

## **LINEE GUIDA PER L'INQUADRAMENTO DIAGNOSTICO E GLOSSARIO DELLE NEUTROPENIE CONGENITE ED ACQUISITE**

Francesca Fioredda<sup>1</sup>, Michaela Calvillo<sup>1</sup>, Sonia Bonanomi<sup>2</sup>, Tiziana Coliva<sup>2</sup>, Fabio Tucci<sup>3</sup>, Eleonora Gambineri<sup>3</sup>, Piero Faruggia<sup>4</sup>, Marta Pillon<sup>5</sup>, Baldassarre Martire<sup>6</sup>, Roberta Ghilardi<sup>7</sup>, Ugo Ramenghi<sup>8</sup>, Daniela Renga<sup>8</sup>, Giuseppe Menna<sup>9</sup>, Angelica Barone<sup>10</sup>, Marina Lanciotti<sup>1</sup>, Gabriella Casazza<sup>11</sup>, Giovanni Palazzi<sup>12</sup>, Anna Pusiol<sup>13</sup>, Agostino Nocerino<sup>13</sup>, Paola Poggio<sup>7</sup>, Federico Verzegnassi<sup>14</sup>, Carlo Dufour<sup>1</sup>

- 1) Unita' di Ematologia-Istituto Giannina Gaslini – Genova
- 2) Clinica Pediatrica, Universita' di Milano “La Bicocca”, Monza
- 3) Unita' di Emato-Oncologia, Ospedale Meyer, Firenze
- 4) Unita' di Emato-Oncologia Ospedale Di Cristina,Palermo
- 5) Clinica Oncoematologia Pediatrica, Università di Padova
- 6) Dipartimento di Pediatria, Universita' di Bari
- 7) Dipartimento di pediatria Ospedale Maggiore Policlinico IRCCS, Milano
- 8) Unita' di Ematologia, Ospedale Regina Margherita, Torino
- 9) Unita' di Ematologia, Ospedale Pausillipon, Napoli
- 10) Unita' di oncometaologia e pediatria, Ospedale Universita' di Parma
- 11) Oncoematologia pediatrica, Ospedale S.Chiera, Pisa
- 12) Unita' di Emato-Oncologia, Azienda Ospedaliera Universitaria di Modena
- 13) Oncologia Pediatrica, Policlinico Universitario di Udine
- 14) Emato-Oncologia pediatrica, Universita' di Trieste Osp.le Burlo Garofolo, Trieste

## 1) INTRODUZIONE

La neutropenia è una malattia rara la cui frequenza è di 1/100000 per le forme autoimmuni e di 1/1000000 per le forme congenite.(1) Probabilmente tale frequenza è sottostimata a causa di una scarsa disponibilità dei mezzi diagnostici che ne impedisce alla volte la corretta definizione.

La neutropenia è una patologia che occupa una discreta parte dell'attività degli ambulatori/Day Hospital di ematologia pertanto si è sentita la necessità, a livello del CSS Insufficienze midollari-Gruppo Neutropenie, di condividere il percorso diagnostico, la terapia, il follow up oltre che il glossario allo scopo di uniformare il più possibile le definizioni e di condividere le procedure diagnostico/terapeutiche.

Certamente le presenti linee guida non vogliono rappresentare regole assolute, ma vorrebbero funzionare da strumento di aiuto per la corretta gestione del paziente che, in ogni caso, andrebbe comunque il più possibile individualizzata e "tagliata" rispetto alle disponibilità e agli strumenti locali.

## METODI

La metodologia usata per stilare le presenti linee guida è stata tratta da quella già validata dall'AIEOP rispetto alla diagnosi ed al trattamento della porpora trombocitopenica idiopatica.(2)

In breve, il gruppo neutropenie ha deciso di effettuare un'elaborazione delle raccomandazioni già esistenti e pubblicate sul sito nel 2004. In prima istanza quattro membri del gruppo si sono incaricati di effettuare la stesura di quattro documenti preliminari riguardo alle definizioni dei diversi tipi di neutropenia, alla diagnosi, alla terapia ed al follow up.

Per la preparazione dei documenti preliminari gli esperti hanno effettuato una ricerca estensiva su medline (dal 1971 al luglio 2010). Le parole chiave usate sono state: neutropenia, congenita, acquisita, grave, SCN, diagnosis, children, G-CSF, filgrastim, lenograstim, pegfilgrastim, recettore G-CSF, trapianto di midollo.

La medline ha consentito di rilevare 107 articoli dei quali 64 sono stati utilizzati per la prima parte sulla diagnosi e 86 per la seconda sulla terapia ed il follow up. Ognuno degli articoli della letteratura è stato classificato secondo i livelli di evidenza da I a V (3) oppure opinione di esperti (OE).

In fase successiva i membri del gruppo hanno effettuato le cosiddette "conferenze di consenso" che si sono tenute il 18 aprile 08, il 26 maggio 2008 e il 16 giugno 2008 nell'ambito delle quali è stato fornito da ogni partecipante il consenso sulle definizioni/procedure contenute nei testi preliminari. Il consenso è stato espresso con numeri progressivi da 1 (non consenso) a 9 (pieno consenso) riguardo all'appropriatezza della definizione/procedura. Per ognuna delle votazioni effettuate è stata calcolata una media. Punteggi medi da 0 a 3 indicavano pratica inappropriata, punteggi medi da 3.01 a 6,99 indicavano pratica mediamente appropriata, punteggi da 7 a 9 indicavano pratica appropriata/ necessaria.

I livelli di evidenza ed il livello di unanimità delle opinioni indicanti il grado di consenso è rappresentata nella tabella I.

Nel testo quindi sono contenuti i livelli di evidenza della letteratura sull'argomento in numero romano in neretto, tra parentesi ed in successione, la forza del consenso espressa come media in numero arabo ed il grado di uniformità del consenso espresso in lettere maiuscole dalla A alla D.

## DEFINIZIONE DELL' ENTITA' CLINICA

La neutropenia è definita da una riduzione della conta assoluta di neutrofili (N) all'esame emocromocitometrico il cui limite inferiore varia a seconda delle etnie.

Nella razza caucasica:

- **dopo le 2 settimane** di vita e **fino all'anno d'età**  $1.0 \times 10^9/L$
- **dopo l'anno di età** fino all'età adulta  $1.5 \times 10^9/L$ .(1) (V, 8.5, A)

La popolazione nera ed altre etnie hanno una conta di N inferiore rispetto a quella della popolazione caucasica (valori di  $0.2-0.6$  cellule  $\times 10^9/L$ ) il che abbassa il limite inferiore dei valori. (V, 8.5, A)

Nella popolazione caucasica, la neutropenia, dopo il primo anno di vita viene definita come segue:

- **lieve** per valori compresi tra  $1.0$  e  $1.5 \times 10^9/L$
- **moderata** per valori compresi tra  $0.5$  e  $1.0 \times 10^9/L$
- **grave** per valori inferiori a  $0.5 \times 10^9/L$ : (1) (V, 8.5, A)

Dal 1980 è stato coniato il termine riassuntivo di neutropenia cronica grave che comprende un gruppo eterogeneo di disturbi della mielopoiesi caratterizzati da una conta di N inferiori a  $0.5 \times 10^9/L$  per mesi o anni (4,5) (V, 8.5, A)

Le forme di neutropenia sono state variamente classificate, ciò che si propone nella presente revisione è di separare in prima istanza le neutropenie isolate dalle forme associate ad altre condizioni patologiche.(6) La classificazione per esteso è presentata nella tabella II. (EO, 8.4, A)

## INQUADRAMENTO DIAGNOSTICO

Il percorso diagnostico di un nuovo caso di neutropenia prevede in prima istanza un'anamnesi clinica approfondita ed un esame obiettivo.Tab III (EO, 8.7, A)

Il percorso diagnostico qui estesamente discusso e' schematizzato nella figura 1.

L'approccio diagnostico, se l'emoglobina e le piastrine sono normali, varia a seconda della conta assoluta dei neutrofili (1) che è consigliato confermare con la valutazione al microscopio ottico dello striscio periferico: (V, 8.3, C)

- **se N tra  $1.0-1.5 \times 10^9/L$** : controllare l'emocromo dopo 4 settimane (7); se conferma di N tra  $1.0$  e  $1.5 \times 10^9/L$  prevedere controlli longitudinali ed eventuali accertamenti di primo livello (tab VI). Se la seconda conta dei N e'  $>1.5 \times 10^9/L$  tale valore è da confermare prima di dichiarare concluso il follow up. (EO, 8.3, C) Il livello C è dettato dalla difformità di opinioni; per alcuni infatti i controlli sono eccessivi.
- **se N tra  $0.5-1.0 \times 10^9/L$** : eseguire 3 determinazioni dell'emocromo a distanza di almeno 7 giorni entro 3 mesi (8,9,10); se persistenza di N  $<1.0 \times 10^9/L$  procedere con accertamenti di primo livello. (EO, 8.3, D). Il basso livello di consenso deriva dal fatto che per alcuni gli accertamenti sono da eseguirsi con una tempistica troppo ristretta.

- **se  $N < 0.5 \times 10^9/L$** : sufficienti anche solo 2 determinazioni eseguite almeno a distanza di una settimana entro 3 mesi, quindi procedere con accertamenti di primo livello. (EO, 9, A)
- **se neutropenia (secondo suddetta definizione) e segni clinico-anamnestici suggestivi**, procedere con accertamenti di primo livello immediatamente ed eventualmente accertamenti specifici in base al sospetto diagnostico. (EO, 9, A)

In caso di anamnesi positiva per assunzione di farmaci noti per provocare neutropenia (tabella IV), di ricorrenza del fenomeno ad una nuova somministrazione e di regressione della neutropenia alla sospensione, considerare la neutropenia da farmaci (EO, V, 8.1, B). La lista di farmaci elencati nella tab IV è considerata dagli esperti esaustiva. (EO, V, 9, A)

Nella popolazione nera africana ed americana (13), nei messicani americani (14), nelle popolazioni africane dei caribi, negli ebrei jemeniti e in alcune etnie arabe (16) conte di N tra  $0.5-1.0 \times 10^9/L$  soprattutto se non associate ad infezioni e magari confermate anche nei familiari stretti, permettono di formulare la diagnosi di neutropenia etnica che è considerata una variazione della norma. (17) (V, EO, 8.7, B)

Dopo la conferma della neutropenia, gli esperti considerano appropriata l'esecuzione delle indagini cosiddette di primo livello secondo quanto indicato nella tab VI. (EO, 8.2, B)  
Le indagini di primo livello hanno lo scopo di confermare/escludere le forme più comuni di neutropenia oppure di orientare le successive indagini in caso non sia effettuata la diagnosi in prima istanza.

Nel caso in cui la storia clinica, l'esame obiettivo o gli esami di primo livello siano orientativi di neutropenia associata ad altre condizioni patologiche (tab II) gli esperti ritengono appropriato procedere ad indagini più specifiche. (EO, 8.2, B)

- Se sintomi suggestivi per:
  - o **malattia metabolica** (sintomi gastrointestinali, neurologici, scarso accrescimento): indirizzare il paziente al centro di riferimento per le malattie metaboliche dove possano essere effettuate indagini biochimiche o molecolari (es attività di G6PT su fegato, analisi del gene TAZ o indagini per la sindrome di Barth). (EO, 9, A)
  - o **immunodeficit** (episodi infettivi gravi, precoci e ricorrenti): indagare le sottopopolazioni linfocitarie, i titoli vaccinali, Ab anti antigeni polisaccaridici, risposta proliferativa ai mitogeni ed indirizzare il paziente al centro che si occupa di immunodeficienze dove possono essere effettuati esami genetici (tab V) riferiti alle specifiche patologie. (EO, 9, A)
  - o **malattia autoimmune**: eseguire Ab anti transglutaminasi, Ab anti endomisio, Ab anti gliadina, ANA, C3, C4, CH50, IC, RATest, dsDNA, pANCA, Ab antifosfolipidi, Ab anticardiolipina; considerare la sindrome linfo proliferativa autoimmune (ALPS) testando la doppia popolazione CD4-CD8- TCR  $\alpha/\beta+$ , il test fenotipico di sensibilità all'apoptosi e la mutazione dei geni FAS, caspasi 8 e 10.
  - o **carenze nutrizionali** : dosaggio di Vit B12, folati, rame. (EO, 8.4, A)

Il pannello di esperti concorda che se il paziente presenta sintomi orientativi per patologie associate, va riferito immediatamente al centro di competenza più vicino al fine di accorciare i tempi diagnostici.

### Accertamenti specifici in base al sospetto diagnostico:

- se viene documentata anamnesticamente o attraverso indagini biochimiche un'infezione, si suggerisce di eseguire un emocromo settimanale fino a 6 settimane dall'evento infettivo: la diagnosi di **neutropenia postinfettiva** viene considerata appropriata se dopo tale periodo l'emocromo si normalizza. (1,7,17) (EO, 7.8, B)
- Se dopo 6 settimane la neutropenia persiste si raccomanda di eseguire un aspirato midollare (EO, 7.8, B). La biopsia ossea non è considerata sempre appropriata; eventualmenete ci fossero dei segni di aplasia allora si può prendere in considerazione la sua esecuzione secondo il parere del curante. (EO, 7.8, B) E' raccomandabile che tale procedura venga eseguita in sedazione profonda.
- Per ciò che concerne la diagnosi di **neutropenia autoimmune**, si è concordi che vada confermata attraverso il rilievo della positività degli anticorpi antineutrofilo indiretti evidenziati attraverso il sistema della citometria a flusso (1, 7, 9, 17-24). La bassa sensibilità del metodo (74% al primo rilievo) (23) è un dato noto, ma è sicuramente meno dannosa della bassa specificità caratteristica della determinazione con test diretto (falsi positivi numerosi). (22) (III, V EO, 9, A)  
La positività degli anticorpi antineutrofilo, anche solo su un campione, definisce la neutropenia autoimmune; ripetere almeno 4/6 determinazioni in caso di negatività. (EO, 9, A).

In riferimento ancora alla bassa sensibilità del metodo della ricerca degli anticorpi antineutrofilo, un risultato "borderline" associato ad un quadro clinico/midollare suggestivo di neutropenia autoimmune è considerato sufficiente per confermare la suddetta definizione. (EO, 9, A)

In caso di negatività della prima determinazione degli anticorpi antineutrofilo, vista la bassa sensibilità del test, si consiglia di ripetere fino a **quattro volte l'analisi nell'arco di 4-6 mesi**. (1, 7, 12, 17, 21-24). (EO, 9, A)

- Se gli anticorpi antineutrofilo indiretti sono positivi sulla coppia madre/figlio si parla di **neutropenia alloimmune**. (EO, 9, A)

Riguardo alla diagnosi di **neutropenia ciclica** si raccomanda di procedere come segue:

in caso di negatività delle indagini di primo livello in presenza di almeno 2 nadirs ematologici cioè  $N < 500$  a distanza di almeno 21 giorni, intervallati da valori di neutrofili normali, (con o senza affe durante il nadir) è giustificato richiedere l'analisi di ELA 2. (EO, 7.8, C)

- Se ELA 2 è mutato diagnosi di neutropenia ciclica. (EO, 9, A)
- Se ELA 2 non è mutato si procederà alla conferma della diagnosi attraverso l'esecuzione di 3 emocromi alla settimana per 6 settimane. (1, 4, 7, 17, 25-27) (EO, 7.8, C)

L'esecuzione in prima battuta della mutazione di ELA 2, che caratterizza buona parte delle forme di neutropenia ciclica, è mutuata dalla difficoltà a motivare le famiglie dei pazienti ad una così fitta esecuzione di controlli.

L'esecuzione dell'aspirato midollare basale in caso di sospetta neutropenia ciclica, è a discrezione, mentre è consigliato in caso si renda necessaria la terapia con fattore di crescita dei neutrofili (G-CSF). (EO, 8.8, C)

Nel caso in cui la neutropenia persista, le indagini di primo livello non siano indicative e gli anticorpi antineutrofilo indiretti siano negativi, si raccomanda di eseguire un aspirato midollare per analisi citomorfologica. Nel caso in cui la morfologia sia indicativa di riduzione della cellularità o di displasia o di presenza di atipie, si suggerisce l'esecuzione di immunofenotipo, colture ed indagini molecolari appropriate. (1, 7, 9, 12, 14, 17, 26) (EO, 8.8, B)

E' raccomandabile ottenere, al momento dell'esecuzione dell'indagine, un consenso informato dai genitori e dal paziente, se l'età lo consente, riguardo al prelievo, all'analisi, ma anche per la sola conservazione del campione. (EO, 9, A)

- L'esecuzione della biopsia ossea è lasciata a discrezione del curante; (EO, 8.8, B) è raccomandabile che tale procedura venga eseguita in sedazione profonda.

Se il puntato midollare morfologico mostra un franco arresto maturativo a carico del pro-mielocito/mielocito, associato o meno ad eventuali alterazioni cromosomiche clonali si è autorizzati a fare diagnosi di **neutropenia congenita grave**. (12,28,29) (EO, 8.6, B) Lo studio in prima battuta delle mutazioni dei geni di ELA-2 e HAX1 che sono i più comuni è considerato appropriato. (EO, 8.6, B)

Se non viene identificata una mutazione genetica comune si può procedere con le indagini molecolari ritenute più appropriate (tab V). (31-49) (IV, V, EO, 8.1, B)

Nel caso in cui la ricerca di geni mutati sia totalmente negativa, gli esperti raccomandano di rivedere la storia clinica, i sintomi e le indagini di laboratorio effettuate. Se anche dopo tale rivalutazione non emergono indicazioni per qualsivoglia forma di neutropenia associata a lesione genetica, si accetta la diagnosi di neutropenia congenita grave senza lesione genetica nota. (47) (V, EO, 8.1, B)

Nel caso in cui la neutropenia sia persistente, non siano stati rilevati gli anticorpi antineutrofilo indiretti almeno su 4 determinazioni, il midollo non mostri un blocco maturativo, è corretta la definizione di **neutropenia idiopatica**. (1, 9, 12, 17, 24) (EO, 9, A)

La neutropenia idiopatica, rimane ad oggi una diagnosi di esclusione. Si raccomanda in ogni caso di tenere in follow up il paziente e di rivalutare elementi clinici e biochimici per un'eventuale ridefinizione diagnostica diversa dalla idiopatica. (EO, 9, A)

La neutropenia congenita grave si differenzia dalla neutropenia idiopatica anche per la presenza del blocco maturativo midollare (EO, 9, A) che è definito empiricamente da una interruzione della maturazione mieloide a carico del pro-mielocita/mielocita. Non è stabilito un valore soglia al di sotto del quale il blocco si definisca tale, ciò rappresenta un limite perchè determina una soggettività nella lettura.

Per questo sarebbero auspicabile l'avvio di uno studio multicentrico allo scopo di rendere il più possibile obiettiva e ripetibile l'interpretazione di questo parametro.

## Tabella I: Livelli di evidenza per stadiare gli studi riguardanti la neutropenia nell'infanzia

### IA

#### Livelli di evidenza

#### Tipologia studi

I (piu' forte)	Studi randomizzati prospettici con alta significatività statistica
II	Studi randomizzati prospettici con bassa significatività statistica
III	Studi non randomizzati con gruppo di controllo
IV	Studi non randomizzati con controllo storico
V (piu' debole)	Casi clinici senza gruppo di controllo
OE	Opinione di esperti derivate dalla letteratura o formulate dal pannello di esperti del Gruppo Neutropenie dell' AIEOP.

### IB

- A) Accordo forte (varianza di più di una DS sotto la varianza media)
- B) Accordo moderato (varianza di meno di una DS sotto la varianza media)
- C) Disaccordo moderato (varianza di meno di una DS sopra la varianza media)
- D) Disaccordo forte (varianza di più di una DS sopra la varianza media)

## Tabella II: Proposta di classificazione delle neutropenie

### NEUTROPENIE ISOLATE

- **neutropenie congenite gravi**
  - con lesione genetica nota
    - ELA 2 (autosomica dominante, sporadica)
    - HAX 1 (autosomica recessiva)
    - Altre più rare (p. e. JAGN1, TCIRG1 etc)
  - senza lesione genetica nota
- **neutropenia ciclica** (ELA-2, autosomica dominante, sporadica)
- **neutropenia idiopatica**
- **neutropenia autoimmune**
- **neutropenia allo immune neonatale**
- **neutropenia postinfettiva**
- **neutropenia da farmaci**
- **neutropenia familiare benigna/etnica**

### NEUTROPENIE ASSOCIATE AD ALTRA CONDIZIONE PATOLOGICA

- Sindrome di Shwachman-Diamond
- Sindrome di Pearson
- Associate a malattie metaboliche:
  - Glicogenosi Ib
  - Organico acidosi:
    - Metilmalonico acidemia
    - Propionico acidemia
    - Isovalerico acidemia
  - Tirosinemia
  - Sindrome di Barth
  - Malattia di Gaucher
- Associate a Immunodeficit:
  - Iper IgM
  - Ipo agammaglobulinemia X-linked
  - Immunodeficienza Comune Variabile
  - Deficit isolato IgA
  - Disgenesia reticolare
  - Sindrome di Dubowitz
  - Sindrome di WHIM
  - Sindrome di Cohen
  - Neutropenia X-linked
  - Deficit di GF11
- Associate a Immunodeficit con ipopigmentazione:
  - Sindrome di Griscelli tipo 2
  - Sindrome di Chediack-Higaschi
  - Sindrome di Hermansky-Pudlak tipo 2
  - Deficit di p14
- Associate a malattie autoimmuni:



Tiroidite  
Lupus eritematoso sistemico  
Artrite reumatoide o Sindrome di Felty  
Sclerodermia  
Sindrome di Sjogren  
Sindrome Autoimmune Linfoproliferativa  
Celiachia  
Cirrosi biliare primitiva  
Morbo di Crohn  
Associata ad attivazione del complemento C5

- Associate a carenze nutrizionali:
  - Deficit Vit B12
  - Deficit Folati
  - Deficit Rame
- Associate ad insufficienza midollare intrinseca od estrinseca:
  - Anemia Aplastica
  - Mielodisplasia
  - Attivazione macrofagica primitiva o secondaria
  - Anemia di Fanconi
  - Anemia di Blackfan-Diamond
  - Discheratosi congenita
  - Ipoplasia capelli cartilagine Mielofibrosi
  - Osteopetrosi
  - Infiltrazione midollare
- Associate a malattie mielo-linfoproliferative:
  - Leucemia acuta mieloide
  - Leucemia acuta linfoblastica
  - Leucemia cronica mieloide
  - Leucemia mielomonocitica acuta
  - Linfomi
  - Leucemie croniche linfoblastica
  - Sindrome LGL
- Associate ad ipersplenismo ( ± anemia, ± piastrinopenia)
- Associate a sequestro in focolaio infettivo

### **Tabella III: Anamnesi accurata come approccio del paziente neutropenico**

**Anamnesi fisiologica:** prestare particolare attenzione a malattie virali, assunzione di farmaci in gravidanza e decorso del periodo neonatale.

**Anamnesi familiare:** indagare l'origine geografica, eventuali altri casi noti di neutropenia, di malattie autoimmuni, di malattie mielo o linfoproliferative e se presente consanguineità.

**Anamnesi patologica prossima e remota con approfondimento degli eventi infettivi:** descrivere dettagliatamente le infezioni da un punto di vista quali-quantitativo (numero, tipo, sede e ricorrenza degli episodi infettivi come: afte, gengiviti, peridontiti, infezioni cutanee/ascessi, otomastoiditi, polmoniti e raccolte ascessualizzate). Puntualizzare il principio attivo, la via di somministrazione e la durata dell'eventuale terapia antibiotica.

**Anamnesi farmacologica:** rilevare il tipo e la durata del trattamento.

**Tabella IV: Farmaci implicati nel causare neutropenia(11)**

<b>Analgesici e antinfiammatori non steroidei</b>	Acetaminofenolo, acido acetilsalicilico, aminopirina, benoxaprofene, diclofenac, diflunisal, dipyrono, fenoprofene, indometacina, ibuprofene, naprossene, fenilbutazone, piroxicam, sulindac, tenoxicam, tolmetin
<b>Antipsicotici, ipnotici, sedativi e antidepressivi</b>	Amoxapina, clomipramina, clorpromazina, clozapina, diazepam, fluoxetina, aloperidolo, levopromazina, imipramina, indalpina, meprobamato, mianserina, olanzapina, fenotiazine, risperidone, tiapride, ziprasidone
<b>Antiepilettici</b>	Carbamazepina, etosuccimide, fenitoina, trimetadione, acido valproico
<b>Antitiroidei</b>	Carbimazolo, metimazolo, perclorato di potassio, tiocianato di potassio, propiltiouracile
<b>Cardiovascolari</b>	Acido acetilsalicilico, amiodarone, aprindina, bepridil, captopril, cumarinici, dipirissamolo, diossina, flurbiprofene, furosemide, idralazina, lisinopril, metildopamina, nifedipina, fenidione, procainamide, propafenone, propanonolo, chinidina, ramipril, spironlattone, diuretici tiazidici, tioclopina, vesnarinone
<b>Antinfettivi</b>	Abacavir, aciclovir, amodiachina, atovaquone, cefalosporine, cloramfenicolo, clorguanide, cloroquina, ciprofloxacina, clindamicina, dapsona, etambutolo, flucitosina, acido fisidico, gentamicina, idrossiclorochina, isoniazide, levamisolo, linezolid, macrolidi, mebendazolo, mepacrina, metronizadolo, minociclina, nitrofurantoina, norfloxacina, novobiocina, penicillina, pirimetamina, chinino, rifampicina, streptomina, terbinafina, tetraciclina, tioacetazone, tinidazolo, cotrimossazolo, vancomicina, zidovudina
<b>Miscellanea</b>	Acetazolamide, acetilcisteina, allopurinolo, aminoglutetimide, composti dell'arsenico, benzafibrato, bromfeniramina, calcio dobesilato, clorfeniramina, cimetidina, colchicina, dapsona, deferiprone, famotidina, flutamide, glucocorticoidi, idrossiclorochina, mesalazina, metapirilene, metazolamide, metoclopramide, levodopamina, olanzapina, omeprazolo, ipoglicemizzanti orali, diuretici mercuriali, penicillamina, ranitidina, riluzolo, sulfasalazina, sulfonamidi, tamoxifene, tenalidina, retinoidi, tripenelamina

**Tabella V: Alterazioni genetiche correlate alla neutropenia (oltre ELANE ed HAX1)**

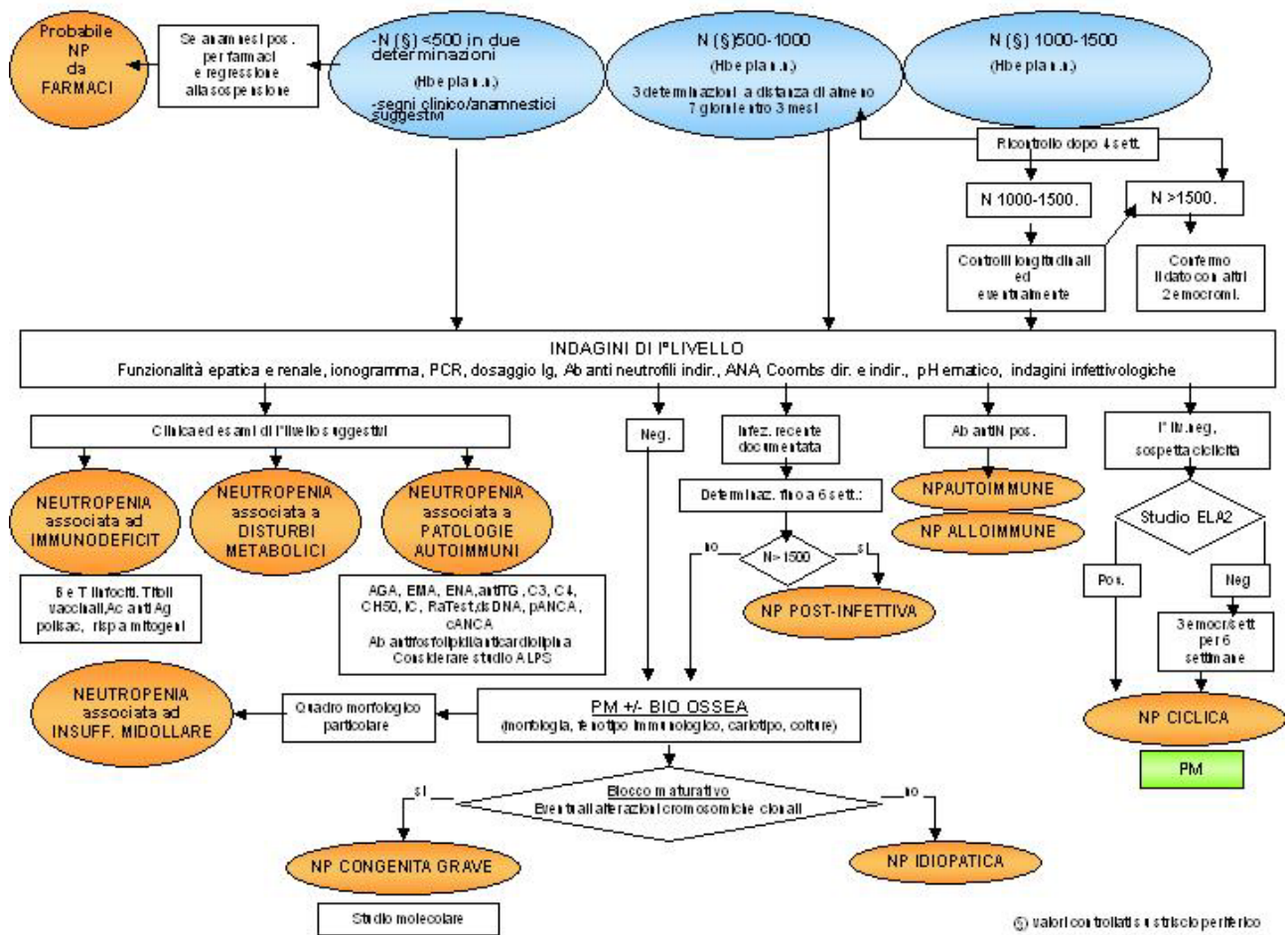
<b>NEUTROPENIA con immunodeficienza</b>	<b>DIFETTO GENETICO</b>	<b>EREDITARIETA'</b>
Neutropenia Congenita Grave	WAS (50)	X-linked
Neutropenia Congenita Grave	GF11(50)	AD
Sindrome WHIM	CXCR4 (40)	AD
Cohen's Syndrome	COH (41)	AR
X-linked Hypogammaglobulinemia	BTK (51, 52,53)	X-linked
Hyper IgM	CD40L (51)	X-linked
<b>NEUTROPENIA con immunodeficienza ed ipopigmentazione</b>		
Sindrome di Chédiak Higashi	LYST (54)	AR
Sindrome di Griscelli tipo2	RAB27A	AR
Sindrome di Hermansky-Pudlak tipo 2	AP3B1 (37)	AR
Deficit di p14	MAPBPIP (55)	AR
<b>NEUTROPENIA associata a malattie metaboliche, autoimmuni o a malformazioni</b>		
Glicogenosi 1B	G6PT (56,57)	A.R.
Sindrome di Barth	TAZ (32)	X-linked
Sindrome di Shwachman Bodian Diamond (SBS)	SBDS (58)	AR
Sindrome di Pearson	Genoma del mitocondrio (46,59)	In genere sporadica
ALPS (Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome)	FAS, FAS-L, Caspasi 8,10 (18, 19)	AD
Neutropenia Congenita Grave con mutazione di G6PC3 (isolata o associata a malformazioni genito-cardiache)	G6PC3 (34,60)	AR
<b>NEUTROPENIA associate ad insufficienza midollare</b>		
Anemia di Blackfan -Diamond	RPS 19, RPS 24, RPS 17, RPL 35 A, RPL 5, RPL11 (61)	AR
Anemia di Fanconi	da FANCA a FANCP	AR, X-Linked
Discheratosi Congenita	TERC, TERT, DKC1, TNF2, NPH2 (62, 63)	AD, AR, X-linked
Ipoplasia cartilagine-capelli	RMRP (51)	AR

AD= autosomica dominante, AR= autosomica recessiva

**Tabella VI: Esami di primo livello (EO, 8.2, B)**

- funzionalità epatica e renale
- ionogramma
- emogasanalisi venosa
- PCR
- dosaggio Ig
- Anticorpi anti-neutrofilo indiretti (4 determinazioni in 4-6 mesi) mediante citofluorimetria
- Indagini infettivologiche (sierologia o PCR RNA/DNA)
- Test di Coombs diretto + indiretto
- ANA test

**Fig 1: Algoritmo diagnostico delle neutropenie**



## BIBLIOGRAFIA

- 1) **Dinauer MC**. The phagocyte system and disorders of granulopoiesis and granulocyte function. In: Nathan DG, Orkin SH, eds. Nathan and Oshi's Hematology of Infancy and childhood. Philadelphia: WBS saunders Company; 2003: p 923-1010.
- 2) **De Mattia D**, Del Principe D, Del Vecchio GC, et al. Acute childhood idiopathic purpura: AIEOP consensus guidelines for diagnosis and treatment Associazione Italiana di Ematologia ed Oncologia Pediatrica. Haematologica .2000;**85**:420-4.
- 3) **Reed WW**, Diehl LF. Leukopenia, neutropenia and reduced hemoglobin levels in healthy American blacks. Arch Intern Med. 1991; **151**:501-505.
- 4) **Dale DC**, Bolyard AA, Aprikyan A. Cyclic neutropenia. Semin Hematol. 2002; **39**:89-94.
- 5) **Kostmann R**. Infantile genetic agranulocytosis. Review with presentation of ten new cases. Acta Paediatr Scand 1975;**64**:362.
- 6) **Bohn G**, Welte K, Klein C. Severe congenital neutropenia: new genes explain an old diseases Current Opinion in Rheumatology. 2007; **19**:644-650.
- 7) **Boxer LA**, Dale DC. Neutropenia: Causes and consequences . Sem Haematol. 2002; **39**:75-81.
- 8) **Zeidler C**, Boxer L, Dale D.C, et al. Management of Kostmann syndrome in the G-CSF era. Brit J Hematol. 2000; **109**: 490- 495.
- 9) **Lehrnbecher T**. Haemtopoietic growth factors in children with neutropenia. Brit J Hematol. 2002; **116**:28-56.
- 10) **SCNIR** available at [www.severe-chronic-neutropenia.org](http://www.severe-chronic-neutropenia.org)
- 11) **Andres F**, Maloisel L. Idiosyncratic drug-induced agranulocytosis or acute neutropenia. Curr Opinion Hematol. 2008;**15**:15-21.
- 12) **Berliner N**, Horwitz M, Loughran TP Jr. Congenital and acquired neutropenia.Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2004;63-79.
- 13) **Shoenfeld Y**, Alkan ML, Asaly A et al. Benign familial leucopenia and neutropenia in different ethnic groups. Eur J Haematol. 1988; **41**:273-277.
- 14) **Hsieh MM**, Everhart JE, Byrd-Holt DD et al. Prevalence of neutropenia in the US population: age, sex, somking status and ethnic differences. Ann Int Med. 2007; **146**:486-492.
- 15) **Bain BJ**. Ethnic and sex differences in the total and differential white cell count and platelet count. J Clin Pathol. 1996; **49**: 664-666.

- 16) **Weingarten MA**, Pottick-Shwartz EA, Brauner A , The epidemiology of benign neutropenia in Yemenite Jews. *Isr J Med Sci.* 1993; **29**:297-300.
- 17) **Kyono W**, Coates TD A practical approach to neutrophil disorders *Pediatr Clin North Am* 2002; **49**: 929-971.
- 18) **Campagnoli MF**, Garbarini L, Quarello P et al. The broad spectrum of autoimmune lymphoproliferative disease: molecular bases, clinical features and long-term follow-up in 31 patients. *Haematologica* 2006;91:538-541.
- 19) **Worth A** , Thrasher AJ , Gaspar HB. Autoimmune lymphoproliferative syndrome: molecular basis of disease and clinical phenotype *Br J Haematol.* 2006;**133**:124-140.
- 20) **Boxer LA**. Chronic autoimmune neutropenia due to anti HNA2 antibody. *N Engl J Med.* 1975; 293:744.
- 21) **Lalezari P**, Jiang AF, Yegen L et al. Chronic autoimmune neutropenia due to anti HNA2 antibody. *N Engl J Med.* 1975; **293**:744-747.
- 22) **Bux J**, Behrens G, Jaeger G. et al. Diagnosis and clinical course of autoimmune neutropenia in infancy. Analysis of 240 cases. *Blood.*1998; **91**: 181-186.
- 23) **Bux J**, Jung KD, Kauth T et al. Serological and clinical aspects of granulocyte antibodies leading to alloimmune neonatal neutropenia. *Transfus Med.* 1992; **2**:143-149.
- 24) **Palmlad JE**, von dem Borne AE. Idiopathic, immune, infectious, and idiosyncratic neutropenias. *Semin Hematol.* 2002; **39**:113-120.
- 25) **Dale DC**, Person RE, Bolyard AA, et al. Mutation in the gene encoding neutrophil elastase and cyclic neutropenia. *Blood.* 2000; **96**: 2317-22.
- 26) **Zeidler C**, Welte K. Kostmann syndrome and severe congenital neutropenia. *Semin Hematol.* 2002; **39**:82-88.
- 27) **Horwitz M**, Benson KF, Person R.E et al. Mutations in ELA 2, encoding neutrophil elastase, define a 2 day biological clock in cyclic hematopoiesis. *Nat Gen.* 1999; **23**:433-436.
- 28) **Boxer LA**, Newburger PE. A molecular Classification of congenital neutropenia syndromes. *Pediatr Blood Cancer.* 2007;**49**:609-614.
- 29) **Klein C**. HAX1 deficiency causes autosomal recessive severe congenital neutropenia (Kostmann disease). *Nat Genet* 2006; **39**:86-92.
- 30) **Schäffer AA**, Klein C. Genetic heterogeneity in severe congenital neutropenia: how many aberrant pathways can kill a neutrophil? *Current opinion Allergy and Clin Immunol.* 2007;7:481-494.



- 31) **Ancliff PJ**, Blundell MP, Cory GO, et al. Two novel activating mutations in the Wiskott-Aldrich syndrome protein result in congenital neutropenia *Blood* 2006; **108**:2182-2189.
- 32) **Bione S**, D'Adamo P, Maestrini E, et al. A novel X-linked gene, G4.5, is responsible for Barth syndrome. *Nat Genet.* 1996;12 :385-9.
- 33) **Boocock GRB**, Morrison JA, Popovic M et al. Mutations in SBDS are associated with Shwachman-Diamond syndrome. *Nat Genetics* 2003; **33**:97-101.
- 34) **Boztug K**, Appaswamy G, Ashikov A, et al. Asyndrome with congenital neutropenia and mutations in G6PC3. *N Engl J Med.* 2009; **360**: 32-43.
- 35) **Allen RC**, Armitage RJ, Conley ME, et al. CD40 ligand gene defects responsible for X-linked hyper-IgM syndrome. *Science.* 1993; **259**:990-993.
- 36) **Bohn G**, Allroth A, Brandes G, et al. A novel human primary immunodeficiency syndrome caused by deficiency of the endosomal adaptor protein p14. *Nat Med.* 2007;**13**:38-45.
- 37) **Dell'Angelica EC**, Shotelersuk V, Aguilar RC, et al. Altered trafficking of lysosomal proteins in Hermansky-Pudlak syndrome due to mutations in the  $\beta$ 3A subunit of the AP-3 adaptor. *Mol Cell.* 1999; **3**:11-21.
- 38) **Devriendt K**, Kim AS, Mathijs G, et al. Constitutively activating mutation in Wasp causes X-linked severe congenital neutropenia. *Nat Gen* 2001;**27**:313-317.
- 39) **Gerin I**, Veiga-da-Cunha M, Achouri Y et al. Sequence of a putative glucose 6-phosphate translocase, mutated in glycogen storage disease type 1b. *FEBS lett.* 1997;**419**:235-238.
- 40) **Hernandez PA**, Gorlin RJ, Lukens JN et al. Mutations in the chemokine receptor gene CXCR4 are associated with WHIM syndrome, a combined immunodeficiency disease. *Nat Gen* 2003;**34**:70-74.
- 41) **Kolehmainen J**, Black GCM, Saarinen A, et al. Cohen syndrome is caused by mutations in a novel gene, COH1, encoding a transmembrane protein with a presumed role in vesicle-mediated sorting and intracellular protein transport. *Am J Hum Genet* 2003;**72**:1359-1369.
- 42) **Ménasché G**, Pastural E, Feldmann J et al. Mutations in RAB27A cause Griscelli syndrome associated with haemophagocytic syndrome. *Nat Gen* 2000;**25**:173-176.
- 43) **Nagle DL**, Karim MA, Woolf EA et al. Identification and mutation analysis of the complete gene for Chediak-Higashi syndrome. *Nat Gen.* 1996; **14**:307-311.
- 44) **Person RE**, Li FQ, Duan Z, et al. Mutations in proto-oncogene GFI1 cause human neutropenia and target *ELA2*. *Nat Gen.* 2003;**34**:308-312.

- 45) **Ridanpaa M**, van Eenennaam H, Pelin K et al. Mutations in the RNA component of RNase MRP cause a pleiotropic human disease, cartilage-hair hypoplasia. *Cell*. 2001;**104**:195-203.
- 46) **Rotig A**, Colonna M Bonnefont JP, et al. Mitochondrial DNA deletion in Pearson's marrow/pancreas syndrome. *Lancet* .1989;**1**:902-903.
- 47) **Vetrie D**, Vorechovsky I, Sideras P, et al. The gene involved in X-linked agammaglobulinemia is a member of the src family of protein-tyrosine kinases. *Nature* 1993;**361**:226-233.
- 48) **Smith N**, Hayee B, Evanc C, et al. Novel G6PC3 mutations identified in autosomal recessive SCN patients with and without congenital abnormalities. *AbsN° 604*, *Haematologica*.2009; s2, 245-46.
- 49) **Skokowa J**, Germeshausen M, Zeidler C, et al. Severe congenital neutropenia: inheritance and pathophysiology. *Curr Opin Hematol* 2007; 14:22-28. Beel K, Cotter MM, Blatny J, et al. A large kindred with x-linked neutropenia with an I294T mutation of the Wiskott Aldrich syndrome gene. *Br J Haematol*. 2009;144:120-126.
- 50) **Cham B**, Bonilla MA, Winkelstein J. Neutropenia associated with primary immunodeficiency syndromes. *Semin Hematol*. 2002;**39**:107-112.
- 51) **Kozlowski C**, Evans D. Neutropenia associated with X-linked agammaglobulinemia. *J Clin Pathol*. 1991;44:388-390.
- 52) **Vihinen M**, Brooimans RA, Kwan SP, et al. BTKbase: XLA-mutation registry. *Immunol Today*. 1996;**17**:502-506.
- 53) **Kaplan J**, De Domenico I, Ward DM. Chediak-Higashi syndrome. *Curr Opin Hematol*. 2008;**15**: 22-29.
- 54) **Klein C**, Welte C. Genetic insight into congenital neutropenia. *Clin.Rev.Allergy Immunol*.2009; **38**: 68-74.
- 55) **Annabi B**, Hiraiwa H, Mansfield BC, et al. The gene for glycogen-storage disease type 1b maps to chromosome 11q23. *Am J Hum Genet*. 1998;**62**:400-405.
- 56) **Dieckgraefe BK**, Korzenik JR, Husain A, et al. Association of glycogen storage disease 1b and Crohn disease: results of a North American survey. *Eur J Pediatr* 2002; **161**: S88–S92.
- 57) **Kannaurakis G**. Glycogen storage disease. *Sem Hematol*. 2002; **39**:103-1006.
- 58) **Calado RT**, Graf SA, Wilkerson KL, Kajigaya S et al. Mutations in the SBDS gene in acquired aplastic anemia. *Blood*. 2007; **10**:1141-1146.

- 59) **Muraki K**, Nishimura S, Goto Y et al. The association between haematological manifestation and mtDNA deletions in Pearson syndrome. *J Inherit Metab Dis.* 1997; **20**: 697-703.
- 60) **Boztug K**, Appaswamy G, Ashikov A, et al. A syndrome with congenital neutropenia and mutations in G6PC3. *N Engl J Med.* 2009; **360**:32-43.
- 61) **Quadrello P**, Garelli E, Carando A et al. Diamond-Blackfan Anemia: genotype-phenotype correlation in patients with RPL5 and RPL11 mutations. *Haematologica.* 2010 ;**95**:206.
- 62) **Vulliamy TJ**, Dokal I. Dyskeratosis congenita: the diverse clinical presentation of mutations in the telomerase complex. *Biochimie.* 2008; **90**:122-130.
- 63) **Kirwan M**, Dohal I. Dyskeratosis Congenita, *Biochimica and Biophysica. Acta.* 2009; **1792**:371-379.