischio di avere un feto affetto da T21 mediante la combinazione dei valori della NT con il dosaggio sul siero materno nel primo trimestre di gravidanza della frazione beta libera dell'hCG (free-βhCG) e della proteina plasmatica A associata alla gravidanza (PAPP-A). Il test raggiunge una sensibilità del 90%, mantenendo una percentuale di falsi positivi non superiore al 5%. Più recentemente è stato dimostrato che la sensibilità dello screening può essere aumentata, visualizzando altri marker (osso nasale, valutazione flussimetrica del dotto venoso e della valvola tricuspide), fino al 93-95%.

#### Quadruplo Test

È possibile migliorare la capacità diagnostica dello screening biochimico nel secondo trimestre utilizzando il Quadruplo Test, che prevede la combinazione tra età materna, marcatori del Triplo Test e concentrazione di inibina-A nel siero materno. Si effettua tra la 14a e la 18a settimana + 6 giorni ed ha una sensibilità dell'80% ed una percentuale di falsi positivi del 5%.

#### Test Integrato

Consiste nell'integrazione tra i test biochimici del primo e del secondo trimestre con la misurazione dello spessore della NT. Il test si effettua in due tempi: il primo, tra la 10a e la 13<sup>a</sup> settimana + 6 giorni, preferibilmente a 11-12 settimane, dosando la PAPP-A e misurando ecograficamente la NT; il secondo, tra la 14a e la 22a settimana, preferibilmente 15-16 settimane, dosando AFP, UE3, hCG e inibina-A.<sup>20</sup> La risposta del test è unica, al completamento delle valutazioni nel secondo trimestre, a distanza di 2-4 giorni dall'ultimo prelievo. La DR del Test Integrato raggiunge una sensibilità del 92-95%, con una percentuale di falsi positivi del 5%.

#### Test Sequenziale

Nel test sequenziale si effettua il Test Combinato nel primo trimestre ed il Quadruplo nel secondo, con tre diversi metodi di costruzione del risultato: i) indipendente, con l'elaborazione separata dei due test, che permette di ottenere una sensibilità del 98% ed un'elevata percentuale di falsi positivi (17%); ii) graduale o *stepwise*, con il risultato del Test Combinato come base per il quadruplo, che ha una sensibilità del 75%; iii)

contingente, dove solo i rischi intermedi identificati con il test combinato passano al Quadruplo Test, con una sensibilità dell'85% e un'incidenza di falsi positivi dell'1,3%, se si utilizza la soglia di 1:126.<sup>20</sup>

## 4. Cell-Free DNA Screening: stato dell'arte

### 4.1 Tecnologie disponibili

Gli studi relativi all'uso del test cfDNA sono stati promossi e realizzati dalle ditte che, a partire dal 2012, hanno avviato la sua commercializzazione con finalità cliniche: Sequenom (MaterniT21), Verinata (Verifi), Ariosa (Harmony), Natera (Panorama), BGI (Nifty). Si è quindi avuta una continua evoluzione di queste metodologie basate su diversi approcci tecnologici.

La cattura del DNA fetale (*cell free fetal DNA*, cffDNA) può essere eseguita utilizzando il sequenziamento di nuova generazione (NGS), i *microarray*, piastre per il nanofiltraggio con scansione delle fluorescenze, *Droplet Digital PCR* (ddPCR) ed altre, mediante due approcci analitici: *targeted* (mirati), con i quali si analizzano specifici loci genomici sui cromosomi di interesse; *genome-wide* (genomici), che analizzano sequenze distribuite sull'intero genoma.

Nello schema di seguito riportato a titolo esemplificativo e per trasparenza sono state sinteticamente descritte le schede tecniche con le principali caratteristiche di 4 test a maggiore distribuzione nel territorio nazionale, che si differenziano soprattutto per gli approcci metodologici. Sono peraltro disponibili altri test basati sugli stessi principi metodologici, ma con alcune variazioni (ad es. diverso fornitore tecnologico; differente chimica o tipologia di sequenziamento).

Company	Metodo	Marchiatura CE-IVD	Misurazione frazione fetale (FF)  Metodo   Cutoff	Pubblicazioni e validazioni principali
<b>Illumina</b>	VeriSeq NIPT Solution v2 si basa su sequenziamento dell'intero genoma (genomewide)	Provetta, tutti i reagenti e software di analisi	SI   Tramite distribuzione delle lunghezze e delle coordinate genomiche dei frammenti della libreria   Dinamico	Valutazione di 2.243 campioni di plasma ottenuti da donne in gravidanze singole e gemellari provenienti da banche. Tutte le 7 gravidanze gemellari sono state rilevate correttamente per T21. I risultati sono stati confrontati con gli esiti clinici dei riferimenti standard. Retrospettivi: <a href="https://doi.org/10.3390/jcm9082466">https://doi.org/10.3390/jcm9082466</a> ; <a href="https://doi.org/10.1007/s00404-020-05856-0">https://doi.org/10.1007/s00404-020-05856-0</a> Prospettivi: <a href="https://doi.org/10.3390/jcm9082466">https://doi.org/10.3390/jcm9082466</a>
<b>Roche Sequencing Solution</b>	Harmony Prenatal Test si basa su un'analisi mirata (targeted) a valutare le probabilità di trisomia 21, trisomia 18, trisomia 13, delezione in 22q11.2, sesso fetale e aneuploidie nei cromosomi sessuali su supporto array	Provetta, tutti i reagenti e software di analisi	SI   Tramite aplo-tipizzazione dei loci polimorfici informativi SNP sui Chr1-12   4%	Retrospettivi: PMID: 23553731* ; <a href="https://doi.org/10.1159/000337373">https://doi.org/10.1159/000337373</a> * ; <a href="https://doi.org/10.1080/14767058.2019.1594190">https://doi.org/10.1080/14767058.2019.1594190</a> ; <a href="https://doi.org/10.1007/s00404-018-4983-2">https://doi.org/10.1007/s00404-018-4983-2</a> * ; <a href="https://doi.org/10.1080/14767058.2016.1253062">https://doi.org/10.1080/14767058.2016.1253062</a> ; 10.1002/uog.19036 ; 10.1093/humrep/dey033 ; <a href="https://doi.org/10.1080/14767058.2019.1686478">https://doi.org/10.1080/14767058.2019.1686478</a> ; <a href="https://doi.org/10.1016/j.ajog.2012.08.033">https://doi.org/10.1016/j.ajog.2012.08.033</a> * Prospettivi: 10.1002/uog.12331 ; <a href="https://doi.org/10.1159/000355653">https://doi.org/10.1159/000355653</a> * ; <a href="https://doi.org/10.1002/uog.15851">https://doi.org/10.1002/uog.15851</a> ; 10.1056/NEJMoa1407349 ; <a href="https://doi.org/10.1002/uog.18905">https://doi.org/10.1002/uog.18905</a> * ; <a href="https://doi.org/10.1002/uog.20290">https://doi.org/10.1002/uog.20290</a> ; 10.1002/uog.20284 ; 10.1097/AOG.0000000000002752 ; <a href="https://doi.org/10.1002/pd.5174">https://doi.org/10.1002/pd.5174</a> , 10.1002/uog.15913* ; 10.1002/uog.12504 (*indipendenti)
<b>Perkin Elmer</b>	Vanadis si basa su un'analisi mirata (targeted) a valutare la probabilità di Trisomia 13,18 e 21 e il sesso fetale utilizzando micropiastre da nanofiltraggio e un sistema di imaging	Provetta, tutti i reagenti e software di analisi	NO   NA   NA	10.1038/s41598-018-22606-0 ; 10.1002/pd.5528 ; Sono disponibili dati da ulteriori studi di validazione esterna, presentati a diversi congressi (ESHG 2019 symposium, ESHG 2020 virtual session, ISPD 2019 symposium),
<b>Natera</b>	Panorama si basa sul sequenziamento mirato (targeted) degli SNP mappati sui cromosomi di interesse per trisomie 21, 18, 13, aneuploidie dei cromosomi sessuali, sesso fetale e pannello di microdelezioni	Provetta, Aneuploidy V2 Multiplex PCR, Microdeletion V1 Multiplex PCR, cfDNA Template Preparation V1, Aneuploidy V3 Multiplex PCR, Constellation SNPbased NIPT Version 2.0	SI   Tramite aplo-tipizzazione dei loci polimorfici informativi SNP sui cromosomi di interesse   2,8%	Retrospettivi: DOI: 10.1159/000442931 ; DOI: 10.1016/j.ajog.2014.08.006 ; DOI: 10.3390/jcm8091311 ; Prospettivi: DOI: 10.1159/000355655 ; DOI: 10.1002/pd.4103 ; DOI: 10.1002/pd.4159 ; DOI: 10.1002/pd.3993 ; DOI: 10.1002/pd.5609 ; DOI: 10.3390/jcm8070937

Principali caratteristiche dei quattro test a maggiore diffusione nazionale.

#### 4.2 Test cfDNA/NIPT per lo screening delle T13, T18, T21

Alcune Società scientifiche nazionali (SIGU) ed internazionali (sMFM, ESHG/ASHG, ACMG, ISPD) hanno assunto posizioni concordi sul ruolo del NIPT, riconoscendone la validità e l'utilità clinica limitatamente alle

tre principali trisomie (T21, T18, T13), per le quali il test di screening ha maggiore sensibilità e specificità.<sup>2,7,21-24</sup> Nelle gravidanze singole sono riportati i seguenti tassi di rilevamento e di falsi positivi<sup>25</sup>:

- 99,7% (I.C. 95%: 99,1-99,9%) e 0,04% (I.C. 95%: 0,02-0,08%) per la T21,
- 98,2% (I.C. 95%: 95,5-99,2%) e 0,05% (I.C. 95%: 0,03-0,07%) per la T18,
- 99,0% (I.C. 95%: 65,8-100%) e 0,04% (I.C. 95%: 0,02-0,07%) per la T13.

Il PPV per la T21,18,13 aumenta con l'età materna e in relazione al FPR della tecnologia: tra i 20 e i 40 anni varia tra 38% a 99% per la T21, tra 11% e 92% per la T18 e tra 5% e 71% per la T13.<sup>7</sup>

Nelle gravidanze gemellari, i tassi di rilevamento e dei falsi positivi sono promettenti per la T21, mentre la numerosità è ancora troppo scarsa per trarre conclusioni per la T18 e la T13:

- 98.2% (95% CI, 83.2–99.8%) e 0.05% (95% CI, 0.01–0.26%) per la T21,
- 88.9% (95% CI, 64.8–97.2%) e 0.03% (95% CI, 0.00–0.33%) per la T18
- solo 3 casi affetti e 2 di essi identificati dal test cfDNA, con una FPR dello 0,19%, per la T13.<sup>26</sup>

Il *position statement* dell'*International Society for Prenatal Diagnosis and therapy (ISPD)*<sup>27</sup> sul test cfDNA per la T21 nelle gravidanze gemellari riporta un'analisi comparativa delle *performance* del cfDNA con altri test di screening disponibili. Utilizzando la sola età materna, la sensibilità e il FPR nelle gravidanze gemellari risultano rispettivamente del 59% e del 15%; nelle gravidanze triple del 66% e del 19%. Con il test biochimico del secondo trimestre (triplo e quadruplo) la sensibilità è del 41-47%, per un FPR del 5%. La misurazione della sola NT ha una sensibilità del 73-87% per un FPR del 3-5%; combinato con l'età materna sale all'88% per un FPR del 10%; in combinazione con i marcatori sierici, la sensibilità è del 70-88% per un FPR del 5%. Con il test integrato (1°+2° trimestre) la sensibilità e l'FPR sono, rispettivamente, del 93% e del 5%. Sebbene i dati preliminari si basino su una numerosità piuttosto bassa, appare evidente come il test cfDNA per la T21 sia superiore rispetto a tutti gli altri screening disponibili.

I dati sono ancora insufficienti per confrontare le *performance* nei gemelli monozigoti e dizigoti; la sfida maggiore riguarda i gemelli dizigoti, che sono geneticamente diversi. La criticità in queste gravidanze è quindi la disponibilità di test in grado di assicurare che ogni feto sia effettivamente analizzato. Per raggiungere questo obiettivo, è critica l'adeguatezza della frazione fetale di ogni feto (si veda paragrafo 5.9 Frazione fetale e risultati inconclusivi).<sup>27</sup>

#### 4.3 Test cfDNA/NIPT per lo screening delle aneuploidie dei cromosomi sessuali

La traslazione nella pratica clinica dello screening per le aneuploidie dei cromosomi sessuali, monosomia X (MX), triplo X (XXX), XYY e XXY, si è sviluppata rapidamente, ed ora si esegue pressoché routinariamente in

concomitanza con lo screening delle T13, T18 e T21. Sebbene le aneuploidie dei cromosomi sessuali abbiano un'incidenza cumulativa di 1/350-1/400 nati vivi e siano le anomalie più frequenti dopo la T21 al momento dell'amniocentesi, l'implementazione di questo test è avvenuta senza una valutazione appropriata della validità e dell'utilità clinica. Le validazioni hanno riportato il follow-up clinico solo in un limitato numero di casi.<sup>28-30</sup> Pertanto, nonostante esistano evidenze che la diagnosi precoce di alcune aneuploidie dei cromosomi sessuali possa avere utilità clinica,<sup>31</sup> il loro screening non è ancora considerato appropriato, anche in considerazione delle implicazioni etiche.<sup>2,7,21</sup>

Viene riportata una sensibilità del 100% (95% CI 83.6-100%) e un FPR dello 0.003% (95% CI 0-0.07%) per lo screening delle aneuploidie dei cromosomi sessuali, ad esclusione della MX, per la quale le *performance* sono inferiori: 95.8% (95% CI 70.3-99.5%) e 0.14% (95% CI 0.05-0.38%). Questi dati sono comunque preliminari a causa della bassa numerosità. Nelle gravidanze gemellari gli studi sono ancora molto limitati.<sup>25</sup>

Il PPV per MX, XXX, XXY e XYY varia in relazione al FPR della tecnologia e, nel caso della MX, alla presenza di anomalie ecografiche, oscillando tra il 14% e il 66% (media 30%) per la MX, tra il 30% e il 100% (media 47%) per XXX, tra il 50% e il 90% (media 63%) per XXY, e tra il 33% e il 100% (media 77%) per XYY.<sup>32</sup> Le cause di un PPV inferiore rispetto alle trisomie comuni è da ricercare nell'eziologia dei falsi positivi, che comprende i mosaicismi feto-placentari (particolarmente frequenti nella MX), il *vanishing twin* e l'assetto genetico costitutivo e somatico della madre.<sup>18</sup>

#### 4.4 Test cfDNA/NIPT per lo screening del sesso fetale

In analogia con il test per le aneuploidie dei cromosomi sessuali, anche l'indagine del sesso fetale è stata introdotta come estensione del test senza avere preventivamente effettuate le appropriate valutazioni, anche etiche, correlate alla possibile interruzione volontaria della gravidanza basata sul sesso del concepito.<sup>33,34</sup>

I tassi di concordanza del sesso fetale variano, a seconda del metodo utilizzato, tra il 97,7% nelle femmine e il 99,8% nei maschi, fino al 100% per i maschi e le femmine (con IC 95%, variabile rispettivamente tra il 99-100% e tra il 67-100%).<sup>35-38</sup>

Il metodo è piuttosto accurato tanto da essere considerato diagnostico ('NIPD') dato che la presenza di un cromosoma Y viene facilmente rilevata nel contesto del genoma materno che, di regola, non contiene sequenze derivate dal cromosoma Y. Il livello di accuratezza nella determinazione del sesso fetale nelle gravidanze gemellari dizigoti discordanti per il sesso fetale può non essere paragonabile a quella delle gravidanze singole, dato che le due placenti possono non contribuire allo stesso modo al cfDNA; è perciò possibile che la quota del cromosoma Y di uno dei gemelli sia sovrastata dal cfDNA della co-gemella.<sup>39</sup>

#### 4.5 Test cfDNA/NIPT per lo screening delle microdelezioni con punti rottura ricorrenti

È possibile indagare anche le microdelezioni (<10Mb) responsabili di condizioni cliniche specifiche, tra cui, in particolare la microdelezione 22q11.2 (correlata alla sindrome di DiGeorge o 22q11.2DS), che ha una prevalenza di circa 1/1000 nella popolazione generale prenatale.<sup>40</sup> La validazione del NIPT nello screening della 22q11.2DS non è ancora esaustiva a causa della complessità nel reclutamento di un numero sufficiente di campioni adeguatamente caratterizzati (devono essere tutti valutati con *microarray* oltre che con il cariotipo mediante un prelievo invasivo). Gli studi clinici prospettici finora pubblicati sono stati eseguiti su popolazioni prenatali del secondo/terzo trimestre con cardiopatie congenite, e perciò non consente di calcolare il PPV della popolazione generale. Le sensibilità riportate oscillano tra il 70% e il 90% a seconda delle dimensioni delle microdelezioni e della tecnologia utilizzata, mentre vi è un generale allineamento su una specificità del test >99%.<sup>41-45</sup> Un unico studio prospettico con follow-up clinico alla nascita di tutti i neonati, basato su un test *targeted* nel primo trimestre, ha riportato un FPR dello 0.26%.<sup>46</sup> Sono necessari ulteriori studi per definire se la validità e l'utilità clinica di questo tipo di screening ne giustifichi l'inserimento nello screening routinario delle gravidanze.

A causa della loro rarità (prevalenza compresa tra 1/10.000 e 1/100.000 o meno), pochi studi hanno indagato le *performance* individuali delle altre microdelezioni. In uno studio che ha utilizzato il metodo *targeted SNP-based*, è stato stimato, per le principali sindromi da delezione (1p36, 5p, sindrome di Prader-Willi, sindrome di Angelman), un PPV aggregato del 31,7% ed un tasso complessivo di falsi positivi dello 0,07%.<sup>44</sup> Altri studi, basati sul metodo *genome-wide*, hanno riportato PPV superiori al 60% ed un tasso di falsi positivi inferiore allo 0.1%.<sup>43,45</sup> Si tratta di studi eseguiti su popolazioni prevalentemente ad alto rischio e con malformazioni. Uno studio ha riportato un PPV di 0.<sup>47</sup> A causa della scarsità degli studi clinici prospettici in grado di documentarne l'utilità clinica, il test cfDNA/NIPT per le sindromi da microdelezione non viene raccomandato dalle maggiori Società scientifiche professionali.<sup>2,7,21</sup>

#### 4.6 Test cfDNA/NIPT per lo screening degli sbilanciamenti genomici di grosse dimensioni (≥7-10 Mb)

Alcuni studi hanno riportato risultati retrospettivi ottenuti con il test cfDNA/NIPT nell'analisi delle anuploidie e degli sbilanciamenti parziali dell'intero genoma utilizzando una strategia *genome wide/genomica*. In molti di questi studi i follow-up delle gravidanze, sia sui casi ad alto che a basso rischio, ha riguardato solo una parte dei casi, limitando la possibilità di stabilire la reale utilità clinica del test.<sup>48-60</sup> Inoltre, questo test identifica spesso anomalie cromosomiche letali che mettono in discussione la reale utilità delle procedure diagnostiche per le gravidanze destinate ad evitare in un aborto precoce.<sup>21,48</sup> Utilizzando i risultati delle analisi



citogenetiche effettuate sui villi coriali si può prevedere che circa lo 0.8% dei test eseguiti risulterebbe positivo per una trisomia autosomica rara (0.5%) o per sbilanciamenti parziali (0.3%). All'interno di questi risultati positivi, circa lo 0.1% esiterebbe in un aborto o nella nascita di un neonato con difetti congeniti; il restante 0,7% riguarderebbe casi positivi "ambigui", secondari a mosaicismi confinati alla placenta o a marcatori soprannumerari o a sbilanciamenti con punti di rottura casuali, associati ad un rischio incerto o variabile di anomalie fetali, IUGR o altre complicanze.<sup>61</sup> Pertanto, la resa diagnostica aggiuntiva per le condizioni clinicamente significative, basata sull'applicazione del NIPT genomico, sarebbe minima (0,1%), comunque nettamente inferiore rispetto alla percentuale dei casi ad esito clinico incerto, anche dopo una diagnosi prenatale invasiva, un'ecografia ed eventuali analisi genetiche aggiuntive (ad es. *microarray*). Per queste ragioni, al momento l'approccio *genome-wide* non viene raccomandato e pone interrogativi di ordine clinico, dovuti all'impossibilità di interpretare correttamente il significato di una larga parte delle anomalie aggiuntive potenzialmente individuabili e, di conseguenza, all'impossibilità di offrire una valida presa in carico clinica.<sup>62-64</sup>

#### 4.7 Test cfDNA/NIPT per lo screening delle triploidie

Tra i differenti approcci metodologici disponibili, quelli basati sull'analisi dei polimorfismi dei singoli nucleotidi (SNPs) sono in grado di identificare gli aplotipi addizionali indicativi di una triploidia.<sup>65</sup> Sebbene l'identificazione delle gravidanze triploidi abbia implicazioni cliniche per le pazienti, le *performance* del test non sono ancora note.<sup>7</sup>

#### 4.8 Test cfDNA/NIPT per lo screening delle malattie monogeniche

Il test cfDNA/NIPT per le condizioni mendeliane è attualmente disponibile:

- per finalità diagnostiche nelle gravidanze ad elevato rischio di malattia monogenica;
- per finalità di screening nella popolazione generale.

Nel primo caso l'analisi NGS sul cfDNA viene eseguita nei casi che presentano una storia familiare positiva o risultati ecografici altamente suggestivi di una specifica patologia monogenica. Un esempio illustrativo è la ricerca di varianti *de novo* nei casi ecograficamente suggestivi di displasia tanatofora. Altri esempi sono le coppie eterozigoti per mutazioni recessive. Nelle condizioni di rischio per malattie autosomiche recessive, il test si basa sull'esclusione/conferma della presenza della variante paterna: l'esclusione è indicativa di un feto non affetto, oppure eterozigote come la madre; in presenza dell'allele paterno è necessario effettuare un test invasivo per determinare l'eventuale segregazione anche dell'allele materno, per differenziare la

condizione di portatore da quella di affetto. Con questo approccio sono stati sviluppati test per la fibrosi cistica e per la beta-talassemia.<sup>18</sup> Nel caso delle malattie recessive legate all'X viene ricercata la presenza del cromosoma Y.<sup>66-69</sup>

Questo impiego del test cfDNA presenta alcune criticità. Infatti, sebbene venga proposto come 'diagnostico' vi possono essere casi falsi positivi o negativi imputabili alle stesse cause responsabili delle discordanze nello screening delle aneuploidie (mosaicismi, ridotta frazione fetale, gemello evanescente, gravidanza gemellare).<sup>69</sup> Affinché la coppia a rischio comprenda i limiti dell'analisi del cfDNA rispetto alla diagnosi prenatale invasiva, che rimane la pratica *gold-standard*, e possa fare una scelta consapevole, è fondamentale la consulenza pre-test.

Nel secondo caso, i test vengono proposti per lo screening diretto sul cfDNA delle varianti dominanti *de novo* o delle varianti recessive. In questo contesto il NIPT presenta tutte le caratteristiche e i limiti degli screening. I test di screening per le varianti dominanti *de novo* indagano solo alcune mutazioni patogenetiche nei geni-malattia che, prese singolarmente, sono rare o ultra-rare, con conseguenti implicazioni sul PPV, sul rischio residuo e sul NPV, che non è noto, dato che la rarità delle singole varianti non permette di validare la sensibilità del test per ognuna di esse. Il test cfDNA/NIPT non è raccomandato per le varianti recessive (autosomiche o legate all'X) se non dopo avere identificata e caratterizzata la condizione di portatore nei genitori. Considerato che il NPV è sconosciuto, è necessario eseguire l'analisi dei genitori/madre e, eventualmente, effettuare una diagnosi prenatale invasiva nei casi positivi. Tenendo inoltre presente che esiste un rischio di individuare varianti genomiche di significato clinico incerto (VUS), con conseguenti difficoltà interpretative e complessa presa in carico clinica della gravidanza, l'estensione del NIPT allo screening diretto sul cfDNA delle patologie mendeliane non è al momento raccomandato.<sup>18</sup>

#### 4.9 Frazione fetale e risultati inconclusivi

La Frazione Fetale (FF) è la percentuale di frammenti di cfDNA derivati dal concepito/citotrofoblasto in rapporto al cfDNA totale circolante nel sangue materno. Tra le 10 e le 20 settimane di gestazione la FF media varia tra il 10 ed il 15%<sup>70-72</sup> e rappresenta un indicatore della qualità del campione in analisi e della confidenza statistica dei risultati, in quanto la discriminazione delle gravidanze trisomiche da quelle disomiche aumenta, per tutti i metodi, con il livello della frazione fetale. Infatti, considerato che il NIPT mira a identificare piccole variazioni nel numero dei frammenti genomici riconducibili alla presenza di un'anomalia cromosomica fetale, l'affidabilità del risultato e la sensibilità del test sono strettamente dipendenti dal livello della FF.<sup>73</sup>

La misurazione della FF può essere effettuata con metodi diversi e non direttamente confrontabili.<sup>74-84</sup> In genere, la soglia minima della FF varia nelle diverse piattaforme tra il 2% e il 4%. Anche l'algoritmo impiegato nell'analisi bioinformatica influisce notevolmente nella determinazione della FF, così come la profondità dell'analisi.<sup>82,84</sup> Il rischio di un risultato falso negativo e il tasso di non-informatività del test per una insufficiente FF dipendono quindi da questi parametri. Con i test che hanno una soglia del 4%, il tasso di fallimento del test varia tra l'1 e il 3%.<sup>84</sup> Se non venisse adottata una soglia della FF, non vi sarebbero fallimenti collegati a questo parametro, con un conseguente aumento del tasso dei risultati falsi negativi e della confidenza nel risultato.<sup>85-86</sup>

La FF presenta un'ampia variabilità interindividuale ed è influenzata da diversi fattori, sia materni che fetoplacentari.<sup>10,73,87</sup> Il tasso di risultati non informativi nelle gravidanze gemellari dizigoti è superiore, se i metodi misurano la FF di entrambi i gemelli e forniscono un risultato solo se entrambi superano la soglia, rispetto a quelli in cui la FF non viene misurata o si utilizza una soglia dell'8%, assumendo un uguale contributo delle due placente (4%+4%).<sup>87-88</sup>

Le cause che portano a risultati non informativi possono dipendere anche da problematiche diverse dalla bassa FF, ad esempio la conservazione, il trasporto e la qualità del campione, la scarsa qualità dei parametri qualitativi delle analisi imputabili a cause bioinformatiche e/o tecniche e i problemi analitici legati alle caratteristiche del cfDNA materno e fetale.<sup>18,89,90</sup>

## 5. Aspetti etici e giuridici

### *Profili etici degli screening genetici non invasivi*

La discussione bioetica ha posto una specifica attenzione alle diagnosi prenatali, che consentono di identificare precocemente i difetti congeniti e le patologie genetiche dell'embrione e del feto. L'attuale divario tra le capacità di diagnosi e di cura apre problematiche bioetiche nel contesto dell'attuale dibattito pluralista. La teoria libertaria è favorevole alla autodeterminazione riproduttiva della donna: in questo contesto è accolta con favore ogni diagnosi prenatale, in funzione della libertà di scelta della donna (fare il test, come utilizzare il risultato del test), a prescindere dalle conseguenze sul feto (a cui non è riconosciuta una soggettività), rivendicando il "diritto ad avere un figlio sano". Nella versione utilitarista si configura anche un diritto di "prevenzione della nascita" di un bambino malato ed un "dovere selettivo", per evitare il "danno della nascita" (*wrongful birth/life*). Nell'ambito di una visione personalista che riconosce la dignità della vita

a partire dal concepimento, la diagnosi prenatale acquisisce una dimensione di problematicità, sia nella scelta di effettuare il test (in presenza di rischi), sia nella scelta dell'uso dei risultati del test.<sup>91</sup>

La discussione bioetica sui test prenatali non invasivi si inserisce in questo contesto generale, anche se con alcune specificità, nella ricerca di un bilanciamento tra il valore della libertà (della donna/della coppia) nella scelta procreativa e la dignità della vita nascente, a prescindere dalla sua condizione di salute o patologia:

- la disponibilità dei nuovi test basati sul NIPT costituisce un importante avanzamento delle conoscenze scientifiche e della tecnologia, stante la sua accuratezza e specificità, ma contestualmente apre un dibattito bioetico su alcuni aspetti;
- la scelta se effettuare o non effettuare il test di screening genetico non invasivo apre ad una riflessione sulle opportunità e sui limiti;
- la disponibilità di una grande mole di informazioni attraverso un semplice prelievo di sangue, non invasivo e senza rischi (di aborto), tende a cambiare la visione generale dell'indagine prenatale, amplificando le problematiche già presenti.<sup>92-94</sup>

Gli argomenti a favore della scelta di effettuare il test si basano sulle seguenti argomentazioni:

- Si tratta di uno screening prenatale non invasivo, che ha *performances* migliori rispetto agli attuali test di screening che combinano le analisi biochimiche e la translucenza nucale, che possono precedere o meno i test diagnostici invasivi; in questo senso il NIPT riduce drasticamente il ricorso alle indagini diagnostiche invasive, abbattendo il numero degli aborti collegati alle tecniche di prelievo dei tessuti fetali e le possibili, ancorché rare, complicanze per le gestanti;
- La facilità di accesso al NIPT mediante un prelievo ematico non rappresenta un incentivo al ricorso inappropriato alle indagini prenatali rispetto all'attuale prassi; di fatto, al momento lo screening è mirato alle principali trisomie autosomiche, rispetto alle quali un'elevata percentuale di donne già ora richiede di essere informata; il NIPT riduce pertanto il ricorso inappropriato ai test genetici, limitatamente alle trisomie citate, permettendo di tranquillizzare e diminuire l'ansia della gestante.

Per altro verso, emergono alcune considerazioni contrarie all'uso di tali test come screening:

- La maggiore sensibilità di questo test nell'individuare le principali aneuploidie autosomiche, rischia di fare passare il messaggio che, con un semplice esame del sangue, sia più facile identificare i feti malati, mettendo la gestante nella condizione di eliminarli senza un'adeguata riflessione critica, anche se la tecnica limita il numero degli aborti dei feti non affetti, collegato all'invasività delle tecniche tradizionali di diagnosi prenatale.

### L'informazione e la consulenza per la consapevolezza della scelta tra libertà e responsabilità

Gli argomenti a favore e contro mostrano l'esigenza di un'accurata informazione preliminare alla donna/coppia (consulenza pre-test) per potere scegliere se sottoporsi eventualmente al test: è essenziale conoscere le opportunità (ossia l'assenza di un rischio) e i limiti dei test di screening (identificazione della probabilità – ma non la diagnosi – di una specifica patologia, percentuale di falsi negativi e positivi e quindi i valori predittivi dei risultati).

Se il test è considerato routinario (e perciò allargato indistintamente a tutta la popolazione, e perciò non oggetto di scelta), c'è il rischio che venga eseguito senza comprenderne appieno il significato e senza riflettere sulla finalità della scelta. L'alternativa è quella di consigliare lo screening solo ad un gruppo di donne a rischio (ad es. per età o in base alle caratteristiche genetiche della coppia). Va considerato che in genere gli screening genetici prenatali sono giustificati solo se esiste un trattamento efficace per la malattia in questione; in questo caso, invece, i test sono effettuati per identificare un feto malato a cui, per lo più, fa seguito l'interruzione della gravidanza, sollevando un problema di bioetica, che deve essere evidenziato sin dall'inizio del percorso informativo.

Sul piano bioetico va sottolineato che il fine del NIPT è fornire informazioni alle coppie che lo desiderano, affinché le successive scelte e decisioni siano basate su conoscenze il più possibile accurate, precoci, utilizzando protocolli che non mettono a rischio la gravidanza. In questo senso la consulenza prenatale è parte integrante dello screening mediante NIPT, avendo lo scopo di definire le motivazioni che giustificano il ricorso allo screening, fornire informazioni sulle conoscenze che possono essere acquisite, sui rischi e sui benefici, sulle possibili alternative, sulle opportunità e sulle possibili conseguenze, in rapporto alla percezione e all'accettabilità, da parte della coppia, delle informative ricevute e delle decisioni da prendere, sulle possibilità di assistenza disponibili e sul percorso per la donna/coppia, nel caso in cui il risultato sia patologico. La consulenza non deve essere direttiva, ma solo consultiva e rispondere ai dubbi, alle perplessità della coppia, oltre che aiutarla in una scelta libera, senza pressioni esterne.

### Uguaglianza e non discriminazione: giustizia ed equità

Alcuni usi del NIPT possono essere considerati eticamente problematici se determinano un aumento della disuguaglianza, dell'ingiustizia o dell'esclusione sociale. La diffusione di test genetici non invasivi finalizzati alla identificazione del rischio di patologia cromosomica suscita preoccupazioni che riguardano le possibili discriminazioni nei confronti di gruppi particolari, ovvero delle persone affette dalle malattie che si intendono diagnosticare ed evitare. I principi di uguaglianza, giustizia ed equità si basano sul valore della inclusività

sociale, ossia sullo sforzo di garantire che tutte le persone siano trattate in maniera uguale, giusta ed equa e non siano escluse, stigmatizzate o marginalizzate dalla società.

In questo ambito è rilevante dal punto di vista bioetico, contestualmente alla diffusione dei test, la promozione sociale di misure proattive finalizzate a sviluppare politiche che affrontino le disuguaglianze sociali e le discriminazioni, mettendo a disposizione strutture di cura ed assistenza alle persone con disabilità. È ampio il dibattito bioetico pubblico, promosso dalle Associazioni dei pazienti con disabilità, sull'importanza della promozione della equità delle condizioni delle persone disabili (movimento dei diritti delle persone con disabilità), e sulla necessità di aumentare i livelli generali di benessere tra le persone disabili e sulla difesa dei loro diritti (diritto ad un futuro aperto, ad un'aspettativa di vita più elevata, all'accesso ad una migliore assistenza medica e sociale e all'istruzione, alla salute e ad altre opportunità).

Se la diffusione dei test genetici predittivi non si accompagna a politiche sociali di accoglienza, assistenza e aiuto solidale alle persone con disabilità viene minacciata la giustizia sociale.

#### Selezione del sesso

Il test consente in modo affidabile e accurato di identificare precocemente il sesso del feto. Tale possibilità solleva il problema dell'accesso ai test per scopi non medici, compresa la selezione del feto in base a preferenze soggettive, per ragioni di equilibrio familiare o culturali, in accordo con il principio della libertà procreativa, con potenziali conseguenze anche sociali e demografiche. Consentire l'accesso al test anche in vista di questa scelta selettiva apre alcune problematiche etiche e giuridiche.<sup>95-97</sup>

Sul piano etico presuppone la 'oggettificazione' dei figli, ridotti a oggetto di scelta per la soddisfazione di preferenze soggettive in luogo della accettazione in sé, e implica la discriminazione dei sessi. La scelta di interrompere la gravidanza suscita problematicità per chi ritiene che il feto abbia una dignità e meriti rispetto; ancora più critica può essere la scelta di abortire un feto sano per ragioni soggettive o sociali-culturali. L'apertura a tale possibilità potrebbe aumentare il ricorso all'aborto ed esacerbare il sessismo.

Anche sul piano giuridico emergono criticità. Va richiamata la Convenzione sui diritti umani e la biomedicina (1997), che proibisce la selezione del sesso nel contesto della procreazione medicalmente assistita (*"The use of techniques of medically assisted procreation shall not be allowed for the purpose of choosing a future child's sex, except where serious hereditary sex related disease is to be avoided"*): tale proibizione potrebbe essere estesa alla diagnosi genetica non invasiva precoce. Anche la legge 194/1978 legittima l'aborto limitatamente per malformazioni del feto e/o gravi condizioni di salute psicofisica della donna (art. 4 riferito ai primi 90 giorni), ma non consente la scelta sulla base della mera preferenza del sesso. La legge 40/2004 sulla PMA non ammette la selezione degli embrioni preimpianto, se non nel caso specifico del rischio di

trasmissione di malattie genetiche gravi (sentenza Corte Costituzionale n. 229 del 2015). Anche il *Nuffield Council on Bioethics* nel documento *“Non invasive prenatal testing: ethical issues”* (2017) raccomanda che la diagnosi prenatale non invasiva non sia offerta mediante il sistema sanitario pubblico e privato con la finalità della selezione del sesso, ma solo per ragioni mediche, per evitare il *‘sex selection tourism’*, ossia la richiesta da parte di persone provenienti da altri Paesi ove questa pratica è proibita.

Nell’ambito della consulenza pre-test tale problematica deve essere esplicitata, al fine di giustificare la non accettazione dell’accesso al test per ragioni non mediche.

#### La competenza degli operatori e i centri

I Centri che erogano il test devono avere competenze nella diagnosi e devono essere in grado di fornire la consulenza pre-test e post-test, collegata con un servizio di genetica medica e con il laboratorio che effettua il test, che deve essere certificato, deve partecipare ai controlli di qualità nazionali ed internazionali ed essere dotato di personale con competenze specifiche. La competenza degli operatori, la qualità dei laboratori, la correttezza della procedura costituiscono i requisiti scientifici ed etici della applicazione dei test.

#### Campioni biologici

Nell’ambito del test, è importante anche un’informazione alla coppia sul percorso dei campioni biologici che contengono le informazioni genetiche della madre e del nascituro, collegate alle informazioni personali (dati personali). Va informata la coppia che, al fine di proteggere l’identità, il campione biologico sarà codificato. La codificazione (o pseudonimizzazione) ha la finalità di proteggere i dati personali collegati al campione biologico, dai potenziali abusi di Enti terzi (assicurazioni o datori di lavoro). La coppia deve essere informata sul luogo e sul tempo della conservazione dei campioni biologici, oltre che sull’eventuale trasferimento in altri Paesi con garanzia di tutela. Va anche presentata alla donna l’opzione di non distruggere il campione dopo il test, per poterlo donare alla ricerca, con la possibilità di essere ricontattata per un nuovo consenso.

## **6. Le analisi di impatto economico del test cfDNA/NIPT**

Questo paragrafo riprende e aggiorna il lavoro del Gruppo di Lavoro NIPT2 (*“Impatto socio-economico del test del cfDNA/NIPT in sanità pubblica”*) che ha fatto seguito alla pubblicazione sul portale del Ministero della salute delle linee-guida *“Screening prenatale non invasivo basato sul DNA”*<sup>1</sup>.

Nello specifico, il paragrafo è diviso in quattro sessioni: nella prima viene fatta una breve introduzione sulle tipologie di analisi di impatto economico in sanità e sui modelli di implementazione del test cfDNA/NIPT (descritti nel dettaglio nell'Allegato 1); nella seconda vengono aggiornate le evidenze (internazionali) di costo-efficacia; nella terza viene aggiornata l'analisi di impatto sulla spesa dei diversi modelli di implementazione dei programmi di screening universale e contingente; nella quarta viene riportata una sintesi delle evidenze descritte nel paragrafo.

### 6.1 Le analisi di impatto economico ed i modelli di implementazione del test cfDNA/NIPT

Le valutazioni di impatto economico di un nuovo intervento sanitario (tecnologia, programma, ecc.) comprendono le analisi di costo-efficacia, finalizzate a misurare la coerenza, per ogni paziente (o persona *target* di programmi di prevenzione/screening), 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 fino a quando gli effetti differenziali delle due alternative si esauriscono. L'esito finale di un'analisi di costo-efficacia è il Rapporto Incrementale di Costo-Efficacia (RICE – *Incremental Cost-Effectiveness Ratio*), ovvero la differenza del costo rispetto alla differenza di beneficio tra due programmi/interventi alternativi ( $\Delta C/\Delta B$ ). Oltre alla definizione di un valore puntuale del RICE, è importante capire quanto esso 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, che sono state introdotte in alcuni Paesi (al momento non esistono soglie predefinite in Italia).

L'analisi 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 valutazioni di impatto economico possono riferirsi a diversi scenari di posizionamento del test cfDNA/NIPT. Il test può essere infatti introdotto come test di prima scelta, a partire dalla decima settimana di gestazione, in sostituzione dell'attuale Test Combinato (cfDNA/NIPT come screening universale) o come test riservato ad una specifica sottopopolazione individuata con lo screening combinato (Test Contingente). Nel secondo caso la sottopopolazione viene identificata definendo a priori la percentuale dell'utenza a carico del SSN attraverso l'individuazione di soglie (*cut-off*) di rischio coerenti con la *performance* globale dello screening, i criteri clinici comprovati dalla letteratura scientifica ed i vincoli economici in termini di risorse disponibili e/o che si intendono investire nei programmi di screening neonatali.

**Nell'Allegato 1** vengono riportati i dati del **percorso dei pazienti nei diversi modelli di implementazione del test cfDNA/NIPT, con riferimento allo screening della T21**. Tali modelli ed i relativi dati sono stati ripresi dal precedente rapporto "*Gruppo di Lavoro NIPT2. Analisi previsionale dell'impatto socio-economico del test del cfDNA/NIPT in Sanità pubblica*".

Nello specifico si tratta del:

- Modello dello screening universale con il test cfDNA/NIPT in sostituzione del Test Combinato (**Modello 1**) con due ipotesi rispetto alle strategie di screening della sottopopolazione delle gestanti (stimata al 2%), che non avrebbe alcun risultato dal programma di screening, a causa del fallimento del test cfDNA/NIPT (gruppo che comprende anche le gravidanze con feti affetti):
  - nessuna ulteriore indagine (**Modello 1a**);
  - indagine di tipo invasivo (villocentesi) (**Modello 1b**).
- Modello dello screening contingente con test cfDNA/NIPT dopo il Test Combinato (**Modello 2**), offerto alle gestanti:
  - con rischio tra 1 su 11 e 1 su 1000 (**Modello 2.1**), a sua volta distinto in due possibili percorsi
    - nessuna ulteriore indagine nei casi senza risultato dopo il test cfDNA/NIPT (**Modello 2.1a**);
    - indagine di tipo invasivo (villocentesi) nei casi di rischio superiore a 1 su 250 (**Modello 2.1b**);
  - con rischio tra 1 su 101 e 1 su 1000 (**Modello 2.2**), a sua volta distinto in due possibili percorsi
    - nessuna ulteriore indagine nei casi senza risultato dopo il test cfDNA/NIPT (**Modello 2.2a**);

- indagine di tipo invasivo (villocentesi) nei casi di rischio superiore a 1 su 250 (**Modello 2.2b**).

L'estensione dello screening alle T18 e T13 non cambierebbe in modo significativo i dati di sensibilità totale riportati nell'Allegato 1, in quanto l'integrazione del Test Combinato e del test cfDNA/NIPT avrebbe una sensibilità elevata anche per queste trisomie. Inoltre, l'estensione del test alle T18 e T13 non produrrebbe un aumento del ricorso alle tecniche invasive nel caso in cui le gestanti che non hanno un risultato venissero gestite in base al rischio combinato.

## 6.2 Evidenze di impatto economico del test cfDNA/NIPT

Le evidenze di costo-efficacia sul test cfDNA/NIPT sono state sintetizzate in una recente revisione sistematica di letteratura.<sup>98</sup> Tale revisione mostra in primo luogo come le analisi si differenzino in modo sensibile per la prospettiva nella valutazione dei costi (anche se in gran parte viene adottata la prospettiva del sistema sanitario) e nell'orizzonte temporale utilizzato. Nella maggior parte dei casi le valutazioni prospettiche si fermano alla valutazione dei costi dello screening ed, eventualmente, dei costi di gestione del percorso delle gestanti, con la successiva eventuale interruzione della gravidanza (percorso di "breve periodo"). In altri casi, gli studi vengono estesi ad un orizzonte *lifetime*, includendo gli effetti economici della gestione dei casi di trisomia. 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.

In secondo luogo, gran parte degli studi (anche di breve periodo) ricorre a modelli che includono non solo le evidenze sulla "efficacia" dei test, ma anche ipotesi sui comportamenti delle gestanti, quali il tasso di accettazione del test, le probabilità di un'indagine invasiva in caso di rischio più elevato e, qualora gli studi vadano oltre l'attività di screening, le probabilità di interruzione della gravidanza successiva ad un test positivo.

Con riferimento ai risultati emerge come i valori del RICE siano molto elevati nel caso di ricorso allo screening universale, mentre per lo screening con cfDNA/NIPT varino tra i diversi studi e, comunque, siano più ragionevoli.

Infine, la revisione degli studi di costo-efficacia mostra che i fattori maggiormente predittivi della costo-efficacia sono:

- il costo del test cfDNA/NIPT (soprattutto nel caso di utilizzo nello screening universale): il costo del test varia negli studi da € 288 a € 776;
- il tasso di utilizzo del test;
- nel caso del modello di screening contingente, il livello di *cut-off* per il ricorso al test cfDNA/NIPT;
- l'età delle donne;

- l'orizzonte temporale dell'analisi;
- la prospettiva utilizzata nella valutazione dei costi.

Una seconda revisione sistematica delle analisi di costo-efficacia<sup>99</sup> ha evidenziato come gran parte degli studi, con riferimento ai programmi di screening, si siano concentrati sui costi delle procedure diagnostiche, mentre pochi abbiano incorporato la gestione dell'informazione alle gestanti, attività che ha effetti rilevanti sia sui costi sia sull'organizzazione complessiva del percorso.

Gli studi successivi alla pubblicazione delle revisioni sistematiche della letteratura confermano la grande incertezza delle evidenze di costo-efficacia (Tabella 1), anche se confermano la ragionevolezza del Test Contingente (in alcuni casi anche dominante, ovvero più efficace e meno costoso del Test Combinato) e l'elevato RICE del Test cfDNA/NIPT offerto in prima linea rispetto al Test Combinato.

Gli studi di costo-efficacia presentano tre importanti limiti. Sotto il profilo metodologico, sono stati utilizzati modelli di valutazione del percorso della gestante popolati da alcuni 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. L'alta incertezza impatta sui differenti risultati nel caso di riferimento, ma anche sull'elevata variabilità degli esiti nelle analisi di sensibilità. In secondo luogo, quando la valutazione di costo-efficacia viene effettuata *life-time*, sono incorporati 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, per il quale non esistono ad oggi evidenze di costo-efficacia, questi studi offrono importanti spunti di riflessione per il nostro Paese. Tra essi, il più importante è che l'uso contingente del test cfDNA/NIPT presenta valori di costo-efficacia più ragionevoli rispetto all'utilizzo su tutte le gestanti. È proprio sull'uso dei programmi di screening contingente che si concentra l'unico studio di impatto economico effettuato in Italia.<sup>100</sup> Tale studio ha analizzato, in termini comparativi, solo i costi derivanti dalla strategia di screening contingente per tutte le trisomie (21, 18, 13), con l'uso del test cfDNA/NIPT nelle donne a rischio  $\geq 1$  su 1.000 (rispetto al solo Test Combinato). Sono stati inclusi nell'analisi i costi delle procedure diagnostiche (300 € per il NIPT) ed altri costi collegati alla gestione della gravidanza (inclusi i costi delle perdite del feto). Tale analisi evidenzia una riduzione complessiva dei costi di 19 milioni di € con l'adozione del cfDNA/NIPT universale, da 84,5 milioni di € nel caso dell'uso del solo Test Combinato a 65,5 milioni di € nel caso dello screening contingente.

Studio	Paese	Anno	Tipologia di studio	Prospettiva	Orizzonte temporale	Comparatori	Indicatore	Costo Test cfDNA/NIPT	Risultati
Bayón et al, 2019 <sup>101</sup>	Spagna	2015	Modello	Sistema sanitario	Breve termine	cfDNA/NIPT contingente vs Test combinato cfDNA/NIPT universale vs cfDNA/NIPT contingente e vs Test combinato	$\Delta$ Costi per caso identificato (ICER: $\Delta$ Costi / $\Delta$ Casi)	€ 550	cfDNA universale: €1.299.763 per caso individuato (vs Test combinato) (meno costoso e più efficace di Test combinato se Test cfDNA costa €76) cfDNA universale: €1.232.763 per caso individuato (vs cfDNA contingente) cfDNA contingente: meno costoso ma anche meno efficace di Test combinato
Kostenko et al, 2019 <sup>102</sup>	Belgio	2018	Modello	Sistema sanitario	Breve termine	cfDNA/NIPT universale vs Test combinato	Costo per caso identificato $\Delta$ Costi per identificato (ICER: $\Delta$ Costi / $\Delta$ Casi)	€ 260	Costo per caso identificato: €66.633 per cfDNA/NIPT vs 63.016 per Test combinato (ICER €3.617)
Xie et al, 2020 <sup>103</sup>	Canada (Ontario)	2019	Modello	Sistema sanitario	Breve Termine	cfDNA/NIPT contingente vs Test combinato cfDNA/NIPT universale vs cfDNA/NIPT contingente	$\Delta$ Costi per caso identificato (ICER: $\Delta$ Costi / $\Delta$ Casi)	\$Can 390 (€ 263)	ICER (caso identificato): cfDNA/NIPT contingente dominante; cfDNA/NIPT universale 412.411 \$Can (277.629€) per caso identificato
Zhang et al, 2019 <sup>104</sup>	Canada (British Columbia)	2018	Modello	Società	Breve Termine / Lifetime	cfDNA/NIPT contingente vs Test combinato cfDNA/NIPT universale vs cfDNA/NIPT contingente	Costo per caso identificato $\Delta$ Costi per caso identificato (ICER: $\Delta$ Costi / $\Delta$ Casi) $\Delta$ Costi per QALY (ICER: $\Delta$ Costi / $\Delta$ QALY)	\$ 490 (€ 438)	Costo per caso identificato: Test combinato 67.395\$ (60.2020€); cfDNA/NIPT contingente 47.210 \$ (42.172€); cfDNA/NIPT universale 124.076 \$ (110.834€) ICER (QALY): cfDNA/NIPT contingente dominante; cfDNA/NIPT universale 267.103 \$ (238.597€) per QALY

ICER = Incremental Cost-Effectiveness Ratio - Tasso di cambio medio annuale \$/€, desunto da <http://www.bancaditalia.it/> (ultimo accesso 4 dicembre 2020)

Tabella 1. Principali evidenze di costo-efficacia sul cfDNA/NIPT successive alla pubblicazione dell'ultima revisione della letteratura<sup>26</sup>

### 6.3 Analisi di impatto sulla spesa delle diverse strategie di screening

A partire dagli scenari di cui all'Allegato 1, è stata condotta un'analisi di impatto sulla spesa, aggiornando il precedente documento del Gruppo di Lavoro "NIPT 2 - Analisi previsionale dell'impatto socio-economico del test del cfDNA/NIPT in Sanità pubblica". Tale analisi prescinde dall'eventuale offerta del test a titolo gratuito o con compartecipazioni dell'assistito a livello regionale (cfr. Allegato 2).

Nello specifico, oltre alle ipotesi di cui all'Allegato 1, sono state utilizzate le seguenti stime di costo unitario delle prestazioni associate allo screening.

- Test cfDNA/NIPT: € 300 (confermato, anche in relazione a quanto utilizzato da Prefumo et al<sup>100</sup>);
- Test Combinato. Nel precedente rapporto veniva stimato in € 150 (Ecografia a carico del SSN - € 90; Esame biochimico a carico della gestante - € 60). Si specificava inoltre che è possibile che venga effettuata 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. Nel presente documento viene confermata la scelta di non utilizzare una seconda ecografia, ma viene utilizzata, come prestazione a carico del SSN e non essendo disponibile una tariffa di riferimento dal Nomenclatore Tariffario Nazionale, la Tariffa del Nomenclatore delle Prestazioni Specialistiche Ambulatoriali dell'Emilia Romagna (€ 80), che include l'ecografia ostetrica (translucenza nucale) ed il Bitest (HCG Frazione Libera e PAPP-A).
- Villocentesi. Nel precedente documento il costo era stimato in € 900. Nel presente rapporto viene utilizzata la tariffa di € 600 prevista da tariffari professionali (ad es. Tariffario Fasdac), simile al costo unitario stimato da Prefumo et al<sup>100</sup>, e pari a € 579,89.

È importante osservare che, in assenza di dati di costo unitario delle prestazioni, l'uso di tariffe rappresenta una proxy di tali costi unitari in quanto:

- non è detto che le tariffe definite a livello nazionale/regionale rappresentino l'effettivo costo unitario pieno dell'erogazione delle prestazioni;
- la tariffa rappresenta comunque il costo sostenuto dalle Regioni se la prestazione viene erogata dai soggetti privati accreditati;
- per le strutture pubbliche la tariffa rappresenta lo strumento di valorizzazione delle prestazioni, ma l'effettivo finanziamento da parte della Regione è a costi di produzione.

La stima dei costi complessivi (analisi di impatto sul *budget*) viene condotta sulle due strategie di implementazione del cfDNA/NIPT, di cui all'Allegato 1. L'analisi dei costi si riferisce al solo processo di screening e non include i costi successivi di gestione della gravidanza né i costi *life-time*, sia perché si tratta di valutazioni di impatto sulla spesa, che hanno un orizzonte temporale limitato, sia per l'elevata incertezza legata ai comportamenti individuali sulla gestione successiva della gravidanza.

La Tabella 2 illustra i risultati dell'analisi. 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.

Strategia	Fattibilità	Sensibilità	Falsi +	Villocentesi	Costi	Impatto sul budget rispetto a Test Combinato universale
<b>Test Combinato universale</b>	100%	90,0%	5,0%	5,3%	55.900.000 €	0 €
<b>Test cfDNA/NIPT universale (Modello 1)</b>						
Nessuna altra indagine in caso di "no result" (Modello 1a)	98% (*)	97,5%	0,1%	0,4%	151.153.800 €	95.253.800 €
Villocentesi in caso di "no result" (Modello 1b)	98% (*)	99,5%	2,1%	2,4%	157.153.800 €	101.253.800 €
<b>Test combinato + cfDNA/NIPT se rischio 1:11-1:1000 (Modello 2.1)</b>						
Nessuna altra indagine in caso di "no result" (Modello 2.1a)	100%	97,3%	0,6%	0,8%	69.477.100 €	13.577.100 €
Villocentesi in caso di "no result" e rischio $\geq$ 1:250 (Modello 2.1b)	100%	97,9%	0,6%	0,8%	69.536.500 €	13.636.500 €
<b>Test combinato + cfDNA/NIPT se rischio 1:101-1:1000 (Modello 2.2)</b>						
Nessuna altra indagine in caso di "no result" (Modello 2.2a)	100%	97,8%	3,5%	3,8%	74.607.400 €	18.707.400 €
Villocentesi in caso di "no result" e rischio $\geq$ 1:250 (Modello 2.2b)	100%	97,9%	3,5%	3,8%	74.654.800 €	18.754.800 €

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

Tabella 2. Impatto sui costi di diverse strategie di screening per la trisomia 21

A seconda degli scenari individuati, il Test Contingente produrrebbe un costo aggiuntivo di 13,6/18,8 milioni di €, mentre l'effetto sui costi dell'offerta come screening universale sarebbe decisamente superiore (tra i 95,2 e i 101,2 milioni di €).

La Tabella 3 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 97 e 109 €, nel caso dello screening universale, e presenta valori molto variabili nel caso dello screening contingente (da 57 a 149 €).

Strategia	Costo cfDNA per avere impatto sul budget nullo
<b>Test Combinato universale</b>	-
<b>Test cfDNA/NIPT universale (Modello 1)</b>	
Nessuna altra indagine in caso di “no result” (Modello 1a)	109 €
Villocentesi in caso di “no result” (Modello 1b)	97 €
<b>Test combinato + cfDNA/NIPT se rischio 1:11-1:1000 (Modello 2.1)</b>	
Nessuna altra indagine in caso di “no result” (Modello 2.1a)	149 €
Villocentesi in caso di “no result” e rischio $\geq 1:250$ (Modello 2.1b)	148 €
<b>Test combinato + cfDNA/NIPT se rischio 1:101-1:1000 (Modello 2.2)</b>	
Nessuna altra indagine in caso di “no result” (Modello 2.2a)	58 €
Villocentesi in caso di “no result” e rischio $\geq 1:250$ (Modello 2.2b)	57 €

Tabella 3. Costo del cfDNA/NIPT per mantenere la spesa sugli stessi valori del Test Combinato nei diversi modelli di screening

Infine, nella Tabella 4 viene riportata la stima dei costi dei diversi modelli di implementazione con vari ipotetici costi del cfDNA/NIPT, dagli attuali € 300 fino ad un minimo di € 50. Si può notare che per costi  $\leq$  € 100, il costo del modello universale diventa tendenzialmente inferiore a quello dei modelli contingenti.

Stima del costo totale per diversi costi ipotetici del cfDNA Test					
Strategia	300 €	200 €	150 €	100 €	50 €
<b>Test combinato universale</b>	55.900.000				
<b>Test cfDNA/NIPT universale (Modello 1)</b>					
Nessuna altra indagine in caso di “no result” (Modello 1a)	151.153.800	101.153.800	76.153.800	51.153.800	26.153.800
Villocentesi in caso di “no result” (Modello 1b)	157.153.800	107.153.800	82.153.800	57.153.800	32.153.800
<b>Test combinato + cfDNA/NIPT se rischio 1:11-1:1000 (Modello 2.1)</b>					
Nessuna altra indagine in caso di “no result” (Modello 2.1a)	69.477.100	60.453.600	55.941.850	51.430.100	46.918.350
Villocentesi in caso di “no result” e rischio $\geq 1:250$ (Modello 2.1b)	69.536.500	60.513.000	56.001.250	51.489.500	46.977.750
<b>Test combinato + cfDNA/NIPT se rischio 1:101-1:1000 (Modello 2.2)</b>					
Nessuna altra indagine in caso di “no result” (Modello 2.2a)	74.607.400	66.864.000	62.992.300	59.120.600	55.248.900
Villocentesi in caso di “no result” e rischio $\geq 1:250$ (Modello 2.2b)	74.654.800	66.911.400	63.039.700	59.168.000	55.296.300

Tabella 4. Stima dei costi dei diversi modelli di implementazione con vari ipotetici costi del cfDNA/NIPT

## 6.4 Conclusioni

Sono disponibili numerose evidenze di impatto economico dell'utilizzo del cfDNA/NIPT, anche se solo poche fanno riferimento al contesto italiano.

Le evidenze sulla costo-efficacia (ovvero sul rapporto tra il costo incrementale per unità di efficacia) sono molto variabili a seconda della prospettiva utilizzata nella valutazione dei costi, dei dati di costo unitario del

test cfDNA/NIPT e dell'orizzonte temporale utilizzato (orizzonte di breve periodo, con un focus solo sullo screening o sull'intero percorso della gestante; orizzonte di lungo periodo, con valutazione prospettica dei costi associati alla gestione di pazienti con trisomia). La variabilità dipende anche dalle ipotesi sui comportamenti delle gestanti, quali il tasso di accettazione del test, le probabilità di un'indagine invasiva in caso di rischio più elevato e, qualora gli studi vadano oltre l'attività di screening, le probabilità di interruzione della gravidanza successiva ad un test positivo. In generale però tali studi mostrano come l'incremento dei costi per caso di trisomia individuata (studi di breve periodo) o per unità di impatto sulla salute (sopravvivenza corretta per la qualità di vita) sia più ragionevole per lo screening che prevede l'uso del cfDNA/NIPT contingente, rispetto al suo utilizzo come screening universale.

Le evidenze di impatto sulla spesa, riferite al contesto italiano, mostrano, nel caso di adozione di programmi di uso contingente, un incremento gestibile della spesa rispetto al solo Test Combinato. Tale incremento sarebbe compreso, secondo il nostro studio, tra 13,6 e 18,8 milioni di €, mentre molto più importante sarebbe l'effetto dello screening universale (compreso tra 95,2 e 101,2 milioni di euro). Un altro studio, che include gli effetti sul percorso della gestante (ad esempio, i costi di gestione delle interruzioni di gravidanza), mostra, nel caso di utilizzo contingente, un risparmio rispetto alla strategia di utilizzo del solo Test Combinato. La differenza nei risultati dipende dal diverso percorso tracciato nelle due analisi e dal differente costo unitario del Test Combinato.

Si può quindi affermare che l'uso contingente rappresenti, sulla base delle evidenze tracciate, una soluzione che comporta un ragionevole investimento da parte del SSN, presentando un buon profilo di costo-efficacia.



**ALLEGATO 1: I modelli di implementazione del test cfDNA/NIPT per la trisomia 21**

Questo allegato illustra le diverse strategie, basate sull’uso del cfDNA/NIPT come screening universale o contingente, nei risultati del test combinato. La prevalenza stimata della T21 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.<sup>105</sup> 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.<sup>106</sup>

**Screening universale (Modello 1)**

Secondo il modello dello screening universale, il test 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 T21, con un tasso di procedure invasive dello 0,3%. 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 dei feti affetti.

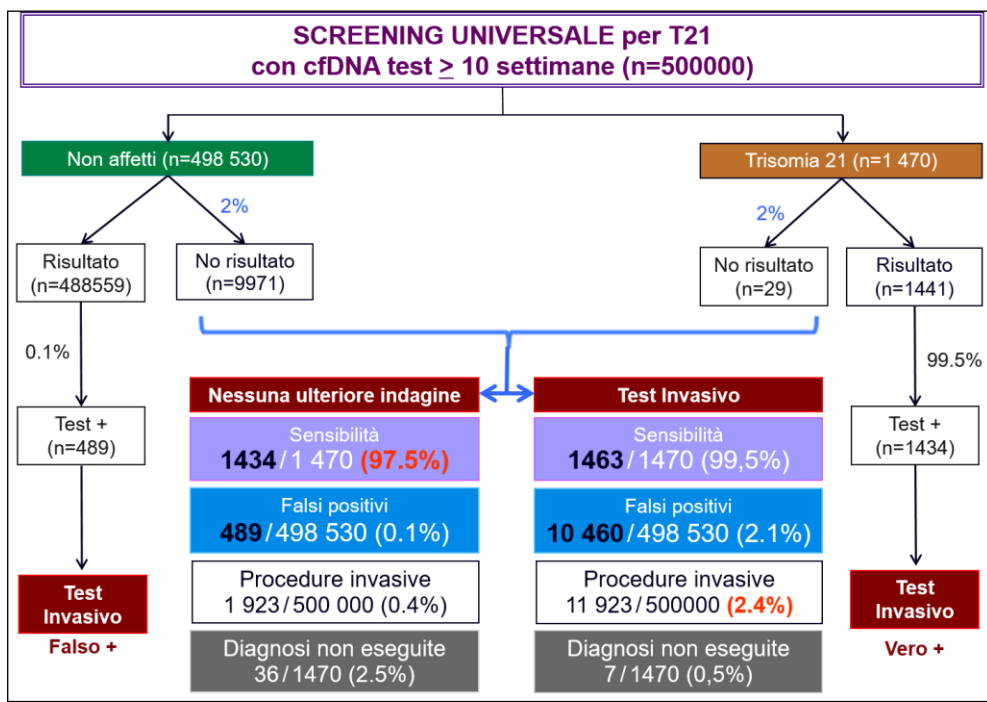


Figura 1 Test cfDNA/NIPT come screening universale per la trisomia 21 in sostituzione del Test Combinato, con due strategie riguardo la sottopopolazione del 2% dei “no result”: nessuna ulteriore indagine (Modello 1a) oppure test invasivo (Modello 1b).

**Test cfDNA/NIPT contingente nelle gestanti con un rischio compreso tra 1:11 e 1:1.000 dopo il Test Combinato (Modello 2.1)**

Questo modello prevede che a tutte le gestanti sia offerta la possibilità di sottoporsi al Test Combinato. 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 T21, T18, T13 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 test cfDNA/NIPT in questi casi non è utile nel rassicurare la gestante sulla salute del feto e dovrebbe essere discussa una procedura diagnostica invasiva, 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 T21 e l'80% delle gravidanze normali. Di conseguenza, la prevalenza della T21 in questo gruppo è molto bassa (circa 1:9.000), una percentuale in grado di rassicurare le gestanti. L'utilizzo del test 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 T21 ed un tasso di procedure invasive dello 0,8%.

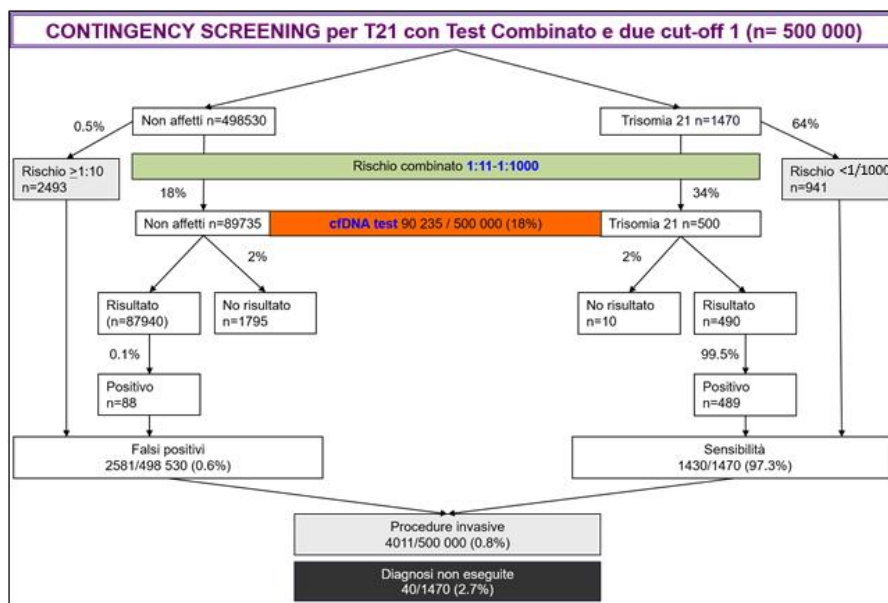


Figura 2 Strategia contingente con il Test Combinato offerto a tutte le gravidanze e test cfDNA/NIPT solo alle pazienti con un rischio combinato compreso tra 1: 11 e 1:1000 e ricorso a nessun'altra indagine nei casi senza risultato dopo il test cfDNA/NIPT (Modello 2.1a).

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

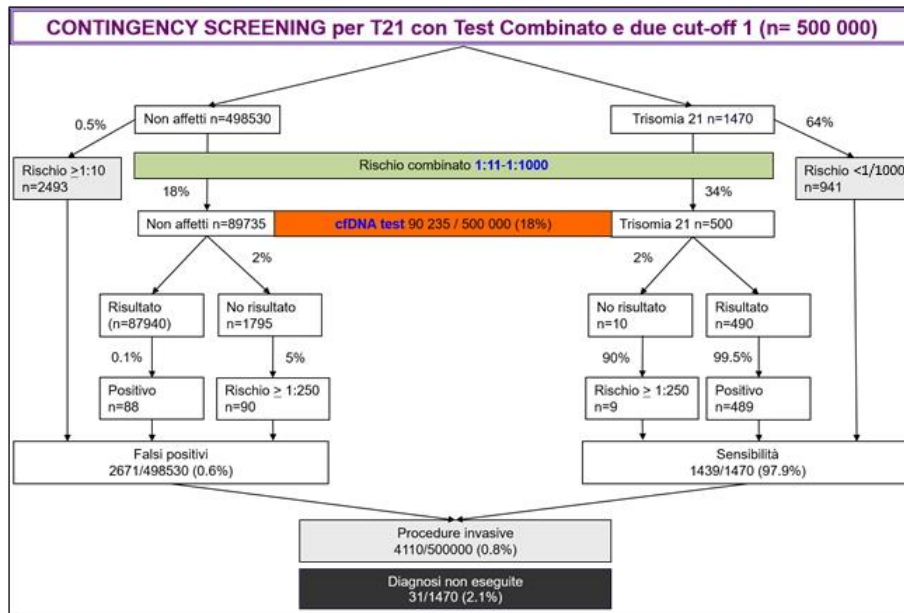


Figura 3. Strategia contingente con Test Combinato in tutte le gravidanze e test cfDNA/NIPT alle pazienti con un rischio combinato compreso tra 1 su 11 e 1 su 1000 e villocentesi nei casi senza risultato dopo il test cfDNA/NIPT rischio combinato > 1 su 250 (Modello 2.1b).

**Test cfDNA/NIPT alle gestanti con un rischio compreso tra 1:101 e 1:1.000 dopo il Test Combinato (Modello 2.2)**

Questo modello prevede che a tutte le gestanti venga offerta la possibilità di sottoporsi al Test Combinato. 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 T21, con un tasso di tecniche invasive del 3,8%.

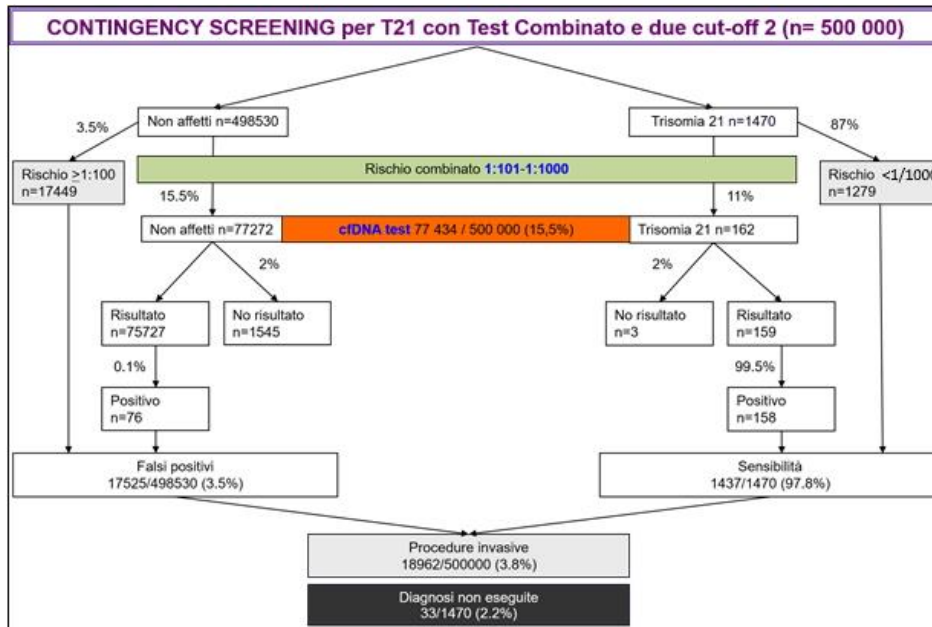


Figura 4. Strategia contingente con il Test Combinato offerto a tutte le gravidanze e il test cfDNA/NIPT solo alle pazienti con rischio combinato compreso tra 1:101 e 1:1000 e nessun'altra indagine nei casi senza risultato dopo cfDNA/NIPT (Modello 2.2a).

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

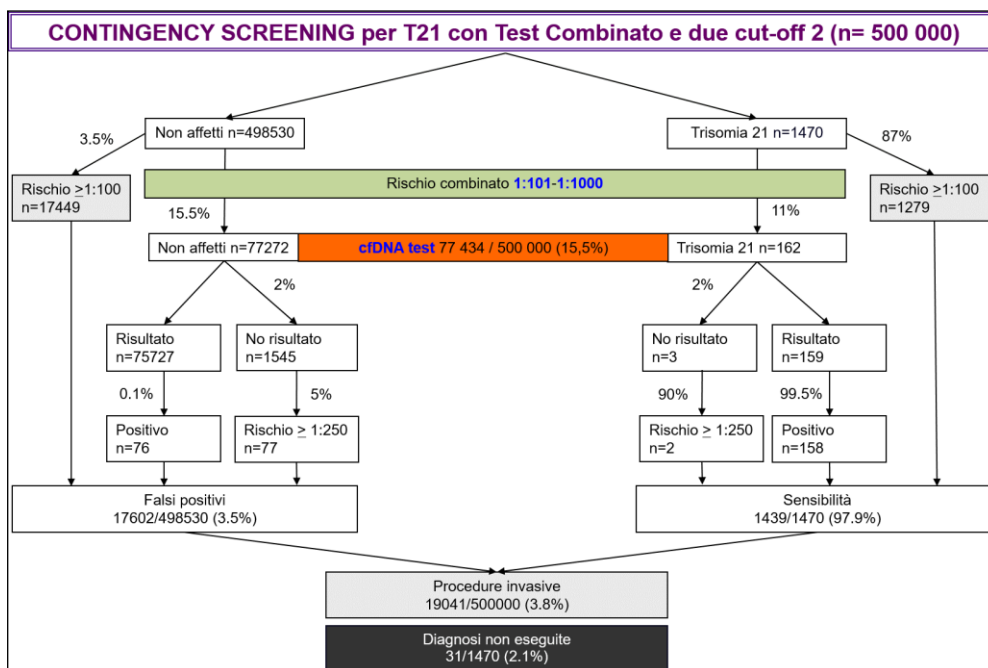


Figura 5. Strategia contingente con il Test Combinato offerto in tutte le gravidanze e il test cfDNA/NIPT solo alle pazienti con un rischio combinato compreso tra 1: 101 e 1:1000 e ricorso alla villocentesi nei casi senza risultato dopo il test cfDNA/NIPT e con un rischio combinato >1:250 (Modello 2.2b).

**ALLEGATO 2: Servizi di offerta ed implementazione regionale del NIPT**

In tutte le Regioni italiane è possibile individuare un servizio di offerta del test cfDNA/NIPT.

Nella Tabella 5 sono riportate le differenze di offerta regionale in relazione alla rimborsabilità del test.

Il NIPT è totalmente rimborsato dal SSN in Emilia Romagna (DGR N°1894 del 4/11/2019) e nella Provincia autonoma di Bolzano (Delibera N° 1413 del 18/12/18).

Un rimborso parziale è previsto dalla Regione Toscana (Delibera N° 1371 del 10-12-2018) e in Basilicata (DGR N°456 del 12/07/ 2019).

In tutte le altre Regioni il test cfDNA/NIPT è totalmente a carico della gestante.

Nel 2020, in seguito alla decisione dell'Emilia-Romagna di rendere gratuito il NIPT, sono state inoltrate proposte con lo stesso fine alle Regioni Piemonte, Lombardia, Veneto, Marche, Campania e Sicilia.

Regioni	Rimborso totale	Rimborso parziale	Costo a carico gestante	Proposte di rendere gratuito il NIPT
Abruzzo			X	
Basilicata		DGR N°456 del 12/07/2019	X	
Calabria			X	
Campania			X	X
Emilia Romagna	DGR N°1894 del 4/11/2019			
Friuli Venezia Giulia			X	
Lazio			X	
Liguria			X	
Lombardia			X	X
Marche			X	X
Molise			X	
Piemonte			X	X
Provincia Autonoma di Bolzano	Delibera N° 1413 del 18/12/18			
Provincia Autonoma di Trento			X	
Puglia			X	
Sardegna			X	X
Sicilia			X	X
Toscana		Delibera N° 1371 del 10-12-2018		
Umbria			X	
Valle d'Aosta			X	
Veneto			X	X

Tabella 5: Rimborsabilità del test cfDNA/NIPT nelle diverse Regioni.

## ALLEGATO 3

### Modello di Consenso Informato per lo screening prenatale non invasivo

Gentile Signora,

Prima di effettuare il test prenatale non invasivo di screening, è indispensabile che Lei sia informata e comprenda in modo appropriato in che cosa consiste l'analisi alla quale può sottoporsi, le opportunità, i limiti e le eventuali alternative, le implicazioni etiche e giuridiche, al fine di effettuare una scelta consapevole e responsabile (opportunità di fare o non fare il test, cosa fare quando riceverà il risultato).

Questa nota informativa contiene le spiegazioni essenziali, che potranno essere integrate da un colloquio, prima e dopo il test, con il medico incaricato di effettuare l'analisi. Nel caso in cui alcune informazioni non risultino chiare, Lei potrà chiedere approfondimenti al medico durante i colloqui di consulenza.

#### ***Test prenatale non invasivo: che cosa è?***

Il test prenatale non invasivo è un'analisi di laboratorio che può essere effettuata sulle donne in gravidanza, idealmente attorno alla decima settimana, per ottenere alcune informazioni sullo stato di salute del feto. Non è un'analisi di routine, e perciò Lei potrà liberamente scegliere se sottoporsi o meno al test.

Non si tratta di un test diagnostico, in quanto l'analisi non stabilisce la presenza o l'assenza di alcune patologie genetiche del feto (di seguito precisate), ma di un test di screening, in quanto definisce la probabilità, e perciò il rischio, che il feto ne sia affetto.

Il test viene definito "non invasivo" in quanto si basa su un semplice prelievo di sangue dalla madre (circa 10-20 ml). Il sangue prelevato contiene una percentuale di DNA libero di origine materna ed una percentuale di DNA della placenta e perciò del feto. Il DNA è il "codice" che identifica le caratteristiche genetiche individuali; per questo, il test è in grado di definire la probabilità della presenza nel feto di alcune patologie genetiche.

#### ***Finalità, possibilità e limiti del test prenatale non invasivo***

Il test prenatale non invasivo consente di misurare la probabilità che il feto sia affetto da una trisomia, ovvero sia presente un cromosoma in più. Il test può fornire anche informazioni sul sesso del feto, in base alla presenza/assenza del cromosoma sessuale maschile (Y).

Il test non fornisce un'analisi genetica completa del feto. In particolare, non è in grado di indagare le caratteristiche di forma e numero di tutti i cromosomi. Un'analisi completa di questo tipo è possibile solo attraverso una tecnica invasiva (ad es. prelievo dei villi coriali o villocentesi, amniocentesi).

### ***Scegliere se effettuare il test***

Il test è preceduto da un colloquio, successivamente al quale Lei potrà decidere se sottoporsi o meno al test. Il colloquio (consulenza pre-test) ha l'obiettivo di illustrarle il significato del test, le opportunità e i limiti, in base alle sue condizioni specifiche, e le opzioni alternative disponibili per il monitoraggio della gravidanza.

Il test prenatale non invasivo non è sostitutivo delle altre indagini cliniche, laboratoristiche e strumentali che fanno parte integrante del monitoraggio della gravidanza. Il test deve essere preceduto da un'ecografia, un esame non invasivo che consente di datare con precisione la gravidanza, rilevare le condizioni del feto e ottenere informazioni utili a decidere se sottoporsi al test prenatale non invasivo.

Il test prenatale non invasivo ha una sensibilità più elevata rispetto agli altri test di screening che combinano le analisi biochimiche e l'ecografia.

### ***Tipologie di test prenatali non invasivi***

Al momento, sono disponibili diversi tipi di indagini prenatali basate sull'analisi del DNA fetale presente nel sangue materno:

- TEST PER LE TRISOMIE AUTOSOMICHE - misura la probabilità che il feto sia affetto da una trisomia dei cromosomi 21,18, 13 (T21, T18, T13).
  - La trisomia 21 (T21) consiste nella presenza di una copia in più di un cromosoma 21 e si associa alla sindrome di Down.
  - La trisomia 18 (T18) consiste nella presenza di una copia in più di un cromosoma 18 e si associa alla sindrome di Edwards.
  - La trisomia 13 (T13) consiste nella presenza di una copia in più di un cromosoma 13 e si associa alla sindrome di Patau.

Il test è stato validato (ossia ne è stata verificata la validità scientifica) sulle gravidanze singole e gemellari bigemine (due gemelli) a partire dalla decima settimana. Il test non è validato per le gravidanze gemellari plurime (più di due feti), e non predice altre anomalie genetiche a cui si possono associare malformazioni e/o disabilità del feto.

- TEST PER LE TRISOMIE AUTOSOMICHE con o senza il test DEL SESSO FETALE - definisce la probabilità che il feto sia affetto da una trisomia dei cromosomi 21, 18, 13 e, se opzionato, ricerca la presenza del cromosoma Y.

La consulenza genetica Le consentirà di identificare il test più appropriato rispetto alle Sue esigenze. Il test viene effettuato con finalità predittiva, cioè per definire la probabilità di anomalie.

### **La consulenza genetica con l'esperto di medicina fetale**

I risultati del test vengono interpretati dal dall'esperto di medicina fetale (specialista in genetica e/o in genetica), nel contesto del quadro clinico complessivo della gravidanza.

Nel caso in cui il test identifichi un'elevata probabilità di un'anomalia cromosomica, i risultati Le saranno comunicati e spiegati attraverso una consulenza genetica, nel corso della quale saranno discussi e concordati eventuali successivi approfondimenti diagnostici a cui Lei potrà sottoporsi utilizzando tecniche invasive (ad es. villocentesi o amniocentesi), ovvero tecniche basate sull'acquisizione diretta delle cellule fetali.

### **Potenziali benefici**

Il test prenatale non invasivo Le consente di acquisire informazioni precoci sulla probabilità che nel feto siano presenti specifiche patologie genetiche, in modo da potere eventualmente decidere se effettuare approfondimenti, basati sui test prenatali invasivi, per diagnosticare la presenza o l'assenza delle anomalie genetiche sospettate attraverso il test di screening.

Il test prenatale non invasivo riduce il ricorso inappropriato ai test genetici, limitatamente alle trisomie citate, permettendo di tranquillizzare e ridurre l'ansia della gestante.

### **Rischi**

La tecnica, per quanto sensibile, non identifica tutti i feti con trisomia.

- La probabilità di un risultato falso negativo (che cioè non venga rilevata la presenza di un'anomalia genetica effettivamente presente) è inferiore all'1%. Questo implica che raramente, alcune gravidanze con feto trisomico possono fornire un risultato di "bassa probabilità" e perciò non identificarlo correttamente.
- La probabilità di un risultato falso positivo (che cioè venga sospettata la presenza di una anomalia genetica che di fatto non c'è) è inferiore allo 0,1%. Perciò, raramente, alcune gravidanze con feto senza trisomia possono fornire un risultato di "alta probabilità". In questi casi il risultato del test di screening può essere verificato solo con una diagnosi invasiva (villocentesi o amniocentesi). Un risultato falso positivo può generare una condizione di ansia.

Occasionalmente, e per ragioni diverse, il test prenatale non invasivo può non fornire un risultato, ad esempio per problemi dovuti all'assenza o ad una bassa percentuale di DNA fetale (2% dei casi) nel campione del sangue materno o per altre cause. Nel caso di risultato non conclusivo al primo prelievo verrà ripetuto il test su secondo prelievo.

Il test [quantifica/non quantifica] e [riporta/non riporta] nel referto la frazione fetale in ogni campione; il



livello minimo della frazione fetale considerata è [%]; nelle gravidanze gemellari il test misura entrambe le frazioni fetali e riporta il risultato solo se entrambi raggiungono il livello minimo di [%] **[questa frase può cambiare a seconda dei test]**

Il test di screening si basa sulle caratteristiche genetiche della placenta che, in rari casi, possono essere discordanti rispetto a quelle del feto.

Il risultato del test può essere compromesso anche da altri fattori, ad esempio la presenza nella madre di anomalie cromosomiche costituzionali non necessariamente associate ad un quadro clinico specifico, oppure la presenza di anomalie cromosomiche indotte da agenti chimici, fisici o biologici (farmaci, radiazioni, infezioni virali), o ancora a causa di una “placenta evanescente” appartenente ad una gravidanza interrotta o della placenta di un feto abortito spontaneamente nelle prime settimane.

### ***Gravidanza gemellare (dizigote)***

Il test prenatale non invasivo può essere eseguito sulle gravidanze dizigoti (2 gemelli), naturali o originate con una tecnica di procreazione medicalmente assistita. Nel secondo caso Lei è tenuta a precisare la tecnica applicata.

Il tasso di identificazione, attraverso il test di screening non invasivo, delle anomalie di numero dei cromosomi nelle gravidanze dizigoti è simile a quello ottenuto nelle gravidanze singole, anche se i dati clinici di validazione del test, in termini di sensibilità e specificità, su queste gravidanze sono ancora limitati. I test sono stati validati sulle gravidanze singole e doppie di almeno 10 settimane. I test non sono utilizzabili, in quanto non sono stati validati, nello screening di alcune anomalie genetiche nelle gravidanze multiple con più di due feti.

La definizione della probabilità della presenza di una trisomia (un cromosoma in più) attraverso il test di screening si basa sull'analisi del DNA libero nel plasma materno, al quale contribuisce in parte il DNA della madre e in parte il DNA delle placente dei due feti.

L'analisi è limitata allo screening delle principali trisomie ed il risultato esprime una probabilità che è distribuita tra i due feti. In presenza di un risultato positivo, il test non indica perciò quale dei due sia affetto e neppure quale di essi abbia una probabilità più elevata di patologia cromosomica; inoltre non fornisce informazioni sul loro sesso.

### ***Prelievo di sangue e campione biologico***

Dal prelievo di sangue viene estratto il materiale biologico sul quale viene effettuato lo screening.

Il campione biologico, contiene sia il Suo DNA, sia quello del feto, e perciò informazioni sulle caratteristiche

genetiche collegate alle informazioni personali. Al fine di proteggere la Sua identità, il campione biologico sarà codificato mediante .... (descrivere tecnica di codifica utilizzata).

La codificazione (cosiddetta pseudonimizzazione) ha la finalità di proteggere i dati personali collegati al campione biologico da potenziali abusi. In ogni caso, la struttura si impegna a garantire la protezione dei dati, anche se trasferiti in Paesi ove non è garantita pari tutela, conformemente alla regolazione vigente.

Il campione di sangue sarà conservato presso... (indicare luogo) o spedito presso... (indicare eventuale luogo ove verrà trasferito, precisando se in Italia o all'estero: se all'estero precisare se si tratta di un Paese che garantisce sufficiente tutela), che si farà carico di eseguire il test.

Di regola, il campione sarà conservato solo per il tempo necessario all'effettuazione del test, a meno che non venga da lei diversamente indicato. Infatti, alla conclusione del test il campione biologico residuo potrebbe essere usato per altre indagini o per la ricerca. Lei può richiedere che il Suo campione biologico residuo sia distrutto dopo l'indagine, oppure può esprimere la volontà di donare il campione biologico per la ricerca, e, in questo caso l'eventuale volontà di essere ricontattata per comprendere l'uso del campione.

### ***Comunicazione del risultato***

Il risultato sarà comunicato a... entro ... giorni.

In generale, un risultato indicativo di una “bassa probabilità di trisomia” deve essere considerato rassicurante, in considerazione dell'elevata specificità del test e del suo elevato valore predittivo negativo.

Nel caso in cui il risultato riveli una elevata probabilità di una patologia, la consulenza genetica chiarirà il significato del risultato del test e consentirà di ottenere le informazioni utili per gli eventuali approfondimenti e su ogni forma di assistenza utile.

### **Dichiarazione finale**

Io sottoscritto dichiaro di avere compreso quanto sopra riportato, in particolare che:

- Il test prenatale non invasivo non fornisce una diagnosi, ma misura la probabilità che il feto sia affetto da una trisomia; il risultato del test pertanto si limita a identificare la probabilità di specifiche anomalie sottoposte allo screening e non fornisce una diagnosi della presenza/assenza nel feto delle patologie genetiche indagate;
- l'analisi completa del cariotipo (assetto cromosomico) del feto può essere effettuata solo utilizzando una tecnica invasiva (villocentesi o amniocentesi);
- sono a conoscenza che in circa il 2% dei casi il test non è in grado di fornire un risultato per l'assenza o per la bassa concentrazione del DNA fetale; in questo caso posso chiedere la ripetizione dell'esame o il suo

rimborso;

- ho informato il medico sulla mia gravidanza (naturale o effettuata con procreazione medicalmente assistita).

- sono stata informata che il campione del mio sangue, prelevato per effettuare il test, è conservato presso ...

- sono stata informata che, salvo diversamente da me indicato, il campione sarà conservato solo per il tempo necessario ad effettuare il test;

- il campione acquisito per il test prenatale non invasivo non sarà utilizzato per nessuna altra indagine senza il mio consenso e sarà successivamente distrutto.

La mia firma sul presente modulo indica che ho letto, o che mi è stata letta e mi è stata spiegata, l'informativa di cui sopra, che ho compreso pienamente.

Ho avuto anche la possibilità di porre tutte le domande che ho ritenuto necessarie e il medico mi ha illustrato lo scopo, le implicazioni e i potenziali benefici e i possibili rischi del test. Sono a conoscenza che, su richiesta, posso ottenere una ulteriore consulenza di un genetista medico, prima di sottoscrivere questo consenso.

Di conseguenza do il consenso all'esecuzione del:

TEST PER LE TRISOMIE AUTOSOMICHE, T21, T18, T13

TEST PER LE TRISOMIE AUTOSOMICHE T21, T18, T13 E L'ANALISI DEL SESSO FETALE

Sono consapevole che il mio campione biologico residuo sarà distrutto dopo l'indagine

Desidero donare il campione biologico per la ricerca

Desidero essere ricontattata per comprendere l'uso che verrà fatto del campione nell'ambito della ricerca futura

Luogo \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_\_

Firma della donna che ha richiesto il Test prenatale non invasivo

\_\_\_\_\_

Residenza/Recapiti \_\_\_\_\_

Firma del Professionista che ha provveduto all'informativa e raccolto il consenso \_\_\_\_\_

**GLOSSARIO:**

**Allele:** forma alternativa di un gene, che occupa la stessa posizione su una coppia di cromosomi omologhi.

**Aneuploidie autosomiche:** anomalie caratterizzate dall'alterazione nel numero dei cromosomi autosomici (non sessuali), in particolare monosomie (presenza di una sola copia del cromosoma) o trisomie (tre copie di un cromosoma).

**Eterozigosi:** condizione genetica di una cellula o di un organismo costituita dalla presenza di una coppia di alleli diversi in un determinato gene.

**Fenotipo:** aspetto fisico, biochimico e fisiologico di una persona, dovuto all'interazione del genoma con l'ambiente.

**Gene:** parte della molecola del DNA di un cromosoma che dirige la sintesi di una specifica catena polipeptidica.

**Genoma:** insieme di tutte le informazioni genetiche depositate nella sequenza del DNA contenuto nel nucleo delle cellule sotto forma di cromosomi.

**Incidental findings:** riscontro incidentale di una variante clinicamente rilevante non associata all'indicazione clinica.

**Locus:** sede fisica di un gene sul cromosoma.

**Malattie mendeliane:** malattie genetiche che seguono i modelli di trasmissione dei caratteri semplici (malattie monogeniche) e sono dovute alle mutazioni di un singolo gene, definito gene malattia.

**Mutazione:** modificazione stabile e trasmissibile del patrimonio genetico, a livello di un gene o dei cromosomi; le mutazioni dei gameti sono ereditarie.

**Omozigosi:** condizione in cui ognuno dei due o più alleli dello stesso gene, presenti in ciascun cromosoma omologo, codificano in maniera identica.

**RICE (Rapporto Incrementale di Costo-Efficacia):** rapporto tra differenza di costo e differenza di beneficio tra due programmi/interventi alternativi ( $\Delta C/\Delta B$ ).

**Screening:** strategia (protocollo) di indagini eseguite allo scopo di identificare, all'interno di una popolazione, i soggetti a rischio per una patologia.

**Sequenziamento:** metodica che permette di determinare l'ordine dei nucleotidi nella molecola del DNA.

**Vanishing twin:** condizione che si verifica in gravidanze che iniziano come gemellari e in cui, successivamente, uno dei due feti si riassorbe (gemello evanescente), mentre l'altro prosegue nella gestazione.

**Varianti polimorfiche:** sostituzioni nucleotidiche del DNA che si presentano con una frequenza superiore all'1% nella popolazione.

**ACRONIMI:**

<b>ACCE</b>	<i>Analytic validity, Clinical validity, Clinical utility and associated Ethical, legal and social implications</i> (validità analitica, validità e utilità clinica, e implicazioni etiche, legali e sociali)
<b>ACMG</b>	<i>American College of Medical Genetics</i> (società scientifica americana di genetica medica)
<b>ACOG</b>	<i>American College of Obstetricians and Gynecologists</i> (società scientifica americana degli ostetrici e ginecologi)
<b>AFP</b>	Alfa-feto proteina
<b>ASHG</b>	<i>American Society of Human Genetics</i> (società americana di genetica umana)
<b>CDC</b>	<i>Centers of Control Diseases</i> centri di controllo e prevenzione delle malattie
<b>CE/IVD</b>	Comunità Europea/Diagnostici in Vitro
<b>cfDNA</b>	<i>cell-free DNA</i> (DNA fetale libero)
<b>CNB</b>	Comitato Nazionale per la Bioetica
<b>CSS</b>	Consiglio Superiore di Sanità
<b>ddPCR</b>	<i>Droplet Digital PCR</i>
<b>DNA</b>	Acido Desossiribonucleico o deossiribonucleico
<b>DR</b>	<i>Detection rate</i> (tasso di rilevamento)
<b>ESHG</b>	<i>European Society of Human Genetics</i> (società europea di genetica umana)
<b>FF</b>	Frazione Fetale
<b>FMF</b>	<i>Fetal Medicine Foundation</i> (fondazione di medicina fetale)
<b>FNR</b>	<i>False Negative Rate</i> (tasso di falsi negativi)
<b>FPR</b>	<i>False Positive Rate</i> (tasso di falsi positivi)
<b>GdL</b>	Gruppo di Lavoro
<b>hCG</b>	<i>Human chorionic gonadotropin</i> (gonadotropina corionica)
<b>IRCCS</b>	Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico
<b>ISPD</b>	<i>International Society for Prenatal Diagnosis</i> (società internazionale di diagnosi prenatale)
<b>IUGR</b>	<i>Intra Uterine Growth Restriction</i> (ritardo di crescita intrauterino)
<b>LEA</b>	Livelli Essenziali di Assistenza
<b>NGS</b>	<i>Next Generation Sequencing</i> (sequenziamento di nuova/seconda generazione)
<b>NICE</b>	<i>National Institute for Health and Care Excellence</i> (istituto nazionale per la salute e l'eccellenza nella cura – organizzazione inglese)
<b>NIPT</b>	<i>Non Invasive Prenatal Testing</i> (test prenatale non invasivo)
<b>NPV</b>	<i>Negative Predictive Value</i> (valore predittivo negativo)
<b>NT</b>	<i>Nuchal Translucency</i> (translucenza nucale)
<b>PAPP-A</b>	<i>Pregnancy Associated Plasma Protein A</i> (proteina plasmatica A associata alla gravidanza)

---

<b>PPV</b>	<i>Positive Predictive Value</i> (valore predittivo positivo)
<b>QALYs</b>	<i>Quality Adjusted Life Years Saved</i>
<b>RICE</b>	<i>Incremental Cost-Effectiveness Ratio</i> (Rapporto Incrementale di Costo-Efficacia)
<b>RNA</b>	Acido Ribonucleico
<b>RCOG</b>	<i>Royal College of Obstetricians and Gynecologists</i> (società scientifica inglese degli ostetrici e ginecologi)
<b>SIGU</b>	Società Italiana di Genetica Umana
<b>SMFM</b>	<i>Society of Maternal-Fetal Medicine</i> (società di medicina fetale e materna)
<b>SNLG-ISS</b>	Sistema Nazionale Linee Guida – Istituto Superiore di Sanità
<b>SOGC</b>	<i>Society of Obstetricians and Gynecologists of Canada</i> (società scientifica degli ostetrici e ginecologi del Canada)
<b>SSN</b>	Servizio Sanitario Nazionale
<b>T13</b>	Trisomia 13
<b>T18</b>	Trisomia 18
<b>T21</b>	Trisomia 21
<b>uE3</b>	Estriolo libero
<b>VoUS</b>	<i>Variations Of Uncertain Significance</i> (varianti di significato incerto)
<b>WHO</b>	World Health Organization (Organizzazione Mondiale della Sanità – OMS)

## Bibliografia

1. Guidelines DNA-based Non-Invasive Prenatal Testing (Non Invasive Prenatal Testing - NIPT) Ministry of Health Higher Health Council Section I [[http://www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_2381\\_allegato.pdf](http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2381_allegato.pdf)].
2. Dondorp W, de Wert G, Bombard Y, Bianchi DW, Bergmann C, Borry P, Chitty LS, Fellmann F, Forzano F, Hall A, Henneman L, Howard HC, Lucassen A, Ormond K, Peterlin B, Radojkovic D, Rogowski W, Soller M, Tibben A, Tranebjærg L, van El CG, Cornel MC, European Society of Human Genetics; American Society of Human Genetics. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy and beyond: challenges of responsible innovation in prenatal screening. *Eur J Hum Genet.* 23:1438-1450 (2015).
3. Wilson JMG, Jungner G. Principles and Practice of Screening for Disease. *WHO Chronicle.* 22:473 (1968).
4. Andermann A, Blancquaert I, Beauchamp S, Costea I. Guiding policy decisions for genetic screening: developing a systematic and transparent approach. *Public Health Genomics.* 14:9-16 (2011).
5. Andermann A, Blancquaert I, Beauchamp S, Déry V. Revisiting Wilson and Jungner in the genomic age: a review of screening criteria over the past 40 years. *Bull World Health Organ.* 86:317-319 (2008).
6. ACCE Model Process for Evaluating Genetic Tests <https://www.cdc.gov/genomics/gtesting/ACCE/>
7. ACOG Practice Bulletin No. 226: screening for fetal chromosomal abnormalities. *Obstet Gynecol.* 136:859-867 (2020).
8. Johnson K, Kelley J, Saxton V, Walker SP, Hui L. Declining invasive prenatal diagnostic procedures: A comparison of tertiary hospital and national data from 2012 to 2015. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 57:152-156 (2017).
9. Larion S, Warsof SL, Romary L, Mlynarczyk M, Peleg D, Abuhamad AZ. Association of combined first-trimester screen and noninvasive prenatal testing on diagnostic procedures. *Obstet Gynecol.* 123:1303-1310 (2014).
10. Suskin BG, Sciscione AM, Teigen N, Jenkins TC, Wapner RJ, Gregg AR, Gross SJ, Bajaj K. Revisiting the challenges of training Maternal Fetal Medicine fellows in chorionic villus sampling. *Am J Obstet Gynecol.* 215:777.e1-777.e4 (2016).
11. ACOG Practice Bulletin No. 77: Screening of fetal prenatal chromosomal abnormalities. 2007 Jan;109(1):217-27
12. Framarin A. First-trimester prenatal screening for Down syndrome and other aneuploidies. Montréal: Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé (AETMIS). (2003).
13. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Antenatal screening of Down syndrome. RCOG, London 2003.
14. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Antenatal care. Routine care for the healthy pregnant woman. RCOG, London 2003.
15. SOGC Clinical Practice guideline. Prenatal screening for fetal aneuploidy. 187:146-161 (2007).
16. UK National Screening Committee. National Down syndrome screening programme for England. NSC, London 2003.
17. SIGU documento di indirizzo sull'impiego di indagini prenatali non invasive. (2016) <https://www.sigu.net/show/documenti/5/1/linee%20guida%20e%20raccomandazioni?page=0>

18. SIGU documento di indirizzo sulla 'Conferma diagnostica dopo NIPT con risultato ad alto rischio, non informativo o sesso discordante' (Approvato da: Società Italiana di Ecografia Ostetrica e Ginecologica e Metodologie Biofisiche (SIEOG), Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia (SIGO) e Associazione Ostetrici e Ginecologi Ospedalieri Italiani (AOGOI)). <https://www.sigu.net/commissioni/more/sezione-id/5/area/Documenti>
19. Wald NJ, Watt HC, Hackshaw AK. Integrated screening for Down's syndrome based on tests performed during the first and second trimester. *N Engl J Med*. 341: 461-467 (1999).
20. Nicolaides KH. Nuchal translucency and other first trimester sonographic markers of chromosomal abnormalities. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 191:45-67 (2004).
21. Gregg AR, Skotko BG, Benkendorf JL, Monaghan KG, Bajaj K, Best RG, Klugman S, Watson MS. Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med*. 18:1056-1065 (2016).
22. Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM), Norton ME, Biggio JR, Kuller JA, Blackwell SC. The role of ultrasound in women who undergo cell-free DNA screening. *Am J Obstet Gynecol*. 216:B2-B7 (2017).
23. Benn P, Borrell A, Chiu RW, Cuckle H, Dugoff L, Faas B, Gross S, Huang T, Johnson J, Maymon R, Norton M, Odibo A, Schielen P, Spencer K, Wright D, Yaron Y. Position statement from the Chromosome Abnormality Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis. *Prenat Diagn*. 35:725-734 (2015).
24. Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM) Publications Committee. #36: Prenatal aneuploidy screening using cell-free DNA. Electronic address: [pubs@smfm.org](mailto:pubs@smfm.org). *Am J Obstet Gynecol*. 212:711-716 (2015).
25. Gil MM, Accurti V, Santacruz B, Plana MN, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 50:302-314 (2017).
26. Gil MM, Galeva S, Jani J, Konstantinidou L, Akolekar R, Plana MN, Nicolaides KH. Screening for trisomies by cfDNA testing of maternal blood in twin pregnancy: update of The Fetal Medicine Foundation results and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 53:734-742 (2019).
27. Palomaki GE, Chiu RWK, Pertile MD, Sidermans EA, Yaron Y, Vermeesch JR, Vora NL, Best RG, Wilkins-Haug L. International Society for Prenatal Diagnosis Position Statement: cell free (cf)DNA screening for Down syndrome in multiple pregnancies. *Prenat Diagn*. 2020 Oct 5. doi: 10.1002/pd.5832
28. Mennuti MT, Chandrasekaran S, Khalek N, Dugoff L. Cell-free DNA screening and sex chromosome aneuploidies. *Prenat Diagn*. 35:980-985 (2015).
29. Hsu LY. Phenotype/karyotype correlations of Y chromosome aneuploidy with emphasis on structural aberrations in postnatally diagnosed cases. *Am J Med Genet*. 53:108-140 (1994).
30. Jacobs PA. The incidence and etiology of sex chromosome abnormalities in man. *Birth Defects Orig Artic Ser*. 15:3-14 (1979).
31. Samango-Sprouse C, Stapleton EJ, Lawson P, Mitchell F, Sadeghin T, Powell S, Gropman AL. Positive effects of early androgen therapy on the behavioral phenotype of boys with 47,XXY. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 169:150-157 (2015).



32. Lüthgens K, Grati FR, Sinzel M, Häbig K, Kagan KO. Confirmation rate of cell free DNA screening for sex chromosomal abnormalities according to the method of confirmatory testing. *Prenat Diagn.* doi:10.1002/pd.5814 (2020).
33. Browne TK. Why parents should not be told the sex of their fetus. *J Med Ethics.* 43:5-10 (2017).
34. Chapman AR, Benn PA. Noninvasive prenatal testing for early sex identification: a few benefits and many concerns. *Perspect Biol Med.* 56:530-547 (2013).
35. Hooks J, Wolfberg AJ, Wang ET, Struble CA, Zahn J, Juneau K, Mohseni M, Huang S, Bogard P, Song K, Oliphant A, Musci TJ. Non-invasive risk assessment of fetal sex chromosome aneuploidy through directed analysis and incorporation of fetal fraction. *Prenat Diagn.* 34:496-499 (2014).
36. Pergament E, Cuckle H, Zimmermann B, et al. Single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal screening in a high-risk and low-risk cohort. *Obstet Gynecol.* 124:210-218 (2014).
37. Bianchi DW, Platt LD, Goldberg JD, Abuhamad AZ, Sehnert AJ, Rava RP, MaternalBlood IS Source to Accurately diagnose fetal aneuploidy (MELISSA) Study Group. Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing. *Obstet Gynecol.* 119: 890–901 (2012).
38. Porreco RP, Garite TJ, Maurel K, Marusiak B, Obstetrix Collaborative Research Network, Ehrich M, van den Boom D, Deciu C, Bombard A. Noninvasive prenatal screening for fetal trisomies 21, 18, 13 and the common sex chromosome aneuploidies from maternal blood using massively parallel genomic sequencing of DNA. *Am J Obstet Gynecol.* 211:365.e1-12 (2014).
39. Villela D, Che H, Van Ghelue M, Dehaspe L, Brison N, Van Den Bogaert K, Devriendt K, Lewi L, Bayindir B, Vermeesch JR. Fetal sex determination in twin pregnancies using non-invasive prenatal testing. *NPJ Genom Med.* 4:15 (2019).
40. Grati FR, Molina Gomes D, Ferreira JC, Dupont C, Alesi V, Gouas L, Horelli-Kuitunen N, Choy KW, García-Herrero S, Gonzalez de la Vega A, Piotrowski K, Genesio R, Queipo G, Malvestiti B, Hervé B, Benzacken B, Novelli A, Vago P, Piippo K, Leung TY, Maggi F, Quibel T, Tabet AC, Simoni G, Vialard F. Prevalence of recurrent pathogenic microdeletions and microduplications in over 9500 pregnancies. *Prenat Diagn.* 35:801-809 (2015).
41. Schmid M, Wang E, Bogard PE, Bevilacqua E, Hacker C, Wang S, Doshi J, White K, Kaplan J, Sparks A, Jani JC, Stokowski R. Prenatal Screening for 22q11.2 Deletion Using a Targeted Microarray-Based Cell-Free DNA Test. *Fetal Diagn Ther.* 44:299-304 (2018).
42. Ravi H, McNeill G, Goel S, Meltzer SD, Hunkapiller N, Ryan A, Levy B, Demko ZP. Validation of a SNP-based non-invasive prenatal test to detect the fetal 22q11.2 deletion in maternal plasma samples. *PLoS One.* 13:e0193476 (2018).
43. Liang D, Cram DS, Tan H, Linpeng S, Liu Y, Sun H, Zhang Y, Tian F, Zhu H, Xu M, Wang H, Yu F, Wu L. Clinical utility of noninvasive prenatal screening for expanded chromosome disease syndromes. *Genet Med.* 21:1998–2006 (2019).
44. Martin K, Iyengar S, Kalyan A, Lan C, Simon AL, Stosic M, Kobara K, Ravi H, Truong T, Ryan A, Demko ZP, Benn P. Clinical Experience with a Single-Nucleotide Polymorphism-Based Noninvasive Prenatal Test for Five Clinically Significant Microdeletions. *Clin Genet.* 93:293-300 (2018).
45. Helgeson J, Wardrop J, Boomer T, Almasri E, Paxton WB, Saldivar JS, Dharajiya N, Monroe TJ, Farkas DH, Grosu DS, McCullough RM. Clinical outcome of subchromosomal events detected by whole-genome noninvasive prenatal testing. *Prenat Diagn.* 35:999-1004 (2015).

46. Kagan KO, Hoopmann M, Pfaff T, Prodan N, Wagner P, Schmid M, Dufke A, Mau-Holzmann U, Brucker S, Marcato L, Malvestiti B, Grati FR. First Trimester Screening for Common Trisomies and Microdeletion 22q11.2 Syndrome Using Cell-Free DNA: A Prospective Clinical Study. *Fetal Diagn Ther.* 47:841-852 (2020).
47. Petersen AK, Cheung SW, Smith JL, Bi W, Ward PA, Peacock S, Braxton A, Van Den Veyver IB, Breman AM. Positive predictive value estimates for cell-free noninvasive prenatal screening from data of a large referral genetic diagnostic laboratory. *Am J Obstet Gynecol.* 217:691.e1-691.e6 (2017).
48. Benn P, Malvestiti F, Grimi B, Maggi F, Simoni G, Grati FR. Rare autosomal trisomies: comparison of detection through cell-free DNA analysis and direct chromosome preparation of chorionic villus samples. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 54:458-467 (2019).
49. Brady P, Brison N, Van Den Bogaert K, de Ravel T, Peeters H, Van Esch H, Devriendt K, Legius E, Vermeesch JR. Clinical implementation of NIPT – technical and biological challenges. *Clin Genet.* 89:523–530 (2016).
50. Pescia G, Guex N, Iseli C, Brennan L, Osteras M, Xenarios I, Farinelli L, Conrad B. Cell-free DNA testing of an extended range of chromosomal anomalies: clinical experience with 6,388 consecutive cases. *Genet Med.* 19:169–175 (2017).
51. Ehrich M, Tynan J, Mazloom A, Almasri E, McCullough R, Boomer T, Grosu D, Chibuk J. Genome-wide cfDNA screening: clinical laboratory experience with the first 10 000 cases. *Genet Med.* 19:1332–1337 (2017).
52. Pertile MD, Halks-Miller M, Flowers N, Barbacioru C, Kinnings SL, Vavrek D, Seltzer WK, Bianchi DW. Rare autosomal trisomies, revealed by maternal plasma DNA sequencing, suggest increased risk of feto-placental disease. *Sci Transl Med.* 9:eaan1240 (2017).
53. Fiorentino F, Bono S, Pizzuti F, Duca S, Polverari A, Faieta M, Baldi M, Diano L, Spinella F. The clinical utility of genome-wide non-invasive prenatal screening. *Prenat Diagn.* 37:593–601 (2017).
54. van Opstal D, van Maarle MC, Lichtenbelt K, Weiss MM, Schuring-Blom H, Bhola SL, Hoffer MJV, Huijsdens-van Amsterdam K, Macville MV, Kooper AJA, Faas BHW, Govaerts L, Tan-Sindhunata GM, den Hollander N, Feenstra I, Galjaard RH, Oepkes D, Ghesquiere S, Brouwer RWW, Beulen L, Bollen S, Elferink MG, Straver R, Henneman L, Page-Christiaens GC, Sistermans EA. Origin and clinical relevance of chromosomal aberrations other than the common trisomies detected by genome-wide NIPS: results of the TRIDENT study. *Genet Med.* 20:480–485 (2018).
55. Liang D, Lin Y, Qiao F, Li H, Wang Y, Zhang J, Liu A, Ji X, Ma D, Jiang T, Hu P, Xu Z. Perinatal outcomes following cell-free DNA screening in >32 000 women: Clinical follow-up data from a single tertiary center. *Prenat Diagn.* 38:755–764 (2018).
56. Scott F, Bonifacio M, Sandow R, Ellis K, Smet ME, McLennan A. Rare autosomal trisomies: Important and not so rare. *Prenat Diagn.* 38:765–771 (2018).
57. Wan J, Li R, Zhang Y, Jing X, Yu Q, Li F, Li Y, Zhang L, Yi C, Li J, Li D, Liao C. Pregnancy outcome of autosomal aneuploidies other than common trisomies detected by non-invasive prenatal testing in routine clinical practice. *Prenat Diagn.* 38:849–857 (2018).
58. Chatron N, Till M, Abel C, Bardel C, Ramond F, Sanlaville D, Schluth-Bolard C. Detection of rare autosomal trisomies through non-invasive prenatal testing: benefits for pregnancy management. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 53:129–130 (2019).

59. van der Meij KRM, Sistermans EA, Macville MVE, Stevens SJC, Bax CJ, Bekker MN, Bilardo CM, Boon EMJ, Boter M, Diderich KEM, de Die-Smulders CEM, Duin LK, Faas BHW, Feenstra I, Haak MC, Hoffer MJV, den Hollander NS, Hollink IHIM, Jehee FS, Knapen MFCM, Kooper AJA, van Langen IM, Lichtenbelt KD, Linskens IH, van Maarle MC, Oepkes D, Pieters MJ, Schuring-Blom GH, Sikkelaars E, Sikkema-Raddatz B, Smeets DFCM, Srebniak MI, Suijkerbuijk RF, Tan-Sindhunata GM, van der Ven AJEM, van Zelderren-Bhola SL, Henneman L, Galjaard RH, Van Opstal D, Weiss MM; Dutch NIPT Consortium. TRIDENT-2: National Implementation of Genome-wide Non-invasive Prenatal Testing as a First-Tier Screening Test in the Netherlands. *Am J Hum Genet.* 105:1091-1101 (2019).
60. Kleinfinger P, Lohmann L, Luscan A, Trost D, Bidat L, Debarge V, Castaigne V, Senat MV, Brechard MP, Guilbaud L, Le Guyader G, Satre V, Laurichesse Delmas H, Lallaoui H, Manca-Pellissier MC, Boughalem A, Valduga M, Hodeib F, Benachi A, Costa JM. Strategy for Use of Genome-Wide Non-Invasive Prenatal Testing for Rare Autosomal Aneuploidies and Unbalanced Structural Chromosomal Anomalies. *J Clin Med.* 9:2466 (2020).
61. Benn P, Grati FR. Genome-wide non-invasive prenatal screening for all cytogenetically visible imbalances. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 51:429-433 (2018).
62. Di Renzo GC, Bartha JL, Bilardo CM. Expanding the indications for cell-free DNA in the maternal circulation: clinical considerations and implications. *Am J Obstet Gynecol.* 220:537-542 (2019).
63. Jani JC, Gil MM, Benachi A, Prefumo F, Kagan KO, Tabor A, Bilardo CM, Di Renzo GC, Nicolaides KH. Genome-wide cfDNA testing of maternal blood. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 55:13-14 (2020).
64. Benn P, Grati FR, Ferreira J. Response to Sistermans et al. *Genet Med.* 22:659-660 (2020).
65. Curnow KJ, Wilkins-Haug L, Ryan A, Kirkizlar E, Stosic M, Hall MP, Sigurjonsson S, Demko Z, Rabinowitz M, Gross SJ. Detection of triploid, molar, and vanishing twin pregnancies by a single-nucleotide polymorphism based noninvasive prenatal test. *Am J Obstet Gynecol.* 212:79.e1-9 (2015).
66. Wright CF, Wei Y, Higgins JP, Sagoo GS. Non-invasive prenatal diagnostic test accuracy for fetal sex using cell-free DNA a review and meta-analysis. *BMC Res Notes.* 5: 476 (2012).
67. Hill M, Lewis C, Jenkins L, Allen S, Elles RG, Chitty LS. Implementing noninvasive prenatal fetal sex determination using cell-free fetal DNA in the United Kingdom. *Expert Opin Biol Ther.* 12:S119-126 (2012).
68. Avent ND, Chitty LS. Non-invasive diagnosis of fetal sex; utilisation of free fetal DNA in maternal plasma and ultrasound. *Prenat Diagn.* 26:598-603 (2006).
69. Hayward J, Chitty LS. Beyond screening for chromosomal abnormalities: Advances in non-invasive diagnosis of single gene disorders and fetal exome sequencing. *Semin Fetal Neonatal Med.* 23:94-101 (2018).
70. Ashoor G, Syngelaki A, Poon LC, Rezende JC, Nicolaides KH. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation: relation to maternal and fetal characteristics. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 41:26-32 (2013).
71. Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE, Neveux LM, Ehrich M, van den Boom D, Bombard AT, Deciu C, Grody WW, Nelson SF, Canick JA. DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: an international clinical validation study. *Genet Med.* 13:913-920 (2011).
72. Canick JA, Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE. The impact of maternal plasma DNA fetal fraction on next generation sequencing tests for common fetal aneuploidies. *Prenat Diagn.* 33:667-674 (2013).
73. Wright D, Wright A, Nicolaides KH. A unified approach to risk assessment for fetal aneuploidies. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 45:48-54 (2015).

74. Schmid M, White K, Stokowski R, Miller D, Bogard PE, Valmeekam V, Wang E. Accuracy and reproducibility of fetal-fraction measurement using relative quantitation at polymorphic loci with microarray. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 51:813-817 (2018).
75. Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, Hudgins L, Quake SR. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. *Proc Natl Acad Sci USA.* 105:16266–16271 (2008).
76. Rava RP, Srinivasan A, Sehnert AJ, Bianchi DW. Circulating fetal cell-free DNA fractions differ in autosomal aneuploidies and monosomy X. *Clin Chem.* 60:243–250 (2014).
77. Nygren AO, Dean J, Jensen TJ, Kruse S, Kwong W, van den Boom D, Ehrich M. Quantification of fetal DNA by use of methylation-based DNA discrimination. *Clin Chem.* 56:1627–1635 (2010).
78. Yu SC, Chan KC, Zheng YW, Jiang P, Liao GJ, Sun H, et al. Size-based molecular diagnostics using plasmaDNA for noninvasive prenatal testing. *Proc Natl Acad Sci USA.* 111:8583–8588 (2014).
79. Kim SK, Hannum G, Geis J, Tynan J, Hogg G, Zhao C, Jensen TJ, Mazloom AR, Oeth P, Ehrich M, van den Boom D, Deciu C. Determination of fetal DNA fraction from the plasma of pregnant women using sequence read counts. *Prenat Diagn.* 35:810–815 (2015).
80. Straver R, Oudejans CB, Sistermans EA, Reinders MJT. Calculating the fetal fraction for noninvasive prenatal testing based on genome-wide nucleosome profiles. *Prenat Diagn.* 36:614–621 (2016).
81. Chan KC, Jiang P, Sun K, Cheng YK, Tong YK, Cheng SH, Wong AIC, Hudecova I, Leung TY, Chiu RWK, Lo YMD. Second generation noninvasive fetal genome analysis reveals de novo mutations, single-base parental inheritance, and preferred DNA ends. *Proc Natl Acad Sci USA.* 113:E8159–8168 (2016).
82. Peng XL, Jiang P. Bioinformatics approaches for fetal DNA fraction estimation in non-invasive prenatal testing. *Int J Mol Sci.* 18:453-462 (2017).
83. Hestand MS, Bessem M, van Rijn P, de Menezes RX, Sie D, Bakker I, Boon EMJ, Sistermans EA, Weiss MM. Fetal fraction evaluation in non-invasive prenatal screening (NIPS). *Eur J Hum Genet.* 27:198-202 (2019).
84. Hui L, Bianchi DW. Fetal fraction and noninvasive prenatal testing: What clinicians need to know. *Prenat Diagn.* 40:155-163 (2020).
85. Takoudes T, Hamar B. Performance of non-invasive prenatal testing when fetal cell-free DNA is absent. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 45:112 (2015).
86. Bevilacqua E, Guizani M, Cos Sanchez T, Jani JC. Concerns with performance of screening for aneuploidy by cell-free DNA analysis of maternal blood in twin pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 47:124-125 (2016).
87. Galeva S, Gil MM, Konstantinidou L, Akolekar R, Nicolaides KH. First-trimester screening for trisomies by cfDNA testing of maternal blood in singleton and twin pregnancies: factors affecting test failure. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 53:804-809 (2019).
88. Sarno L, Revello R, Hanson E, Akolekar R, Nicolaides KH. Prospective first-trimester screening for trisomies by cell-free DNA testing of maternal blood in twin pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 47:705-711 (2016).
89. Grati FR, Kagan KO. Rate of no result in cell-free DNA testing and its influence on test performance metrics. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 50:134-137 (2017).

90. Bianchi DW. Cherchez la femme: maternal incidental findings can explain discordant prenatal cell-free DNA sequencing results. *Genet Med*. 20:910-917 (2018).
91. Comitato Nazionale per la Bioetica, Diagnosi prenatali, 18 luglio 1992.
92. Nuffield Council on Bioethics, Non-invasive prenatal testing: ethical issues. (2017).
93. Nuffield Council on Bioethics, Non-Invasive Prenatal Testing (NIPT). Identifying key clinical, ethical, social, legal and policy issues, background paper. (2015).
94. Swedish Council on Medical Ethics, Analysis of fetal DNA in the woman's blood: Non-invasive prenatal testing (NIPT) for trisomy 13, 18 and 21 – ethical aspects. (2015).
95. Brown TK. Why parents should not be told the sex of their fetus, *J Med Ethics*, 2016; 0: 1-6
96. Chapman AR, Benn PPA. Noninvasive prenatal testing for early sex identification: a few benefits and many concerns, Perspectives, in *Biology and Medicine*, Volume 56, Number 4, Autumn 2013, pp. 530-547
97. Bowman-Smart H, Savulescu J, Gyngell C, Mand C, Delatycki MB. Sex selection and non-invasive prenatal testing: a review of current practices, evidence, and ethical issues, *Prenatal Diagnosis*. 2020; 40: 398-407.
98. García-Pérez L, Linertová R, Álvarez-de-la-Rosa M et al. Cost-effectiveness of cell-free DNA in maternal blood testing for prenatal detection of trisomy 21, 18 and 13: a systematic review. *Eur J Health Econ* 2018; 19(7):979-991.
99. Nikita JM, Wright SJ, Gavan SP, Vass CM. The role of information provision in economic evaluations of non-invasive prenatal testing: a systematic review. *Eur J Health Econ*. 20:1123-1131 (2019).
100. Prefumo F, Paolini D, Speranza G, Palmisano M, Dionisi M, Camurri L. The contingent use of cell-free fetal DNA for prenatal screening of trisomies 21, 18, 13 in pregnant women within a national health service: A budget impact analysis. *PLoS One*. 14:e0218166 (2019).
101. Bayón JC, Orruño E, Portillo MI, Asua Y. The consequences of implementing non-invasive prenatal testing with cell-free foetal DNA for the detection of Down syndrome in the Spanish National Health Service: a cost-effectiveness analysis. *Cost Eff Resour Alloc*. 17:6 (2019).
102. Kostenko E, Chantraine F, Vandeweyer F, Schmid M, Lefevre A, Hertz D, Zelle L, Bartha JL, Di Renzo GC. Clinical and Economic Impact of Adopting Noninvasive Prenatal Testing as a Primary Screening Method for Fetal Aneuploidies in the General Pregnancy Population, *Fetal Diagn Ther*. 45:413–423 (2019).
103. Xie Q, Wang M, Suk-Ying Goh E, Ungar WJ, Little J, Carroll JC, Okun N, Huang T, Rousseau F, Dougan SD, Tu HA, Higgins C, Holubowich C, Sikich N, Dhalla IA, NgV. Noninvasive Prenatal Testing for Trisomies 21, 18, and 13, Sex Chromosome Aneuploidies, and Microdeletions in Average-Risk Pregnancies: A Cost-Effectiveness Analysis. *J Obstet Gynaecol Can*. 42:740-749 (2020).
104. Zhang W, Mohammadi T, Sou J, Anis AH. Cost-effectiveness of prenatal screening and diagnostic strategies for Down syndrome: A microsimulation modeling analysis. *PLoS One*. 14:e0225281 (2019).
105. 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*. 45:249-266 (2015).
106. 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*. 47:45-52 (2016).



*Ministero della Salute*

*Consiglio Superiore di Sanità*

Sessione LII (2019-2022)

**Sezione I**

*Presidente: Prof. Bruno Dallapiccola*  
*Segretario tecnico: Dr. Stefano Moriconi*

**Gruppo di lavoro “Screening del DNA fetale non invasivo (NIPT) in sanità pubblica” - NIPT 3**

**Prof. Bruno Dallapiccola**

*Presidente Sezione I CSS - Coordinatore*

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

**Prof. Giovanni Scambia**

*Vice Presidente Sezione I CSS*

Professore Ordinario Ginecologia e Ostetricia, Direttore Dip.to Scienze salute della donna e del bambino e Direttore UO  
Ginecologia. Direttore Scientifico IRCCS Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli Roma - *Presidente Società  
Italiana di Ginecologia e Ostetricia (SIGO) - Presidente European Society for Gynaecological Endoscopy (ESGE)*

**Dr. Stefano Moriconi**

*Segretario tecnico GdL*

Coordinatore e Direttore della Struttura tecnica di Segreteria della Sezione I del Consiglio Superiore di Sanità - Dirigente  
medico, Ministero della salute

**Dott. 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

**Dott.ssa Francesca Romana Grati**

Direttore Scientifico - TOMA Advanced Biomedical Assays S.p.A., Impact Lab, Busto Arsizio (VA)

**Prof.ssa Sara Cabodi**

Professore Associato Biologia cellulare, Dip.to Biotecnologie Molecolari e Scienze per la Salute, Università di Torino

**Prof. Claudio Jommi**

Professor of Practice, Government, Health and Not for Profit Division, SDA Bocconi School of Management, Università  
Bocconi di Milano

**Prof. Francesco Longo**

*Consigliere Sezione I CSS*

Professore Associato in Management pubblico, Dip.to Analisi delle politiche e management Pubblico, Università Bocconi  
di Milano

**Prof.ssa Laura Palazzani**

Professore Ordinario di Filosofia del Diritto e Biogiuridica, LUMSA - Vice Presidente vicario Comitato Nazionale per la  
Bioetica CNB

**Prof. Alberto Spanò**

Consigliere dell'Ordine Nazionale dei Biologi - già Direttore del Dip.to Servizi Diagnostici ASL RM/2  
e Direttore Laboratori Microbiologia e Virologia ASL RM/2

**Dott.ssa Federica Miragliotta** Sezione I CSS

Collaboratore amministrativo, Segreteria tecnica Sezione I Consiglio Superiore di sanità, D.G. Organi Collegiali tutela della Salute, Ministero della Salute

Si ringrazia per il qualificato contributo:

ILLUMINA Italy S.r.l.

Dott. Emanuele Tosi	Sr Clinical Territory Account Manager Italy
Dott. Alessandro Pizzigoni	Executive RGH and Rare Diseases Sales Specialist – Italy
Dott. Lieve Page-Christiaens	Associate Director Medical Affairs
Dott.ssa Miriam Gargesi	Senior Director Government Affairs EMEA

NATERA Italy

Dott.ssa Eleonora Ferrari, DVM	Regional Manager, Italy
Marc Prenafeta	Senior Director International Natera team

PERKIN ELMER Italy

Dott. Massimiliano Franchi	Sales Manager Dx and Discovery
Dott. Riccardo Piona	Sales Specialist Applied Genomics Italy, Diagnostics
Dott. Piepaolo Perrone	National Account Manager Vanadis

ROCHE Diagnostics S.p.A. Italia

Dott. Fulvio Chiesa	Commercial National Sales Specialized Diagnostics Harmony Sales Specialist
Dott. Alessio Franzoso	Institutional Affair Manager
Dott.ssa Chiara Calvi	Divisione Medica
Dott. Enrico Bartolini	Marketing
Dott. Rita Mauti	Regulatory & Quality Manager

**IL SEGRETARIO DELLA SEZIONE I**

Dr. Stefano Moriconi

**IL PRESIDENTE DELLA SEZIONE I  
(Coordinatore GdI NIPT 3)**

Prof. Bruno Dallapiccola