

H E M A T O L O G I A

PSEUDO-
TROMBOCITOPENIA¹

Lidiette Salazar Palma*

SUMMARY

Pseudothrombocytopenia is an "in vitro" phenomenon that is frequently seen in the clinical laboratories, as a platelet count interference, when haemograms are automatized, in a small percentage of people. If not recognized, consequences can occur in the management of patients, who have no symptoms because of this condition. In this review, its immunologic origin, which are the implications of its expression and algorithms are given to identify it and proceed correctly in the cases that are detected in several illnesses.

INTRODUCCION

Se refiere este término a la presencia en sangre periférica de un número falsamente interior de plaquetas,

respecto al valor normal establecido, esto es de 200.000 a 500.000 / ul. (15,18,29).

Una Pseudotrombocitopenia puede presentarse por una muestra tomada inadecuadamente, lo que ocurre cuando se forman en el tubo muestra, coágulos o microcoágulos que no son advertidos por el analista; así mismo por dilución de la muestra que se obtenga de un brazo del paciente un suero, lo que sospechamos por la disminución de otros cálculos de leucocitos y la serie roja. Errores similares se obtienen por una agitación u homogenización inadecuada de la muestra a estudiar, muestras obtenidas con forcejeo o lentitud al sangrar los pacientes, errores al tomar la muestra en un tubo y vaciar una porción al tubo con EDTA, muestras obtenidas a través de vías de

pacientes delicados y sin seguir el procedimiento de limpieza de esa vía para obtener una muestra adecuada para el hemograma. (5, 15, 21).

La Pseudotrombocitopenia que analiza esta revisión es aquella causada por la agregación o aglutinación de plaquetas, como un fenómeno "in vitro", que ocurre en presencia del anticoagulante EDTA, es decir las sales disódica o tripotásica del ácido etilén diamino tetracético, usado a la temperatura ambiente. (1, 5, 20). En estos casos los analizadores electrónicos utilizados actualmente en la realización de los hemogramas, reportan cálculos falsamente bajos debido a que no pueden cuantificar las plaquetas correctamente por la formación de microagregados plaquetarios. (3, 4, 7, 18, 27, 29). La Pseudotrombocitopenia es un fenó-

*Servicio de Hematología, Hospital R.A. Carderón Guardia. (1) Revisión Bibliográfica.

meno debido a la presencia en algunos pacientes de anticuerpos antiplaquetas, que reconocen antígenos plaquetarios, los cuales son modificados o expuestos, por la acción combinada del EDTA y la baja temperatura ambiental sobre las glicoproteínas de la membrana plaquetaria. (criptoantígenos). Estos anticuerpos se comportan como aglutininas frías porque ellas son reactivas sólo a la temperatura ambiental y no a 37° C (3, 20, 27). Es importante recordar aquí que siempre existe un efecto importante del anticoagulante sobre las plaquetas colectadas "in vitro" para su estudio, se manifiesta fundamentalmente por cambios en el volumen plaquetario conforme pasa el tiempo de contrato. Esta circunstancia debe considerarse al evaluar el tamaño de las plaquetas (14, 15). Pero la formación de agregados de un fenómeno especial que se observa en algunos pacientes y en diversas condiciones.

¿COMO SE DESARROLLA EL FENOMENO?

La Pseudotrombocitopenia constituye una de las tantas interferencias o limitantes al estudiar el hemograma en los analizadores electrónicos, reconocida como tal con el uso rutinario de los equipos que reportan los cálculos de plaquetas en todos los pacientes analizados. Ha sido esta la manera en que los analistas se han familiarizado con ella, al observarla e investigarla en diferentes condiciones en pacientes sanos o enfermos. (5, 15, 25). Como se indicó anteriormente, el fenómeno está mediado por anticuerpos antiplaquetas, posiblemente naturales, con un papel fisiológico de

remover plaquetas circulantes. Como anticuerpos naturales, sin manifestaciones clínicas, se han encontrado en donadores normales y en mujeres embarazadas o no, pero capaces de inducir la Pseudotrombocitopenia "in vitro". (3, 4, 24, 27). Anticuerpos antiplaquetas dependientes de EDTA también pueden estar presentes en la sangre de individuos sanos sin causar Pseudotrombocitopenia; esta es la razón por la cual se consideran naturales, de naturaleza poliespecífica antilípida. Su función es retirar plaquetas modificadas por senectud y exposición de fosfolípidos de membrana cargados negativamente. (3,4). En los pacientes que presentan la microagregación "in vitro", el anticoagulante EDTA expone los antígenos plaquetarios, a los que se adhieren los anticuerpos y se evidencia el fenómeno. (3, 4, 28). Los anticuerpos encontrados han sido de tipo Ig M, Ig G e Ig A, en ese orden de frecuencia, algunos de ellos con dos isotipos concomitantemente (3, 4). Estos anticuerpos van dirigidos hacia el complejo glicoproteico IIb/IIIa de la membrana plaquetaria, lo cual se ha mostrado por la disminución considerable del fenómeno en presencia de anticuerpos monoclonales anti complejo glicoproteico IIb/IIIa. (6, 7, 8, 9, 23). También se ha descrito un anticuerpo dirigido hacia el antígeno de membrana GP 78 Kd, evidenciado por anticuerpo monoclonal, también. (10) La incidencia del fenómeno para la población general se ha descrito alrededor del 1%, algunos autores han mencionado que es mayor en los pacientes hospitalizados y muy enfermos, asociando esto a su padecimiento o a los tratamientos

a que se someten. (2, 13, 22). Anteriormente se mencionó su aparición en individuos normales, no relacionada con sexo ni edad. También se ha encontrado en distintas condiciones como embarazo y en individuos con distintas enfermedades como procesos inflamatorios y febriles - LES, cáncer, arteriosclerosis, hepatopatías, HIV, distintos cuadros virales-, como en pacientes quirúrgicos o sometidos a tratamientos, donde el fenómeno se detecta desde el inicio de su abordaje médico, o en el transcurso de su evolución. (1, 2, 12, 16, 17, 18, 20, 22, 26, 28, 30). La asociación más contundente entre estos anticuerpos y alguna entidad específica ha sido en enfermedades autoinmunes, esto en base al hallazgo de casos en estos pacientes. Sin embargo un estudio de Bazzaro y col, encontró una correlación de 82,9% detectando anticuerpos antiplaquetas conjuntamente con anticardiolipina, lo cual concluyó como que ambas pruebas detectan el mismo anticuerpo. Con estudios de inhibición han demostrado una reacción cruzada en ambas actividades de anticuerpo y con estudios de absorción se probó que la mayoría de anticuerpos dependientes de EDTA tienen actividad antifosfolípida, pero no todos los anticardiolipina inducen Pseudotrombocitopenia. (4) Así mismo se ha seguido en los estudios por largo tiempo, persistiendo por períodos diferentes, de meses o años, esto es transitoria o permanentemente, en distintos pacientes con una misma entidad o condición. (3, 4, 13, 20). La mayoría de los casos han sido relacionados al anticoagulante EDTA, sin embargo algunos pocos

han sido descritos independientemente de éste, indicando otros tipos de anticuerpos capaces de inducir la Pseudotrombocitopenia, que actúan aún en ausencia de los anticoagulantes usuales; eso sí, actúan siempre a baja temperatura. (8, 24) Otra descripción interesante se refiere al fenómeno de Pseudotrombocitopenia dependiente de temperatura, y que se ha detectado en algunos analizadores que utilizan peroxidasa a temperatura alta y forman microagregados plaquetarios en el canal específico. Estos casos se presentan muy esporádicamente. (19). Una consecuencia, en cuanto a celularidad se refiere, es que las plaquetas en microagregados son contabilizadas en la escala de leucocitos, en la zona inmediata anterior a los linfocitos. Un observador curioso notará el inicio del histograma de leucocitos desplegándose en una curva ligeramente diferente, partiendo de la parte media de la vertical, y no desde la base de la misma como se distribuye normalmente. Esto se traduce en una Pseudoleucocitosis de magnitud variable, y así con otro error -casi siempre ligero- en la cuenta de leucocitos. (19, 24)

¿CUALES SON LAS IMPLICACIONES CLINICAS DE UNA PSEUDOTROMBOCITOPENIA NO RECONOCIDA POR EL LABORATORIO?

El paciente que desarrolla este fenómeno "in vitro" no tiene ningún tipo de sintomatología ni complicaciones dependientes de su número de plaquetas, pues de hecho su población de trombocitos no corresponde al que se está reportando, salvo que tenga,

además de microagregados, un número realmente bajo de plaquetas, -demostrado explícitamente, y debido a una patología de fondo-, sus plaquetas se encuentran en cómputo normal generalmente. (3, 15, 17) La importancia e implicaciones del reporte espúreo serán desde un falso diagnóstico de trombocitopenia, interconsultas innecesarias, otros análisis para dilucidar su aparente patología plaquetaria, atraso a procedimientos quirúrgicos, hasta tratamientos inapropiados dirigidos a elevar esas plaquetas y tratar de normalizar el estado del paciente. (5, 9, 12, 22) Por lo tanto es indispensable que el laboratorio y el médico tengan en cuenta la posibilidad de una pseudotrombocitopenia, ante todo cómputo bajo de plaquetas, especialmente en aquellos casos sin congruencia entre la sintomatología y el cómputo reportado. Para el laboratorio es medida obligada descartar la Pseudotrombocitopenia que, según algunos autores, puede alcanzar hasta un 50% de los casos de cálculos bajos de plaquetas reportadas. (2, 3, 12, 13).

¿COMO DESCARTAR UNA PSEUDOTROMBOCITOPENIA Y REALIZAR EL COMPUTO CORRECTO DE PLAQUETAS?

La primera medida es la observación microscópica del frotis sanguíneo en toda muestra con cómputo bajo de plaquetas. (3, 14) Si se observan microagregados, debe repetirse la muestra, de nuevo con EDTA y con otros anticoagulantes como heparina, citrato de sodio, u oxalato de amonio, puede incubarse la muestra -inmediatamente después de obtenerla- a 37o

C a fin de impedir la acción de los anticuerpos fríos. (2, 3, 11, 27) Una forma barata de comprobar el fenómeno de agregación "in vitro" es realizando cálculos inmediatamente al tomar la muestra y en el transcurso de las siguientes 4 horas, observando cómo ese recuento va disminuyendo en el tiempo conforme va dándose el contacto con el EDTA a temperatura ambiente. (27) Como se dijo, algunas muestras presentan microagregados aún con otros anticoagulantes distintos del EDTA, por lo que el laboratorio debe ir utilizando en esos pocos casos los distintos anticoagulantes, la temperatura a 37o C y sobretodo el análisis inmediato de la muestra. (3, 8, 9, 27) Es útil e importante que al paciente que se ha identificado que presenta el fenómeno, se le informe e instruya de su condición para que en futuras ocasiones de cuantificación de sus plaquetas, facilite el procedimiento de toma de sus muestras, agilizando la determinación y así ganar tiempo, pues no tendría que repetirse la prueba si continúa presentando la pseudotrombocitopenia. Así mismo, que la caracterización de Pseudotrombocitopenia se registre en su expediente clínico, y los médicos tratantes lo tengan en cuenta para solicitar la prueba con las condiciones necesarias de toma de sus muestras. Cabe añadir que el laboratorio debe descartar todas las otras posibilidades de error que puedan llevar a un cómputo de plaquetas falsamente bajo.

RESUMEN

La Pseudotrombocitopenia es un fenómeno "in vitro" que se presenta diariamente en los laboratorios, como

una de las interferencias en el cómputo de plaquetas, al realizar los hemogramas automatizados, de un pequeño porcentaje de la población. Su no reconocimiento puede llevar a consecuencias diversas en el manejo de los pacientes portadores, que no tienen sintomatología alguna por esa condición. En esta revisión se analiza cómo es que se produce el fenómeno, de origen inmunológico, cuáles son las implicaciones de su expresión y se dan pautas para identificarlo y proceder adecuadamente en los casos que se detectan en diversas condiciones.

BIBLIOGRAFIA

1. Anton-Botella J.J. et al. EDTA-induced pseudotrombocytopenia in primary care. (letter). *Aten Primaria* 1993 may; 11 (8): 443-444.
2. Berkman, N. et. al. EDTA-dependent pseudotrombocytopenia: a clinical study of 18 patients and review of the literature. *Am J. Hematol* 1991 mar; 36 (3): 195-201.
3. Bizzaro, Nicola. EDTA- dependent pseudotrombocytopenia: a clinical and epidemiological study of 112 cases, with 10-year follow up. *Am J. Hematol* 1995 oct; 50 (2): 103-109.
4. Bizzaro, Nicola and Brandalise, Maurizia. EDTA- dependent Pseudothrombocytopenia. Association with antiplatelet and antiphospholipid antibodies. *Am J. Clin Pathol* 1995; 103: 103-107.
5. Calabuig, T y Sánchez Fayos, M.P. Pseudotrombocitopenias. Un problema médico derivado de un avance técnico. *Rev. Clin Esp.* 1990 mar; 186 (5): 227-229.
6. Casonato, A. et al. EDTA- dependent pseudotrombocytopenia caused by antibodies against the cytoadhesive receptor of platelet gpIIb-IIIa. *J. Clin Pathol* 1994 jul; 47(7): 625-630.
7. Christopoulos C.G. and Machin S.J. A new type of pseudotrombocytopenia: EDTA-mediated agglutination of platelets bearing Fab fragments of a chimaeric antibody. *Br J. Haematol* 1994 jul; 87(3): 650-652.
8. Cunningham, Vickie and Brandt, John. Spurious thrombocytopenia due to EDTA-independent cold- reactive agglutinins. *Am J Clin Pathol* 1992; 97: 359-362.
9. D'Angelo, G. et. al. Platelet aggregation in presence of anticoagulants dependent pseudothrombocytopenia. *Minerva Med.* 1993 jul-aug, 84(7): 399-402.
10. De Caterina, M. et. al. Evidence of a cold immunoglobulin M autoantibody against 78-ka platelet glycoprotein in a case of EDTA-dependent pseudotrombocytopenia. *Am J. Clin Pathol* 1993 feb; 99(2): 163-167.
11. Edelman, B. and Kicler, T. Sequential measurement of anti-platelet antibodies in a patient who developed EDTA- dependent pseudothrombocytopenia. *Am J. Clin Pathol* 1993 jan; 99(1): 87-89.
12. García Suárez, J. et. al. EDTA-dependent pseudotrombocytopenia in ambulatory patients: clinical characteristics and role of new automated cell-counting in its detection (letter). *Am J Hematol* 1992 feb; 39 (2): 146-148.
13. García Suárez, J. et. al. Pseudotrombocitopenia: incidencia, causas y métodos de detección. *Sangre* 1991 jun; 36(3): 197-200.
14. Graham, Susan et. al. Automated platelet-sizing parameters on a normal population. *Am J Clin Pathol of the past decade in automated hematology.* *Am J. Clin Pathol* 1992; 98 (suppl 1): S11-S16.
15. Gulati, Gene et. al. Advances of the past decade in automated hematology. *Am J. Clin Pathol* 1992; 98 (suppl 1): S11-S16.
16. Kodama, T. et. al. 48, XXYY Syndrome associated with ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)-dependent pseudothrombocytopenia. *Intern Med* 1992 jan; 31(1): 143-146.
17. Mayan, H. et. al. EDTA-induced pseudothrombocytopenia. *South Med. J* 1992 feb; 85 (2): 213-214.
18. Moraglio, D. et. al. Associati of pseudothrombocytopenia and pseudoleukopenia: evidence of different pathogenic mechanism. *Scan J. Clin Lab Invest* 1994 jul; 54 (4): 257-265.
19. Onofrio, Giuseppe et. al. Giant platelets and platelet clumping on the H6000. *AM J. Clin Pathol*; 87(1): 152-153.
20. Pastor, P. et. al. Pseudothrombo-citopenia de cinco años de evolución. *An Med. Interna* 1995, oct; 12(10): 516.
21. Pewarchuk, W. et. al. Pseudo-polycitemia, pseudothrombocytopenia, and pseudoleukopenia due to overfilling of blood collection vacuum tubes. *Arch Pathol Lab Med* 1992 jan; 116(1): 90-92.
22. Rutherford, C.J. and Frenkel, E.P. Thrombocytopenia. Issues in diagnosis and therapy. *Med Clin North Am* 1994 may; 78(3): 555-575.
23. Ryo, R. et. al. Platelet release reaction during EDTA-induced platelet agglutinations and inhibition of EDTA-induced platelet agglutination by anti-glycoprotein IIb/IIIa complex monoclonal antibody. *Throb Res* 1994 may; 74(3): 265-272.
24. Schrezenmeier, H. et. al. Anticoagulant-induced pseudothrombocytopenia and pseudoleucocytosis. *Thromb-Haemost* 1995 mar; 73(3): 506-513.
25. Schoentag, Robert. Hematology Analyzers. *Clinics in Laboratory Medicine* 1988 dic; 8(4): 653-673.
26. Shalev, O. and Lotman, A. Images in clinical medicine. -Pseudothrombocytopenia. *N. Engl J. Med* 1993 Nov; 329(20): 1467.
27. Silvestri, F. et. al. Incidence and diagnosis of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia in a consecutive outpatient population referred for isolated thrombocytopenia. *Vox Sang* 1995; 68(1): 35-39.
28. Silvestri, F. et. al. More on false thrombocytopenia EDTA-dependent pseudothrombocytopenia associated with a congenital platelet release defect. *Vox San* 1996; 71(1): 27-29.
29. Sweeney, J.D. et. al. Pseudo-thrombocytopenia in plateletpheresis donors. *Transfusion* 1995 jan; 35(1): 46-49.
30. Takeuchi, T. et. al. Cytomegalovirus mononucleosis with mixed cryoglobulinemia presenting transient pseudothrombocytopenia. *Int Med.* 1993 jul; 32(7): 598-601.