

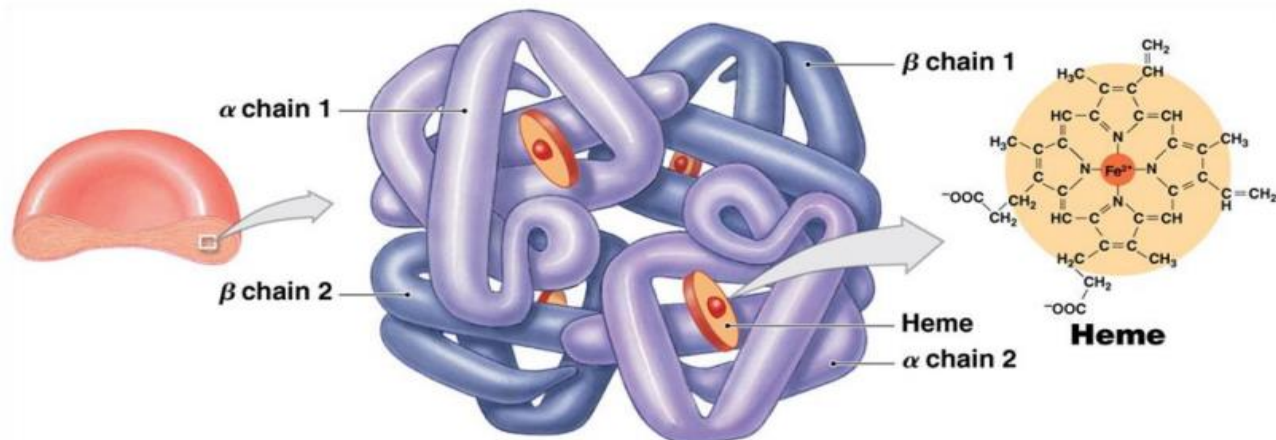
# La genetica delle emoglobinopatie e la diagnosi del portatore

A. Maffè

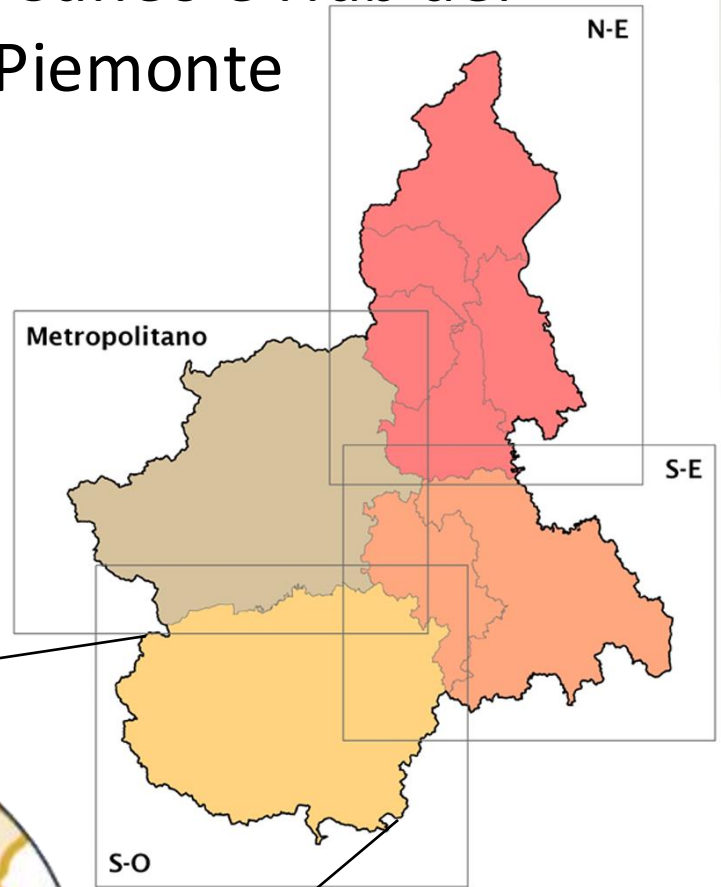
S.S. Genetica e Biologia Molecolare  
S.C.I. Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche  
A.O. S. Croce e Carle - Cuneo

AGGIORNAMENTO SU  
DIAGNOSI E TERAPIA  
DELLE EMOGLOBINOPATIE

6 giugno 2024



# A.O. Santa Croce e Carle di Cuneo è Hub del quadrante Sud del Piemonte



circa 580.000 abitanti



A.S.O. S. Croce e Carle  
di Cuneo

# S.S. Genetica e Biologia Molecolare



AZIENDA OSPEDALIERA  
S. CROCE E CARLE CUNEO

Username

Password

LOGIN

HOME

RICHIESTE

MODULISTICA

ELENCHI

DOCUMENTI

ATTIVITA' AZIENDALI

CAMBIA PASSWORD

DATI STATISTICI



RUBRICA  
TELEFONICA



SITO INTERNET  
AZIENDALE



POSTA  
ELETTRONICA



COMUNICATI AL  
PERSONALE



STRUTTURE  
AZIENDALI



AREA AZIENDALE  
RETE  
ONCOLOGICA

## LABORATORIO ANALISI CHIMICO-CLINICHE E MICROBIOLOGICHE



### ACCESSO AL SERVIZIO

Segreteria - Centro Prelievi - Ritiro Campioni e Referti



### SETTORI DI LABORATORIO

Elenco dei settori di laboratorio - Dirigenti - Numeri di telefono



### ISTRUZIONI ETICHETTATURA CAMPIONI

Istruzioni per la corretta etichettatura dei materiali biologici inviati al Laboratorio



### PROCEDURA PER BLOCCO INFORMATICO

Modalità di richiesta analisi in caso di blocco informatico



### DIRETTORE LABORATORIO ANALISI CHIMICO-CLINICHE E MICROBIOLOGIA

dott. Gianmatteo MICCA - 0171/64.1858

### COORDINATORE TECNICO

dott. Claudio GARRO - 0171/64.1878

### COORDINATORE INFERMIERISTICO

dott. Giorgio GIULIANO - 0171/64.1817

### SETTORE AMMINISTRAZIONE DI SISTEMA

dott. Emanuele DELLATORRE - 0171/64.1747

### GESTIONE ORDINI E MAGAZZINO

Tiziana VIOLINO - 0171/64.1804

### CONTATTI SEGRETERIA

laborat.segreteria@ospedale.cuneo.it

laboratorio@ospedale.cuneo.it

Tel. 0171/64.1311

Fax 0171/64.1599



### SETTORE CHIMICO-CLINICO



### SETTORE MICROBIOLOGIA



### SETTORE GENETICA E BIOLOGIA MOLECOLARE ONCOLOGICA



### ANALISI URGENTI

Elenco analisi di Laboratorio richiedibili in urgenza (24 ore su 24)







A.S.O. S. Croce e Carle  
di Cuneo

# S.S. Genetica e Biologia Molecolare



Sidoli Nicola

Isabella Gregorio

Scila Palazzi

Emanuele Galliano

Adele Fea

Carmine Dell'Aglio

Giulia Bertone

Monica Maffi

Barbara Castella

Merit Lamp

Chiara Godano

Antonella Maffè

Céline Marro

Simone Riba

Michela Vacca



A.S.O. S. Croce e Carle  
di Cuneo

# S.S. Genetica e Biologia Molecolare



Analisi genetiche somatiche nei tessuti tumorali  
Analisi genetiche somatiche in onco-ematologia  
Genetica costituzionale

Sequenziamento geni  
FV e FII

**Emoglobinopatie**

Estrazione acidi nucleici  
PCR  
RealTime PCR  
Sequenziamento Sanger  
Pirosequenziamento  
Sequenziamento di nuova generazione NGS

PCR allele specifica  
Reverse dot blot  
HPLC (da agosto 2021)  
Elettroforesi Capillare (da agosto 2021)  
Cariotipo  
FISH

## Consulenze Genetiche

Preconcezionali  
Prenatali  
Postnatali  
Oncologiche

**NEL 2023**  
**5560 campioni**

# ITER DIAGNOSTICO

Valutazione di:

- quesito clinico presente nella richiesta
- variabili individuali (età, stato di gravidanza, assunzione farmaci, altro)
- %HbA2 e %HbF e presenza di varianti
- parametri eritrocitari (MCV, Hb, HCT)
- stato marziale

# ITER DIAGNOSTICO

Valutazione di:

- **quesito clinico presente nella richiesta**
- **variabili individuali (età, stato di gravidanza, assunzione farmaci, altro)**
- **%HbA2 e %HbF e presenza di varianti**
- **parametri eritrocitari (MCV, Hb, HCT)**
- **stato marziale**





**S.S. GENETICA E BIOLOGIA MOLECOLARE**  
**Informativa utile al percorso diagnostico appropriato di laboratorio per le Emoglobinopatie**

معلومات ضرورية حول المسار التشخيصي المختبري المناسب لاعتلال الهيمو غلوبين

Cognome: :اللقب			
Nome: الاسم:			
Data e luogo di nascita: تاريخ ومكان الميلاد:			
Indicazioni al test: مؤشرات الإختبار	<input type="checkbox"/> screening emoglobinopatie <input type="checkbox"/> الفحص المبكر لإعتلال الدم <input type="checkbox"/> agenda di gravidanza/PMA <input type="checkbox"/> مذكرة الحمل / المساعدة الطبية على الإنجاب <input type="checkbox"/> familiarità <input type="checkbox"/> الأسرية <input type="checkbox"/> altro:		
Etnia dei genitori عرق الوالدين	Padre: الأب		madre: الأم
Trasfusioni recenti (ultimi tre mesi) عمليات نقل الدم الأخيرة (الأشهر الثلاثة الماضية)	NO لا	SI نعم	Data: تاريخ
Trasfusioni precedenti عمليات النقل السابقة	NO لا	SI نعم	Data: تاريخ
Gravidanza in corso وجود حمل	NO لا	SI نعم	Data u.m.: تاريخ آخر حيضة
Esami per emoglobinopatie precedenti الاختبارات السابقة لاعتلال الهيمو غلوبين	NO لا	SI نعم	Eventuale esito: النتيجة المحتملة
Familiarità per emoglobinopatie التاريخ العائلي فيما يخص الإعتلال الهيمو غلوبين	NO لا	SI نعم	Quali: ماهي
Patologie principali الأمراض الرئيسية	NO لا	SI نعم	Quali: ماهي
Uso di farmaci استعمال الأدوية	NO لا	SI نعم	Quali: ماهي
IN CASO DI GRAVIDANZA IN ATTO O PROGRAMMATA INDICARE: إذا كنت حاملاً حالياً أو لديك النية في ذلك ، فأكملي ما يلي:			
Nome del/della partner: اسم الشريك / الشريكة			Data di nascita: تاريخ الولادة
Partner già esaminato per emoglobinopatie: الشريك قام باختبار الإعتلال الهيمو غلوبين:	NO لا	SI نعم	Eventuale esito: النتيجة المحتملة
Eventuali terapie in atto per carenza di ferro: مختلف العلاجات الجارية العمل بها من أجل نقص الحديد:	NO لا	SI نعم	Quali: ماهي

Data تاريخ

Firma التوقيع



Azienda Ospedaliera  
S. Croce e Carle  
di Cuneo

Via Michele Coppino, 26 - 12100 CUNEO  
Tel. +39 0171.041111 fax +39 0171.699545  
Email: [aso.cuneo@cert.legmail.it](mailto:aso.cuneo@cert.legmail.it)  
Site web: <http://www.ospedale.cuneo.it>

P.I./Cod. Fisc. 01127900049

Struttura Complessa Interaziendale Laboratorio Analisi  
E-mail [laboratorio@ospedale.cuneo.it](mailto:laboratorio@ospedale.cuneo.it)

Responsabile dr. Gianmatteo Micca  
Telefono Segreteria 0171-450391  
Fax Segreteria 0171-450720

### S.S. GENETICA E BIOLOGIA MOLECOLARE

#### Informativa utile al percorso diagnostico appropriato di laboratorio per le Emoglobinopatie

关于血红蛋白病的适当实验室诊断途径的有用信息

Cognome 姓:			
Nome 名字:			
Data e luogo di nascita 出生日期和地点:			
Indicazioni al test: 测试的适应症:	<input type="checkbox"/> screening emoglobinopatie 血红蛋白病的筛查		
	<input type="checkbox"/> agenda di gravidanza/PMA 妊娠日记		
	<input type="checkbox"/> familiarità 熟悉情况	<input type="checkbox"/> anemia/microcitosi 贫血/小红细胞症	
	<input type="checkbox"/> altro 其他:		
Etnia dei genitori 父母民族	Padre 父亲:		madre 母亲:
Trasfusioni recenti (ultimi tre mesi) 最近的输血 (最近三个月)	<input type="checkbox"/> NO 否	<input type="checkbox"/> SI 是	Data 日期:
Trasfusioni precedenti 以前的输血	<input type="checkbox"/> NO 否	<input type="checkbox"/> SI 是	Data 日期:
Gravidanza in corso 正在怀孕	<input type="checkbox"/> NO 否	<input type="checkbox"/> SI 是	Data u.m.: 最后月经的日期:
Esami per emoglobinopatie precedenti 对以前的血红蛋白病进行的检查	<input type="checkbox"/> NO 否	<input type="checkbox"/> SI 是	Eventuale esito: 结果:
Familiarità per emoglobinopatie 对血红蛋白病的熟悉情况	<input type="checkbox"/> NO 否	<input type="checkbox"/> SI 是	Quali: 什么:
Patologie principali 重要的疾病	<input type="checkbox"/> NO 否	<input type="checkbox"/> SI 是	Quali: 什么:
Uso di farmaci 使用药物	<input type="checkbox"/> NO 否	<input type="checkbox"/> SI 是	Quali: 什么:
IN CASO DI GRAVIDANZA IN ATTO O PROGRAMMATA INDICARE: 请您在正在进行的或计划的怀孕的情况下表明以下的信息:			
Nome del/della partner: 伴侣的姓名:			Data di nascita 出生日期:
Partner già esaminato per emoglobinopatie: 伴侣已经进行过血红蛋白病的检测:	<input type="checkbox"/> NO 否	<input type="checkbox"/> SI 是	Eventuale esito: 结果:
Eventuali terapie in atto per carezza di ferro: 正在进行血红蛋白病的 治疗:	<input type="checkbox"/> NO 否	<input type="checkbox"/> SI 是	

Data 日期

Firma 签名



REGIONE  
PIEMONTE

[www.regione.piemonte.it/sanita](http://www.regione.piemonte.it/sanita)



Azienda Ospedaliera  
S. Croce e Carle  
di Cuneo

Via Michele Coppino, 26 - 12100 CUNEO  
Tel. +39 0171 641111 fax +39 0171 699545  
Email: [aso.cuneo@cert.legalmail.it](mailto:aso.cuneo@cert.legalmail.it)  
Site web: <http://www.cspedale.cuneo.it>

P.I./Cod. Fisc. 0112790049

Struttura Complessa Interaziendale Laboratorio Analisi  
E-mail [laboratorio@ospedale.cuneo.it](mailto:laboratorio@ospedale.cuneo.it)

Responsabile dr. Gianmatteo Micca  
Telefono Segreteria 0171-450391  
Fax Segreteria 0171-450720

## S.S. GENETICA E BIOLOGIA MOLECOLARE

### Informations utiles au parcours de diagnostic approprié de laboratoire pour les Hémoglobinopathies

Nom:			
Prénom:			
Lieu et date de naissance:			
Indications du test:	<input type="radio"/> screening hémoglobinopathies		
	<input type="radio"/> carnet de grossesse / PMA		
	<input type="radio"/> familiarité	<input type="radio"/> anémie / microcytose	
	<input type="radio"/> autre:		
Ethnie des parents	père:		mère:
Transfusions récentes (derniers 3 mois)	NON	OUI	Date:
Transfusions précédentes	NON	OUI	Date :
Grossesse en cours	NON	OUI	Date d.r.:
Examens pour hémoglobinopathies précédentes	NON	OUI	Éventuel résultat:
Familiarité pour hémoglobinopathie	NON	OUI	Quels:
Principales pathologies	NON	OUI	Quels:
Prise de médicaments	NON	OUI	Quels:
EN CAS DE GROSSESSE EN COURS OU PROGRAMMÉE, INDIQUER:			
Nom du partenaire:			Date de naissance:
Partenaire déjà examiné pour hémoglobinopathie:	NON	OUI	Éventuel résultat:
Éventuels traitements en cours pour déficience en fer:	NON	OUI	

Date

Signature



Azienda Ospedaliera  
S. Croce e Carle  
di Cuneo

Via Michele Coppino, 26 - 12100 CUNEO  
Tel. +39 0171.941111 fax +39 0171.699545  
Email: [asc.cuneo@cert.legalmail.it](mailto:asc.cuneo@cert.legalmail.it)  
Site web: <http://www.cspedale.cuneo.it>

P.I./Cod. Fisc. 0112790049

Struttura Complessa Interaziendale Laboratorio Analisi  
E-mail [laboratorio@ospedale.cuneo.it](mailto:laboratorio@ospedale.cuneo.it)

Responsabile dr. Gianmatteo Micca  
Telefono Segreteria 0171-450391  
Fax Segreteria 0171-450720

## S.S. GENETICA E BIOLOGIA MOLECOLARE

### Questionnaire useful for appropriate diagnostic strategy in laboratories for Haemoglobinopathy

Surname:			
Given name:			
Place and date of birth:			
Indications to test:	<input type="radio"/> haemoglobinopathies screening program		
	<input type="radio"/> screening for ongoing pregnancy /PMA		
	<input type="radio"/> significant family history	<input type="radio"/> Anemia/ Microcytosis	
	<input type="radio"/> other situation:		
What are your family's origins?	Father:		Mother:
Recent Transfusions (in the past three months)	NO	Yes	Date:
Previous Transfusions	NO	Yes	Date:
Ongoing pregnancy	NO	Yes	Date of last menstrual period:
Previous haemoglobinopathies tests	NO	Yes	Result:
Haemoglobinopathy in other family members	NO	Yes	Which types:
Do you have any health problems?	NO	Yes	Which types:
Use of medications at moment	NO	Yes	Which types:
IN CASE OF ONGOING OR PLANNED PREGNANCY PLEASE WRITE DOWN:			
Partner's name:			Date of birth:
Haemoglobinopathy in partner:	NO	Yes	Which types:
Use of Medications for iron deficiency at moment:	NO	Yes	

Data

Firma



www.regione.piemonte.it/sanita



Azienda Ospedaliera  
S. Croce e Carle  
di Cuneo

Via Michele Coppino, 28 - 12100 CUNEO  
Tel. +39 0171.641111 fax +39 0171.699545  
Email: [aso.cuneo@cert.legalmail.it](mailto:aso.cuneo@cert.legalmail.it)  
Site web: <http://www.cspedale.cuneo.it>

P.I./Cod. Fisc. 01127900049

Struttura Complessa Interaziendale Laboratorio Analisi  
E-mail [laboratorio@ospedale.cuneo.it](mailto:laboratorio@ospedale.cuneo.it)

Responsabile dr. Gianmatteo Micca  
Telefono Segreteria 0171-450391  
Fax Segreteria 0171-450720

## S.S. GENETICA E BIOLOGIA MOLECOLARE

### Informativa utile al percorso diagnostico appropriato di laboratorio per le Emoglobinopatie

Cognome :			
Nome :			
Data e luogo di nascita :			
Indicazioni al test :	<input type="radio"/> screening emoglobinopatie		
	<input type="radio"/> agenda di gravidanza/PMA		
	<input type="radio"/> familiarità	<input type="radio"/> anemia/microcitosi	
	<input type="radio"/> altro :		
Etnia dei genitori	padre :		madre :
Trasfusioni recenti (ultimi tre mesi)	NO	SI	Data :
Trasfusioni precedenti :	NO	SI	Data :
Gravidanza in corso	NO	SI	Data u.m.:
Esami per emoglobinopatie precedenti :	NO	SI	Eventuale esito :
Familiarità per emoglobinopatie :	NO	SI	Quali :
Patologie principali :	NO	SI	Quali :
Uso di farmaci :	NO	SI	Quali :
IN CASO DI GRAVIDANZA IN ATTO O PROGRAMMATA INDICARE :			
Nome del/della partner :			Data di nascita :
Partner già esaminato per emoglobinopatie :	NO	SI	Eventuale esito :
Eventuali terapie in atto per carenza di ferro :	NO	SI	

Data

Firma



Azienda Ospedaliera  
S. Croce e Carle  
di Cuneo

Struttura Complessa Interaziendale Laboratorio Analisi  
E-mail [laboratorio@ospedale.cuneo.it](mailto:laboratorio@ospedale.cuneo.it)

## S.S. GENETI

### Informativa utile al percorso

Cognome :	
Nome :	
Data e luogo di nascita :	
Indicazioni al test :	<input type="radio"/> screening emc
	<input type="radio"/> agenda di grav
	<input type="radio"/> familiarità
	<input type="radio"/> altro :
Etnia dei genitori	padre :
Trasfusioni recenti (ultimi tre mesi)	
Trasfusioni precedenti :	
Gravidanza in corso	
Esami per emoglobinopatie precedenti	
Familiarità per emoglobinopatie :	
Patologie principali :	
Uso di farmaci :	
IN CASO DI GRAVIDANZA IN ATTO	
Nome del/della partner :	
Partner già esaminato per emoglobinopatie :	
Eventuali terapie in atto per carenza di ferro :	

Data \_\_\_\_\_



AZIENDA OSPEDALIERA  
S. CROCE E CARLE di CUNEO

Via Michele Coppino, 26 - 12100 CUNEO  
Tel. +39 0171.641111 fax +39 0171.699545  
Email: [aso.cuneo@cert.legalmail.it](mailto:aso.cuneo@cert.legalmail.it)  
Sito web: <http://www.ospedale.cuneo.it>

P.I./Cod. Fisc. 01127900049

Struttura S.S. Genetica e Biologia Molecolare  
Indirizzo: Ospedale Carle Via A. Carle, 5 12100 CONFRETTA - CUNEO

Telefono: 0171 616327

Fax: 0171 616331

### INFORMATIVA PER L'ESECUZIONE DELLA TIPIZZAZIONE MOLECOLARE DEI GENI GLOBINICI (ai sensi del D.Lgs 30/06/2003, n. 196 e ss.mm.ii. e del Reg. UE 2016/679 del 27/04/2016)

Gentile Signora/Signore,

La S.S. Genetica e Biologia Molecolare appartenente alla S.C. Int. Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia desidera informarla che utilizzerà il suo materiale biologico, i suoi dati anagrafici e le informazioni sul suo stato di salute soltanto nella misura in cui questi saranno indispensabili per le attività necessarie a determinare i risultati del test da lei eseguito. A tal fine, i campioni e i dati da lei forniti saranno trattati con modalità, anche informatizzate, soltanto dal personale del Laboratorio incaricato di svolgere le procedure connesse all'esecuzione del test. I risultati saranno conservati presso la Struttura in conformità ai vigenti obblighi normativi sulla conservazione dei documenti diagnostici.

Dall'esecuzione del test per la ricerca delle emoglobine anomale a cui si è sottoposto potrebbero essere ottenuti risultati che necessitano di un approfondimento mediante caratterizzazione molecolare. A tal fine il suo campione biologico deve essere conservato presso la S.S. Genetica e Biologia Molecolare ed eventualmente utilizzato in tempi successivi al prelievo per consentire l'esecuzione di tali analisi. Il campione verrà comunque conservato solo per il periodo di tempo strettamente necessario all'eventuale verifica dei risultati.

I test genetici molecolari che verranno eventualmente eseguiti permettono di evidenziare caratteristiche del patrimonio genetico e trasmissibili per via ereditaria, consentendo di caratterizzare i soggetti malati o i portatori sani di Talassemia e/o altre Emoglobinopatie.

Lei potrà in ogni caso e in qualsiasi momento conoscere tutti i dati che la riguardano, sapere come sono stati acquisiti, verificare se sono esatti, completi e aggiornati, nonché far valere ogni altro suo diritto al riguardo, scrivendo o contattando il personale della nostra Struttura ai recapiti sopra indicati.

### CONSENSO AL TRATTAMENTO DEI DATI e DEI CAMPIONI BIOLOGICI PER L'ESECUZIONE DELLA TIPIZZAZIONE MOLECOLARE DEI GENI GLOBINICI

Io sottoscritto/a ..... nato/a a ..... il .....  
dichiaro di avere letto e compreso in tutti i suoi aspetti la soprainformata informativa e di:

ACCONSENTIRE  NON ACCONSENTIRE  
che vengano trattati presso la S.S. Genetica e Biologia Molecolare per finalità di tutela della salute  
 i miei dati personali e sensibili  
 il materiale biologico che si rende necessario prelevare e conservare per l'esecuzione degli eventuali test per la tipizzazione molecolare dei geni globinici

ACCONSENTIRE  NON ACCONSENTIRE  
L' esecuzione di test molecolari in grado di evidenziare caratteristiche del patrimonio genetico e trasmissibili per via ereditaria, consentendo di caratterizzare i soggetti malati o i portatori sani di Talassemia e/o altre Emoglobinopatie.

Data \_\_\_\_\_

Firma leggibile del paziente \_\_\_\_\_



# ITER DIAGNOSTICO

Valutazione di:

- quesito clinico presente nella richiesta
- variabili individuali (età, stato di gravidanza, assunzione farmaci, altro)
- %HbA2 e %HbF e presenza di varianti
- parametri eritrocitari (MCV, Hb, HCT)
- stato marziale

## 1° LIVELLO

- Emocromo e stato marziale
- HPLC  
(Premier Hb 9210 Resolution)
- Migrazione elettroforetica  
(capillarys 2 flex-piercing)

## 2° LIVELLO

- Estrazione DNA  
(Maxwell RSC 48)
- Multiplex PCR
- Reverse dot blot hybridation  
(Profiblot T30)

CONSULENZA  
GENETICA

## 3° LIVELLO

- NGS
- MLPA

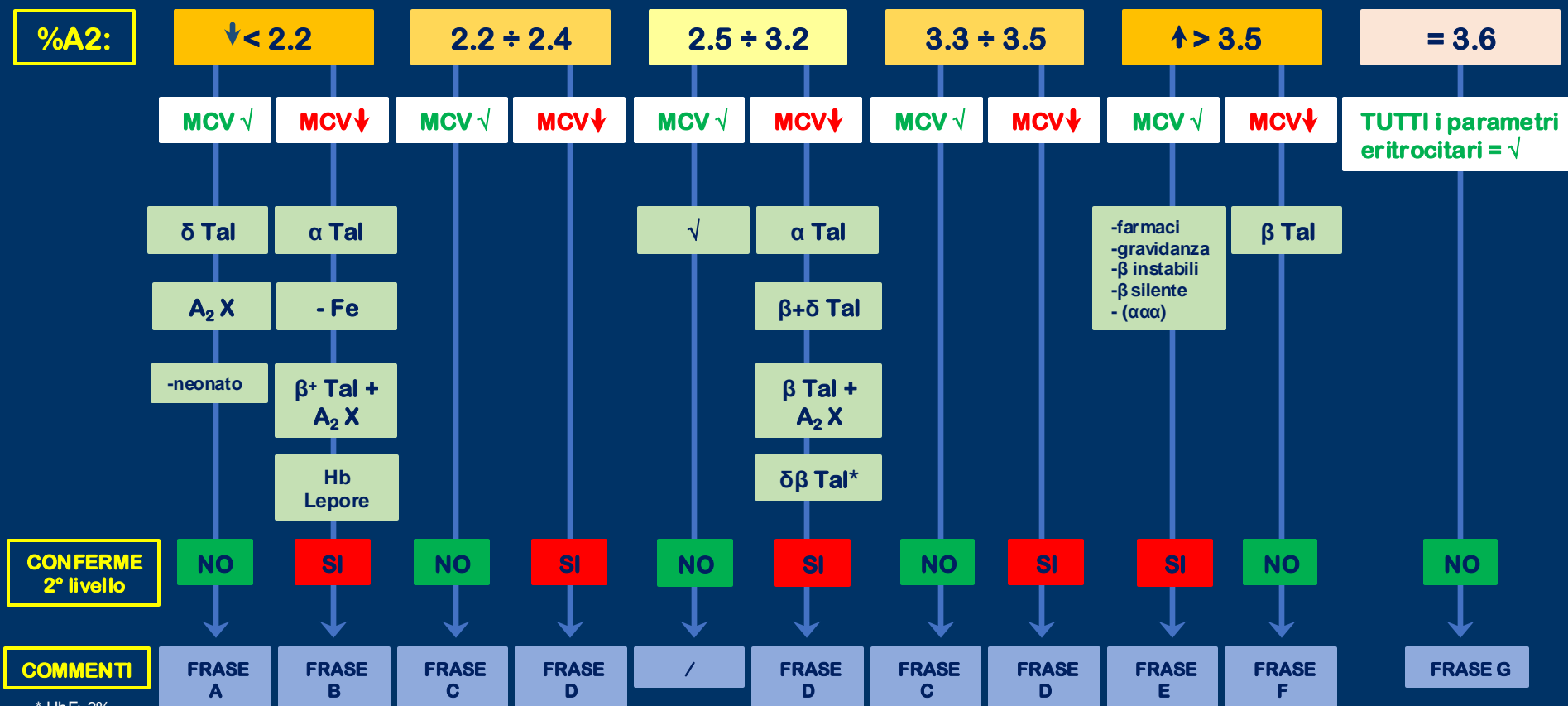
Centro  
regionale di  
riferimento  
per le  
microcitemie

# ITER DIAGNOSTICO

Valutazione di:

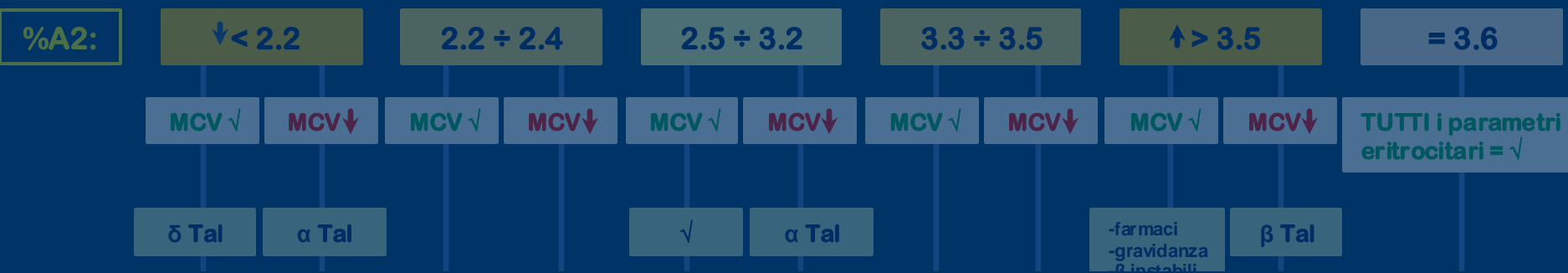
- quesito clinico presente nella richiesta
- variabili individuali (età, stato di gravidanza, assunzione farmaci, altro)
- %HbA2 e %HbF e presenza di varianti
- parametri eritrocitari (MCV, Hb, HCT)
- stato marziale

# ALGORITMO PER LA GESTIONE ED INTERPRETAZIONE DEL VALORE DI HbA2 IN DIVERSE E PIU' FREQUENTI SITUAZIONI

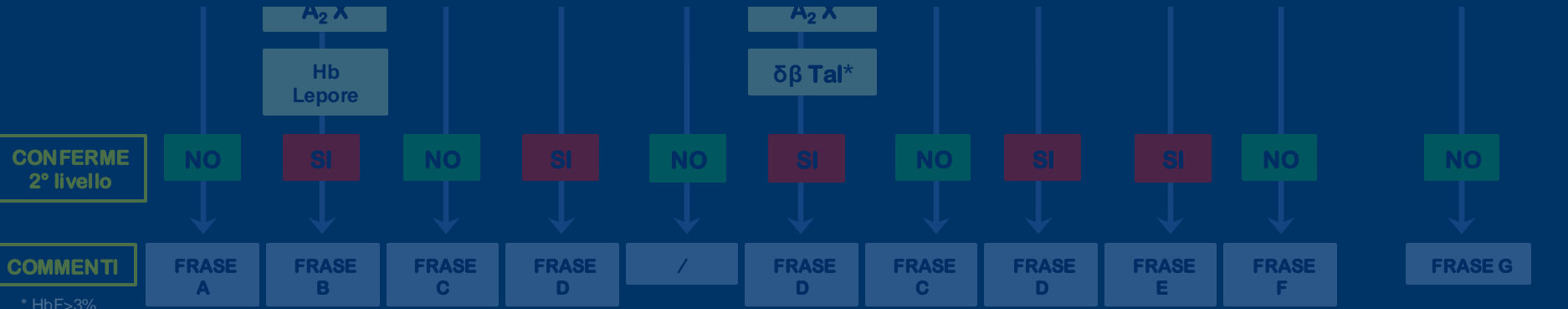


\* HbF > 3%

# ALGORITMO PER LA GESTIONE ED INTERPRETAZIONE DEL VALORE DI HbA2 IN DIVERSE E PIU' FREQUENTI SITUAZIONI



# ALGORITMO PER L'INTERPRETAZIONE DELL'HbF IN DIVERSE E PIU' FREQUENTI CONDIZIONI



\* HbF > 3%

Assetto emoglobinico



Parametri eritrocitari (Emoglobina totale, MCV, HCT)



ESCLUDERE EVENTUALE STATO DI PORTATORE DI TALASSEMIA

MICROCITOSI



Informazioni su assetto marziale (Sideremia, Transferrina, Ferritina)



eventuale STATO DI PORTATORE DI TALASSEMIA

in ASSENZA di queste informazioni

nel referto viene scritto un commento specifico e il consiglio ad estendere l'analisi dell'assetto emoglobinico ed emocromocitometrico al partner e poi, se partner portatore di emoglobinopatia, consiglio per la consulenza di coppia



Se il percorso diagnostico prevede in modo esplicito la definizione del RISCHIO RIPRODUTTIVO DI COPPIA (ad esempio in caso di agende di gravidanza, analisi preconcezionali, PMA)

nel commento all'esito viene rammentato che:

per effettuare tale valutazione è necessaria la contestuale analisi dell'assetto emoglobinico ed emocromocitometrico nel/nella partner

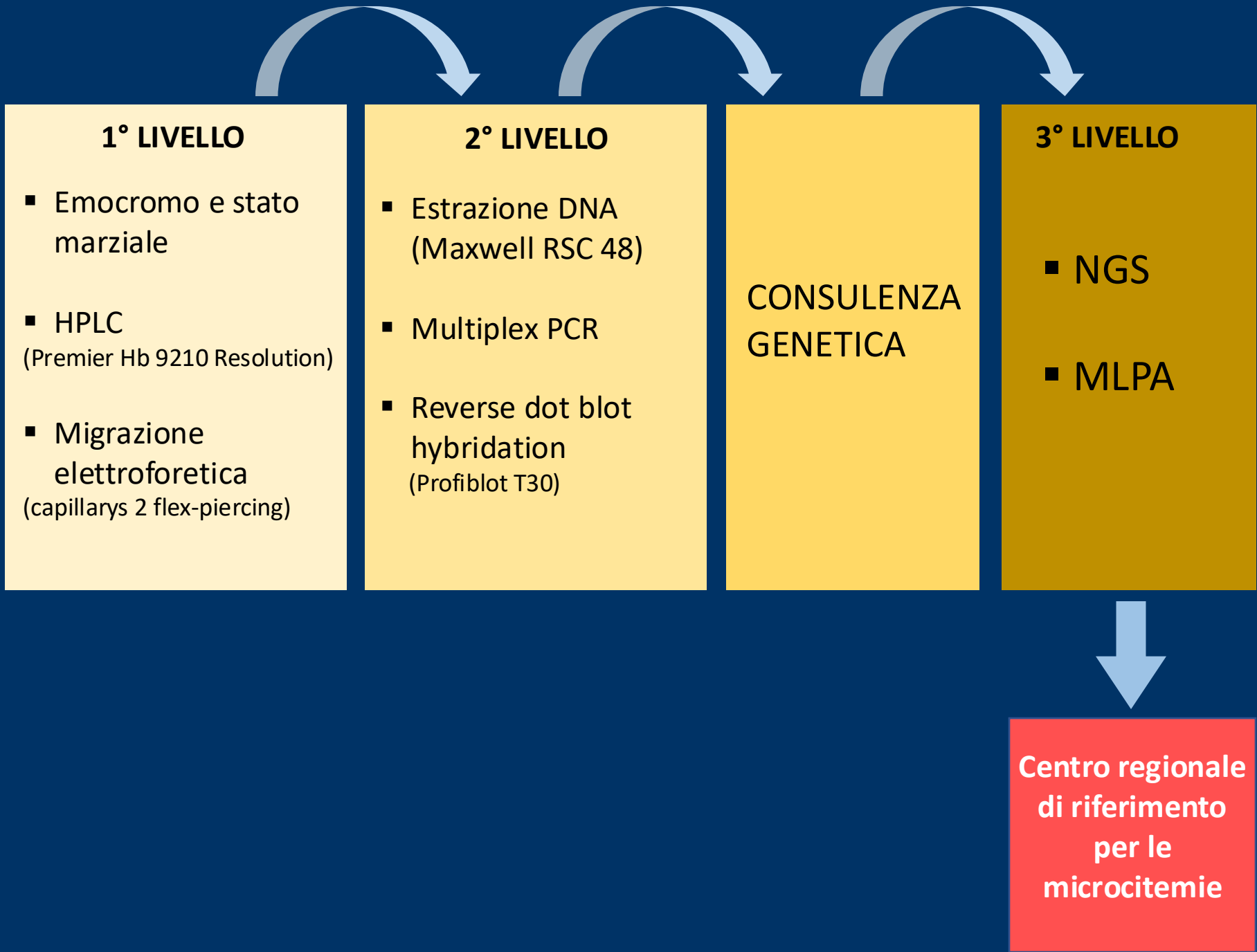
ai PARTNER DI PORTATORI DI  $\beta$  TALASSEMIA

(raccolta del consenso informato)

per meglio valutare il rischio riproduttivo



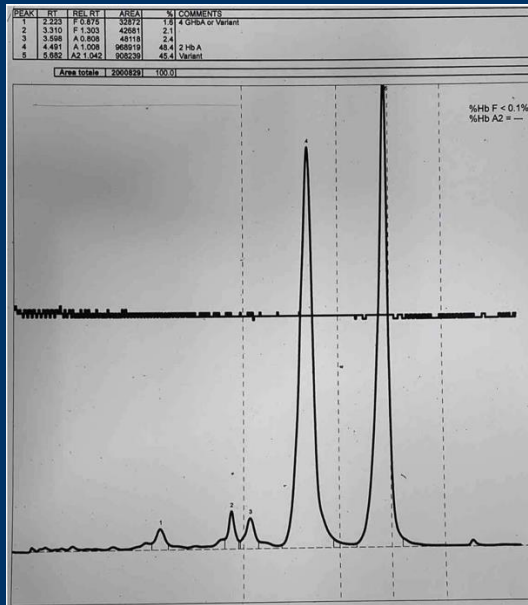
eseguita la ricerca del triplicato  $\alpha$  ( $\alpha\alpha\alpha$ )



**NEL 2023**  
**5560 campioni**

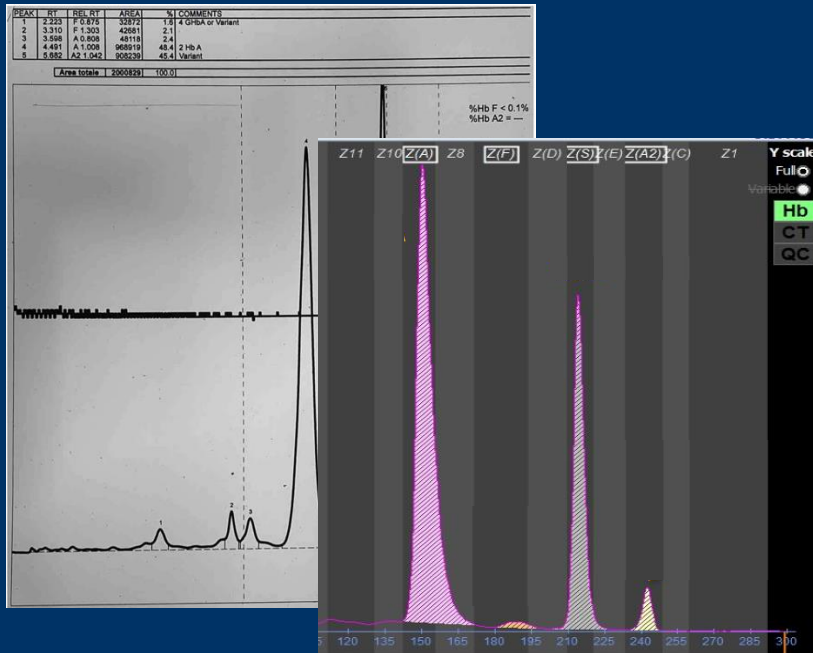
**Consulenze Genetiche: 16**  
**portatori  $\alpha$  tal:  $\approx 0,8\%$**   
**portatori  $\beta$  tal:  $\approx 4\%$**   
**portatori Variante:  $\approx 1,4\%$**

# CONFERMA DI PRESENZA DI VARIANTE HbS in ETEROZIGOSI



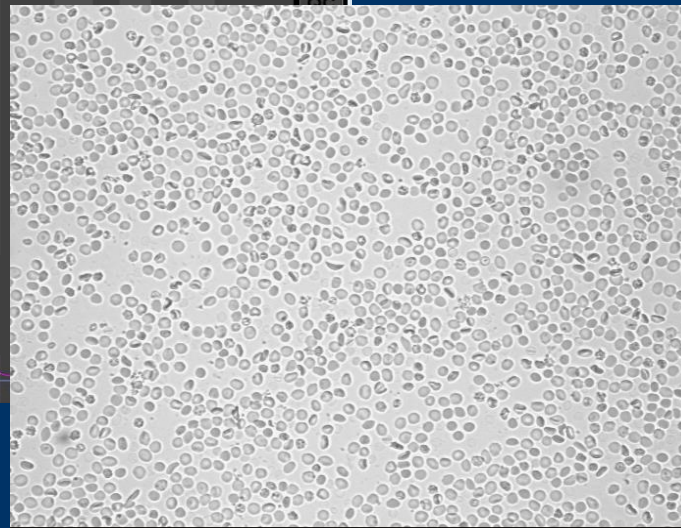
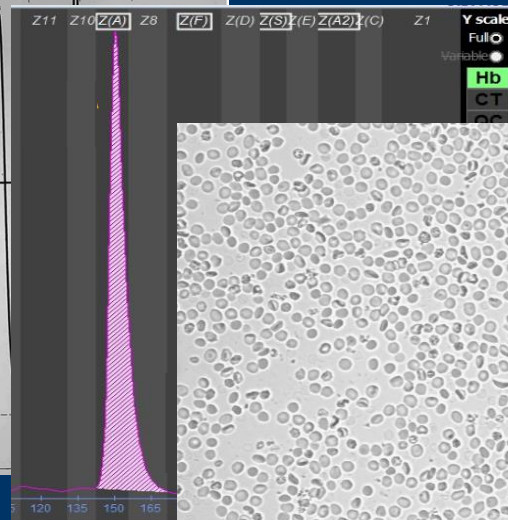
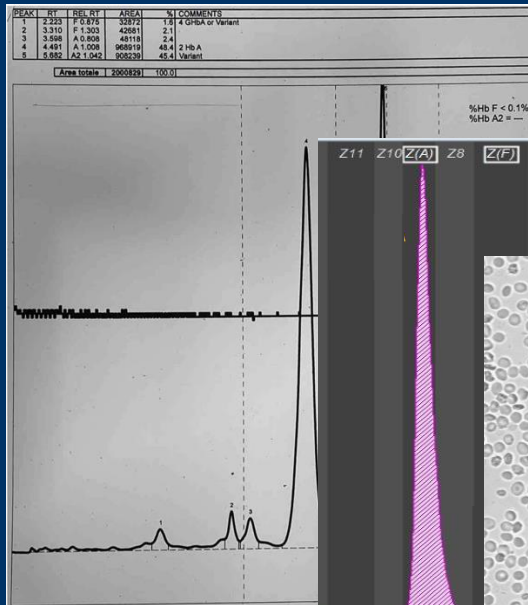
HPLC

# CONFERMA DI PRESENZA DI VARIANTE HbS in ETEROZIGOSI



Migrazione elettroforetica

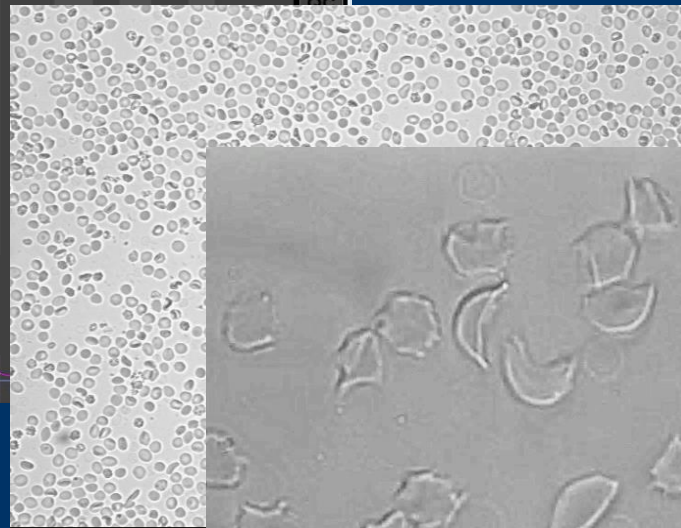
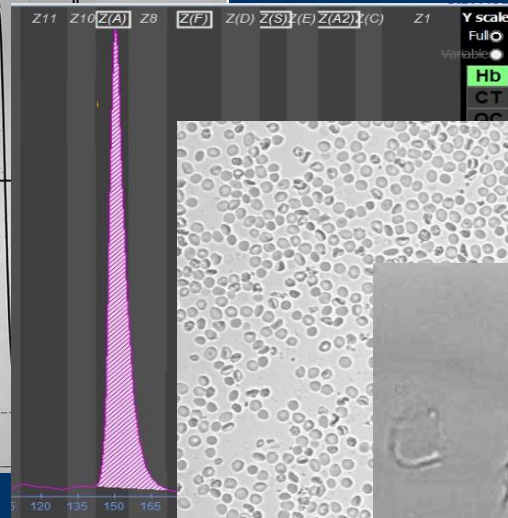
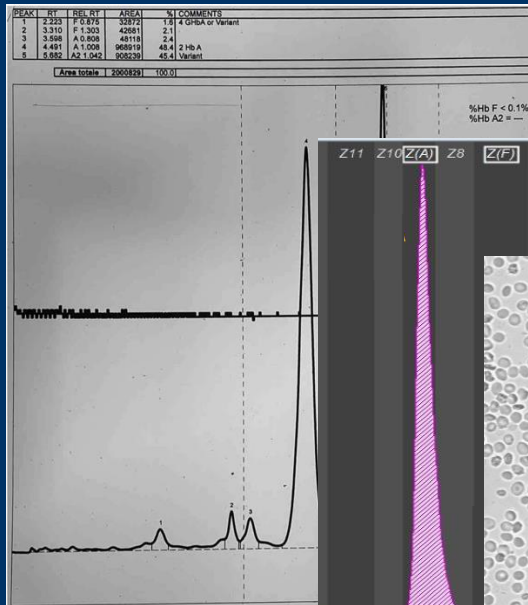
# CONFERMA DI PRESENZA DI VARIANTE HbS in ETEROZIGOSI



Test di Sickling  
(deossigenazione con  
ditionito di sodio)



# CONFERMA DI PRESENZA DI VARIANTE HbS in ETEROZIGOSI



Test di Sickling  
(deossigenazione con  
ditionito di sodio)

# CASO 1

## Emocromo (Sg)

WBC-Globuli Bianchi	8,09		K/ $\mu$ l	[4,00 - 10,80]
RBC-Globuli Rossi	5,45	*	M/ $\mu$ l	[3,80 - 5,40]
HGB-Emoglobina	11,7	*	g/dL	[12,0 - 16,0]
HCT-Ematocrito	35,7	*	%	[37,0 - 47,0]
MCV-Volume Eritrocitario	65	*	fl	[80 - 97]
MCH-Contenuto Corpuscolare HGB	21,5	*	pg	[26,0 - 34,0]
MCHC-Concentrazione Corpuscolare Hgb	32,9		g/dL	[31,8 - 35,4]
RDW-Indice Anisocitosi Eritrocitaria	15,7	*	%	[< 14,8]
PLT-Piastrine	321		K/ $\mu$ l	[130 - 424]
MPV-Volume Piastrinico	8,49		fl	[7,50 - 12,00]

## Ricerca Hb anomale (Sg)

Metodica: HPLC

SANGUE VENOSO

Emoglobina A2

4,0 \* % Adulti [2,5 - 3,2]

Emoglobina fetale

NON DOSABILE %

Assetto emoglobinico

Non si evidenziano varianti emoglobiniche.

**Assetto emoglobinico compatibile con lo stato di portatore sano di beta talassemia.**

**Poiché il rischio di una coppia di portatori sani di beta-talassemia di generare figli affetti è del 25% ad ogni gravidanza, si consiglia l'estensione dell'analisi dell'assetto emoglobinico ed emocromocitometrico al partner e, in caso di sospetta emoglobinopatia nel partner, consulenza genetica di coppia. L'estensione dell'analisi dell'assetto emoglobinico è indicata anche nei collaterali di primo grado per stabilire l'eventuale stato di portatore.**

# CASO 1

## Emocromo (Sg)

WBC-Globuli Bianchi	8,09		K/ $\mu$ l	[4,00 - 10,80]
RBC-Globuli Rossi	5,45	*	M/ $\mu$ l	[3,80 - 5,40]
HGB-Emoglobina	11,7	*	g/dL	[12,0 - 16,0]
HCT-Ematocrito	35,7	*	%	[37,0 - 47,0]
MCV-Volume Eritrocitario	65	*	fl	[80 - 97]
MCH-Contenuto Corpuscolare HGB	21,5	*	pg	[26,0 - 34,0]
MCHC-Concentrazione Corpuscolare Hgb	32,9		g/dL	[31,8 - 35,4]

**Assetto emoglobinico compatibile con lo stato di portatore sano di beta talassemia.**

**Poiché il rischio di una coppia di portatori sani di beta-talassemia di generare figli affetti è del 25% ad ogni gravidanza, si consiglia l'estensione dell'analisi dell'assetto emoglobinico ed emocromocitometrico al partner e, in caso di sospetta emoglobinopatia nel partner, consulenza genetica di coppia. L'estensione dell'analisi dell'assetto emoglobinico è indicata anche nei collaterali di primo grado per stabilire l'eventuale stato di portatore.**

Emoglobina A2	4,0	*	%	Adulti [2,5 - 3,2]
---------------	-----	---	---	--------------------

Emoglobina fetale	NON DOSABILE		%	
-------------------	--------------	--	---	--

Assetto emoglobinico  
Non si evidenziano varianti emoglobiniche.

**Assetto emoglobinico compatibile con lo stato di portatore sano di beta talassemia.**

**Poiché il rischio di una coppia di portatori sani di beta-talassemia di generare figli affetti è del 25% ad ogni gravidanza, si consiglia l'estensione dell'analisi dell'assetto emoglobinico ed emocromocitometrico al partner e, in caso di sospetta emoglobinopatia nel partner, consulenza genetica di coppia. L'estensione dell'analisi dell'assetto emoglobinico è indicata anche nei collaterali di primo grado per stabilire l'eventuale stato di portatore.**

# CASO 1

## Emocromo (Sg)

WBC-Globuli Bianchi	8,09		K/ $\mu$ l	[4,00 - 10,80]
RBC-Globuli Rossi	5,45	*	M/ $\mu$ l	[3,80 - 5,40]
HGB-Emoglobina	11,7	*	g/dL	[12,0 - 16,0]
HCT-Ematocrito	35,7	*	%	[37,0 - 47,0]
MCV-Volume Eritrocitario	65	*	fl	[80 - 97]

## Emocromo (Sg)

WBC-Globuli Bianchi	4,41		K/ $\mu$ l	[4,00 - 10,80]
RBC-Globuli Rossi	4,83		M/ $\mu$ l	[4,40 - 5,90]
HGB-Emoglobina	15,0		g/dL	[14,0 - 18,0]
HCT-Ematocrito	43,4		%	[42,0 - 52,0]
MCV-Volume Eritrocitario	89		fl	[80 - 97]
MCH-Contenuto Corpuscolare HGB	31,1		pg	[26,0 - 34,0]
MCHC-Concentrazione Corpuscolare Hgb	34,6		g/dL	[31,8 - 35,4]
RDW-Indice Anisocitosi Eritrocitaria	13,5		%	[< 14,8]
PLT-Piastrine	194		K/ $\mu$ l	[130 - 424]
MPV-Volume Piastrinico	10,62		fl	[7,50 - 12,00]

Aspetto emoglobinico compatibile con lo stato di portatore sano di beta talassemia.

Poiché il rischio di una coppia di portatori sani di beta-talassemia di generare figli affetti è del 25% ad ogni gravidanza, si consiglia l'estensione dell'analisi dell'assetto emoglobinico ed emocromocitometrico al partner e, in caso di sospetta emoglobinopatia nel partner, consulenza genetica di coppia. L'estensione dell'analisi dell'assetto emoglobinico è indicata anche nei collaterali di primo grado per stabilire l'eventuale stato di portatore.

# CASO 1

## Ricerca Hb anomale (Sg)

Metodica: HPLC

SANGUE VENOSO

Emoglobina A2	3,1	%	Adulti [2,5 - 3,2]
Emoglobina fetale	NON DOSABILE	%	

Assetto emoglobinico

Non si evidenziano varianti emoglobiniche.

Alla luce dell'esito della ricerca delle emoglobine anomale effettuata sulla partner (portatrice sana di beta talassemia, vedi pratica n. 222000250049 del 28.11.23), si procede con la tipizzazione molecolare per verificare l'eventuale presenza di triplicato alfa.

## Tipizzazione Molecolare geni globinici

Materiale: DNA estratto da sangue periferico

Indicazione al test: Partner di portatore sano.

Origine etnica/Geografica Paziente: Africana

Metodica: Ibridazione Inversa - Sensibilità: >99.0% - Specificità: >99.0%

Mutazioni del gene beta globinico ricercate:

-86 C>A, -29 A>G, cap+1 A>C, cap+33 C>G, cod 7 A>G (HbG-San José), cod 19 C>A (HbD-Ouled Rabah), cod 26 G>A (HbE), cod 47 G>A (HbG-Copenaghen), cod 104 G>C (Hb Camperdown), cod 121 G>C (HbD-Punjab), cod 121 G>A (Hb O-Arab), cod 126 T>G (Hb Neapolis), Hb Lepore-BW, Siciliana (d $\beta$ )0 delezione.

Mutazioni del gene alfa globinico ricercate:

triplicazione (anti 3. /)

Risultato: L'analisi del DNA ha evidenziato la presenza della mutazione

Anti 3.7 (triplicato alfa)

Formula del genotipo secondo nomenclatura HGVS: NG\_000006.1:g.34247\_38050dup

RefSeq: NG\_000006.1

Interpretazione del risultato: Il risultato del test molecolare è compatibile con uno stato di portatore del triplicato alfa (anti 3.7), verosimilmente allo stato eterozigote ma non confermabile con la metodica utilizzata; tale condizione è priva di significato clinico nel portatore. La presenza del triplicato alfa è importante in caso di co-eredità con una variante beta-talassemica perché può causare un quadro clinico di talassemia intermedia.

Alla luce dell'esito della ricerca delle emoglobine anomale effettuata sulla partner dichiarata, la coppia presenta un rischio del 25% ad ogni gravidanza di avere figli affetti da beta talassemia intermedia. Si consiglia pertanto visita specialistica presso il Centro per le microcitemie di riferimento. Si consiglia inoltre l'analisi dell'assetto emoglobinico ed emocromocitometrico ai parenti di primo grado per stabilire l'eventuale stato di portatore.

# CASO 1

## Ricerca Hb anomale (Sg)

Metodica: HPLC

SANGUE VENOSO

Emoglobina A2

3,1

%

Adulti [2,5 - 3,2]

Emoglobina fetale

NON DOSABILE

%

Assetto emoglobinico

Non si evidenziano varianti emoglobiniche.

Alla luce dell'esito della ricerca delle emoglobine anomale effettuata sulla partner (portatrice sana di beta talassemia, vedi pratica n. 222000250049 del 28.11.23), si procede con la tipizzazione molecolare per verificare l'eventuale presenza di triplicato alfa.

## Tipizzazione Molecolare geni globinici

Materiale:

DNA estratto da sangue periferico

**Alla luce dell'esito della ricerca delle emoglobine anomale effettuata sulla partner dichiarata, la coppia presenta un rischio del 25% ad ogni gravidanza di avere figli affetti da beta talassemia intermedia. Si consiglia pertanto visita specialistica presso il Centro per le microcitemie di riferimento. Si consiglia inoltre l'analisi dell'assetto emoglobinico ed emocromocitometrico ai parenti di primo grado per stabilire l'eventuale stato di portatore.**

Mutazioni del gene beta globinico ricercate:

-86 C>A, -29 A>G, cap+1 A>C, cap+33 C>G, cod 7 A>G (HbG-San José), cod 19 C>A (HbD-Ouled Rabah), cod 26 G>A (HbE), cod 47 G>A (HbG-Copenaghen), cod 104 G>C (Hb Camperdown), cod 121 G>C (HbD-Punjab), cod 121 G>A (Hb O-Arab), cod 126 T>G (Hb Neapolis), Hb Lepore-BW, Siciliana (dβ)0 delezione.

Mutazioni del gene alfa globinico ricercate:

triplicazione (anti 3.7)

Risultato:

L'analisi del DNA ha evidenziato la presenza della mutazione

Anti 3.7 (triplicato alfa)

Formula del genotipo secondo nomenclatura HGVS:

NG\_000006.1:g.34247\_38050dup

RefSeq: NG\_000006.1

Interpretazione del risultato:

Il risultato del test molecolare è compatibile con uno stato di portatore del triplicato alfa (anti 3.7), verosimilmente allo stato eterozigote ma non confermabile con la metodica utilizzata; tale condizione è priva di significato clinico nel portatore. La presenza del triplicato alfa è importante in caso di co-eredità con una variante beta-talassemica perché può causare un quadro clinico di talassemia intermedia.

**Alla luce dell'esito della ricerca delle emoglobine anomale effettuata sulla partner dichiarata, la coppia presenta un rischio del 25% ad ogni gravidanza di avere figli affetti da beta talassemia intermedia. Si consiglia pertanto visita specialistica presso il Centro per le microcitemie di riferimento. Si consiglia inoltre l'analisi dell'assetto emoglobinico ed emocromocitometrico ai parenti di primo grado per stabilire l'eventuale stato di portatore.**



# CASO 2

## Emocromo (Sg)

WBC-Globuli Bianchi	5,90	K/ $\mu$ l	[4,00 - 10,80]
RBC-Globuli Rossi	4,25	M/ $\mu$ l	[3,80 - 5,40]
HGB-Emoglobina	12,9	g/dL	[12,0 - 16,0]
HCT-Ematocrito	37,0	%	[37,0 - 47,0]
MCV-Volume Eritrocitario	87	fl	[80 - 97]
MCH-Contenuto Corpuscolare HGB	30,3	pg	[26,0 - 34,0]
MCHC-Concentrazione Corpuscolare Hgb	34,9	g/dL	[31,8 - 35,4]
RDW-Indice Anisocitosi Eritrocitaria	16,9 *	%	[< 14,8]
PLT-Piastrine	274	K/ $\mu$ l	[130 - 424]
MPV-Volume Piastrinico	8,67	fl	[7,50 - 12,00]

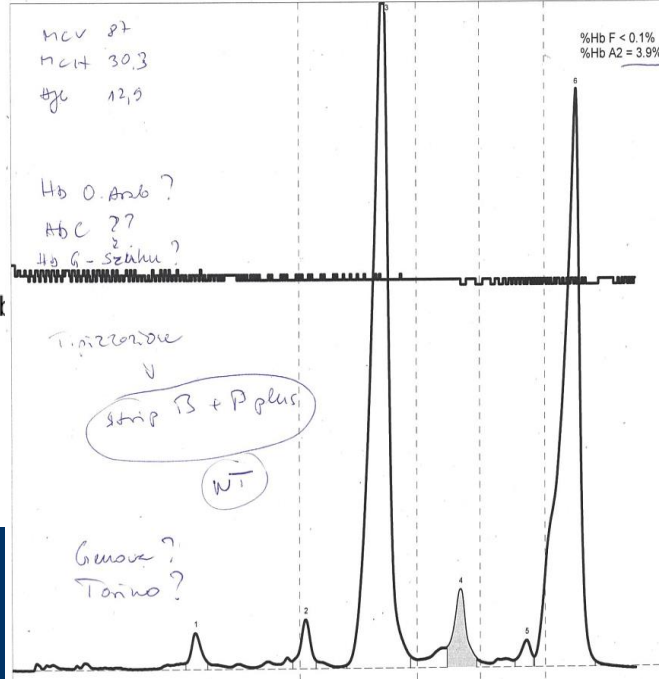
# CASO 2

## Emocromo (Sg)

PEAK	RT	REL RT	AREA	%	COMMENTS
1	2.262	F 0.669	39142	1.6	4 GHDA or Variant
2	3.622	A 0.805	50654	2.1	
3	4.576	A 1.017	1173189	48.3	2 Hb A
4	5.512	A2 1.010	95443	3.9	Hb A2
5	6.327	S 1.045	27171	1.1	
6	6.939	C 0.954	1042896	42.9	Variant

patient VILLAR GABRIEL NICANOR  
6/6/90  
(no Hb o emocromo)

Area totale 2428495 100.0



WBC-Globuli Bianchi

[4,00 - 10,80]

RBC-Globuli Rossi

[3,80 - 5,40]

HGB-Emoglobina

[12,0 - 16,0]

HCT-Ematocrito

[37,0 - 47,0]

MCV-Volume Eritrocitario

[80 - 97]

MCH-Contenuto Corpuscolare HGB

[26,0 - 34,0]

MCHC-Concentrazione Corpuscolare Hgt

[31,8 - 35,4]

RDW-Indice Anisocitosi Eritrocitaria

[< 14,8]

PLT-Piastrine

[130 - 424]

MPV-Volume Piastrinico

[7,50 - 12,00]

# CASO 2

## Tipizzazione Molecolare geni globinici

Materiale: DNA estratto da sangue periferico

Indicazione al test: Screening Emoglobinopatie.

Origine etnica/Geografica Paziente: *Caucasica*

Metodica: Ibridazione Inversa - Sensibilità: >99.0% - Specificità: >99.0%

Mutazioni del gene beta globinico ricercate:

-101 C>T, -92 C>T, -87 C>G, -30 T>A, cod. 5 -CT, cod. 6 G>A, cod. 6 A>T, cod. 6 -A, cod. 8 -AA, cod. 8/9 +G, cod. 30 G>C, IVS 1.1 G>A, IVS 1.2 T>A, IVS 1.5 G>C, IVS 1.6 T>C, IVS 1.110 G>A, IVS 1.116 T>G, IVS 1 -25, cod. 39 C>T, cod. 44 -C, cod. 76 -C, IVS 2.1 G>A, IVS 2.654 C>T, IVS 2.745 C>G, IVS 2.844 C>G, -86 C>A, -29 A>G, cap+1 A>C, cap+33 C>G, cod 7 A>G (HbG-San José), cod 19 C>A (HbD-Ouled Rabah), cod 26 G>A (HbE), cod 47 G>A (HbG-Copenaghen), cod 104 G>C (Hb Camperdown), cod 121 G>C (HbD-Punjab), cod 121 G>A (Hb O-Arab), cod 126 T>G (Hb Neapolis), Hb Lepore-BW, Siciliana (d $\beta$ )0 delezione

Mutazioni del gene alfa globinico ricercate:

triplicazione (anti 3.7)

Risultato: L'analisi del DNA non ha evidenziato la presenza delle varianti nucleotidiche ricercate.

Interpretazione del risultato: Il campione viene inviato per approfondimento diagnostico al laboratorio di riferimento.

# CASO 2

## Emocromo (Sg)

WBC-Globuli Bianchi	9,18	K/ $\mu$ l	[4,00 - 10,80]
RBC-Globuli Rossi	5,34	M/ $\mu$ l	[4,40 - 5,90]
HGB-Emoglobina	16,8	g/dL	[14,0 - 18,0]
HCT-Ematocrito	48,5	%	[42,0 - 52,0]
MCV-Volume Eritrocitario	90	fl	[80 - 97]
MCH-Contenuto Corpuscolare HGB	31,5	pg	[26,0 - 34,0]
MCHC-Concentrazione Corpuscolare Hgb	34,7	g/dL	[31,8 - 35,4]
RDW-Indice Anisocitosi Eritrocitaria	13,0	%	[< 14,8]
PLT-Piastrine	190	K/ $\mu$ l	[130 - 424]
MPV-Volume Piastrinico	8,65	fl	[7,50 - 12,00]

## Ricerca Hb anomale (Sg)

Metodica: HPLC

SANGUE VENOSO

Emoglobina A2

2,8 % Adulti [2,5 - 3,2]

Emoglobina fetale

NON DOSABILE %

Assetto emoglobinico

Non si evidenziano varianti emoglobiniche.

# CASO 2

## Emocromo (Sg)

WBC-Globuli Bianchi	9,18	K/ $\mu$ l	[4,00 - 10,80]
RBC-Globuli Rossi	5,34	M/ $\mu$ l	[4,40 - 5,90]

## Analisi per la ricerca di mutazioni del gene della beta-globina (HBB)

(Beta-talassemia e varianti beta-emoglobiniche - OMIM #613985, \*141900)

**Metodo analitico:** Sequenziamento massivo parallelo mediante piattaforma Illumina MySeq con kit CE IVD Devyser THALASSEMIA NGS ed allineamento delle sequenze e chiamata delle varianti eseguita con software AMPLICON SUITE. Percentuale di basi con almeno 200 reads: 100%. Sensibilità e specificità analitica del test: >99%; efficienza diagnostica: 99,9%. Analisi CNV compresa. Il test non consente di escludere la presenza di mutazioni in regioni non analizzate, la rara evenienza della mancata amplificazione di un allele a causa di varianti nella regione di appaiamento dei primer o il fenomeno dell'allelic drop-out.

**Mutazioni ricercate:** ---

**Conferma del risultato:** eseguita su seconda estrazione di DNA mediante sequenziamento Sanger.

## Risultato:

**Presenza della variante c.271G>A, p.(Glu91Lys) (Hb Agenogi) in eterozigosi**

**Genotipo:** NM\_000518.5(HBB):c.[271G>A];[=]

NON DOSABILE

%

## Assetto emoglobinico

Non si evidenziano varianti emoglobiniche.

# CASO 2

Lo screening per le emoglobine anomale ha evidenziato che la signora [REDACTED] è portatrice di una variante emoglobinica, mentre nel signor [REDACTED] sono state escluse le forme classiche di talassemia e la presenza di varianti emoglobiniche.¶

La tipizzazione molecolare dei geni globinici, eseguita sul DNA della signora [REDACTED], ha evidenziato la presenza della variante c.271G>A, p.(Glu91Lys) (Hb-Agenogi) nel gene della beta-globina (*HBB*), in eterozigosi (presente su una copia del gene). Tale variante è lievemente instabile e mostra una lieve diminuzione dell'affinità per l'ossigeno, tuttavia, in base ai dati della letteratura i portatori eterozigoti presentano indici eritrocitari normali, come la signora [REDACTED], e non manifestano sintomatologia clinica.¶

Nella letteratura vi sono alcune descrizioni degli individui con Hb-Agenogi associata a un difetto beta-talassemico ( $\beta_0$ ), che presentano lieve anemia microcitica (non trasfusione dipendente), ittero e splenomegalia lievi (Corso D. et al, 1990; Sharma S. et al, 2016).¶

¶  
Per i signori [REDACTED] in base agli esami eseguiti, si può escludere il rischio di avere figli affetti da emoglobinopatie maggiori.¶

I futuri figli dei signori [REDACTED] hanno una probabilità del 50% di essere portatori della variante emoglobinica Hb-Agenogi, come la signora [REDACTED], e del 50% di non essere portatori. Anche i parenti di primo grado della signora [REDACTED] hanno una probabilità del 50% di essere portatori della variante Hb-Agenogi.¶

¶  
L'analisi dell'assetto emoglobinico ed emocromocitometrico è quindi consigliata per i futuri figli della coppia, una volta raggiunta la maggior età, e nei parenti di primo grado della signora [REDACTED], (fratello, sorella, genitori), per stabilire l'eventuale presenza della variante Hb-Agenogi.¶

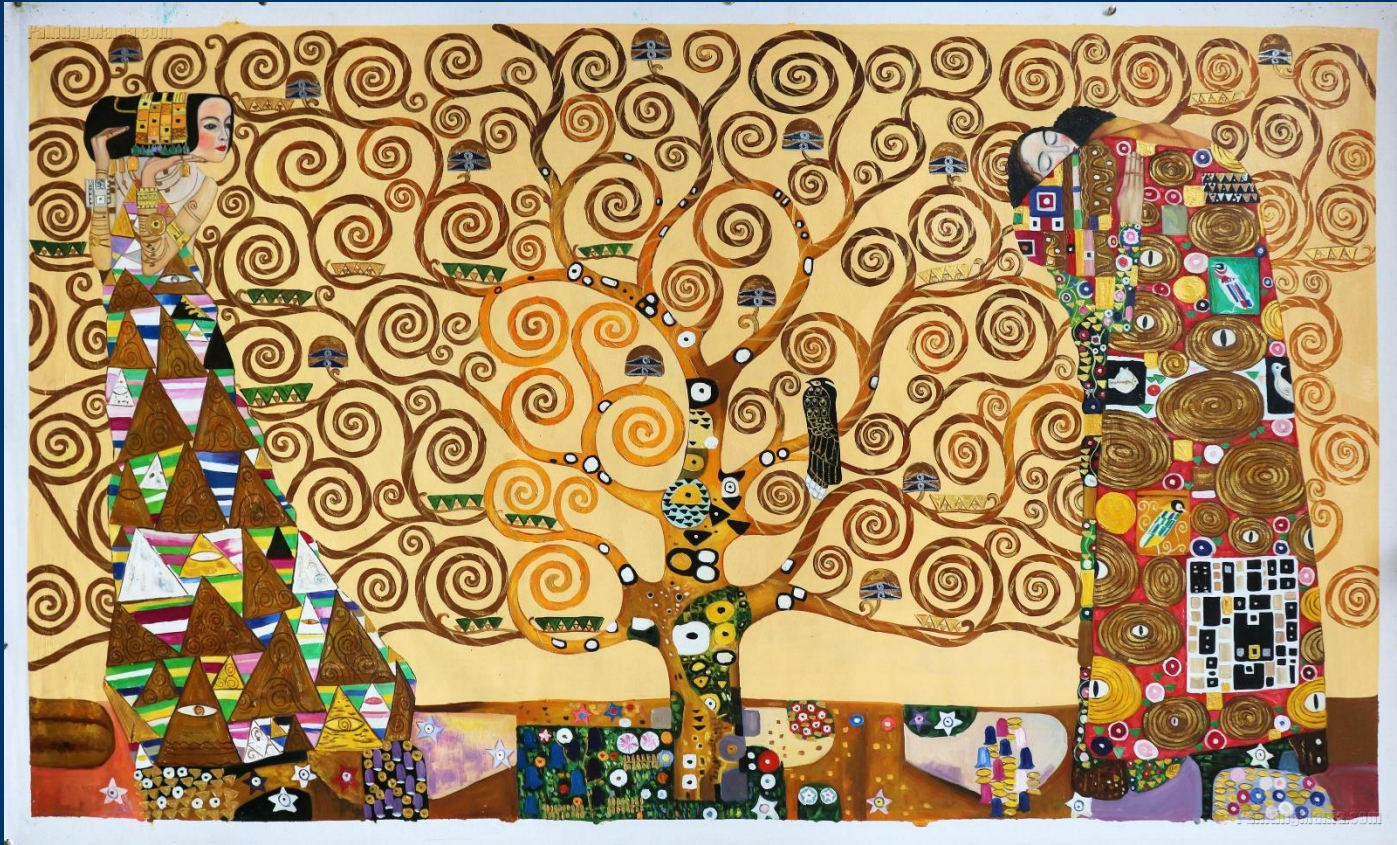


# CONCLUSIONI

GENERARE UN  
REFERTO  
CONCLUSIVO

- **Riduzione tempi diagnostici**
- **Appropriatezza dei test di 2° livello**
- **Ottimizzazione della prosecuzione alle  
indagini di 3° livello**
- **Attenzione nella valutazione del rischio  
riproduttivo della coppia**





**GRAZIE PER L'ATTENZIONE**