

Diagnosi di laboratorio e prevenzione delle emoglobinopatie: considerazioni e proposte sulla comunicazione del risultato degli esami di primo livello

Giovanni Ivaldi¹, Giuseppina Barberio², Mariarosa Carta³, Mariella Mercadanti⁴, Giovanni Rizzuti⁵, Layla Roncoroni⁶, Andrea Mosca⁷

¹Laboratorio di Genetica, Settore Microcitemia, Ospedali Galliera, Genova

²Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, Ospedale di Oderzo, Azienda ULSS 9, Treviso

³Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia, Ospedale "S. Bortolo", Vicenza

⁴Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma, Parma

⁵Laboratorio Analisi Cliniche, Ospedale S. Giovanni di Dio, Firenze

⁶Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, Azienda Ospedaliera di Melegnano

⁷Centro Interdipartimentale per la Riferibilità Metrologica in Medicina di Laboratorio (CIRME), Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biomediche, Università degli Studi di Milano

ABSTRACT

Laboratory diagnosis and prevention of hemoglobinopathies: proposals on how to report results of first level tests. Few documents concern the reporting of laboratory results in the field of hemoglobinopathies and thalassemic syndromes. Here we focus on how to report first level laboratory tests aimed to screen and detect hemoglobin variants and thalassemic defects. In doing this, motivation, pertinent information and possible conclusions are strictly connected.

INTRODUZIONE

La comunicazione del risultato, comunemente detta referto, rappresenta l'atto finale del laboratorio attraverso il quale viene portato a conoscenza del paziente e del curante l'esito di una indagine conseguente ad una richiesta o ad un quesito diagnostico comunque formulato. La specifica letteratura sull'argomento tratta prevalentemente della diagnostica per immagini o solo genericamente di quella di laboratorio, in alcuni casi con il particolare obiettivo di orientare comportamenti in epoca neonatale (1). Molto scarsa appare la documentazione su come poter trasmettere efficacemente l'esito degli esami biochimici utili all'individuazione dei difetti genetici dell'emoglobina.

Il primo livello diagnostico per l'individuazione delle emoglobinopatie comprende un gruppo di esami e possibilmente alcune informazioni sul paziente, che concorrono a definire il fenotipo emoglobinico e talassemico: la mancanza di uno o più di questi elementi può impedire la formulazione corretta della diagnosi conclusiva del laboratorio (Tabella 1) (2). Nella stragrande maggioranza dei casi la richiesta di esami di primo livello giunge al laboratorio al fine di poter accertare la presenza o l'assenza di una condizione ereditata e trasmissibile. Lo stato di normalità o di eterozigosi, già presente alla nascita, non si modificherà più nel corso della vita, ma con l'età, con la gravidanza, con l'insorgenza di patologie associate all'emopoiesi o al metabolismo del ferro si possono produrre fenotipi ematologici ed emoglobinici diversi che possono richiedere opportune valutazioni mediante esami supplementari per eventuali diagnosi

differenziali. Tutto questo non è sempre definito con l'approccio analitico di primo livello, ma le indagini biochimiche consentono nella maggior parte dei casi di escludere la presenza di difetti genetici dell'emoglobina, in alcuni casi di definire uno stato di "portatore sano" o di "malato" oppure fornire elementi utili ad orientare verso approfondimenti successivi prevalentemente di tipo molecolare. In questi ultimi casi, il laboratorio (secondo livello) sarà in grado di osservare e caratterizzare il genotipo, che potrà quindi essere messo in relazione al fenotipo ematologico e/o emoglobinico già noto.

Gli esami genetici in generale, e nel caso specifico quelli per le emoglobinopatie, assolvono principalmente al compito di fornire informazioni utili alla prevenzione e, in questo contesto, il risultato di tali esami potrà avere ricadute immediate oppure a lungo termine. Il concetto di esame genetico è infatti collegato all'ereditarietà dei caratteri e il risultato dell'esame di primo o secondo livello coinvolgerà indifferentemente non solo il singolo soggetto esaminato, ma anche i genitori e i figli, cioè la famiglia. Orientare quindi verso l'esame ai familiari in alcuni casi potrà essere l'unica possibile conclusione e anche in questo gli esami genetici si distinguono dai tradizionali esami di laboratorio.

Questo contributo nasce dalla riflessione di un gruppo di lavoro, che affrontando il tema della comunicazione del risultato delle specifiche indagini per le emoglobinopatie, ha cercato di rispondere ad alcuni dei quesiti più ricorrenti nella pratica quotidiana, partendo dalle motivazioni e dalle circostanze che più frequentemente inducono i clinici alla richiesta di esami relativi all'assetto emoglobinico.

Tabella 1

Informazioni anamnestiche ed esami di laboratorio di primo livello utili alla formulazione di una prima conclusione nell'ambito di una valutazione preliminare di possibili difetti dell'emoglobina (Hb)

Alla nascita	Nell'adulto
<i>Informazioni pre-test e anamnesi minima</i>	
Quesito diagnostico	Quesito diagnostico
Età gestazionale	Sesso ed età
Origini - etnia	Notizie sull'eventuale stato di gravidanza
Eventuale gemellarità	Eventuali esami già eseguiti dal partner
Familiarità per emoglobinopatie	Trasfusioni negli ultimi tre mesi
	Eventuali patologie note
	Terapie in atto
	Origini - etnia
<i>Esami di laboratorio</i>	
Assetto (qualitativo) emoglobinico ^a	Assetto (qualitativo) emoglobinico ^a
Quantificazione delle componenti emoglobiniche ^a	Quantificazione delle componenti emoglobiniche ^a
In presenza di variante Hb: esame di falcizzazione, elettroforesi a pH acido	Esame emocromocitometrico completo
	Valutazione metabolismo ferro ^b
	In presenza di variante Hb: esame di falcizzazione, elettroforesi a pH acido
<i>Valori di riferimento e/o limiti decisionali^c</i>	

^aMediante HPLC o altre tecniche analitiche di documentata affidabilità.

^bMediante dosaggio del ferro e della transferrina sierici, eventualmente associati a misurazione della ferritinemia.

^cNel caso dell'emocromo distinti per sesso.

LE MOTIVAZIONI DELLA RICHIESTA

La richiesta di indagini sulla presenza di emoglobinopatie, che la clinica pone al laboratorio, nasce dalla necessità di conoscere la presenza di difetti allo stato eterozigote oppure omozigote, in presenza o in assenza di un fenotipo clinico sospetto. Conoscere il genotipo, soprattutto quando più difetti su geni diversi concorrono ad attenuare o ad aggravare il fenotipo ematologico, significa consentire nella maggior parte dei casi di fornire l'informazione o la consulenza che è alla base della prevenzione.

Nella Tabella 2 sono riportate alcune delle motivazioni che suggeriscono ai clinici specialisti di ricorrere al laboratorio per individuare la presenza di difetti dei geni globinici. Talvolta, indipendentemente da ogni motivazione, la richiesta d'esame può essere dipendente solo dall'adesione a screening mirati o generalizzati previsti per determinate categorie di soggetti (alla nascita, in vista di una fecondazione medicalmente assistita, nell'ambito di popolazioni particolarmente a rischio per emoglobinopatie).

La comunicazione tra il professionista del laboratorio e il clinico deve anche porsi l'obiettivo di perseguire una maggior appropriatezza nella richiesta degli esami, anche di quelli di approfondimento.

LA COMUNICAZIONE DEL RISULTATO

Da alcuni anni i laboratori di analisi chimico-cliniche perseguono l'obiettivo di inserire, a conclusione degli esami eseguiti, un commento per fornire al clinico chiavi di interpretazione e informazioni sui risultati, che oggi vengono messi a disposizione con moderne e sempre

più sofisticate tecnologie (3). Il laboratorio, così facendo, ritiene di operare a vantaggio del paziente, avendo un'esperienza diretta dei principi e dei limiti delle tecniche utilizzate, delle prove di efficacia, dei valori di riferimento, dell'incertezza della misura, dei percorsi diagnostici più attuali per la valutazione e l'interpretazione dei risultati ottenuti.

Condizioni indispensabili al commento dei risultati

Più esami concorrono alla formulazione di una diagnosi di laboratorio per le emoglobinopatie e, pur tra molte variabili, le informazioni fornite dal momento analitico possono essere sufficienti a identificare una condizione genetica non altrimenti definibile: lo stato di portatore sano di β -talassemia o di portatore generico di variante, per fare solo due esempi, si riconosce infatti solo con esami specifici di laboratorio. Ancor più vincolante per il clinico è il risultato di secondo livello (in genere molecolare) che rappresenterà un elemento unico e spesso insindacabile di conoscenza dell'assetto genico del soggetto, relativamente ai difetti posti in esame.

La frequente mancanza di informazioni clinico-anamnestiche può costituire l'anello debole della catena di eventi che portano dalla richiesta di esami alla conclusione commentata. Nella Tabella 3 sono riportate tre situazioni ricorrenti nella pratica quotidiana del laboratorio, dove non è sempre possibile procedere a "reflex testing" e le notizie sul paziente spesso mancano. In ogni caso, non è possibile pervenire ad una conclusione totalmente certa anche quando i risultati delle prove analitiche appaiono inequivocabili.

Tabella 2

Principali motivazioni (sospetto o necessità diagnostica) che suggeriscono ai clinici l'opportunità di richiedere esami specifici per le emoglobinopatie

Richiedente: Specialista ematologo

Presenza di anemia ipocromica e microcitica

Presenza di microcitosi

Presenza di ittero/emolisi

Presenza di eritrocitosi

Sospetto di emoglobinopatia sulla base di esami non specifici eseguiti in precedenza

Valutazione dell'effetto di terapie eseguite per carenza marziale, valutazione dell'emoglobina F in soggetti affetti in cui ne è stata stimolata la produzione

Caratterizzazione di varianti emoglobiniche già osservate in precedenza

Richiedente: Specialista neonatologo

Controllo alla nascita di nati da genitori portatori e non esaminati in epoca prenatale

Controllo alla nascita o in epoca perinatale della presenza di emoglobina S o di emoglobinosi H

Esame del sangue di cordone ombelicale destinato alla crioconservazione

Presenza di ittero/emolisi

Richiedente: Specialista ginecologo-ostetrico

Prevenzione in epoca preconcezionale

Prevenzione all'inizio della gravidanza per la coppia

Inquadramento preventivo come da protocollo diagnostico in previsione di una fecondazione assistita

Caratterizzazione in previsione di una diagnosi prenatale

Richiedente: Specialista di medicina generale

Presenza di anemia ipocromica e microcitica

Presenza di microcitosi

Prevenzione in epoca preconcezionale

Esami in familiarità per emoglobinopatie

Richiedente: Specialista in medicina trasfusionale

Valutazione in presenza di eritrocitosi o di emosiderosi

Valutazione dell'effetto di terapie eseguite per carenza marziale, valutazione dell'emoglobina F in soggetti affetti in cui ne è stata stimolata la produzione

Monitoraggio del quadro emoglobinico prima e dopo una trasfusione

Mentre i laboratori di genetica dedicati, organizzano l'accesso agli esami con prelievo di sangue preceduto da una raccolta di informazioni clinico-anamnestiche e da un consenso all'esame (4), i laboratori di analisi chimico-cliniche hanno sempre avuto molta difficoltà ad ottenere dai clinici prescrittori o direttamente dai pazienti quelle stesse informazioni. La costante verifica della qualità non solo analitica dovrebbe condurre in futuro i laboratori di analisi ad una più adeguata gestione degli esami genetici, privilegiando maggiormente nella fase preanalitica l'aspetto anamnestico.

I quesiti diagnostici specifici per le emoglobinopatie, come è possibile osservare nella Tabella 2, trovano origine in contesti molto diversi (ambulatori privati e pubblici, reparti ospedalieri, universitari e cliniche), spesso non favorevoli al trasferimento di informazioni verso il laboratorio; le richieste di esami sono formulate da vari specialisti (ginecologi, pediatri, neonatologi, ematologi, genetisti e specialisti di medicina generale); pertanto, le conclusioni del laboratorio devono soddisfare molteplici aspettative. Il laboratorio, seguendo criteri logici e di opportunità e avvalendosi di

strumenti informatici adeguati, potrebbe elaborare e proporre un modulo condiviso o una "maschera informatizzata" per la raccolta di dati essenziali sul soggetto in esame, che renderebbe più agevole e protetta l'acquisizione di informazioni, così come già accade per tutti quei dati sensibili utili alle pratiche amministrative. Nella Tabella 4 viene riportato un esempio di cartella-dati che potrebbe consentire al laboratorio di gestire al meglio la fase post-analitica, corredando il dato di laboratorio con un commento interpretativo, in molti casi con una vera e propria conclusione diagnostica.

Pur con sufficienti notizie anamnestiche, il laboratorio potrebbe tuttavia non essere ancora in grado di rispondere ai quesiti posti fornendo conclusioni definitive. In talune circostanze è quindi opportuno inserire un commento o una conclusione provvisoria per suggerire la necessità di eseguire ulteriori accertamenti o di ripetere l'esame quando per es. è evidente che i risultati ottenuti hanno subito l'interferenza prodotta da farmaci assunti di recente, da terapie trasfusionali o da carenza marziale. A tale proposito è condivisibile una recente affermazione

Tabella 3

Esempi di situazioni nelle quali il laboratorio che esegue esami di primo livello per le emoglobinopatie può ritrovarsi nella pratica quotidiana; è evidente che la presenza o meno del quesito diagnostico e delle notizie anamnestiche possono condizionare le conclusioni del laboratorio

Situazione	Conseguenza
1. Il laboratorio esegue solo gli esami richiesti senza eventuali aggiunte, non disponendo di notizie anamnestiche o di un quesito diagnostico	Il laboratorio può fornire solo risultati numerici, con eventuali intervalli di riferimento, senza commenti o conclusioni
2. Il laboratorio esegue gli esami richiesti in presenza del quesito diagnostico, ma in mancanza di informazioni anamnestiche; è in grado di integrare con esami utili come da linee-guida	Il laboratorio può commentare e giungere ad una diagnosi definitiva, ma limitatamente alle situazioni più chiaramente riconducibili alla condizione di normalità, di portatore classico del tratto β -talassemico o di portatore non meglio specificato di emoglobina S dopo esame di conferma
3. Il laboratorio esegue gli esami richiesti in presenza del quesito diagnostico e in possesso di informazioni anamnestiche e si avvale delle possibilità di eseguire tutti gli esami come da linee-guida	Il laboratorio può giungere ad una diagnosi, commentare il risultato oppure consigliare eventuali ulteriori indagini di secondo livello per i casi dubbi e per quelle situazioni che richiedono una caratterizzazione molecolare

Tabella 4

Informazioni essenziali da far pervenire al laboratorio con la richiesta e il prelievo di sangue per le indagini per emoglobinopatie

Data di nascita:		Sesso: M ___ F ___
Origini/etnia della famiglia:		
Gravidanza:	SI ___ NO ___	se SI: data dell'ultima mestruazione
Terapie in corso:	SI ___ NO ___	se SI: per sideropenia ___
		per ipotiroidismo ___
		con farmaci antiretrovirali ___
		con vitamine e integratori ___
Trasfusioni negli ultimi 3 mesi:	SI ___ NO ___	
Precedenti esami per emoglobinopatie:	SI ___ NO ___	
Precedenti esami ai familiari:	SI ___ NO ___	
Altro:		

secondo la quale “una esplicita incertezza è da preferirsi nel percorso decisionale ad una falsa sicurezza” (5).

IL CONTRIBUTO DEL LABORATORIO

La centralità del laboratorio nella prevenzione e nella diagnosi delle talassemie e dei difetti strutturali dell'emoglobina è da tempo nota (6). Ciò emerge ancor più oggi con il laboratorio chiamato a gestire strumenti e metodi innovativi e con la necessità di aderire a percorsi diagnostici adeguati (7). Il laboratorio deve essere promotore di conoscenza e di stimolo all'innovazione nei confronti dei clinici, attraverso la condivisione delle raccomandazioni o delle linee-guida relative alla diagnostica di laboratorio delle emoglobinopatie, anche in riferimento alle norme che regolano i comportamenti nella gestione di esami genetici (2, 4, 8).

Alcuni esempi pratici di supporto all'interpretazione dei risultati a cui il laboratorio di primo livello può pervenire sono riportati nella Tabella 5: per ogni caso è proposta una conclusione o un commento interpretativo. I sistemi informativi che oggi ci assistono nella refertazione sono spesso in grado di fornire utili automatismi, richiamando di volta in volta le opportune conclusioni, ma certamente questi sistemi intelligenti non potranno mai soddisfare tutte le esigenze di comunicazione tra il laboratorio e la clinica. Ad esempio, in alcuni casi può essere importante e appropriato indicare nel referto, oltre ai consueti intervalli di

riferimento per l'emoglobina A₂ e per l'emoglobina F, anche i valori percentuali relativi delle frazioni emoglobiniche in rapporto all'età e l'emoglobina F riferita alla condizione di gravidanza (9, 10). Talvolta, un commento agli esami potrebbe volutamente essere impostato per lasciare un dubbio e quindi suggerire la ripetizione dell'esame a distanza di tempo o quando può essere più opportuno nella logica della prevenzione. E' il caso degli screening eseguiti in età scolare, che potrebbero rimandare ogni conclusione alla ripetizione degli esami in tempi successivi o agli eventuali approfondimenti in età feconda o in previsione di una gravidanza o nel caso in cui si dovessero manifestare cambiamenti delle condizioni cliniche.

CONCLUSIONI

L'obiettivo finale del laboratorio deve essere quello di fornire informazioni clinicamente utili, riducendo per quanto possibile i motivi di incertezza nella conclusione diagnostica. Ciò che è riassunto in questo lavoro non è il solo frutto di un'attività prettamente analitica, ma scaturisce da momenti articolati e da processi operativi che riguardano il “total testing process”. Quest'ultimo si sviluppa adeguatamente solo attraverso lo stabilirsi di una rete di rapporti tra professionisti e discipline diverse all'interno e all'esterno del laboratorio, al fine di offrire un servizio e non una prestazione. Nel caso delle emoglobinopatie, partendo da una richiesta appropriata,

Tabella 5

Possibili conclusioni da collegare ai risultati di laboratorio di primo livello per emoglobinopatie in soggetti adulti, maschi e femmine non in gravidanza (casi 1-12); caso 13 donna in gravidanza; caso 14 neonato in prima giornata

Caso no.	Hb	MCV	MCH	HbA ₂	HbF	HbX	Sideremia e/o transferrinemia e/o ferritinemia	Conclusione
1	N	N	N	N	N	NP	N	Quadro normale: si esclude la presenza di forme classiche di β-talassemia e delle più frequenti varianti emoglobiniche
2	N	N / ↓	N / ↓	N / ↑	N	NP	N	Quadro compatibile con β-talassemia eterozigote "tipo lieve o silente". In caso di gravidanza, si consigliano esami al partner, eventuale conferma presso laboratorio di riferimento e consulenza genetica
3	N / ↓	↓↓	↓	↑↑	N / ↑	NP	N	Quadro compatibile con β-talassemia eterozigote
4	N	↓-↓↓	↓-↓↓	N / ↓	N	NP	N	Non è possibile escludere o confermare un'α-talassemia o una δ-β-talassemia. Eventuale definizione presso laboratorio di riferimento
5	N / ↓	↓-↓↓	↓-↓↓	N / ↓	3-15%	NP	N	Quadro compatibile con δ-β-talassemia "tipo siciliano" (da confermare). In caso di gravidanza, si consigliano esami al partner.
6	N / ↓	↓-↓↓	↓-↓↓	N / ↓	N	NP	↓-↓↓	Sideropenia: si consiglia di ripetere l'esame dopo eventuale terapia marziale
7	N	N	N	↓↓	N	NP	N	Possibile δ-talassemia (eventualmente da definire presso laboratorio di riferimento)
8	N	N	N	N	1-8%	NP	N	Quadro compatibile con la presenza di una HPFH da difetto polimorfico dei geni γ (eventualmente da confermare presso laboratorio di riferimento)
9	N	↓-↓↓	↓-↓↓	N	15-20%	NP	N	Quadro compatibile con δ-β-talassemia "tipo sardo" (eventualmente da definire presso laboratorio di riferimento). In caso di gravidanza, si consigliano esami al partner
10	N	N	N	N / ↑	N	Pa	N	Se esame di "sickling" positivo, variante <50% e soggetto non trasfuso: presenza di HbS allo stato eterozigote. In caso di gravidanza, si consigliano esami al partner
11	N	N	N	N	N	Pb	N	Presenza di variante emoglobinica da definire mediante analisi di secondo livello
12	N / ↓	↓-↓↓	↓-↓↓	ND	↑	Pc	N	Assetto emoglobinico ed ematologico compatibile con Hb Lepore (da confermare)
13	N / ↓	N / ↓	N / ↓	N	N / ↑	NP	N / ↓	Considerando lo stato di gravidanza si esclude la presenza di forme classiche di β-talassemia e delle più frequenti varianti emoglobiniche
14 ^d	-	-	-	-	<85%	NP	-	Neonato non portatore di β-talassemia (da confermare dopo i sei mesi d'età). Assenza di varianti emoglobiniche più frequenti riscontrabili in HPLC

Hb, concentrazione di emoglobina; MCV, volume corpuscolare medio dei globuli rossi; MCH, contenuto emoglobinico corpuscolare medio; HbX, frazione emoglobinica anomala, riferibile a variante emoglobinica; N, valori compresi negli intervalli di riferimento riportati a corredo dell'esame, in rapporto all'età e al sesso; NP, variante emoglobinica non presente; P, presenza di variante emoblobinica; ↓, valore lievemente diminuito (Hb <110 g/L; MCV <78 fL; MCH <27 pg; HbA₂ <2,4%); ↑, valore lievemente aumentato (HbA₂ fino a 3,8%; HbF: in β-talassemia fino a 1,5%, in Hb Lepore fino a 7-8%, in gravidanza fino a 1,8%); ↓↓, valore marcatamente diminuito (MCV <70 fL; MCH <24 pg; HbA₂ <2,0%); ↑↑, valore marcatamente aumentato (HbA₂ >3,8%); HPFH, persistenza ereditaria di emoglobina fetale; ND, non determinabile.

^aCon caratteristiche HPLC simili all'emoglobina S (si esegue esame di "sickling").

^bCon caratteristiche HPLC variabilmente definite dal sistema di separazione e in quantità <50%.

^cCon caratteristiche HPLC interferenti con HbA₂ e valore <20%.

^dAlla nascita la valutazione dello stato di portatore di β-talassemia non è definitivo, ma altamente presuntivo, se HbA >15% (HbF <85%). L'eventuale presenza di Hb Bart può segnalare la presenza di α-talassemia, da confermare con esami molecolari.

disponendo di una anamnesi minima e di dati di laboratorio adeguati, si potrà spesso giungere ad un referto inequivocabile a conclusione di accertamenti che, nella maggior parte dei casi, si eseguiranno una volta soltanto nel corso di una vita.

BIBLIOGRAFIA

1. Stephens A, Haemoglobinopathies. A way forward in reporting results. *The Biomedical Scientist* 2005;10:448-52.
2. Traeger-Synodinos J, Old JM, Petrou M, et al. Best practice guidelines for carrier identification and prenatal diagnosis of haemoglobinopathies. Manchester: EMQN, European Molecular Genetics Quality Network, 2002.
3. Kay J. Information technology e implementazione della medicina di laboratorio basata sulle evidenze. In: Dorizzi RM, Trenti T. *La medicina di laboratorio basata sulle prove di efficacia. Dai principi agli outcome* – 2ª ed. Milano: Biomedica, 2008:381-400.
4. Conferenza Stato-Regioni: Accordo tra il Ministero della Salute, le regioni e le province autonome di Trento e di Bolzano n. 2045 del 15 luglio 2004. Linee-guida per le attività di genetica medica.
5. Malvano R, Chiecchio A, Vignati G. *Il valore diagnostico del dato di laboratorio*. Milano: Biomedica, 2004.
6. Jonxis JHP, Huisman THJ. *A laboratory manual on abnormal haemoglobins*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1958.
7. Old JM, Traeger-Synodinos J, Galanello R, et al. *Prevention of thalassaemias and other haemoglobin disorders*. Nicosia: T.I.F. Publications, 2005.
8. Working Party of the General Haematology Task Force of the British Committee for Standards in Haematology. *The laboratory diagnosis of haemoglobinopathies*. *Br J Haematol* 1998;101:783-92.
9. Ivaldi G, Leone D, Viaggi C, et al. Variabilità delle frazioni emoglobiniche dalla nascita all'età adulta in condizioni fisiologiche e patologiche. *Biochim Clin* 2007;31:276-9.
10. Mosca A, Paleari R, Leone D, et al. The relevance of hemoglobin F measurement in the diagnosis of thalassemias and related hemoglobinopathies. *Clin Biochem* 2009;42:1797-801.