

### **ANEMIA DI BLACKFAN-DIAMOND (Torino)**

Prof. Ugo Ramenghi/Dott.ssa Paola Quarello. Ospedale Regina Margherita – Segreteria Dipartimento Scienze Pediatriche (Ematologia Pediatrica), Piazza Polonia 94 – 10126 Torino. Tel: 011 3135356/788/232/791.

- Per le colture midollari: 2 provette in eparina.
- Per dosaggio ADA il prelievo deve essere effettuato prima che il paziente sia trasfuso ovvero alla maggiore distanza possibile da una trasfusione di emazie (risultato non attendibile se sono trascorsi meno di 90 giorni): 1 ml di sangue periferico in EDTA (sufficiente quello che residua nella provetta dopo l'esame emocromocitometrico).
- Per studio genetico: 1 provetta in citrato o in EDTA di sangue periferico ovvero DNA già estratto.
- Compilazione della scheda informativa sul paziente in modo da ottimizzare l'ordine dei geni da studiare dopo RPS19.

### **ANEMIA DI BLACKFAN-DIAMOND (Brescia)**

Dosaggio ADA: Dott.ssa Arnalda Lanfranchi. Servizio di Medicina di Laboratorio, Sezione di Ematologia ed Emocoagulazione-Laboratorio Cellule Staminali- c/o Laboratorio Nocivelli, Cubo Bianco, Ospedale dei Bambini, Spedali Civili di Brescia, Piazzale Spedali Civili 1, 25123 Brescia, tel. 030/3996283-4, fax 030/3996059; email: [arnalda.lanfranchi@spedalicivili.brescia.it](mailto:arnalda.lanfranchi@spedalicivili.brescia.it).  
Inviare:

- 1 provetta di sangue periferico in EDTA del paziente e una di un controllo sano che abbia viaggiato nelle stesse condizioni (prelievo effettuato il più lontano possibile da trasfusione di emazie concentrate e comunque ad almeno 90-100 giorni)
- Richiesta della Direzione Sanitaria per il paziente + la compilazione del modulo di richiesta per esterni (chiedere eventualmente l'invio di una copia via fax o via mail) con firma e timbro del medico richiedente. I campioni possono viaggiare a temperatura ambiente con accorgimenti di isolamento nei periodi invernali e nei periodi estivi (avvolgimento dei campioni in strati di cotone e scatola di trasporto in polistirolo).

### **SINDROME DI SHWACHMAN-DIAMOND**

1) Dr. ssa Elena Nicolis. Laboratorio Centro Trasfusionale - Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, Piazzale Stefani, 1 - 37126 Verona. Tel 045 8123281

- Per analisi genetica del gene *SBDS*: 1 provetta con 3-5 ml di sangue periferico in EDTA
- Consenso informato
- Scheda informativa con le caratteristiche cliniche e di laboratorio del paziente

Inviare sempre campione anche dei genitori:

- 1 provetta con 5 ml di sangue periferico in EDTA
- Ricetta rossa SSN con "richiesta di analisi genetica del gene *SBDS* per diagnosi di Sindrome di Shwachman-Diamond". Codice esenzione per i genitori: R99

2) Dr.ssa Laura Sainati. Onco-ematologia pediatrica - Azienda Ospedaliera di Padova, Via Giustiniani, 3 - 35128 Padova

- per analisi citomorfologica e per citogenetica convenzionale ed in FISH: 1 provetta con 5 ml di sangue midollare in EDTA + 1 provetta con 5 ml di sangue midollare in sodio citrato.

3) Dr.ssa Daniela Longoni/Dr.ssa C. Bugarin. Fondazione MBBM - Clinica Pediatrica - Università degli studi di Milano - Bicocca - Ospedale San Gerardo. Via Pergolesi, 33 – 20090 Monza (MB). Tel 039-2332442 - Fax 02-2643 4668.

- Per saggi clonogenici in vitro su cellule mononucleate midollari: 1-2 provette in EDTA con 2-5 ml di sangue midollare.
- 1 provetta con 5-10 ml di sangue periferico in citrato.

### **ANEMIA DI FANCONI (GENOVA)**

Dott. Dufour/Dott.ssa Lanza/Dott. Cappelli. Laboratorio Ematologia PAD.12 piano terra. Istituto G. Gaslini, Largo G. Gaslini 5 – 16147. Tel: 010 5636694. Fax 010 5636714.  
Tel laboratorio 010-5636 693 - 277

#### ASPIRATO MIDOLLARE

- 5 ml di midollo in eparina sterile (provetta asciutta più 2-3 gocce di eparina Vister) per colture standard e +/- Anti TNF alfa. E' importante che il BM arrivi il giorno successivo al prelievo; può essere inviato a T ambiente; se si utilizzano siberini congelati è necessario che la provetta **non sia a diretto contatto con questi ultimi** ma isolata con garze o cotone idrofilo.
- Necessaria l'impegnativa regionale o l'autorizzazione della propria direzione sanitaria.

Per le colture cellulari è necessario contattare almeno 3 giorni prima la dr.ssa Tiziana Lanza al numero 010 5636 277 oppure tramite e-mail tizianalanza@ospedale-gaslini.ge.it

#### PERIFERICO PAZIENTE

- 2-3 ml in Sodio Citrato.
- 7-8 ml in litio-eparina per ciclo cellulare, linea cellulare.

#### PERIFERICO GENITORI/FRATELLI

- 3 ml in litio-eparina per ciclo cellulare.

#### **ANEMIA DI FANCONI (TORINO)**

Prof. Ugo Ramenghi/Nicoletta Crescenzo. Ospedale Regina Margherita – Segreteria Dipartimento Scienze Pediatriche (Ematologia Pediatrica), Piazza Polonia 94 – 10126 Torino. Tel: 011 3135356/788/232/791.

Per anemia di Fanconi o anemia aplastica acquisita (al fine di escludere il sospetto di AF), è possibile eseguire analisi del ciclo cellulare dopo incubazione con alchilanti.

- 1 Provetta in Eparina (sangue periferico sterile 5-10ml) con arrivo solo il martedì (l'esame è eseguito su linfociti freschi e richiede 3 giorni lavorativi). A temperatura ambiente. Se temperature esterne elevate (> 30^), con siberino.

#### **DISCHERATOSI CONGENITA**

Dott.ssa Lanciotti/ Dr. Dufour. Laboratorio Ematologia, PAD. 12 piano terra.

Istituto G. Gaslini, Largo G. Gaslini 5 – 16147 GENOVA

Laboratorio Tel: 010 5636693. Fax 010 386204

e-mail marinalanciotti@ospedale-gaslini.ge.it

In caso di clinica sospetta: leucoplachia +/- distrofia ungueale +/- cute reticolata +/- ipo/aplasia e DEB test negativo.

Verranno analizzati i geni TINF2, DKC1 (solo se il paziente è maschio) e se negativi saranno analizzati TERC, TERT.

Sono necessari:

- 2-4 ml di sangue periferico in sodio citrato o EDTA oppure DNA già estratto spediti a temperatura ambiente.
- Consenso informato per analisi genetica.
- Richiesta dell'esame, relazione clinica, e modulo di pagamento (impegnativa regionale o autorizzazione della propria direzione sanitaria).

#### **POICHILODERMIA CON NEUTROPENIA (SINDROME DI CLERICUZIO)**

Dott.ssa Lanciotti/ Dr. Dufour. Laboratorio Ematologia, PAD. 12 piano terra.

Istituto G. Gaslini, Largo G. Gaslini 5 – 16147 GENOVA

Laboratorio Tel: 010 5636693. Fax 010 386204

e-mail marinalanciotti@ospedale-gaslini.ge.it

Verrà studiato il gene C16orf57.

Sono necessari:

- 2-4 ml di sangue periferico in sodio citrato o EDTA oppure DNA già estratto spediti a temperatura ambiente.
- Consenso informato per analisi genetica.
- Richiesta dell'esame, relazione clinica, e modulo di pagamento (impegnativa regionale o autorizzazione della propria direzione sanitaria).

### **NEUTROPENIA CONGENITA SEVERA E NEUTROPENIA CICLICA (Genova)**

Dott.ssa Lanciotti/ Dr. Dufour. Laboratorio Ematologia, PAD. 12 piano terra. Istituto G. Gaslini, Largo G. Gaslini 5 – 16147 GENOVA Laboratorio Tel: 010 5636693. Fax 010 386204; e-mail: [marinalanciotti@ospedale-gaslini.ge.it](mailto:marinalanciotti@ospedale-gaslini.ge.it)

In caso di clinica sospetta: Neutrofili minore 500/mmc., ricorrenti infezioni batteriche, arresto della maturazione mieloide alla fase di promielocita/mielocita. Verranno analizzati i geni ELANE, e HAX1; se presenza di teleangectasie venose e malformazioni urogenitali o cardiache, verrà analizzato anche il gene G6PC3.

Se il sospetto clinico è di NEUTROPENIA CICLICA sarà analizzato solo il gene ELANE.

Sono necessari:

- 2-4 ml di sangue periferico in sodio citrato o EDTA ovvero DNA già estratto spediti a temperatura ambiente
- Consenso informato per analisi genetica
- Richiesta dell'esame, relazione clinica, e modulo di pagamento (impegnativa regionale o autorizzazione della propria direzione sanitaria).

### **NEUTROPENIA CONGENITA SEVERA E NEUTROPENIA CICLICA (Brescia)**

Dott. Gianfranco Savoldi. Laboratorio di Genetica Pediatrica, Istituto di Medicina Molecolare A. Nocivelli, UO Anatomia Patologica. Spedali Civili di Brescia, P.le Spedali Civili 1 – 25123 Brescia. Laboratorio: Tel. 030 3996976; FAX 030 3996059; e-mail [gianfranco.savoldi@spedalicivili.brescia.it](mailto:gianfranco.savoldi@spedalicivili.brescia.it)

Analisi molecolare dei geni ELANE, HAX1, GF11 e G6PC3.

Sono necessari:

- 2-4 ml di sangue periferico in sodio citrato o EDTA ovvero DNA già estratto spediti a temperatura ambiente
- Consenso informato per analisi genetica.
- Relazione clinica
- autorizzazione della Direzione Sanitaria dell'Ente inviante (per pazienti residenti nella Regione Lombardia) oppure impegnativa su ricettario regionale per i pazienti provenienti da altre regioni.

N.B. L'impegnativa regionale deve essere necessariamente compilata da un medico ospedaliero o da un medico genetista

### **NEUTROPENIA CON MIELOCATESSI (BRESCIA)**

Prof. Raffaele Badolato. Laboratorio di medicina Molecolare "A. Nocivelli".Spedali Civili di Brescia, Piazzale Spedali Civili 1- 25123 Brescia. Tel 030 3996282 FAX 0303996059; e-mail [badolato@med.unibs.it](mailto:badolato@med.unibs.it)

Analisi molecolare per gene CXCR4. In caso di negatività, se clinica compatibile (neutro e leucopenia, presenza di verruche) verrà analizzato anche il gene STK4.

Sono necessari:

- 1 provetta in EDTA.
- Relazione clinica.
- Consenso informato.

### **NEUTROPENIA CONGENITA SEVERA da mutazioni del gene WAS (BRESCIA)**

Dott.ssa Cinzia Mazza. Laboratorio di Genetica Pediatrica, Istituto di Medicina Molecolare A. Nocivelli, UO Anatomia Patologica. Spedali Civili di Brescia, P.le Spedali Civili 1 – 25123 Brescia. Laboratorio: Tel. 030 3996976; FAX 030 3996059; e-mail [cinzia.mazza@spedalicivili.brescia.it](mailto:cinzia.mazza@spedalicivili.brescia.it)

Verranno analizzati pazienti di sesso maschile con neutropenia congenita grave senza monocitosi compensatoria o condizioni a chiara trasmissione X-recessiva.

Sono necessari:

- 2-4 ml di sangue periferico in EDTA
- dati anagrafici e informazioni cliniche
- modulo consenso informato
- autorizzazione della Direzione Sanitaria dell'Ente inviante (per pazienti residenti nella Regione Lombardia) oppure impegnativa su ricettario regionale per i pazienti provenienti da altre regioni.
- N.B.L'impegnativa regionale deve essere necessariamente compilata da un medico ospedaliero o da un medico genetista.

### **NEUTROPENIA CONGENITA SEVERA da mutazioni del gene WAS (FIRENZE)**

Lo studio del gene WAS e dell'espressione proteica in citofluorimetria è riservato a pazienti MASCHI con neutropenia severa associata a linfopenia e/o difetti della funzionalità immunologica (ridotta proliferazione linfocitaria e attività fagocitica assente).

E' necessario avvertire con anticipo il laboratorio della data di arrivo del prelievo e confermare l'invio il giorno prima. Si richiede inoltre di far arrivare al laboratorio i campioni dal martedì al giovedì tramite TRACO 10 o 12.

Dr.ssa Gambineri Eleonora, Dr.ssa Ciullini Mannurita Sara; Università degli Studi di Firenze, Dipartimento Universitario di Neuroscienze, Psicologia, Area del Farmaco e Salute del Bambino (NEUROFARBA)- Laboratorio Cavalieri. Viale Pieraccini 6, 50139 Firenze. Tel. Laboratorio 055-4271327; e-mail: [s.ciullini@meyer.it](mailto:s.ciullini@meyer.it)

Sono necessari:

- almeno 4 cc di sangue periferico in EDTA (la provetta, spedita a temperatura ambiente, deve essere adeguatamente sigillata con parafilm e protetta);
- informazioni cliniche;
- scheda dati anagrafici (vedi allegato);
- modulo consenso informato riempito in tutte le sue parti (vedi allegato).

### **MUTAZIONE SOMATICA DEL RECETTORE DEL G-CSF (FIRENZE)**

Dott. Laura Giunti. A.O.U. Meyer, U.O. Genetica Medica – Viale Pieraccini 24 – 5013 Firenze.

Laboratorio, telefono: 055 5662216, fax 0555662849.

e-mail: [l.giunti@meyer.it](mailto:l.giunti@meyer.it) (è consigliato avvertire con anticipo il laboratorio della data di arrivo del prelievo e confermarlo il giorno prima. Si consiglia di far arrivare al laboratorio i campioni dal martedì' al giovedì' tramite TRACO 10 o 12).

Sono necessari:

- almeno 3 cc di sangue midollare in ACD (la provetta, spedita a temperatura ambiente, deve essere adeguatamente sigillata con parafilm e protetta);
- informazioni cliniche;
- Scheda dati anagrafici (vedi allegato);
- Fotocopia tessera sanitaria;
- Modulo consenso informato riempito in tutte le sue parti (vedi allegato);
- 3 richieste su ricettario regionale con la dicitura (codice esenzione R99):
  - 1) Analisi Molecolare Recettore Neutropenia Congenita Estrazione e Conservazione DNA  
Analisi di sequenza x 6.

- 2) Analisi Molecolare Recettore Neutropenia Congenita Analisi di sequenza x 8.
- 3) Analisi Molecolare Recettore Neutropenia Congenita Analisi di sequenza x 4.

E' necessario apporre sulla richiesta regionale il codice di esenzione del paziente, se il paziente non ha esenzioni siete pregati di contattarci preventivamente.

### **NEUTROPENIA AUTOIMMUNE (GENOVA)**

Dott.ssa Lanza/Dott. Dufour. Laboratorio Ematologia PAD.12 piano terra. Istituto G. Gaslini, Largo G. Gaslini 5 – 16147. Tel: 010 5636694(segreteria); Fax 010: 5636714 (segreteria).

Tel. laboratorio 010-5636 -277-331. Fax laboratorio 010 386204.

e-mail: tizianalanza@ospedale-gaslini.ge.it.

Test Indiretto (ricerca anticorpi nel siero del paziente). Test di riferimento per l'inquadramento diagnostico di laboratorio delle neutropenia autoimmune secondo le linee guida internazionali e nazionali AIEOP.

La spedizione deve comprendere:

- 3 o 5 ml (secondo età) di sangue periferico coagulato spedito a temperatura ambiente con arrivo entro le 24 ore dal prelievo, oppure siero congelato ed inviato in ghiaccio secco.
- Impegnativa regionale compilata in tutte le sue parti o autorizzazione della direzione sanitaria.

N.B. La spedizione del sangue intero non deve essere eseguita il giorno precedente ad un festivo. Nel caso il prelievo fosse ugualmente eseguito è necessario che questo venga sierato e congelato a -20 o -80° C fino al primo giorno utile per la spedizione.

Test Diretto (ricerca anticorpi su neutrofili del paziente) non eseguito, secondo Linee Guida AIEOP, per frequenti risultati falsi positivi dovuti a legami aspecifici.

### **NEUTROPENIA NEONATALE ALLOIMMUNE (GENOVA)**

Dott.ssa Lanza/Dott. Dufour. Laboratorio Ematologia PAD.12 piano terra. Istituto G. Gaslini, Largo G. Gaslini 5 – 16147. Tel: 010 5636694(segreteria); Fax 010: 5636714 (segreteria).

Tel. laboratorio 010-5636 -277-331. Fax laboratorio 010 386204.

e-mail:tizianalanza@ospedale-gaslini.ge.it

Test Indiretto (ricerca anticorpi nel siero di madre e neonato). Le modalità sono uguali a quelle per la neutropenia autoimmune con prelievi madre/neonato rispettivamente di 3-5 ml e 1-2 ml di sangue periferico coagulato.

### **NEUTROPENIA AUTOIMMUNE (MILANO)**

Dott.ssa Porretti: Servizio di Citometria, Centro di Medicina Trasfusionale, Terapia Cellulare e Criobiologia, dell'Ospedale Maggiore Policlinico di Milano, Padiglione Marangoni, Via F. Sforza 35. Tel: 02 55034255, 02 55036311; fax: 02 55034183. Email: [l.porretti@policlinico.mi.it](mailto:l.porretti@policlinico.mi.it) oppure [labcitofl@policlinico.mi.it](mailto:labcitofl@policlinico.mi.it).

Test Indiretto. La spedizione deve comprendere:

- 3 ml sangue periferico coagulato spedito a temperatura ambiente con arrivo entro le 24 ore dal prelievo, oppure siero congelato ed inviato in ghiaccio secco (Test Indiretto, ricerca di anticorpi nel siero).

E' possibile richiedere anche l'esecuzione del Test Diretto (ricerca di anticorpi adesi ai neutrofili del paziente) e in questo caso, in unica spedizione a 4°C inviare:

- 3 ml sangue periferico coagulato.
- 3 ml sangue periferico in EDTA.

Importante: in caso di richiesta del test Diretto, che viene eseguito solo il mercoledì, è necessario comunicare via mail o telefonicamente l'invio dei campioni almeno un giorno prima della spedizione. I campioni devono arrivare al laboratorio entro 24-28 ore dal prelievo e pervenire entro le ore 12 del mercoledì.

L'esame può essere richiesto con impegnativa del medico (ricetta rossa) che deve contenere il timbro del medico e il suo codice fiscale. Per le esenzioni dei bambini (**0-14 anni**) basta riportare il codice E11 (esenzione per età). Del paziente si devono inoltre comunicare anche Comune di nascita e residenza (Codici da inserire nella richiesta: **Test Diretto + Indiretto 90.51.2 x 2 e 90.81.5 x 1**; solo **Test Indiretto: 90.51.2 x 1**). Alternativamente gli esami possono essere richiesti con autorizzazione della Direzione Sanitaria.

### **NEUTROPENIA NEONATALE ALLOIMMUNE (MILANO)**

Dott.ssa Porretti: Servizio di Citometria, Centro di Medicina Trasfusionale, Terapia Cellulare e Criobiologia, dell'Ospedale Maggiore Policlinico di Milano, Padiglione Marangoni, Via F. Sforza 35. Tel: 02 55034255, 02 55036311; fax: 02 55034183. Email: [l.porretti@policlinico.mi.it](mailto:l.porretti@policlinico.mi.it) oppure [labcitofl@policlinico.mi.it](mailto:labcitofl@policlinico.mi.it). L'esame può essere chiesto in urgenza ed eseguito entro 24 ore dall'arrivo dei campioni.

La spedizione deve comprendere i seguenti prelievi:

- Neonato: 2 ml in EDTA e 2 ml di coagulato.
- Madre: 5 ml in EDTA e 10 ml di coagulato.
- Se possibile, padre: 5 ml in EDTA.

I test eseguiti saranno:

- Neonato: Test Diretto + Indiretto (**90.51.2 x 2 e 90.81.5 x 1**)
- Madre: Test Indiretto (**90.51.2 x 1**)

Cross-match siero madre vs neutrofili neonato (e padre se possibile).

Se indiretto madre e/o cross-match risultano positivi è possibile eseguire:

- Tipizzazione molecolare antigeni dei neutrofili (HNA) della madre, del neonato (e del padre se possibile) (**91.30.2 x 2 (madre, neonato) x 3 (madre, neonato, padre)**)

### **TROMBOCITOPENIA CONGENITA AMEGACARIOCITICA**

Dott.ssa Lanciotti/ Dr. Dufour. Laboratorio Ematologia, PAD. 12 piano terra. Istituto G. Gaslini, Largo G. Gaslini 5 – 16147 GENOVA. Laboratorio Tel: 010 5636693. Fax 010 386204 e-mail: [marinalanciotti@ospedale-gaslini.ge.it](mailto:marinalanciotti@ospedale-gaslini.ge.it)

In caso di clinica sospetta: grave trombocitopenia ipomegacariocitica isolata nei primi anni di vita (con anomalie del midollo osseo) e pancitopenia nella tarda infanzia.

Verrà analizzato il gene c-MPL.

Sono necessari:

- 2-4 ml di sangue periferico in sodio citrato o EDTA ovvero DNA già estratto spediti a temperatura ambiente
- Consenso informato per analisi genetica spediti a temperatura ambiente
- Richiesta dell'esame, relazione clinica, e modulo di pagamento (impegnativa regionale o autorizzazione della propria direzione sanitaria).

### **ANEMIA APLASTICA ACQUISITA (GENOVA)**

Dott.ssa Lanciotti/ Dr. Dufour. Laboratorio Ematologia, PAD. 12 piano terra.

Istituto G. Gaslini, Largo G. Gaslini 5 – 16147 GENOVA

Laboratorio Tel: 010 5636693. Fax 010 386204

e-mail [marinalanciotti@ospedale-gaslini.ge.it](mailto:marinalanciotti@ospedale-gaslini.ge.it)

STUDIO DEI GENI TERC E TINF2 IN PAZIENTI CON APLASIA NON TRANSITORIA E DEB TEST NEGATIVO.

**NB. In caso di mancata risposta alla terapia immunosoppressiva anche il gene TERT può essere inserito nello studio.**

Sono necessari:

- 2-4 ml di sangue periferico in sodio citrato o EDTA ovvero DNA già estratto, spediti a temperatura ambiente

- Consenso informato per analisi genetica
- Richiesta dell'esame, relazione clinica, e modulo di pagamento (impegnativa regionale o autorizzazione della propria direzione sanitaria).

**ANEMIA APLASTICA ACQUISITA (TORINO)**

Dott. Timeus/Dott.ssa Crescenzo. Osp. Regina Margherita – Segreteria Dipartimento Scienze Pediatriche (Ematologia Pediatrica), Piazza Polonia 94 – 10126 Torino. Tel: 011 3135356/788/232/791.

- 1 Provetta in EDTA per Fenotipo PNH.