

Incidenza di emoglobinopatie in una zona “non endemica”

M. Mercadanti, A. Caleffi, C. Monica

Laboratorio Analisi Emato-Chimiche, Dipartimento Diagnostica di Laboratorio,
Azienda Ospedaliero-Universitaria, Parma

Riassunto

Premesse. Le emoglobinopatie, disordini ereditari della sintesi dell'emoglobina, costituiscono le patologie monogeniche più frequenti nel mondo e comprendono un vasto panorama di quadri clinici di diversa gravità. Lo scopo del nostro lavoro è quello di valutare l'incidenza di emoglobinopatie nella popolazione afferente al nostro laboratorio, ubicato in un'area geografica che non è ritenuta endemica per tali patologie, e di verificare se nell'arco di 20 anni sono occorsi significativi cambiamenti, tali da suggerire nuovi percorsi diagnostici.

Metodi. Sono stati esaminati i registri di lavoro riguardanti l'indagine per lo screening delle emoglobinopatie, relativi agli anni 1985, 1986, 1994, 1995, 2004 e 2005, ove vengono riportati per ogni seduta analitica i dati anagrafici del paziente, la provenienza (reparti di degenza e ambulatori dislocati sul territorio), la data e i risultati dell'analisi. Lo screening è stato condotto in migrazione elettroforetica negli anni 1985 e 1986, in HPLC (Variant e Variant II Biorad) negli anni successivi. La diagnosi di β -talassemia eterozigote classica è stata posta per valori di $HbA_2 \geq 4.0\%$. La conferma di HbS e HbC è stata eseguita mediante elettroforesi a pH alcalino e acido, e sickling test. Per gli anni 2004-2005, utilizzando l'archivio informatico che riporta la data di nascita, abbiamo ricercato la presenza di eventuali richieste plurime per lo stesso paziente portatore di β -talassemia eterozigote classica.

Risultati. I nostri risultati mostrano un'elevata incidenza di β -talassemia eterozigote classica con un picco massimo del 23.2% negli anni '80 che

scende all'11.3% nel 2005. Il rilievo di varianti strutturali è progressivamente aumentato dallo 0.71% nell'85 al 5.1% nel 2005. La HbS costituisce la variante più frequente seguita da HbC. I casi di doppia eterozigosi S/C compaiono negli ultimi due anni. Le altre varianti comprendevano Hb Lepore, varianti veloci e δ nei periodi '85 e '95, mentre nel 2005 erano presenti Hb Hasharon, O Arabia, D Punjab, D Ibadan, J Oxford, tipizzate presso un Centro di II livello diagnostico. Negli anni '80 le varianti interessavano solo pazienti italiani, mentre negli anni successivi interessavano prevalentemente pazienti stranieri, provenienti soprattutto dal Nord Africa.

La ricerca di pazienti con richieste plurime ha riscontrato 16 soggetti che avevano ripetuto l'indagine due volte e 2 pazienti con tre richieste; le richieste plurime avvenivano soprattutto in regime di degenza.

Conclusioni. L'elevata incidenza di β -Talassemia eterozigote classica e il costante aumento di varianti, anche insolite, pongono al laboratorio di I livello diagnostico la necessità di ampliare le conoscenze cliniche e diagnostiche al fine di rilevare varianti meno comuni nella popolazione stanziata, e individuare quadri complessi sostenuti dalla coereditarietà di più difetti. Riteniamo che l'identificazione di varianti diffuse, quali la S e la C, possa essere competenza del I livello, combinando tests di conferma relativamente semplici e meno costosi delle indagini molecolari (migrazione alcalina, acida, test di falcizzazione), demandando al II livello i casi infrequenti o i quadri complessi.

Summary

Incidence of hemoglobinopathies in a “non-endemic” area

Background. Hemoglobinopathies, i.e. hereditary disor-

ders of haemoglobin synthesis, are the most frequent monogenic pathologies in the world and include a wide variety of clinical pictures of different seriousness. The aim of our work was to evaluate the incidence of he-

moglobinopathies in the population relating to our laboratory, which is situated in a geographical area that is not considered as endemic for these pathologies, and to check if remarkable changes had occurred in 20 years' time as to lead to new diagnostic routes.

Methods. The study examined the work registers concerning the research for the screening of hemoglobinopathies, with regard to the years 1985, '86, '94, 2004 and 2005, where the patient's private data, provenience (wards and health care centres located on-site), date and results of the analysis were reported for every analytic session. The screening was conducted by electrophoretic migration in the years 1985 and 1986, and by HPLC (Variant and Variant II Biorad) in the following years. The diagnosis of classical heterozygote β -thalassemia was made for values of $HbA_2 \geq 4.0\%$. The confirmation of HbS and HbC was obtained by means of the electrophoresis technique with alkaline and acid pH, and by the sickling test. As for the years 2004-2005, using the computer file reporting the birth date, we looked for the presence of multiple requests for the same patient carrying classical heterozygote β -thalassemia.

Results. Our results show a high incidence of classical heterozygote β -thalassemia, with a maximum peak of 23.2% in the Eighties, decreasing to 11.3% in 2005. The record of structural variants progressively increased from 0.71% in 1985 to 5.1% in 2005. Hb S is the

most frequent variant, followed by HbC. The cases of double heterozygosis S/C appeared in the last two years. The other variants included Hb Lepore, fast and δ variants in the years 1985 and 1995, whereas Hb Hasharon, OArabia, D Punjab, D Ibadan and J Oxford were present in 2005. In the Eighties the variants involved only Italian patients, while in the following years they mainly involved foreign patients, coming mostly from North Africa. The search for patients with multiple requests found out 16 subjects who repeated the survey twice and 2 patients with three requests; multiple requests principally occurred during hospital treatment.

Conclusions. The high incidence of heterozygote β -thalassemia and the constant increase in even unusual variants make it necessary for the laboratory of I diagnostic level to amplify the clinical and diagnostic knowledge, so as to record less common variants in the resident population and identify complex patterns given by the co-heritability of more defects. We believe that the identification of widespread variants, such as S and C, can be a competence of the I level, combining confirmation tests which are relatively easy and less expensive than molecular surveys (alkaline, acid migration, sickling test), whereas the most unusual cases or the complex patterns are remitted to the II level.

Key words: hemoglobinopathies, β -thalassemia, structural variant, incidence, HPLC.

Introduzione

Le emoglobinopatie sono disordini ereditari della sintesi dell'emoglobina, suddivise in due gruppi maggiori: talassemie (difetti quantitativi, caratterizzati dalla assente o ridotta sintesi di una o più catene globiniche, strutturalmente normali) e varianti strutturali (difetti qualitativi, caratterizzati dalla sintesi alterata di una o più catene). Un terzo gruppo è costituito dalle varianti con fenotipo talassemico caratterizzate da un difetto misto quali-quantitativo¹. Le emoglobinopatie comprendono un vasto panorama di quadri clinici: da un lato le forme asintomatiche del soggetto eterozigote, il portatore sano, dall'altro le condizioni gravi del soggetto omozigote, con quadri intermedi di varia gravità e complessità diagnostica. L'individuazione del soggetto eterozigote² costituisce il primo passo per attuare una prevenzione atta a ridurre la nascita di soggetti affetti dalle forme più gravi.

Le β -talassemie rivestono una particolare importanza per alcuni motivi essenziali: sono le forme talassemiche più frequenti nella nostra area geografica e presentano un ampio spettro clinico che comprende, ad un estremo forme asintomatiche, all'altro quadri clinici gravi, caratterizzati da severa anemia trasfusione dipendente. Nella forma eterozigote classica, che è la più

frequente, esiste un marcatore caratteristico, rilevabile al I livello diagnostico, costituito dall'aumento significativo della frazione HbA_2 .

Le emoglobinopatie costituiscono le patologie monogeniche più diffuse nel mondo³: interessano i paesi del bacino del Mediterraneo, il Medio Oriente, il Sud-Est Asiatico. Di solito un pannello limitato di mutazioni geniche interessa le varie aree geografiche, tuttavia i flussi migratori transcontinentali stanno via via modificando questa accezione.

In Italia le zone storicamente endemiche sono le regioni insulari e il delta Padano⁴.

Lo scopo del nostro studio è quello di valutare l'incidenza di emoglobinopatie nella popolazione afferente al nostro laboratorio, ubicato in un'area geografica che non è ritenuta endemica per tali patologie, e di verificare se nell'arco di 20 anni sono occorsi significativi cambiamenti, tali da suggerire nuovi percorsi diagnostici.

Materiali e Metodi

Sono stati consultati i registri di lavoro riguardanti l'indagine per lo screening delle emoglobinopatie, ove vengono riportati, per ogni seduta analitica, la data di esecuzione della seduta, l'anagrafica dei pazienti, il re-

Tabella I. Incidenza di β -talassemia eterozigote classica, distribuzione per sesso e percentuale di soggetti provenienti da paesi extraeuropei, nella popolazione afferente al laboratorio nei periodi 1985-86, 1994-95 e 2004-05.

Anno	1985	1986	1994	1995	2004	2005
Totale referti per screening emoglobinopatie	1118	900	1233	1248	1047	1309
β -talassemia numero casi (percentuale)	256 (22.8%)	209 (23.2%)	220 (17.8%)	232 (18.5%)	155 (14.8 %)	149 (11.3%)
Maschi	48.4%	43.5%	35.4%	39.2%	47.1%	44.2%
Femmine	51.5%	56.4%	50.5%	45.7%	52.9%	55.7%
Sesso indeterminato		14.0%	15.1%			
Stranieri numero casi (percentuale)	0	1 (0.47%)	1 (0.45%)	2 (0.86%)	6 (3.8%)	8 (5.3%)

parto di provenienza e i risultati dell'indagine. Sono stati esaminati i registri relativi agli anni 1985, 1995, 2005 ed in seconda istanza, per successiva conferma, agli anni 1986, 1994, 2004. Dai registri sono stati desunti i dati relativi al numero di referti per anno, alla tipologia di accesso (reparti di degenza e/o ambulatorio per esterni), alla distribuzione per sesso, e infine all'incidenza di emoglobinopatie, suddivise in β -talassemia eterozigote classica e varianti strutturali. La diagnosi di β -talassemia eterozigote classica è stata posta per valori di $HbA_2 \geq 4.0\%$. Sono stati considerati borderline valori di A_2 compresi da 3.5 a 3.9% per gli anni 1985 e 1986 e da 3.3 a 3.9% per gli anni successivi.

Lo screening è stato condotto in migrazione elettroforetica a pH alcalino⁵ nel 1985-86, in cromatografia liquida ad alta pressione (HPLC)⁶ utilizzando il sistema Variant e successivo aggiornamento Variant II (Bio-Rad Laboratories, Milano) rispettivamente negli anni 1994-95 e 2004-05.

La presenza di HbS e HbC è stata confermata mediante test di falcizzazione⁷, migrazione elettroforetica a pH alcalino e acido; l'identificazione delle altre varianti è stata eseguita presso il Laboratorio di Genetica Umana/Microcitemia, Ospedali Galliera, Genova.

La popolazione afferente al laboratorio, ubicato all'interno dell'Azienda Ospedaliera del capoluogo della provincia, comprende degenti presso i reparti ospedalieri e pazienti ambulatoriali provenienti dall'ambulatorio ospedaliero e da ambulatori esterni.

In tutti gli anni considerati, ad esclusione del 2004 e dei primi sei mesi del 2005, il laboratorio eseguiva in esclusiva, in ambito pubblico, l'indagine per lo screening delle emoglobinopatie nel territorio cittadino. Secondo i dati forniti dal bilancio demografico dell'ufficio statistico del comune, la popolazione del comune constava di 175.789 abitanti al 31 dicembre 2005, di cui 83.446 maschi e 92.343 femmine; la presenza di soggetti stranieri era pari all'8.32% sul totale della po-

polazione, con un progressivo incremento dal 2.08% del 1995, primo anno di rilievo della popolazione straniera.

Le principali aree di provenienza dei soggetti stranieri erano rappresentate da Africa (37.7%) paesi europei extra Unione Europea (32.3%), Asia (16%) e America (8.4%).

Nei precedenti anni esaminati la popolazione era costituita rispettivamente da 176.575 e 175.842 abitanti nel periodo '85-'86, 168.387 e 167.516 negli anni '94-'95, 174.471 nel 2004.

Per gli anni 2004-2005, utilizzando l'archivio informatico, che riporta la data di nascita, abbiamo ricercato la presenza di eventuali richieste plurime per lo stesso paziente portatore di β -talassemia eterozigote classica.

Risultati

I risultati del nostro studio rilevano una elevata incidenza di β -talassemia eterozigote classica (Tab. I) nella popolazione afferente al nostro laboratorio, con un picco massimo del 23.2% negli anni '80 che scende al 17.8% negli anni '94-'95 per assestarsi al 14.8 e 11.3% nel 2004 e 2005. La distribuzione fra i sessi mostra una costante prevalenza del sesso femminile. La presenza di soggetti stranieri portatori è inferiore all'1% nel periodo '85-'95 con un progressivo aumento (3.8-5.3%) negli anni più recenti. La percentuale dei casi borderline varia dal 4.11% nell'85 all'1.75% nel 2005.

Suddividendo i portatori di β -talassemia rispetto alla provenienza, ambulatoriale o reparti di degenza (Tab. II), si rileva una prevalenza di riscontro nei pazienti degenti in tutti gli anni ad eccezione dell'86.

L'incidenza di β -talassemia eterozigote classica nei pazienti ambulatoriali è più elevata negli anni '80 e diminuisce negli anni seguenti con un picco minimo del 32% nel 2004; anche l'incidenza di portatori ambulatoriali, valutata in rapporto alla totalità delle richieste

Tabella II. Incidenza di β -talassemia eterozigote classica nei pazienti ambulatoriali e distribuzione fra i sessi nei periodi 1985-86, 1994-95 e 2004-05.

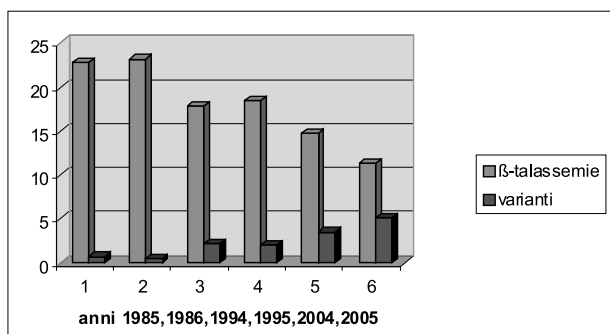
Anno	1985	1986	1994	1995	2004	2005
β -talassemie ambulatoriali						
numero casi	125	118	103	99	50	62
(percentuale)	(48.8%)	(56.5%)	(46.8%)	(42.7%)	(32,3%)	(41,6%)
β -talassemie degenti						
numero casi	131	91	117	133	105	87
(percentuale)	(51.2%)	(43.5%)	(53.2%)	(57.3%)	(67.7%)	(58.4%)
β -talassemie ambulatoriali						
Maschi	40%	39.8%	21.3%	23.2%	46%	40.4%
Femmine	60%	60.2%	51.4%	42.4%	54%	59.6%
Sesso indeterminato			27.3%	34.4%		
Totale referti ambulatoriali per screening emoglobinopatie	512	500	678	765	508	822
β -talassemie ambulatoriali rispetto al totale dei referti ambulatoriali	24.4%	23.6%	15.2%	12.9%	9.8%	7.5%

ambulatoriali per lo screening delle emoglobinopatie, mostra un progressivo, costante decremento nel corso di 20 anni. La suddivisione in base al sesso denota una netta prevalenza del sesso femminile.

Il rilievo di varianti strutturali è progressivamente e costantemente aumentato passando dallo 0.71% nell'85 al 5.1% nel 2005 (Fig. 1). La HbS costituisce la variante più frequente, seguita dalla HbC (Tab. III). I casi di doppia eterozigosi S/C compaiono negli ultimi due anni.

Le altre varianti comprendevano Hb Lepore, varianti veloci e varianti δ nei periodi '85-'95, mentre negli anni successivi si aggiungevano Hb Hasharon, O-Arabia, D-Punjab, D-Ibadan, J-Oxford. Negli anni '80 le varianti interessavano solo pazienti italiani, mentre nei periodi successivi coinvolgevano prevalentemente pazienti stranieri provenienti soprattutto dal Nord Africa (Tab. III). La distribuzione fra i sessi mostra una lieve prevalenza nel sesso femminile.

La percentuale dei soggetti ambulatoriali portatori

**Figura 1.** Percentuale di β -talassemia eterozigote classica e varianti strutturali negli anni 1985, '86, '94, '95, 2004, 2005.

di varianti strutturali è così distribuita: 37.5% e 50% rispettivamente nel periodo 85-86, 22.2% e 54.5% negli anni 94-95, 21.6% e 49.2% nel periodo 2004-05.

La ricerca di pazienti con richieste plurime, relativa agli anni 2004-05 ha evidenziato 16 soggetti che avevano ripetuto l'indagine due volte e 2 pazienti con tre richieste, così distribuiti: 10 pazienti nel 2004 (compresi i due con tre richieste), 3 nel 2005 e 5 che avevano eseguito una indagine nel 2004 ed una nell'anno successivo.

Per 11 pazienti il doppio accertamento avveniva ad opera del reparto, per 2 in regime ambulatoriale, dei rimanenti un paziente pediatrico aveva eseguito la prima indagine ambulatorialmente e la seconda durante un ricovero a distanza di tre mesi, per gli altri il controllo era stato richiesto dall'ambulatorio ematologico dopo 7-9 mesi dalla dimissione.

Nei soggetti ricoverati la seconda richiesta avveniva ad una distanza dalla prima variabile da pochi giorni a sei mesi.

In 6 casi era giustificato il controllo, che avveniva dopo terapia marziale.

La sottrazione dei casi con richieste plurime non modifica l'incidenza di β -talassemia eterozigote classica nei pazienti ambulatoriali nel 2004, mentre nel 2005 l'incidenza varia dal 7.5 al 7.1%.

Discussione

I nostri dati rilevano una elevata percentuale di emoglobinopatie nei pazienti afferenti al nostro laboratorio, con una notevole differenziazione nell'incidenza dei due gruppi di patologie nell'arco di 20 anni (Fig. 1).

L'incidenza di β -talassemia eterozigote classica, pur mantenendosi elevata, è dimezzata dall'85 al 2005,

Tabella III. Varianti (numero e tipo) riscontrate nella popolazione afferente al laboratorio nei periodi 1985-86, 1994-95 e 2004-05, con percentuale dei soggetti provenienti da paesi extraeuropei e distribuzione tra i sessi.

Anno	1985	1986	1994	1995	2004	2005
Numero casi varianti						
Hb S	4	3	12	12	23	45
Hb C	0	0	6	4	4	12
Hb S/C	0	0	0	0	2	2
Altre varianti	4	1	9	6	8	8
Totale varianti	8	4	27	22	37	67
Percentuale	0.71%	0.44%	2.18%	1.76%	3.53%	5.1%
Percentuale stranieri	0	0	51.8 %	63.6 %	67.5 %	80.5 %
Maschi	3	2	4	9	16	32
Femmine	5	2	12	6	21	35
Sesso indet.©			11	7		

© soggetti nei quali non è stato possibile rilevare il sesso

mentre è quintuplicata l'incidenza delle varianti strutturali che interessano prevalentemente pazienti stranieri.

Nel nostro Paese le frequenze più elevate (5-15%) per talassemia si riscontrano in Sardegna, zone costiere del meridione e delta Padano⁴. I nostri dati mostrano una incidenza di β -talassemia eterozigote classica nella popolazione afferente al laboratorio sovrapponibile a quella rilevata nelle zone storicamente endemiche, ma nettamente superiore se facciamo riferimento agli anni '80-'90. Questo rilievo è verosimilmente attribuibile ai flussi migratori interni occorsi negli anni '80 che hanno modificato in parte l'assetto genetico emoglobinico della popolazione stanziale. Questa considerazione implica una diversa attenzione socio-sanitaria in termini di prevenzione della talassemia, problematica che coinvolge anche aree non ritenute tradizionalmente endemiche, come la nostra città. Se esaminiamo la percentuale dei soggetti ambulatoriali portatori di β -talassemia eterozigote rispetto al totale dei soggetti ambulatoriali avviati per lo screening di emoglobinopatie, questa scende dal 24.4% dell'85 al 7.5% del 2005. Questo rilievo può essere interpretato in vario modo: può esprimere una migliore attenzione alla diagnostica differenziale delle microcitemie e delle anemie microcitarie o può esprimere un reale assestamento dell'incidenza di portatori di β -talassemia eterozigote nella popolazione stanziale. La sottrazione dei casi con controlli ripetuti non modifica sostanzialmente questo dato e può rispecchiare la reale incidenza della β -talassemia nella popolazione locale, assimilabile a quella delle zone ritenute tradizionalmente endemiche per queste patologie. La prevalenza nel sesso femminile potrebbe essere correlata alla maggiore numerosità del sesso femminile rispetto al maschile nella popolazione generale, o potrebbe esprimere una diversa domanda di accertamenti a carico del sesso femminile, legata alla richiesta di indagini in corso di gravidanza.

Poichè l'assetto emoglobinico nell'adulto non si modifica, la ripetizione dell'indagine non è giustificata a seguito di patologie intercorrenti, ad esclusione di patologie ematologiche mieloproliferative o concomitanti severe carenze marziali. Il numero di ripetizioni occorse in regime di ricovero può essere dovuto in parte alla mancata conoscenza dei tempi di risposta, peraltro indicati nel manuale informativo degli esami di laboratorio, in parte alla carente trasmissione dei dati relativi al paziente in caso di trasferimenti intraospedalieri. Tuttavia questo rilievo stimola alla stesura di protocolli informativo-operativi volti ad un migliore utilizzo del laboratorio, anche in termini di contenimento dei costi sanitari.

L'incidenza di varianti strutturali mostra un costante progressivo aumento negli anni, che riguarda soprattutto pazienti stranieri. La variante più frequente è l'HbS, presente anche in forme gravi, che richiedono un monitoraggio costante correlato alla terapia trasfusionale; sono tuttavia presenti anche varianti meno comuni, riscontrate anche in soggetti italiani.

La diagnostica delle emoglobinopatie è una diagnostica complessa⁸ che si avvale di due livelli diagnostici. Un primo livello espletato da laboratori generali, di routine, dislocati sul territorio, che effettuano lo screening e laboratori altamente specialistici che avvalendosi di metodiche di biologia molecolare, sono in grado di identificare le diverse varianti strutturali e di accertare la coesistenza di più difetti talassemici.

Le condizioni di β -talassemia eterozigote classica sono generalmente definibili al primo livello; esistono però situazioni che possono mascherare una forma classica, quali la concomitanza di una grave sideropenia o la coereditarietà di più difetti (α -talassemia o δ -talassemia).

L'introduzione dei sistemi in HPLC ha comportato una svolta decisiva nella diagnostica delle emoglobinopatie, stante la possibilità di disporre di dati accurati e

ripetibili, in completa automazione, con tempi di analisi veloci. L'impiego di questa tecnica per lo screening del portatore viene raccomandata dall'European Molecular Genetics Quality Network (EMQN), che nel 2002 ha formulato linee guida per l'identificazione del portatore e la diagnosi prenatale delle emoglobinopatie⁹.

Poiché le varianti emoglobiniche accertate a tutt'oggi sono oltre 800, esiste la possibilità che diverse emoglobine possano condividere lo stesso tempo di ritenzione, così come la stessa mobilità elettroforetica. Pertanto non è sufficiente il dosaggio quali-quantitativo fornito dalla HPLC, ma è necessario combinare più tecniche per raggiungere una identificazione certa, come suggerito dall'EMQN. La combinazione dei dati ottenuti dalla HPLC e dalla conferma qualitativa della migrazione elettroforetica alcalina e acida, associata al test di falcizzazione, consente di identificare la HbS e la HbC, differenziandole dalle varianti che hanno analogo tempo di ritenzione in HPLC e identica mobilità elettroforetica, già al primo livello diagnostico.

Il laboratorio di primo livello viene coinvolto non solo nel momento diagnostico, ma anche nella individuazione dei casi che necessitano di un ulteriore approfondimento, rivestendo quindi un ruolo essenziale di filtro fra i casi che hanno un risultato conclusivo e quelli che devono essere avviati al livello successivo.

In conclusione riteniamo che l'identificazione di varianti diffuse, quali la HbS e la HbC, possa essere competenza del I livello, mediante la combinazione di alcuni tests di conferma (test di falcizzazione, migrazione elettroforetica a pH alcalino e acido), meno costosi rispetto ad accertamenti di tipo molecolare, demandando al II livello solo i quadri complessi.

Riteniamo altresì che il laboratorio di primo livello possa e debba svolgere con competenza il ruolo di tramite fra i colleghi richiedenti lo screening e gli specialisti del successivo livello diagnostico, collaborando con i clinici nell'ambito di percorsi informativi in relazione ad una diagnostica complessa, che interessa un

numero di pazienti destinato ad aumentare in relazione ai flussi migratori che coinvolgono anche il nostro paese. Tenendo conto che i dati presentati fanno riferimento ad un solo centro, riteniamo che l'incidenza di emoglobinopatie riscontrata nella popolazione afferente al nostro laboratorio, necessiti di conferma da parte di altri centri diagnostici operanti in aree geografiche limitrofe alla nostra.

Riteniamo inoltre che il protocollo diagnostico adottato nella nostra sede per l'identificazione di certezza delle varianti più comuni S e C, debba essere oggetto di valutazione e confronto con altre esperienze, nell'ambito di un dibattito sulle possibilità diagnostiche di competenza dei laboratori di primo livello.

Bibliografia

1. Old JM. Screening and genetic diagnosis of haemoglobin disorders. *Blood Reviews* 2003; 17:43-531.
2. Galanello R, Eleftheriou A, Traeger-Synodinos J, Old J, Petrou M, Angastiniotis M. Prevention of Thalassaemias and other Haemoglobin Disorders. Nicosia: Thalassaemia International Federation Publ.; 2003.
3. Weatherall DJ, Clegg JB. *The Thalassaemia Syndromes*. Oxford: Blackwell Scientific Publ.; 2001.
4. Giunta della Regione Emilia-Romagna. Organizzazione della rete regionale per le emoglobinopatie congenite. Prot. N. OSP/05/33015.
5. Pauling L, Itano HA, Singer SJ, Wells IC. Sickle-cell anemia, a molecular disease. *Science* 1949; 110:543-8.
6. Galanello R, Barella S, Gasperini D, Perseu L, Paglietti E, Sollaino C, et al. Evaluation of an automatic HPLC analyser for thalassaemia and haemoglobin variants screening. *J Aut Chem* 1995; 17:73-6.
7. Schillirò G. *Clinica e terapia della malattia drepanocitica*. Firenze: Società Editrice Europea; 2002.
8. Tannoia N, Ivaldi G. *Varianti emoglobiniche atlante*. Firenze: Società Editrice Europea; 2001.
9. Traeger-Synodinos J, Old JM, Petrou M, Galanello R. Best practice guidelines for carrier identification and prenatal diagnosis of haemoglobinopathies. Manchester: European Molecular Genetics Quality Network workshop; 2002.