

La neutropenia autoimmune primitiva del bambino

PIERO FARRUGGIA¹, FABIO TUCCI², MICHAELA CALVILLO³, FRANCESCA FIOREDDA³, CARLO DUFOUR³

¹Ospedale dei Bambini "G. Di Cristina", Palermo

²Ospedale "Meyer", Firenze

³Istituto "G. Gaslini", Genova

La neutropenia autoimmune primitiva è la più comune forma di neutropenia del bambino; certamente alquanto più comune dei numeri ufficiali, per il buon motivo che spesso non ce se ne accorge perché è sostanzialmente innocente, o quanto meno benigna.

La neutropenia è definita come un numero assoluto di neutrofilo inferiore alla soglia minima normale per l'età. Tale soglia, nella razza caucasica, è pari a 1000/mm³ nel periodo compreso fra 2 settimane e 1 anno di vita ed è pari a 1500/mm³ nei bambini delle età successive (1800/mm³ negli adulti). La neutropenia è definita lieve se i neutrofilo sono fra 1000/mm³ e 1500/mm³, moderata se fra 500/mm³ e 1000/mm³, grave se < 500/mm³ (condizione da alcuni definita anche come "agranulocitosi").

La neutropenia autoimmune primitiva (AIN) del bambino è una patologia quasi sempre innocua e autolimitante (similmente a quanto accade nella eritroblastopenia transitoria e nella maggioranza delle piastrinopenie autoimmuni), tanto da essere stata, in passato, definita neutropenia cronica benigna dell'infanzia; esordisce per lo più entro i 3 anni e, comunque, quasi sempre nei primi anni di vita. La AIN va differenziata dalla neutropenia autoimmune dell'adulto, più grave, spesso associata ad altre manifestazioni autoimmuni e che difficilmente va incontro a guarigione spontanea¹. L'incidenza "storica", riportata in letteratura, è pari a 1/100.000, ma è percezione comune che si tratti di una patologia molto più diffusa: da un'indagine che abbiamo condotto negli ultimi 5 anni nelle province di Palermo e Trapani l'incidenza reale sembra collocarsi intorno a 1/4300 nati. È in ogni caso la più co-

PRIMARY AUTOIMMUNE NEUTROPENIA IN CHILDREN

(Medico e Bambino 2012;31:102-106)

Key words

Autoimmune neutropenia, Diagnosis, Treatment, Children

Summary

Primary autoimmune neutropenia in children is a rather unknown but not an infrequent disease: it is probable that in his career a paediatric practitioner will deal at least with one patient and it is pretty sure that a hospital paediatrician will deal with more than one case. The disease induces anxiety in the family and in the child's paediatrician: more than 2/3 of the patients experience neutrophils < 500/mm³ and the anxiety is related to possible serious infections. Luckily, childhood autoimmune neutropenia is almost ever a mild disease that will recover in a short time.

mune forma di neutropenia dell'infanzia². Non vi è reale preferenza di sesso^{3,4}, al contrario della neutropenia autoimmune dell'adulto, più frequente nel sesso femminile⁵.

La malattia si sviluppa in seguito a una autoimmunizzazione contro antigeni della membrana citoplasmatica dei neutrofilo (i principali dei quali sono riportati nella *Tabella I*). È bene ricordare come gli autoanticorpi della AIN, in quanto diretti contro antigeni della membrana citoplasmatica, non abbiano alcuna relazione con gli autoanticorpi del tipo ANCA, che sono diretti contro antigeni del citoplasma.

L'antigene più frequentemente implicato nello sviluppo di una AIN è l'PHNA-1, ovvero il recettore di tipo IIIb per il frammento Fc delle IgG (FcγRIIIb), di cui esistono tre isoforme, fra le quali la 1a e la 1b sono le più frequentemente coinvolte. La famiglia

dei recettori Fcγ è deputata a mediare il legame e la fagocitosi di vari tipi di particelle.

La patogenesi è ignota, anche se si ipotizza una possibile cross-reattività verso antigeni di batteri o virus, magari amplificata da una ancora non perfetta funzionalità dei linfociti T regolatori^{6,7} (che si completerebbe nei primi anni di vita). Il principale meccanismo di distruzione dei neutrofilo è l'opsonizzazione e la successiva fagocitosi da parte dei macrofagi splenici. Di questo vi sono prove istologiche, conseguenza di studi iniziali in cui la terapia della neutropenia autoimmune era, a volte, la splenectomia⁸.

Se una neutropenia viene diagnosticata per infezioni insorte a meno di 1 mese di vita, molto difficilmente è autoimmune. In letteratura è riportata a nostra conoscenza una sola eccezione riguardante due neonati prematuri⁹. L'età media alla diagnosi è di 8-11 mesi^{4,10,11}. La malattia va quasi sempre incontro a risoluzione spontanea: la du-

ANTIGENI DELLA MEMBRANA CITOPLASMATICA DEI NEUTROFILI

Glicoproteina	Antigeni*	Frequenza nella popolazione (%)
FcγRIIIb (CD16b)	HNA-1a (NA1)	58
	HNA-1b (NA2)	88
	HNA-1c (SH)	5-38
Gp 50-64 (CD177)	HNA-2a (NB1)	94
Gp 70-95	HNA-3a (5b)	97
CD11b	HNA-4a (MART)	99
CD11a	HNA-5a (OND)	96
CR1 (CD35)		?
FcγRII		?

*Tra parentesi la vecchia nomenclatura.

Tabella 1. Da voce bibliografica 3, modificato.

rata media è di 17-20 mesi^{3,10} e di fatto circa il 95% dei bambini guarisce entro i 4 anni di età^{4,10}.

CLINICA

Circa il 70-80% dei pazienti soffre solo di otiti o di infezioni lievi a carico di cute e mucose: di fatto, nella gran parte dei casi, le infezioni come frequenza e/o gravità non differiscono di molto da quelle riscontrate nella media dei coetanei. Nell'8% dei casi, addirittura, la diagnosi è casuale e legata a emocromi effettuati per altre cause (ad esempio riscontro di pallore): solo il 10-12% dei bambini va incontro a infezioni serie (polmoniti, ascessi cutanei, meningiti, sepsi)³. È possibile ipotizzare che alla sostanziale benignità clinica contribuiscano la normale funzionalità dei neutrofili, il loro pronto aumento in caso di infezioni (in quanto è normale la riserva midollare ed è immediato l'incremento del fattore di crescita granulocitario, meglio noto come G-CSF, *granulocyte colony-stimulating factor*¹²), nonché il probabile "compenso" operato dai monociti, spesso aumentati.

LABORATORIO

Il numero di neutrofili alla diagnosi è nel 70% dei casi inferiore a 500/mm³ (neutropenia grave), nel 23% fra 500 e 1000/mm³ (neutropenia moderata) e nel 7% tra 1000 e 1500/mm³ (neutropenia lieve); una monocitosi (cioè monociti superiori a 1000/mm³) si riscontra nel 28-38%³ dei pazienti.

Da sottolineare come, non occasionalmente, il numero complessivo di leucociti sia un po' ridotto rispetto al numero normale per l'età^{13,14}.

Aspirato midollare

A livello midollare la cellularità appare normale in circa il 50% dei casi, aumentata in circa il 45% dei casi e solo in meno del 5% dei casi può essere ridotta; nel 40% circa degli aspirati midollari si osserva una riduzione dei neutrofili maturi^{3,14}. L'aspetto morfologico (inteso anche come cellularità e rappresentanza percentuale delle serie emopoietiche) appare del tutto normale, complessivamente, in circa 1/3 dei casi³. L'eventuale riscontro di una riduzione dei neutrofili maturi non si accompagna mai a un "blocco" a livello di promielocita, tipo neutropenia grave congenita (*Severe Congenital Neutropenia*, SCN), in passato nota come sindrome di Kostmann.

La citofluorimetria non è molto informativa e non di rado mette in evidenza solo un aumento delle staminali CD34¹⁵. Un dubbio in cui spesso il clinico si imbatte è quello relativo alla eventuale necessità di eseguire l'aspirato midollare.

A tale proposito ci sembra ragionevole suggerire di posticiparne l'esecuzione all'esito del dosaggio degli autoanticorpi nei casi in cui:

1. l'età dell'esordio è tipica;
2. l'emocromo è, neutropenia a parte, normale;
3. la storia infettiva è lieve o medio-lieve;
4. non ci sono segni di sospetto per una leucemia (epatosplenomegalia, linfadenopatia, aumento dell'LDH, anomalie morfologiche allo striscio periferico ecc.);
5. non sono stati assunti steroidi (che possono "mascherare" un esordio di leucemia).

DIAGNOSI

La diagnosi è basata sulla dimostrazione della presenza degli anticorpi antineutrofilo: la ricerca a scopo diagnostico è prevalentemente effettuata in citofluorimetria o in immunofluorescenza, essendo l'agglutinazione meno utilizzata e il test di immobilizzazione (MAIGA) confinato più a scopi di ricerca.

I test disponibili si dividono in: *diretti*, che evidenziano anticorpi adesi alla superficie dei neutrofili, e *indiretti* che evidenziano anticorpi liberi nel siero del paziente.

Diretti: sono gravati da un numero elevato di falsi positivi^{3,16}, in prevalenza dovuti al legame aspecifico delle immunoglobuline sulla superficie dei neutrofili; la loro eventuale positività non permette quindi di avere una certezza diagnostica. L'eventuale negatività può invece essere utile poiché permette sostanzialmente di escludere l'ipotesi di una AIN, in quanto i falsi negativi sono estremamente rari.

Indiretti: pur con i limiti di cui sotto, sono considerati il test di riferimento diagnostico. I test indiretti sono gravati da un elevato numero di falsi negativi, circa 1/3-1/4 su singolo esame^{3,17}, in prevalenza dovuti al basso titolo degli autoanticorpi³, e quindi si è spesso costretti a ripeterli più volte prima di ottenere una positività: l'Associazione Italiana di Emato-Oncologia Pediatrica (AIEOP) consiglia, in presenza di forte sospetto clinico, di effettuare il test indiretto fino ad almeno 4 volte in un anno. Un'unica positività equivale sostanzialmente a una diagnosi di certezza, in quanto i falsi positivi sono molto rari. È purtroppo possibile che gli anticorpi antineutrofilo indiretti siano negativi in test ripetuti, anche se anamnesi, clinica e aspirato midollare depongono fortemente per una AIN. Questi casi, a rigore, andranno classificati come neutropenie idiopatiche, anche se appare molto verosimile trattarsi di AIN in cui non si è riusciti a evidenziare gli anticorpi indiretti. Anche nei migliori centri questa quota di neutropenie idiopatiche altamente sospette per essere in realtà delle AIN non scende mai a meno del 2-5%^{2,3}. Ovviamente una sostanziale certezza sulla diagnosi potrà essere acquisita a posteriori nel caso in cui subentri la guarigione.

Le classi degli autoanticorpi sono:

- solo IgG: 85%;
- IgG e IgM: 12%;
- solo IgM: 3%.

Le segnalazioni relative alla possibile presenza di autoanticorpi contro precursori mieloidi costituiscono la base logica su cui è possibile interpretare il riscontro occasionale di aspirati midollari con ipoplasia mieloide fra i pazienti affetti da AIN^{18,19}.

DIAGNOSI DIFFERENZIALE

Una situazione particolare, ma di cui i pediatri e soprattutto i neonatologi devono essere a conoscenza, è quella relativa ai nati da madri affette da neutropenia autoimmune, patologia che, come già detto, nell'adulto è mediamente più seria e con scarsa tendenza alla guarigione spontanea. I neonati possono in questi casi andare incontro a una grave neutropenia su base immune, legata cioè ad autoanticorpi materni in grado di distruggere anche i neutrofili del figlio: questa neutropenia può provocare nel neonato infezioni anche gravissime^{20,21}. In questi casi è consigliabile che la madre venga tenuta in terapia con G-CSF, soprattutto nelle ultime fasi della gravidanza, e che anche il neonato venga trattato allo stesso modo nelle prime settimane di vita.

Per analogia ci sembra opportuno accennare subito alla *neutropenia neonatale alloimmune*. In alcuni casi accade che i neutrofili del feto, che esprimono anche antigeni di origine paterna, sensibilizzano la madre, inducendo la produzione di IgG antineutrofilo che, attraversando la placenta, sono capaci di indurre una neutropenia nel neonato. La patologia è certamente più rara della AIN, sebbene anticorpi contro neutrofili di donatori siano presenti nel siero delle partorienti in circa l'1% delle gravidanze²². Le infezioni sono gravi in circa il 10-20% dei casi²³, e si tratta soprattutto di onfaliti, polmoniti e sepsi. La durata media della neutropenia è di 11 settimane (*range* 3-28)²³.

Certamente fra le prime malattie che è necessario escludere, nel caso di riscontro di una neutropenia, vi sono le *leucemie*. In verità, l'esordio di una leucemia con una neutropenia isolata è piuttosto infrequente, in quanto il più delle volte è possibile riscontrare an-

che anemia e/o piastrinopenia. Il rischio è più basso se l'obiettività è negativa (in particolare se fegato e milza sono nella norma) e se agli esami di laboratorio non si registrano aumento di LDH e/o uricemia. La parola definitiva, nei casi in cui sussista il minimo dubbio, è ovviamente legata all'esecuzione di un aspirato midollare.

Nell'ambito della diagnosi differenziale deve poi essere tenuta in conto la *neutropenia postinfettiva*, che può verificarsi in corso di infezioni di varia natura e persistere per alcune settimane (generalmente, però, mai più di 4-6). In questi casi sarà la ripetizione seriata dell'emocromo a fornire la diagnosi.

Bisogna poi valutare l'ipotesi di una *neutropenia da farmaci*, non di rado così severa da configurare una vera e propria agranulocitosi. Esiste una lista di farmaci più a rischio, ma, di fatto, nessun farmaco è innocente "a priori". La gravità è in relazione al medicinale (ad esempio, sono più gravi le forme legate all'acetazolamide). Se alla sospensione del farmaco si apprezza subito una tendenza alla risalita dei neutrofili, quasi sempre in circa 20 giorni la neutropenia è risolta. I farmaci più implicati in assoluto sono gli psicotropi, gli antitiroidei e alcuni antibiotici: quelli più coinvolti in pediatria sono elencati nella *Tabella II*²⁴.

La neutropenia è anche elemento caratterizzante della *sindrome di Shwachman* (SDS), una malattia non troppo rara (1/50.000 nati), legata a mutazioni del gene SBDS (cromosoma 7). La neutropenia è pressoché costante e si può associare ad anemia e/o piastrinopenia. In ogni caso è una malattia in cui è l'insufficienza del pancreas esocrino, con i conseguenti problemi di malassorbimento e scarsa crescita, a farla da padrone e a indirizzare il più delle volte in modo corretto l'iter diagnostico; quest'ultimo può anche prevedere il dosaggio di amilasi sierica, elastasi fecale e chimotripsina fecale (ridotte) e la valutazione dello steatocrito (aumentato). Da sottolineare, infine, come in circa la metà dei casi siano presenti anomalie scheletriche (soprattutto costali) che possono costituire ulteriore elemento clinico di sospetto.

Soprattutto nei primi mesi di vita esi-

I FARMACI PIÙ COINVOLTI IN PEDIATRIA COME AGENTI DI NEUTROPENIA

- Antivirali: zidovudina, ganciclovir
- Antibiotici: beta-lattamici (cefepime), trimetoprim-sulfametossazolo, vancomicina
- Antimicotici: fluconazolo, chetoconazolo
- Furosemide
- Ranitidina, omeprazolo
- Deferiprone
- Immunoglobuline ev
- Valproato
- Noramidopirina (metamizolo)

Tabella II. Da voce bibliografica 24, modificato.

ste il problema della diagnosi differenziale dalle neutropenie riscontrabili nell'ambito di una *malattia metabolica*. A questo proposito occorre tener conto che spesso (ad esempio nella sindrome di Pearson) non ci si trova in presenza di neutropenia isolata ma anche di anemia e/o piastrinopenia, che la morfologia granulocitaria può essere di aiuto (ad esempio vacuoli citoplasmatici, sempre nella sindrome di Pearson), e che si tratta quasi sempre di neonati con problemi di crescita e/o con visceromegalia in cui anche una routine ematochimica non troppo "allargata" evidenzia in genere altri segnali d'allarme (acidosi, ipoglicemia, iperlattacidemia ecc.). Ciò vale anche per la neutropenia in corso di glicogenosi Ib, la più frequente fra le neutropenie legate a malattie metaboliche: di fatto, anche in questo caso, il corredo sintomatologico e laboratoristico (epatomegalia, ritardo di crescita, ipoglicemia, iperlattacidemia, iperlipemia, iperuricemia...) è tale da consentire un precoce e corretto indirizzo diagnostico.

Nell'ambito delle diagnosi differenziali si inserisce anche la *neutropenia ciclica* (CN). Qui è ovviamente la ciclicità della neutropenia e delle infezioni (che si presentano nella maggior parte dei casi ogni 21 giorni) a far nascere il sospetto. L'aspirato midollare varia a seconda della fase del ciclo: durante la neutropenia c'è un arresto maturativo a livello di mielocito/metamielocito, subito dopo predominano i precursori mieloidi e, infine, in fase di non-neu-

tropenia, la morfologia midollare è del tutto nella norma. Per confermare la ciclicità della neutropenia occorre eseguire 2-3 emocromi alla settimana per 6-8 settimane. In poco meno della metà dei casi si potrà avere la conferma genetica con riscontro della mutazione del gene ELA2.

La parola finale, nell'ambito delle diagnosi differenziali, la riserviamo alla SCN, un tempo nota come *sindrome di Kostmann*. Negli ultimi anni sono stati fatti molti passi avanti nella caratterizzazione genetica e sono stati identificati una varietà di geni (HAX1, G6PC3, WAS...) le cui mutazioni, al pari dello "storico" ELA2, sono riconosciute capaci di indurre neutropenia. Nei casi di neutropenia "isolata", non associata cioè ad altri sintomi o ad aspetti sindromici (presenti, ad esempio, in alcune forme da mutazione di HAX1 o G6PC3), sono almeno 5 le valutazioni iniziali che possono aiutare nella differenziazione iniziale da una AIN:

1. L'incidenza della AIN è nettamente superiore a quella della SCN, che è malattia oltremodo rara (1 caso per milione di nati).
2. Se le infezioni sono comparse a meno di un mese di vita, è molto improbabile che si tratti di una AIN.
3. Se la storia clinica si accompagna solo a infezioni lievi, è molto improbabile che si tratti di una SCN.

4. Se i neutrofili sono stati più volte superiori a $500/\text{mm}^3$, è difficile che si tratti di una SCN (dove i neutrofili tendono a essere $< 500/\text{mm}^3$ e molto spesso $< 200/\text{mm}^3$).

5. Se esiste almeno un emocromo, eseguito prima del riscontro di neutropenia, in cui i neutrofili sono del tutto nella norma, non è una SCN.

Nei casi dubbi sarà l'aspirato midollare a risolvere, nella maggior parte delle situazioni, i dubbi: nel caso di SCN, infatti, c'è quasi invariabilmente un blocco a livello di promielocito. Le indagini genetiche successive dovranno poi contribuire a chiarire definitivamente il quadro.

Nella *Tabella III* sono presentati alcuni semplici elementi che possono aiutare a orientarsi nel differenziare l'AIN dalle altre neutropenie dell'infanzia.

TERAPIA

Antibiotico-profilassi: è esperienza comune come questa non sia necessaria nella gran parte dei casi e, nonostante abbia una buona efficacia e sia possibile prenderla in considerazione nei casi in cui i bambini tendano ad andare incontro a infezioni troppo frequenti, specie della cute o dell'orecchio²⁵, non è raccomandata di routine

dal Gruppo di Studio Neutropenie dell'AIEOP.

Il *G-CSF* è molto efficace³ ma vi è accordo sulla opportunità di limitarne l'uso a pazienti che siano affetti da una infezione di una certa serietà (quasi sempre in corso di ospedalizzazione) o per i quali sia in previsione un intervento chirurgico. Questa è anche la raccomandazione del Gruppo di Studio Neutropenie dell'AIEOP, in linea con la quale su 30 pazienti seguiti a Palermo nell'arco di 7 anni non è mai stato necessario ricorrere alla profilassi con *G-CSF*. Il meccanismo di azione sembra articolato su più livelli: mobilitazione dei neutrofili midollari²⁶, riduzione dell'apoptosi granulocitaria^{27,28} e aumento dei livelli del *FcγRIIb* solubile con conseguente sequestro degli autoanticorpi²⁹. La dose iniziale da utilizzare è di $5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{die}$ ³⁰: difficilmente, per avere una risposta, è necessario salire oltre i $10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{die}$, dose che, invece, viene spesso impiegata nella neutropenia neonatale alloimmune^{31,32}.

Le *immunoglobuline ev* (IgEV) hanno una efficacia intorno al 75%³, ma l'azione è limitata nel tempo e, di fatto, dopo l'ingresso sulla scena del *G-CSF*, il loro utilizzo è quasi abbandonato. Lo stesso dicasi per gli steroidi, comunque certamente meno efficaci e il cui uso non è da incoraggiare. In letteratura si trovano poi segnalazioni più o meno aneddotiche riguardanti l'uso di al-

ELEMENTI DI DIAGNOSI DIFFERENZIALE

	Tipologia delle infezioni	Organomegalia	Scarso accrescimento	Anemia e/o piastrinopenia	Aumento dell'LDH
AIN	In genere lievi	No	No	No	No
Esordio di leucemia	-	Frequente	No	Frequenti	Frequente
Neutropenia postinfettiva	-	Possibile*	No	Possibili ma spesso lievi	No
Neutropenia da farmaci	Spesso gravi	No	No	No	No
SDS	Gravità variabile	Epatomegalia frequente	Sì	Frequenti	No
Glicogenosi Ib	Gravità variabile	Epatomegalia	Sì	No	No
Sindrome di Pearson	Spesso gravi	No	Sì	Sempre anemia grave	No
SCN	Spesso gravi	No*	No	No	No
CN	In genere lievi e cicliche	No	No	No	No

*In relazione al tipo d'infezione.

**NB: splenomegalia possibile dopo l'inizio della terapia con *G-CSF*.

Tabella III

MESSAGGI CHIAVE

- La neutropenia autoimmune dell'infanzia è la più comune forma di neutropenia del bambino. Si tratta di una affezione benigna in cui le infezioni gravi sono infrequenti.
- La patologia tende spontaneamente alla risoluzione e la gran parte dei bambini sono guariti entro i 4 anni di età.
- Nel caso di febbre il bambino deve essere visitato in tempi brevi dal suo pediatra e l'antibiotico deve essere prescritto con minori limitazioni rispetto alla popolazione generale.
- L'utilizzo del G-CSF è da riservare alle infezioni serie: si tratta di una evenualità rara.

tri farmaci come gli anticorpi monoclonali anti-CD20 (*rituximab*)³³ o anti-CD52 (*alemtuzumab*)³⁴: tali terapie sono state praticate solo su pazienti adulti e si tratta di farmaci che non hanno attualmente nessun interesse in ambito di AIN dell'infanzia.

CONCLUSIONI

La AIN costituisce una patologia non rarissima e spesso "innocente": il pediatra di base e del territorio deve quindi sapere che, quando la diagnosi è certa, si tratta di bambini per i quali non è opportuno adottare particolari precauzioni. Gli unici consigli che ci sentiamo di dare sono due: in caso di febbre il bambino dovrebbe essere visitato in tempi stretti e l'antibiotico dovrebbe essere prescritto con maggiore "liberalità" rispetto a quanto è corretto fare nel resto della popolazione pediatrica.

Indirizzo per corrispondenza:

Piero Farruggia
e-mail:

farruggia.oep@ospedalecivicopa.org

Bibliografia

1. Martino R, Muñoz-Díaz E, Arilla M, et al. Combined autoimmune cytopenias. *Haematologica* 1995;80:305-10.
2. Bruin MC, von dem Borne AE, Tamminga RY, Kleijer M, Buddelmeijer L, de Haas M. Neutrophil antibody specificity in different types of childhood autoimmune neutropenia. *Blood* 1999;94:1797-802.
3. Bux J, Behrens G, Jaeger G, Welte K. Diagnosis and clinical course of autoimmune neutropenia in infancy: analysis of 240 cases. *Blood* 1998;91:181-6.
4. Wang LY, Wang CL, Chu CC, et al. Primary autoimmune neutropenia in children in Taiwan. *Transfusion* 2009;49:1003-6.
5. Capsoni F, Sarzi-Puttini P, Zanella A. Primary and secondary autoimmune neutropenia. *Arthritis Res Ther* 2005;7:208-14.
6. Shastri KA, Logue GL. Autoimmune neutropenia. *Blood* 1993;81:1984-95.
7. Nakamura K, Miki M, Mizoguchi Y, Karakawa S, Sato T, Kobayashi M. Deficiency of regulatory T cells in children with autoimmune neutropenia. *Br J Haematol* 2009;145:642-7.
8. Blaschke J, Goeken NE, Thompson JS, Dick FR, Gingrich RD. Acquired agranulocytosis with granulocyte specific cytotoxic autoantibody. *Am J Med* 1979;66:862-6.
9. Calhoun DA, Rimsza LM, Burchfield DJ, et al. Congenital autoimmune neutropenia in two premature neonates. *Pediatrics* 2001;108:181-4.
10. Lalezari P, Khorshidi M, Petrosova M. Autoimmune neutropenia of infancy. *J Pediatr* 1986;109:764-9.
11. Neglia JP, Watterson J, Clay M, et al. Autoimmune neutropenia of infancy and early childhood. *Pediatr Hematol Oncol* 1993;10:369-76.
12. Bux J, Hofmann C, Welte K. Serum G-CSF levels are not increased in patients with antibody-induced neutropenia unless they are suffering from infectious diseases. *Br J Haematol* 1999;105:616-7.
13. Bux J, Kissel K, Nowak K, Spengel U, Mueller-Eckhardt C. Autoimmune neutropenia: clinical and laboratory studies in 143 patients. *Ann Hematol* 1991;63:249-52.
14. Bux J, Kissel K, Nowak K, Spengel U, Mueller-Eckhardt C. Clinical importance of granulocyte-specific antibodies. *Beitr Infusionsther* 1992;30:420-4.
15. Papadaki HA, Gibson FM, Rizzo S, Gordon-Smith EC, Marsh JC. Assessment of bone marrow stem cell reserve and function and stromal cell function in patients with autoimmune cytopenias. *Blood* 2000;96:3272-5.
16. Verheugt FW, von dem Borne AE, van Noord-Bokhorst JC, Engelfriet CP. Autoimmune granulocytopenia: the detection of granulocyte autoantibodies with the immunofluorescence test. *Br J Haematol* 1978;39:339-50.
17. Sella R, Flomenblit L, Goldstein I, Kaplinsky C. Detection of anti-neutrophil antibodies in autoimmune neutropenia of infancy: a multicenter study. *Isr Med Assoc J* 2010;12:91-6.
18. Currie MS, Weinberg JB, Rustagi PK, Logue GL. Antibodies to granulocyte precursors in selective myeloid hypoplasia and other suspected autoimmune neutropenias: use of HL-60 cells as targets. *Blood* 1987;69:529-36.
19. Hartman KR, LaRussa VF, Rothwell SW, Atolagbe TO, Ward FT, Klipple G. Antibodies to myeloid precursor cells in autoimmune neutropenia. *Blood* 1994;84:625-31.
20. Davoren A, Saving K, McFarland JG, Aster RH, Curtis BR. Neonatal neutropenia and bacterial sepsis associated with placental transfer of maternal neutrophil-specific autoantibodies. *Transfusion* 2004;44:1041-6.
21. Fung YL, Pitcher LA, Taylor K, Minchinton RM. Managing passively acquired autoimmune neonatal neutropenia: a case study. *Transfus Med* 2005;15:151-5.
22. Bux J, Jung KD, Mueller-Eckhardt G, Mueller-Eckhardt C. Granulocyte-specific and HLA antibodies in pregnancy: incidence and clinical value. *Beitr Infusionsther* 1992;30:446-9.
23. Bux J, Jung KD, Kauth T, Mueller-Eckhardt C. Serological and clinical aspects of granulocyte antibodies leading to alloimmune neonatal neutropenia. *Transfus Med* 1992;2:143-9.
24. Dufour C, Farruggia P, Tucci F. Le neutropenie nel bambino. *Area Pediatrica* 2006;7.
25. Kobayashi M, Sato T, Kawaguchi H, et al. Efficacy of prophylactic use of trimethoprim-sulfamethoxazole in autoimmune neutropenia in infancy. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003;25:553-7.
26. Roberts AW. G-CSF: a key regulator of neutrophil production, but that's not all! *Growth Factors* 2005;23:33-41.
27. Hasegawa T, Suzuki K, Sakamoto C, et al. Expression of the inhibitor of apoptosis (IAP) family members in human neutrophils: up-regulation of cIAP2 by granulocyte colony-stimulating factor and overexpression of cIAP2 in chronic neutrophilic leukemia. *Blood* 2003;101:1164-71.
28. Dalhoff K, Hansen F, Drömann D, Schaff B, Aries SP, Braun J. Inhibition of neutrophil apoptosis and modulation of the inflammatory response by granulocyte colony-stimulating factor in healthy and ethanol-treated human volunteers. *J Infect Dis* 1998;178:891-5.
29. Kuijpers TW, de Haas M, de Groot CJ, von dem Borne AE, Weening RS. The use of rhG-CSF in chronic autoimmune neutropenia: reversal of autoimmune phenomena, a case history. *Br J Haematol* 1996;94:464-9.
30. Fioredda F, Calvillo M, Renga D, et al. Off-label use of granulocyte colony-stimulating factor in noncongenital neutropenia: retrospective data from the Italian Neutropenia Registry. *Pediatr Hematol Oncol* 2008;25:371-4.
31. Gilmore MM, Stroncek DF, Korones DN. Treatment of alloimmune neonatal neutropenia with granulocyte colony-stimulating factor. *J Pediatr* 1994;125:948-51.
32. Giraldo P, Zuppa AA, Romagnoli C, Torotorolo G. Transient effect of granulocyte colony-stimulating factor in allo-immune neonatal neutropenia. *Biol Neonate* 2000;78: 277-80.
33. Dungarwalla M, Marsh JC, Toozee JA, et al. Lack of clinical efficacy of rituximab in the treatment of autoimmune neutropenia and pure red cell aplasia: implications for their pathophysiology. *Ann Hematol* 2007;86:191-7.
34. Willis F, Marsh JC, Bevan DH, et al. The effect of treatment with Campath-1H in patients with autoimmune cytopenias. *Br J Haematol* 2001;114:891-8.