

Screening neonatale per la malattia drepanocitica: cosa si fa nel mondo, cosa si fa in Europa, perché in Italia?

Raffaella Colombatti*, Piera Samperi**, Federica Menzato*,
Giovanna Russo**, Laura Sainati*

*Centro di Riferimento della Regione Veneto per la Diagnosi e Cura della Malattia Drepanocitica in Età Pediatrica, Clinica di Oncematologia Pediatrica, Dipartimento della Salute della Donna e del Bambino, Azienda Ospedaliera, Università di Padova; **Ematologia e Oncologia Pediatrica, Azienda Ospedaliero-Universitaria "Policlinico Vittorio-Emanuele" di Catania, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Catania

La drepanocitosi è una malattia ereditaria autosomica recessiva dell'emoglobina, caratterizzata da anemia emolitica cronica, crisi dolorose vaso-occlusive e maggiore suscettibilità alle infezioni. Negli ultimi anni si è assistito in tutta Europa, Italia compresa, all'aumento dei pazienti affetti da drepanocitosi soprattutto a causa dei flussi migratori provenienti da zone ad alta prevalenza del gene S. Nell'ambito della presa in carico del bambino con drepanocitosi lo screening neonatale viene raccomandato da tutte le linee guida internazionali, in quanto una diagnosi precoce permette di attuare le misure preventive necessarie in età infantile, migliorando la sopravvivenza.

Drepanocytosis is a recessive autosomal disease of hemoglobin characterized by chronic hemolytic anemia, vascular occlusive pain, and increased susceptibility to infections. Over the last years, it has been seen throughout Europe, including Italy, an increase of patients with Drepanocytosis, mainly due to the migratory flows from high-prevalent S gene areas. Within the taking care pathway of a child with Drepanocytosis the newborn screening is recommended by all international guidelines. An early diagnosis allows for the necessary preventive measures needed to improve children's survival.

Introduzione

La Drepanocitosi o Sickle Cell Disease (SCD) è l'emoglobinopatia strutturale più diffusa al mondo [1-2]. Recenti flussi migratori da zone con alta incidenza del gene S in Europa e in Italia hanno avuto come conseguenza l'aumento del numero di pazienti con tale patologia [3-6]. Negli scorsi decenni, i Paesi che sono stati interessati prima da tale fenomeno, quali Gran Bretagna (UK), Francia, Belgio e Olanda, hanno sviluppato programmi di cura integrati (comprehensive care) sulla base di Linee Guida internazionali e nazionali [7-10]. Nell'ambito di tali programmi alcune misure diagnostiche e terapeutiche hanno consentito un notevole calo della mortalità in età pediatrica: l'inserimento dello screening neonatale (SN) con conseguente diagnosi precoce, l'instaurazione della profilassi con penicillina entro i due mesi di vita come protezione dalla asplenia funzionale e programmi di vaccinazione intensivi, l'educazione della famiglia al riconoscimento di segni e sintomi di gravità (come l'aumento della milza, possibile segno di sequestro splenico, che è una complicanza acuta potenzialmente letale) e lo screening a partire dai due anni di vita mediante doppler transcranico per la prevenzione dell'ictus [7-10].

Lo screening neonatale

Quando eseguire lo screening?

I programmi di SN per la SCD consentono di identificare precocemente i pazienti, iniziare la profilassi con penicillina a due mesi di vita, riducendo significativamente la mortalità per infezioni, e permettono la presa in carico del paziente in Centri di riferimento specializzati per la malattia, riducendo la morbilità e la mortalità successive e migliorando la qualità della vita.

I primi programmi di SN per la SCD sono stati introdotti negli USA fin dal 1975 [9] e in UK nel 1993 [11].

Nel 1987 una Consensus Conference del NIH stabiliva che ogni bambino con SCD dovrebbe essere sottoposto alla nascita allo screening per HbS per prevenire, durante l'infanzia, le complicanze della malattia, prevalentemente infezioni e sequestro splenico, potenzialmente fatali [9]. Successivamente uno studio randomizzato dimostrava l'efficacia dello SN nel ridurre drasticamente la mortalità infantile per infezione, permettendo un inizio tempestivo della profilassi con penicillina [12].

A chi fare lo screening?

I programmi di screening possono essere universali o mirati alla popolazione a rischio, allo scopo di ottimizzare le risorse.

Lo screening universale ha motivazioni etiche di equità evitando discriminazioni ed è risultato più efficace nell'identificare i malati. Lo screening di una parte della popolazione risulta anche organizzativamente più fallace. Inoltre è stato dimostrato un vantaggio in termini economici nei Paesi dove la prevalenza dei portatori è maggiore di 1,6% e l'incidenza degli affetti è superiore a 0,5/1000 nati.

Le principali Linee Guida internazionali per la SCD raccomandano lo SN universale, su base nazionale, integrato ai programmi di screening neonatali esistenti e a programmi di presa in carico in Centri di riferimento ematologici specializzati [7,9-19]. La raccomandazione è quella di eseguire lo SN per l'identificazione della SCD a tutti i neonati. Tutti gli affetti identificati devono essere tempestivamente affidati a un Centro di riferimento ematologico specializzato per la presa in carico e per iniziare la profilassi con penicillina entro i due mesi di vita.

Con quale metodica fare lo screening?

Per eseguire lo SN si può ricorrere sia alle metodiche più tradizionali, come la Isoelectric focusing (IEF) o la High Performance Liquid Chromatography (HPLC), sia ad analisi più "nuove" come la spettrometria di massa, particolarmente interessante per la possibilità di integrare lo screening per SCD, a quello per le malattie metaboliche [20]. Recentemente sono stati sviluppati test rapidi di facile esecuzione e pronta risposta, la cui potenziale applicazione in emergenza o in situazioni in cui c'è necessità di una diagnosi precoce o di uno screening rapido su vasta scala è enorme [21]. Tali test rapidi necessitano tuttavia di validazione maggiore.

Che cosa si fa nel mondo?

Negli Stati Uniti i primi programmi di SN per la SCD risalgono agli anni '70 (Stato di NY e Columbia), ma successivamente alla pubblicazione delle raccomandazioni

del NIH, anche gli altri Stati hanno avviato programmi nazionali di screening e dal 2006 in tutti gli Stati è organizzato un programma di SN universale per il gene S, associato al programma di SN per le altre malattie. L'analisi viene eseguita alla nascita su sangue capillare prelevato da puntura del tallone e raccolto su cartina di Guthrie. L'analisi avviene nella maggior parte dei casi mediante HPLC.

I risultati di 20 anni di programma (dal 1989 al 2012) indicano un'incidenza media del gene S nella popolazione generale di 1:64 (1,5%) e un'incidenza media di SCD di 1:2000 (0,05%) [22]. Il programma negli Stati Uniti si è dimostrato efficace nel ridurre significativamente la mortalità dei pazienti con SCD in età pediatrica [23].

In **Canada** nel 1988 un programma pilota di SN mirato ai neonati che avessero almeno un genitore di origine africana è stato avviato presso la struttura sanitaria di III livello afferente all'università di Montreal. Il test su cordone, eseguito mediante HPLC, ha identificato una percentuale di trait del 10% e di affetti dello 0,8%. Significativo il numero dei non arruolati al programma di presa in carico, ben 11 affetti nati nel periodo di riferimento: 5/72 dei neonati identificati come affetti sono sfuggiti alla presa in carico e 6 neonati non sono stati identificati come affetti, 3 falsi negativi e 3 campioni non adeguati, sottolineando l'importanza di un rigore assoluto nell'organizzazione di un programma di SN [24].

Nel 2006 un programma di SN universale per la SCD, su base nazionale, è stato attivato in Ontario e successivamente implementato in altre otto Province del Canada (che comprende 10 Province e 3 Territori). L'indagine viene eseguita su sangue di cordone o capillare su carta bibula mediante HPLC, utilizzando IEF o l'elettroforesi emoglobinica come test di conferma. È in corso un dibattito sull'opportunità di informare i genitori dei soggetti portatori [19].

In **Brasile** in numerosi Stati è organizzato un programma di SN per l'identificazione dei pazienti con SCD. Dal 2001 nello Stato di Rio de Janeiro è attivo un programma di SN universale, finanziato dal Sistema Sanitario Nazionale, che prevede l'analisi, mediante HPLC, su test di Guthrie eseguito al neonato dopo la dimissione in concomitanza con la prima somministrazione vaccinale; il programma prevede la successiva presa in carico dei pazienti con SCD presso il Centro di riferimento.

I risultati dei primi 10 anni di esperienza (2001-11) hanno evidenziato un'incidenza di SCD di 1:1335 nati e un'incidenza di trait di circa il 5% dei nati [25]. La

mortalità è risultata del 3,7%, drasticamente inferiore rispetto alla mortalità del 25% di una coorte di bambini brasiliani non inclusi in un programma di screening [26], ma anche significativamente inferiore rispetto a quella di una popolazione di bambini sottoposti a SN, ma non inseriti in un comprehensive program di follow up; in questa popolazione infatti la mortalità risultava essere del 5,6% [27]. L'importanza di integrare lo SN con un efficace programma di presa in carico del paziente presso un Centro di riferimento specializzato è stata più recentemente confermata da un altro recente studio brasiliano, che indicava nello Stato Minas Gerais una mortalità del 7,5% in pazienti con SCD nei primi 14 anni di vita, nonostante fossero sottoposti a SN, a causa di un non efficace programma di presa in carico [28].

Programmi di SN, universale o mirato, sono stati attivati nell'ultimo decennio in numerosi Paesi dell'America Latina, Medio Oriente, Asia e Africa, integrandosi con gli altri test di screening in corso [29].

Che cosa si fa in Europa?

In **Europa**, pur essendoci forti evidenze che le emoglobinopatie costituiscono sempre più un importante problema di salute pubblica, i dati che riguardano la prevalenza generale del portatore e dell'affetto sono molto scarsi e la politica sanitaria dei Governi, rispetto alla gestione della SCD, è difforme nelle varie Nazioni. Si stima che ci siano in Europa circa 44.000 soggetti affetti da emoglobinopatia, il 70% dei quali affetti da SCD, e si raccomanda con forza ai Sistemi Sanitari Nazionali lo sviluppo di programmi di screening e di Centri di riferimento specializzati per la presa in carico del paziente e della sua famiglia [3].

La **Gran Bretagna** è stato il primo Paese europeo a organizzare nel 1993 un programma di SN universale per la SCD sul territorio nazionale. L'iniziale programma pilota, avviato in Inghilterra, è stato successivamente implementato e dal 2010 è esteso a tutta la Gran Bretagna. Il programma, sostenuto dal NHS, prevede lo SN universale con analisi eseguita su test di Guthrie in concomitanza con gli altri screening. I campioni vengono analizzati presso 13 laboratori ematologici di riferimento mediante HPLC; ogni laboratorio valuta tra 25.000 a 100.000 neonati all'anno. L'organizzazione prevede infatti l'analisi centralizzata in laboratori di riferimento, in modo che ciascuno abbia un afflusso minimo di 25.000 test all'anno per ottimizzare risorse e competenze. L'incidenza dei carrier in Gran Bretagna è me-

diamente di 15/1000 (1,5%) e dei neonati affetti di 1:1900 (0,05%) con importanti variazioni in base all'area geografica e all'etnia [30].

In **Olanda** dal 2007 è attivo un programma nazionale di SN universale su Guthrie, mediante HPLC [31]. Un dibattito sull'opportunità di comunicare lo stato di portatore per evitare stigmatizzazioni è attualmente in corso [32].

In **Belgio** dal 1994 nella città di Bruxelles e dal 2004 nella città di Liegi tutti i neonati sono sottoposti a SN per la SCD. L'analisi viene eseguita su sangue cordonale mediante IEF e HPLC come eventuale test di conferma. La frequenza di affetti è risultata di 1:1559 [33].

In **Spagna** dal 2000 sono stati attivati programmi di SN universali in Estremadura, Paesi Baschi, Madrid, Valencia e Catalogna. Dal 2016 in tutto il Paese è attivo lo SN universale attuato mediante HPLC. La prevalenza degli affetti è variabile circa 1:3900 in Catalogna e 1:5900 nella regione di Madrid. È attivo anche un registro nazionale [34].

In **Germania** dal 2011 sono stati organizzati programmi pilota di SN universale, dapprima a Berlino, successivamente a Heidelberg e nella Regione Sud-Est della Germania, e quindi ad Amburgo. Il test veniva offerto a tutti i neonati nonostante la popolazione originaria non fosse a rischio di emoglobinopatia, con l'obiettivo di fornire informazioni riguardo alla prevalenza globale in Germania di una malattia a elevata prevalenza nelle popolazioni immigrate e provenienti prevalentemente dalle aree a rischio. Il test veniva eseguito su Guthrie mediante PCR per la catena S ad Amburgo, e mediante HPLC nelle altre esperienze; l'incidenza degli affetti varia da 1:2385 a 1:8348 [35-37].

I risultati degli studi piloti sono stati ritenuti adeguati per giustificare un programma di SN universale su base nazionale esteso a tutta la Germania. L'attivazione del progetto è in esame al Ministero della Salute e prevista per il 2017. Lo stato di portatore non viene comunicato.

La **Francia** dal 1985 ha attivato un programma SN universale per la SCD in Guadalupa; negli anni successivi numerosi studi pilota sono stati avviati in Francia; dal 2000 un programma nazionale di screening mirato ai neonati a rischio per emoglobinopatia è esteso a tutto il Paese; la selezione si basa sull'etnia di appartenenza. Nonostante il programma non sia universale, sembra essere efficace nell'intercettare la quasi totalità dei neonati affetti, garantendo la loro successiva presa in carico da parte dei Centri di riferimento [38].

Perché in Italia?

Negli ultimi anni l'aumento della popolazione immigrata in Italia da aree a elevata prevalenza del gene S ha contribuito, come nel resto d'Europa, all'aumento dei pazienti affetti da SCD [4-6]. Ciò ha portato dapprima i Centri di ematologia pediatrica e successivamente anche le ematologie degli adulti a dover organizzare i propri servizi in modo da poter assicurare una presa in carico adeguata del paziente con SCD e delle sue complicanze acute e croniche [39-46]. L'Associazione Italiana di Ematologia e Oncologia Pediatrica (AIEOP) ha pubblicato diversi documenti con Linee Guida rivolte alla gestione di specifiche patologie ematologiche infantili [47-49], comprese quelle dedicate alla SCD in età pediatrica: nel 2010 in italiano sul suo sito web (www.aieop.org) e nel 2013 su rivista internazionale [50]. Inoltre la Società Italiana della Talassemia ed Emoglobinopatie (SITE) e l'AIEOP si sono occupate di promuovere raccomandazioni congiunte sulla diagnosi neonatale delle emoglobinopatie [51] che, per quanto riguarda lo SN nella SCD, sono in via di pubblicazione. Le raccomandazioni citate sono a sostegno di una diagnosi precoce, essenziale per l'instaurazione delle misure preventive e terapeutiche efficaci. Anche in considerazione dell'aumento del numero di affetti e dell'incremento della popolazione a rischio di SCD si auspica l'organizzazione di programmi di SN anche in Italia. Alcuni progetti di SN sono già stati sviluppati su iniziativa locale anche nel nostro Paese.

Dal 2010 al 2012 a Ferrara sono stati testati 1992 neonati e identificati 24 portatori (1,2%). Lo screening era universale, eseguito su Guthrie mediante HPLC. L'esperienza è stata sospesa per mancanza di finanziamenti [52].

Nel 2013 a Novara è stato avviato un progetto di SN mirato ai neonati con un genitore proveniente da aree a rischio di emoglobinopatia. Sono stati reclutati 337 neonati su 2447 nati e identificati 20 (6%) portatori (AS) [53].

A Modena dal 2011 è attivo un programma di SN mirato alle donne a rischio per etnia. I risultati dello studio pilota indicano la presenza di emoglobinopatia nel 27% delle 330 donne testate (copertura del programma pari al 70%). Il successivo SN dei neonati di madri portatrici dell'anomalia, eseguito su cordone e analizzato mediante HPLC, ha permesso di identificare 48 neonati portatori e 9 affetti [18]. Il programma di screening antenatale universale, esteso a tutte le donne in gravidanza e comprendente i neonati a rischio, per posi-

tività materna, è attualmente in corso e supportato da finanziamenti della Provincia.

È inoltre attivo dal 2010 un programma centralizzato di SN mirato (almeno un genitore proveniente da fuori regione) in Friuli Venezia Giulia, finanziato dalla Regione. I dati, non ancora pubblicati, riportano 6018 neonati testati dal 2010 al 2015, una percentuale di AS tra 1,74% e 4,7% a seconda delle Province (Zanolli F, comunicazione personale).

Un programma pilota di SN universale è attivo dal 2 maggio 2016 a Padova e da settembre 2016 a Monza. Nei primi 12 mesi di attività sono stati testati più di 2500 neonati con 0,07% di affetti e 0,58% di portatori presso il Centro di Padova e 0,098% di portatori presso il Centro di Monza [54].

Presa in carico del paziente

Il programma di SN per la SCD non può prescindere da un programma di presa in carico globale presso un Centro di riferimento specializzato per la cura della malattia.

L'organizzazione di Sick Cell Comprehensive Centers si è dimostrata fondamentale per l'integrazione dei programmi di screening, fornendo educazione sanitaria, trattamenti preventivi (profilassi delle infezioni, vaccinazioni complete, prevenzione dello stroke), adeguati percorsi diagnostico-terapeutici per il trattamento delle complicanze acute e croniche, pianificazione del regime trasfusionale e somministrazione di HU [7,19], accompagnamento nel passaggio alle cure dell'adulto dei pazienti adolescenti e giovani adulti mediante programmi di transizione strutturati. La presa in carico del paziente con affidamento a Centri di riferimento specializzati e multidisciplinari si è dimostrata efficace nel ridurre la mortalità [55] e migliorare la qualità della vita [23]. Laddove queste strutture erano carenti, l'efficacia del programma di SN è risultata ridotta [56]. La presa in carico del paziente presso un Centro di riferimento viene raccomandata dalle principali Linee Guida nazionali e internazionali [7,9,10,19,50].

Conclusioni

L'aumento della popolazione proveniente da zone a rischio di SCD nel nostro Paese e il conseguente aumento dei bambini affetti rendono necessario lo sviluppo su tutto il territorio nazionale di un programma di SN universale, come raccomandato dalle Linee Guida internazionali e nazionali. Esperienze pilota in alcune zone dell'Italia dimostrano la fatti-

bilità e l'efficacia di tali programmi, evidenziando dati epidemiologici che confermano tali indicazioni.

✉ laura.sainati@unipd.it

1. Ware RE, de Montalembert M, Tshilolo L, Abboud MR. Sick cell disease. *Lancet* 2017;390:311-23.
2. Piel FB, Patil AP, Howes RE, et al. Global epidemiology of sickle haemoglobin in neonates: a contemporary geostatistical model-based map and population estimates. *Lancet* 2013;381:142-51.
3. Aguilar Martinez P, Angastiniotis M, Eleftheriou A, et al. Haemoglobinopathies in Europe: health & migration policy perspectives. *Orphanet J Rare Dis* 2014;9:97.
4. Cataldo F. Immigration and changes in the epidemiology of hemoglobin disorders in Italy: an emerging public health burden. *Ital J Pediatr* 2012;38:32.
5. Russo-Mancuso G, La Spina M, Schilirò G. The changing profile of sickle cell disease in Italy. *Eur J Epidemiol* 2003;18:923-4.
6. Colombatti R, Dalla Pozza LV, Mazzucato M, et al. Hospitalization of children with sickle cell disease in a region with increasing immigration rates. *Haematologica* 2008;93:463-4.
7. NHS Standard and Guidelines for Clinical Care. <http://www.sct.screening.nhs.uk/standards-andguidelines>.
8. de Montalembert M, Girot R, Galactéros F. Sick cell disease in France in 2006: results and challenges. *Arch Pediatr* 2006;13:1191-4.
9. NIH Consensus Conference. Newborn screening for sickle cell disease and other haemoglobinopathies. *JAMA* 1987;258:1205-9.
10. de Montalembert M, Ferster A, Colombatti R, et al. European Network for Rare and Congenital Anaemias. ENERCA clinical recommendations for disease management and prevention of complications of sickle cell disease in children. *Am J Hematol* 2011;86:72-5.
11. Standing Medical Advisory Committee. Sick cell, thalassemia and other haemoglobinopathies. London: HMSO, 1993.
12. Vichinsky E, Hurst D, Earles A, et al. Newborn screening for sickle cell disease: effects on mortality. *Pediatrics* 1988;81:749-55.
13. Memish ZA, Saeedi MY. Six-year outcome of the national premarital screening and genetic counseling program for sickle cell disease and β -thalassemia in Saudi Arabia. *Ann Saudi Med* 2011;31:229-35.
14. Saffi M, Howard N. Exploring the Effectiveness of Mandatory Premarital Screening and Genetic Counselling Programmes for β -Thalassaemia in the Middle East: A Scoping Review. *Public Health Genomics* 2015;18:193-203.
15. Cao A, Kan YW. The prevention of thalassemia. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2013;3:a011775.
16. Amato A, Grisanti P, Lerone M, et al. Prevention strategies for severe hemoglobinopathies in endemic and nonendemic immigration countries: the Latium example. *Prenat Diagn* 2009;29:1171-4.
17. NHS Screening Programs. <http://cpd.screening.nhs.uk/induction-resource/sct>.

18. Venturelli D, Lodi M, Palazzi G, et al. Sickle cell disease in the areas of immigration of high-risk populations: a low cost and reproducible method of screening in northern Italy. *Tranfusion Blood* 2014;12:346-51.
19. Consensus Statement on the Care of Patients with Sickle Cell Disease in Canada. http://www.sicklecelldisease.ca/wp-content/uploads/2013/04/CANHAEM-Consensus-Statement-for-SCD-Guide2015_v10.pdf.
20. Alapan Y, Fraiwan A, Kucukal E, et al. Emerging point-of-care technologies for sickle cell disease screening and monitoring. *Expert Rev Med Devices* 2016;13:1073-93.
21. Kanter J (2016). Point-of-Care Testing in Sickle Cell Disease, Sickle Cell Disease - Pain and Common Chronic Complications, Dr. Baba P.D. Inusa (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/64862. Available from: <https://www.intechopen.com/books/sickle-cell-disease-pain-and-common-chronic-complications/point-of-care-testing-in-sickle-cell-disease>.
22. Therrell BL Jr, Lloyd-Puryear MA, Eckman JR, Mann MY. Newborn Screening for sickle cell disease in the United States: A review of data spanning 2 decades. *Semin Perinatol* 2015;39:238-51.
23. Quinn CT, Rogers ZR, McCavit TL, Buchanan GR. Improved survival of children and adolescents with sickle cell disease. *Blood* 2010;115:3447-52.
24. Robitaille N, Delvin EE, Hume HA. Newborn screening for SCD: a 1988-2003 Quebec experience. *Paediatr Child Health* 2006;11:223-7.
25. Lobo CL, Ballas SK, Domingos AC et al. Newborn screening program for hemoglobinopathies in Rio de Janeiro, Brazil. *Pediatr Blood Cancer* 2014;61:34-9.
26. Diniz D, Guedes C. Sickle Cell Anaemia: a Brazilian Problem. A bioethical approach to the new genetics. *Cad Saude Publica* 2003;19:1761-70.
27. Fernandes AP, Januário JN, Cangussu CB, et al. Mortality of children with sickle cell disease. A population study. *J Pediatric (Rio J)* 2010;86:279-84.
28. Sabarese AP, Lima GO, Silva LM, Viana MB. Characterization of mortality in children with sickle cell disease diagnosed through the Newborn Screening Program. *J Pediatr* 2015;91:242-7.
29. Therrell BL, Padilla CD, Loeber JG, et al. Current status of newborn screening worldwide: 2015. *Semin Perinatol* 2015;39:171-87.
30. Streetly A. Positive screening and carriers results for the England wide universal newborn sickle cell screening program by ethnicity and area for 2005-2007. *J Clin Pathol* 2010;63:626-9.
31. Bouva MJ, Mohrmann K, Brinkman HB, et al. Implementing neonatal screening for haemoglobinopathies in the Netherlands. *J Med Screen* 2010;17:58-65.
32. Jans SM, van El CG, Houwaart ES, et al. A case study of haemoglobinopathy screening in the Netherlands: witnessing the past, lessons for the future. *Ethn Health* 2012;17:217-39.
33. Gulbis B, Cotton F, Ferster A, et al. Neonatal haemoglobinopathy screening in Belgium. *J Clin Pathol* 2009;62:49-52.
34. Cela E, Bellón JM, de la Cruz M, et al. SEHOP-Hemoglobinopathies Study Group (Sociedad Española de Hematología y Oncología Pediátricas). National registry of hemoglobinopathies in Spain (REPHem). *Pediatr Blood Cancer* 2017;64:7. doi: 10.1002/pbc.26322. Epub 2016 Nov 2.
35. Lobitz S, Frömmel C, Brose A, et al. Incidence of sickle cell disease in an unselected cohort of neonates born in Berlin, Germany. *Eur J Hum Genet* 2014;22:1051-3.
36. Frömmel C, Brose A, Klein J et al. Newborn screening for sickle cell disease: technical and legal aspects of a German pilot study with 38,220 participants. *Biomed Res Int* 2014;2014:695828. doi: 10.1155/2014/695828. Epub 2014 Jul 23.
37. Kunz JB, Cario H, Grosse R, et al. The epidemiology of sickle cell disease in Germany following recent large-scale immigration. *Pediatr Blood Cancer* 2017;64(7). doi: 10.1002/pbc.26550. Epub 2017 Apr 6.
38. Thuret I, Sarles J, Merono F, et al. Neonatal screening for sickle cell disease in France: evaluation of the selective process. *J Clin Pathol* 2010;63:548-51.
39. Menzato F, Colombatti R, Sainati L. Gestione delle principali urgenze nella drepanocitosi in età pediatrica. *Quaderni acp* 2016;23:74-6.
40. Po' C, Colombatti R, Cirigliano A, et al. The management of sickle cell pain in the emergency department: a priority for health systems. *Clin J Pain* 2013;29:60-3.
41. Colombatti R, Perrotta S, Masera N, et al. Lessons learned from the H1N1 pandemic: the need to improve systematic vaccination in Sickle Cell Disease children. A multi center survey in Italy. *Vaccine* 2011;29:1126-8.
42. Montanaro M, Colombatti R, Pugliese M, et al. Intellectual function evaluation of first generation immigrant children with sickle cell disease: the role of language and socio-demographic factors. *Ital J Pediatr* 2013;39:36. doi: 10.1186/1824-7288-39-36.
43. Manara R, Talenti G, Rampazzo P, et al. Longitudinal evaluation of cerebral white matter hyperintensities lesion volume in children with sickle cell disease. *Br J Haematol* 2017;176:485-7.
44. Colombatti R, Montanaro M, Guasti F, et al. Comprehensive care for sickle cell disease immigrant patients: a reproducible model achieving high adherence to minimum standards of care. *Pediatr Blood Cancer* 2012;59:1275-9.
45. Colombatti R, Meneghetti G, Ermani M, et al. Primary stroke prevention for sickle cell disease in north-east Italy: the role of ethnic issues in establishing a Transcranial Doppler screening program. *Ital J Pediatr* 2009;35:15. doi: 10.1186/1824-7288-35-15.
46. Marzollo A, Calore E, Tumino M, et al. Treosulfan-Based Conditioning Regimen in Sibling and Alternative Donor Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Children with Sickle Cell Disease. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2017;9:e2017014.
47. Del Vecchio GC, De Santis A, Giordano P, et al; AIEOP ITP Study Group. Management of acute childhood idiopathic thrombocytopenic purpura according to AIEOP consensus guidelines: assessment of Italian experience. *Acta Haematol* 2008;119:1-7.
48. Barone A, Lucarelli A, Onofrillo D, et al. Diagnosis and management of acquired aplastic anemia in childhood. Guidelines from the Marrow Failure Study Group of the Pediatric Haemato-Oncology Italian Association (AIEOP). *Blood Cells Mol Dis* 2015;55:40-7.
49. Ladogana S, Maruzzi M, Samperi P, et al. AIHA Committee of the Italian Association of Paediatric Onco-haematology (AIEOP). Diagnosis and management of newly diagnosed childhood autoimmune haemolytic anaemia. Recommendations from the Red Cell Study Group of the Paediatric Haemato-Oncology Italian Association. *Blood Transfus* 2017;15:259-67.
50. Colombatti R, Perrotta S, Samperi P, et al. Italian Association of Pediatric Hematology-Oncology (AIEOP) Sickle Cell Disease Working Group. Organizing national responses for rare blood disorders: the Italian experience with sickle cell disease in childhood. *Orphanet J Rare Dis* 2013;8:169. doi: 10.1186/1750-1172-8-169.
51. Ivaldi G, Barberio G, Caruso V, et al. Raccomandazioni per la diagnosi neonatale delle emoglobinopatie. *Biochim Clin* 2015;39:116-32.
52. Ballardini E, Tarocco A, Marsella M, et al. Universal neonatal screening for sickle cell disease and other haemoglobinopathies in Ferrara, Italy. *Tranfus Blood* 2013;11:245-9.
53. Rolla R, Castagno M, Zaffaroni M, et al. Neonatal screening for sickle cell disease and other hemoglobinopathies in the changing Europe. *Clin Lab* 2014;60:2089-93.
54. Martella M, Cattaneo L, Viola G, et al. Universal newborn screening for sickle cell disease: preliminary results of the first year of a multicentric Italian pilot project. Abstract E1489 at the 22nd EHA Congress, Madrid 22-25 June 2017.
55. Telfer P, Coen P, Chakravorty S, et al. Clinical outcomes in children with sickle cell disease living in England: a neonatal cohort in east London. *Haematologica* 2007;92:905-12.
56. McGann P. Improving survival for children with SCD: newborn screening is only the first step. *Paediatric Int Child Health* 2015;35:285-6.