

# Pseudotrombocitopenia

Primeira submissão em 15/01/03  
Última submissão em 15/03/04  
Aceito para publicação em 02/04/04  
Publicado em 20/10/04

## *Pseudothrombocytopenia*

Luci Maria Sant'Ana Dusse; Lauro Mello Vieira; Maria das Graças Carvalho

unitermos	resumo
Pseudotrombocitopenia	<p>A pseudotrombocitopenia consiste na contagem baixa de plaquetas em amostras de sangue colhidas em etilenedinitrilotetraacetato (EDTA). Essa diminuição é conseqüente à aglutinação das plaquetas ou, mais raramente, à formação de rosetas de plaquetas em torno dos neutrófilos, um fenômeno referido como <i>satelitismo plaquetário</i>. A natureza fisiopatológica da pseudotrombocitopenia induzida pelo EDTA é, ainda, incerta. No entanto, tem sido proposto que auto-anticorpos presentes no plasma, na presença de EDTA, reconhecem e se ligam a um epitopo da glicoproteína IIb (GPIIb), integrante do complexo GPIIb/IIIa da superfície plaquetária, promovendo a aglutinação das plaquetas. O conhecimento dos dados clínicos do paciente é de grande importância para se evitar a liberação de resultados incorretos. Quando há suspeita de pseudotrombocitopenia, o diagnóstico pode ser confirmado fazendo-se a contagem de plaquetas imediatamente após a coleta do sangue em EDTA e repetindo-se após uma ou quatro horas, quando é verificada queda gradual dos resultados obtidos. O número real de plaquetas pode ser determinado colhendo-se o sangue em citrato de sódio a 3,8% e realizando-se a contagem imediatamente após a coleta. A avaliação cuidadosa do filme sangüíneo é imprescindível para a caracterização de casos de pseudotrombocitopenia, pois nele será evidente a presença de grumos de plaquetas que, em geral, são mais freqüentes na porção final da cauda do filme sangüíneo. A observação criteriosa do histograma pode também sugerir um quadro de pseudotrombocitopenia, quando se detecta o aumento de <i>debris</i> celulares.</p>
Satelitismo	
EDTA	
GP IIb/IIIa	

## abstract

## key words

*Pseudothrombocytopenia consists in a false reduced number of platelets count in blood samples collected into EDTA-containing vials. This reduction may be due either to platelets agglutination or, seldom, to platelets rosettes formation around neutrophils, a phenomenon known as platelet sathelitim. The physiopathological nature of the EDTA-induced pseudothrombolytopenia is still uncertain. However, it has been proposed that plasma autoantibodies may recognise and bind to the glycoprotein IIb (GPIIb) epytope, which is part of the GPIIb/IIIa complex on the platelet surface, promoting platelet agglutination. It is quite important to know the clinical data from patient in order to prevent spurious results. As pseudothrombocytopenia is suspected, diagnosis can be confirmed by counting platelets immediately following EDTA blood sampling and after 1 or 4 hours, as it is verified a gradual reduction of the previous results. The correct platelet number can be determined by blood collection in 3,8% sodium citrate and performing platelet count immediately. A minucious observation of the blood smear is indispensable for pseudothrombocytopenia characterization. It will be evident platelet clumps, which are more frequent on the smear tail. Also, it may be observed in blood smears the presence of plateled sathelitim, both resulting in a false reduced platelet count. A minucious and careful hystogram observation may also suggest pseudothrombocytopenia, as a cellular debris increase is present.*

*Pseudothrombocytopenia*  
*Sathelitim*  
*EDTA*  
*GPIIb/IIIa*

## Introdução

A pseudotrombocitopenia consiste na contagem baixa de plaquetas em amostras de sangue colhidas em etilenedinitrilotetraacetato (EDTA). Essa diminuição é conseqüente à aglutinação das plaquetas ou, mais raramente, à formação de rosetas de plaquetas em torno dos neutrófilos, um fenômeno referido como *satelitismo plaquetário*<sup>(8, 14)</sup>. A aglutinação das plaquetas pode resultar na formação de grumos de tamanho similar aos dos leucócitos, e o contador automático é incapaz de distinguir tais grumos, reconhecendo-os como leucócitos e fornecendo contagem falsamente elevada ou pseudo-leucocitose<sup>(14, 15)</sup>.

Embora seja difícil avaliar a freqüência com que esse fenômeno ocorre, acredita-se que sua incidência seja maior em pacientes hospitalizados, especialmente os portadores de doenças hepáticas, auto-ímmunes e neoplásicas<sup>(2)</sup>. Em pacientes que estão sob tratamento com Abciximab (ReoPro, Eli Lilly), medicamento utilizado especialmente em intervenções coronarianas, estima-se que um terço apresente súbita diminuição da contagem de plaquetas, sem nenhuma complicação de sangramento, confirmando a pseudotrombocitopenia<sup>(18, 20)</sup>. No entanto, é importante ressaltar que a pseudotrombocitopenia pode ocorrer independentemente de coexistência de alguma doença ou utilização de drogas.

Recentemente, Cohen *et al.*<sup>(6)</sup> fizeram um estudo retrospectivo, em que avaliaram 60 casos consecutivos de contagens de plaquetas inferiores a 100.000/mm<sup>3</sup>, obtidos ao longo de dois anos, em pacientes hospitalizados e não-oriundos da clínica hematológica. Esses investigadores concluíram que a incidência de pseudotrombocitopenia foi de 17%, representando a segunda principal causa de resultados com trombocitopenia.

Payne *et al.*<sup>(12)</sup> relataram que a pseudotrombocitopenia ocorre com uma freqüência de 0,1% nas contagens laboratoriais de plaquetas. Esse dado é bastante preocupante, já que um laboratório de grande porte, que realiza cerca de mil contagens plaquetárias diariamente, tem a chance de ter um caso de pseudotrombocitopenia por dia.

Considerando a freqüência estimada, a pseudotrombocitopenia representa um problema clínico de grande importância, uma vez que pode resultar em diagnóstico errôneo, solicitação desnecessária de exames laboratoriais e conduta terapêutica totalmente inadequada, incluindo a transfusão de plaquetas e, até mesmo, a esplenectomia. Vale ressaltar que, de modo geral, os indivíduos em que se

detecta pseudotrombocitopenia não têm história clínica de sangramento e marcadores auto-ímmunes. O tempo de sangria está normal e o volume plaquetário médio (VPM) não é alterado, o que confirma que a diminuição das plaquetas encontrada é, inquestionavelmente, induzida *in vitro*<sup>(3)</sup>.

A ocorrência de pseudotrombocitopenia em pacientes portadores de trombocitemia essencial (TE), doença neoplásica que cursa com número bastante elevado de plaquetas circulantes, pode mascarar o diagnóstico da doença ou dificultar a monitorização do tratamento nos casos diagnosticados. Considerando a gravidade da TE, é imprescindível afastar essa possibilidade, para a instituição do tratamento correto<sup>(3)</sup>. Por outro lado, em pacientes com doenças associadas à diminuição das plaquetas circulantes, seja pela supressão da plaquetopoese medular ou por mecanismos ímmunes, a ocorrência da pseudotrombocitopenia pode dificultar enormemente a monitorização do tratamento<sup>(9)</sup>.

A natureza fisiopatológica da pseudotrombocitopenia induzida pelo EDTA é, ainda, incerta. No entanto, tem sido proposto que auto-anticorpos presentes no plasma reconhecem e se ligam a um epitopo da glicoproteína IIb (GPIIb), integrante do complexo GPIIb/IIIa da superfície plaquetária, promovendo a aglutinação das plaquetas. Esse epitopo somente é exposto na presença de EDTA<sup>(7, 19)</sup>. A fisiopatologia da produção de tais anticorpos é desconhecida e a presença desses no plasma é flutuante, podendo alternar períodos em que se detecta ou não uma pseudotrombocitopenia<sup>(3)</sup>.

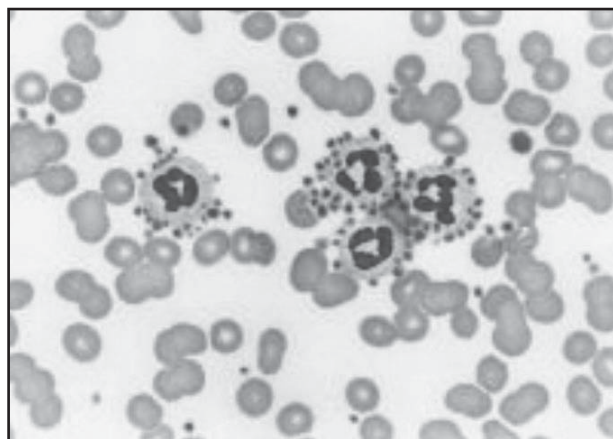
Utilizando a técnica de imunofluorescência foi possível identificar várias classes de anticorpos ligados ao epitopo da GPIIb/IIIa, em casos de pseudotrombocitopenia induzida pelo EDTA, como imunoglobulina da classe G (IgG) (subclasses IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4), imunoglobulina da classe M (IgM) e imunoglobulina da classe A (IgA)<sup>(13)</sup>. Esses anticorpos reagem melhor em temperaturas inferiores à temperatura ambiente. A ligação anticorpo-GPIIb/IIIa foi detectada na presença de vários sais do EDTA (Na<sub>2</sub>EDTA, K<sub>2</sub>EDTA, K<sub>3</sub>EDTA e MgEDTA) e do etileno glycol bis β-aminoetil éter (K<sub>2</sub>EGTA)<sup>(13)</sup>. Plaquetas de indivíduos portadores da trombocitemia de Glanzmann não reagem com esses anticorpos. A trombocitemia de Glanzmann é uma doença hemorrágica hereditária, associada a mutações dos genes responsáveis pela síntese da GPIIb e GPIIIa, o que leva a um comprometimento da agregação plaquetária<sup>(8)</sup>. Tal observação confirma o envolvimento da GPIIb/IIIa na aglutinação induzida pelo EDTA.

No satelitismo, as plaquetas freqüentemente formam rosetas em torno dos neutrófilos, mas esse fenômeno pode ser visto também em monócitos e eosinófilos. O número de plaquetas envolvidas na formação das rosetas é variável<sup>(10)</sup>. O mecanismo que leva ao satelitismo não está totalmente elucidado. Recentemente tem sido especulado que os auto-anticorpos se ligam, pela porção Fab, ao epitopo exposto da GPIIb/IIIa da plaqueta e, pela porção Fc, ao receptor III dos neutrófilos, formando as pontes entre plaquetas e neutrófilos e a figura de roseta<sup>(16)</sup>. Uma outra explicação aventada sugere que proteínas liberadas dos grânulos alfa das plaquetas, especialmente a trombospondina, estariam envolvidas na formação da roseta, uma vez que somente plaquetas que se coram fortemente para trombospondina estão envolvidas no processo<sup>(5)</sup>. A **Figura 1** mostra imagens de satelitismo plaquetário.

Diversos pesquisadores afirmam que o fenômeno da aglutinação *in vitro* das plaquetas ocorre somente na presença de EDTA. Assim, amostras obtidas em citrato de sódio, heparina ou oxalato de sódio forneceriam a contagem correta. No entanto, há quem afirme que esses anticoagulantes também são responsáveis por induzir aglutinação, e a contagem correta somente poderia ser estimada utilizando-se amostras sem anticoagulantes<sup>(4, 18)</sup>.

A adição de algumas substâncias ao anticoagulante tem sido utilizada como artifício para prevenir a aglutinação das plaquetas. Dessa forma, foi relatado que a suplementação do EDTA com kanamicina evitou a aglutinação plaquetária<sup>(1)</sup>. A combinação de citrato de sódio e paraformaldeído também serviu como forma de prevenção<sup>(18)</sup>.

O conhecimento dos dados clínicos do paciente é de grande importância para se evitar a liberação de resultados incorretos. Quando há suspeita de pseudotrombocitopenia,



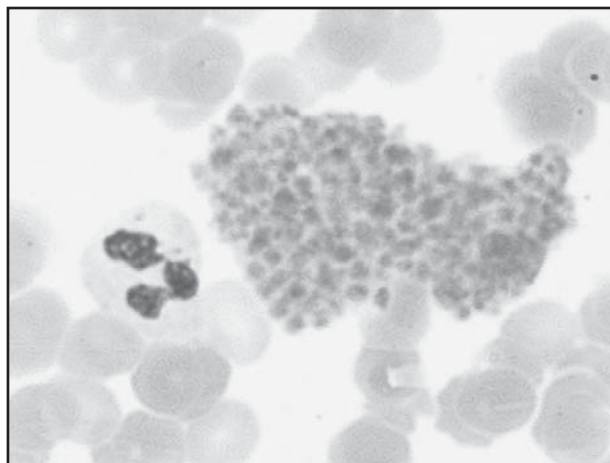
**Figura 1** – Satelitismo plaquetário

o diagnóstico pode ser confirmado fazendo-se a contagem de plaquetas, imediatamente após a coleta do sangue em EDTA, e repetindo-se após uma<sup>(20)</sup> ou quatro horas<sup>(17)</sup>, quando é verificada uma queda gradual dos resultados obtidos.

Os números reais de plaquetas e leucócitos circulantes podem ser determinados colhendo-se o sangue em citrato de sódio a 3,8%, mantendo-se rigorosamente a proporção deste de 0,5 para 4,5ml de sangue e realizando-se a contagem imediatamente após a coleta. A diluição da amostra pelo anticoagulante (nove partes de sangue: dez partes no total) pode ser corrigida multiplicando-a pelo fator de diluição, que é 1,1. Este é obtido pela recíproca da diluição, ou seja, dividindo 10 por 9<sup>(14)</sup>. Outra maneira seria colher o sangue sem anticoagulante e fazer a contagem imediatamente após a coleta<sup>(18)</sup>.

A avaliação cuidadosa do filme sangüíneo é imprescindível para a caracterização de casos de pseudotrombocitopenia, pois nele será evidente a presença de grumos de plaquetas que, em geral, são mais freqüentes na porção final da cauda do filme sangüíneo. A observação criteriosa do histograma pode também sugerir um quadro de pseudotrombocitopenia quando um aumento de *debris* celulares for observado<sup>(11)</sup>.

As **Figuras 2 e 3** mostram imagens de aglutinação plaquetária, na presença de EDTA, em um caso de pseudotrombocitopenia de um paciente diagnosticado no Laboratório do Hospital Madre Teresa/Belo Horizonte, MG. A contagem de plaquetas obtida na amostra colhida em EDTA foi de 24.000/mm<sup>3</sup>, e na amostra obtida em citrato de sódio foi de 214.000/mm<sup>3</sup>. Neste caso, praticamente não foram encontradas plaquetas ao longo do filme san-



**Figura 2** – Grumo de plaquetas e um neutrófilo segmentado em amostra de sangue colhida em EDTA

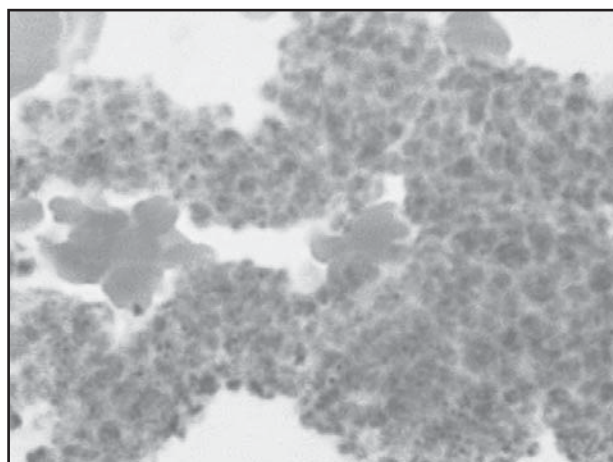


Figura 3 – Grumo de plaquetas em amostra de sangue colhida em EDTA

güíneo, feito com a amostra obtida em EDTA, e foram vistos grandes grumos de plaquetas na porção final da cauda do filme.

## Agradecimentos

Agradecemos à farmacêutica-bioquímica Simone Martins Gonçalves, do Laboratório do Hospital Madre Teresa/Belo Horizonte-MG, o fornecimento dos filmes sanguíneos.

## Referências

1. AHN, H. L. et al. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia confirmed by supplementation of kanamycin: a case report. *Korean J Intern Med*, v. 17, n. 1, p. 65-8, 2002.
2. BERKMAN, N. et al. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a clinical study of 18 patients and a review of the literature. *Am J Hematol*, v. 36, p. 195-201, 1991.
3. BRAESTER, A. Pseudothrombocytopenia as a pitfall in the treatment of essential thrombocythemia. *Eur J Haematol*, v. 70, p. 251-2, 2003.
4. CASONATO, A. et al. EDTA-dependent thrombocytopenia caused by antibodies against the cytoadhesive receptor of platelet GpIIb/IIIa. *J Clin Pathol*, v. 47, p. 625-30, 1994.
5. CHRISTOPOULOS, C.; MATTOCK, C. Platelet satellitism and alpha granule protein. *J Clin Pathol*, v. 44, n. 9, p. 788-9, 1991.
6. COHEN, A. M. et al. The incidence of pseudothrombocytopenia in automatic blood analyzers. *Haematologia*, v. 30, n. 2, p. 117-21, 2000.
7. FIORIN, F. et al. IgG platelet antibodies in EDTA-dependent thrombocytopenia bind to platelet membrane glycoprotein IIb. *Am J Clin Pathol*, v. 110, p. 178-80, 1998.
8. HANDIN, R. I.; LUX, S. E.; STOSSEL, T. P. *Blood: principles, practice of hematology*. Philadelphia: J. B. Lippincott, 1995.
9. HSIEH, A. T.; CHAO, T. Y.; CHEN, Y. C. Pseudothrombocytopenia associated with infectious mononucleosis. *Arch Pathol Lab Med*, v. 127, p. e17-e18, 2003.
10. LAZO-LANGNER, A. et al. Platelet satellitism, spurious neutropenia and cutaneous vasculitis: casual or causal association? *Am J Hematol*, v. 70, n. 3, p. 246-9, 2002.
11. LOTSPEICH-STEININGER, C. A.; STIENE-MARTIN, E. A.; KOEPKE, J. A. *Clinical hematology*. Philadelphia: J. B. Lippincott, 1992.
12. PAYNE, B.; PIERRE, R. Pseudothrombocytopenia: a laboratory artifact with potentially serious consequences. *Mayo Clin Proc*, v. 59: 123-5, 1984.
13. PEGELS, J. G. et al. Pseudothrombocytopenia: an immunologic study on platelet antibodies dependent on ethylene diamine tetra-acetate. *Am Soc Hemat*, v. 59, p. 157-61, 1982.
14. RODAK, B. F. *Hematology: clinical principles and applications*. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2002.
15. SCHREZENMEIER, H. et al. Anticoagulant-induced pseudothrombopenia and pseudoleukocytosis. *Thromb Haemost*, v. 73, p. 506-13, 1995.
16. SHAHAB, N.; EVANS, M. L. Platelet satellitism. *New Engl J Med*, v. 339, n. 2, p. 131-2, 1998.
17. SILVESTRI, F. et al. Incidence and diagnosis of pseudothrombocytopenia in a consecutive outpatient population referred for isolated thrombocytopenia. *Vox Sang*, v. 68, p. 35-9, 1995.
18. VAN DER MEER, W. et al. Pseudothrombocytopenia: a report of a new method to count platelets in a patient with EDTA and temperature independent antibodies of the IgM type. *Eur J Haematol*, v. 69, p. 243-7, 2002.
19. VAN VLIET, H. H.; KAPPERS-KLUNNE, M. C.; ABELS, J. Pseudothrombocytopenia: a cold auto-antibody against platelet glycoprotein GP IIb. *Br J Haematol*, v. 62, n. 3, p. 501-11, 1986.
20. WOOL, R. L.; COLEMAN, T. A.; HAMILL, R. L. ABCIXIMAB-associated pseudothrombocytopenia. *Am J Med*, v. 113, n. 1, p. 697-8, 2002.
21. YONEYAMA, A.; NAKAHARA, K. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia-differentiation true thrombocytopenia. *Nippon Rinsho*, v. 61, n. 4, p. 469-574, 2003.

### Endereço para correspondência

Luci Maria Sant'Ana Dusse  
 Av. Antônio Carlos 6.627 – sala 104 – bloco 3  
 Campus UFMG  
 CEP 31270-901 – Belo Horizonte-MG  
 Tel./fax: (31) 3499-6985  
 e-mail: lucim@farmacia.ufmg.br