

## Caso Clínico

# Pseudotrombocitopenia dependiente de EDTA

J.G. SANTOS GARCÍA\*, C. VALBUENA CRESPO\*\*, A. BLANCO QUIRÓS\*\*, M.J. GALLEGU FUENTES\*,  
P. BAHÍLLO CURIESES\*

\*Departamento de Pediatría. Hospital Universitario de Valladolid. \*\*Oncohematología Pediátrica. Departamento de Pediatría. Hospital Universitario de Valladolid.

### RESUMEN

**Introducción.** La pseudotrombocitopenia dependiente del ácido etilendiamino tetraacético (EDTA) es el hallazgo de un recuento bajo de plaquetas en muestras anticoaguladas con EDTA y procesadas en autoanalizadores, por la formación de agregados plaquetarios *in vitro*. Poco frecuente en población pediátrica. Es importante su identificación ya que carece de significación patológica y se evitarán procedimientos diagnósticos y terapéuticos innecesarios.

**Caso clínico.** Niña de 13 años remitida a nuestro Hospital por trombocitopenia sin clínica hemorrágica. Recuento inicial de plaquetas  $77 \times 10^9/L$ . En la extensión de sangre periférica se hallaron gran cantidad de agregados plaquetarios. El recuento de plaquetas en sangre citratada fue normal confirmándose el diagnóstico de pseudotrombocitopenia dependiente de EDTA.

**Discusión.** La pseudotrombocitopenia dependiente de EDTA se produce por la formación de agregados plaquetarios en presencia de anticuerpos IgG, IgM e IgA, que actúan sobre el antígeno de superficie plaquetar GpIIb/IIIa tras sufrir este un cambio en su conformación en presencia de EDTA, quedando expuesto un "neoantígeno".

**Palabras clave:** Agregados plaquetarios; EDTA; Pseudotrombocitopenia.

### ABSTRACT

**Introduction.** EDTA-dependent pseudothrombocytopenia is the find of a low platelet count in blood samples anticoagulated with ethylendiaminetetraacetic-acid (EDTA) and analyses in automated cell counters due to the *in vitro* formation of platelet clumps. This phenomenon is uncommon among the paediatric population. It's important to identify because it has no clinical relevance and can prevent unnecessary diagnostic and therapeutic procedures.

**Patient and methods.** A 13-year-old girl was brought into our Hospital for the study of thrombocytopenia without clinical signs of haemorrhage. The initial platelet count was  $77 \times 10^9/L$ . The blood smears examination showed numerous platelet clumps. The platelet count in blood anticoagulated with citrate was normal, that confirm the diagnostic of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia.

**Discussion.** EDTA-dependent pseudothrombocytopenia is caused by the formation of platelet clumps caused by IgG, IgM or IgA antibodies against the cytoadhesive receptor of platelet GpIIb/IIIa after the change in its conformational structure in presence of EDTA, that lead to the exposure of a "neoantigen".

**Key words:** EDTA; Platelet clumps; Pseudothrombocytopenia.

Correspondencia: Juan Gonzalo Santos Garcia. Departamento de Pediatría. Hospital Universitario de Valladolid. Avda Ramón y Cajal, 3. 47005 Valladolid. E-mail: jgonzalosantos@terra.es

Recibido: Septiembre 2002. Aceptado: Septiembre 2002

## INTRODUCCIÓN

La trombocitopenia puede ser un diagnóstico de sospecha en pacientes con signos y/o síntomas de hemorragia o ser un hallazgo casual. Si no se encuentra clínica hemorrágica ni alteraciones en la hemostasia primaria, se debe confirmar el recuento anómalo. Las causas de falsa trombocitopenia, trombocitopenia espúrea o pseudotrombocitopenia pueden ser la formación de agregados plaquetarios en el tubo de extracción o la aglutinación *in vitro* por anticuerpos dependientes de anticoagulantes (el más frecuente el EDTA o ácido etilendiamino tetraacético)<sup>(1-5)</sup>.

El diagnóstico de pseudotrombocitopenia se confirma con el estudio de una extensión de sangre periférica, donde se observarán los agregados plaquetarios, y con la normalización de las cifras de plaquetas cuando se analizan muestras tratadas con otros anticoagulantes, como citrato, heparina u oxalato<sup>(1-3,5,6)</sup>.

El diagnóstico correcto y precoz de esta entidad evitará la realización de otros procedimientos diagnósticos y el inicio de tratamientos potencialmente peligrosos para el paciente.

La incidencia en la literatura se sitúa entre el 0,09 y el 0,11% de la población general, y entre el 7 y el 17% de los casos de trombocitopenia estudiados<sup>(2-5)</sup>; de entre las causas de falsa trombocitopenia la más frecuente es la dependiente de EDTA<sup>(3)</sup>. Es muy poco frecuente en la población pediátrica<sup>(1)</sup>.

## CASO CLÍNICO

Niña de trece años enviada a la Consulta de Hematología de nuestro Hospital por su pediatra con el diagnóstico de trombocitopenia, con cifras de 34 y 67x10<sup>9</sup>/L plaquetas en dos determinaciones consecutivas, sin haber presentado en ningún momento clínica hemorrágica. No presentaba antecedentes familiares ni personales de interés.

En el análisis realizado al ingreso mediante autoanalyzer electrónico (ADVIA 120 Hematology System, Bayer) presenta un recuento de 77x10<sup>9</sup>/L plaquetas con normalidad en las series roja y blanca. Otras exploraciones complementarias realizadas, como bioquímica hemática, hemostasia y estudios inmunológicos fueron normales, con negatividad de serologías a virus habituales.

En la extensión de sangre periférica se observó normalidad en la morfología de las tres series hemáticas con abundantes agregados plaquetarios. En la determinación de anticuerpos antiplaquetarios se hallaron anticuerpos tipo IgG unidos a las plaquetas, no hallándose libres ni anticuerpos tipo IgM.

Ante la sospecha de una pseudotrombocitopenia ligada a EDTA se realizó nuevo recuento plaquetario de una muestra única en sangre anticoagulada con EDTA (108x10<sup>9</sup>/L plaquetas) y sangre citratada (187x10<sup>9</sup>/L), lo que permitió confirmar el diagnóstico.

## DISCUSIÓN

La pseudotrombocitopenia dependiente de EDTA fue descrita en 1969 por Gowland<sup>(7)</sup> como una falsa trombocitopenia en autoanalizadores, debida a la formación de agregados plaquetarios, siendo más frecuente en sangre anticoagulada con EDTA. Cuando se realiza el recuento en una extensión de sangre tras punción o en tubos que utilicen otros anticoagulantes el número de plaquetas es normal.

La fisiopatología del proceso no está del todo aclarada, pero se produciría por la presencia de anticuerpos antiplaquetarios de las clases IgG (los más frecuentes), IgM e IgA que reaccionarían contra antígenos de superficie plaquetarios y que actuarían fundamentalmente en presencia del anticoagulante EDTA<sup>(3,5,6,8)</sup>. La concentración de EDTA necesaria para producir esta pseudotrombocitopenia es muy inferior (0,3 mmol/L) a la que se precisa para anticoagular<sup>(8,9)</sup>.

El antígeno de superficie que parece estar en relación con este proceso es la glicoproteína IIb/IIIa (receptor plaquetar del fibrinógeno), dado que en pacientes afectos de tromboastenia de Glanzman (donde esta glicoproteína está ausente) no se producen los agregados cuando se añaden los anticuerpos responsables aislados en sueros de pacientes<sup>(2,4,8)</sup>. Parece ser que el fragmento sobre el que interactúan más directamente estos anticuerpos es el IIb<sup>(9)</sup>.

La reacción de agregación se produce más fácilmente por debajo de los 37°C, sobre todo entre los 4 y 20°C, y en algunos casos es posible disociar los complejos tras incubar la muestra a 37°C<sup>(3,5,8)</sup>. La agregación plaquetaria no ocurre inmediatamente tras la mezcla de la muestra de sangre con

el EDTA, ya que el número de plaquetas a tiempo cero tras la extracción es normal, con una mayor reducción en el recuento a mayor intervalo entre la extracción y el recuento, especialmente evidente por encima de los 60 minutos<sup>(3)</sup>.

La explicación a la formación de agregados sería el cambio en la estructura de la glicoproteína, con la expresión de nuevos antígenos de superficie sobre los que actuarían estos anticuerpos; y ese cambio en la conformación de la proteína es producido por el efecto quelante del calcio ejercido por el EDTA, dado que es necesario la presencia de calcio para mantener la estructura de la glicoproteína<sup>(2,4)</sup>.

Además de un descenso en las cifras de plaquetas en el autoanalizador se pueden presentar otras alteraciones de laboratorio, como son la pseudoleucocitosis y el fenómeno de "satelitismo"<sup>(4)</sup>. La pseudoleucocitosis es un falso incremento en el número de leucocitos en el recuento del autoanalizador al contar como leucocitos los agregados plaquetarios. Los "satelitismos" son la adherencia de plaquetas a la periferia de los neutrófilos que se observan en la extensión de sangre periférica.

Una aproximación novedosa a este tema es la realizada por Sakurai y cols. estudiando la respuesta de muestras de sangre de estos pacientes a la adición de diversos aminoglicósidos, obteniendo una ausencia de agregación estadísticamente significativa o la disociación de dichos agregados<sup>(7)</sup>.

Aunque se ha planteado su asociación a diversas enfermedades, la mayor frecuencia en el sexo femenino, su asociación con diversos fármacos<sup>(6)</sup>, estos datos no se han podido confirmar<sup>(5,7,10)</sup>.

No suelen presentar ningún tipo de clínica, y no se han descrito alteraciones en la función de las plaquetas<sup>(8)</sup>. Es muy importante sospechar este proceso para evitar realizar procedimientos diagnósticos y terapéuticos innecesarios.

El diagnóstico definitivo se hace realizando una extensión de sangre periférica en aquellos pacientes con recuento bajo de plaquetas, y una vez demostrada la formación de

agregados, realizando los siguientes controles analíticos en sangre tratada con otros anticoagulantes, como por ejemplo el citrato.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Schultz Bearsdsley D, Nathan DG. Platelet abnormalities in infancy and childhood. En: Nathan DG, Orkin SH, Eds. Nathan and Oski's Hematology of infancy and childhood. 5ª ed. Saunders Company; 1998. p. 1585-1630.
2. Fuster Soler JL, Bermúdez Cortés M, Gutiérrez Macías A, Ibáñez García JM y Martínez López JL. Seudotrombocitopenia dependiente de EDTA. *Acta Pediatr Esp* 2002; **60**: 275-277.
3. Silvestre F, Virgolini L, Savignano C, Zaja F, Velisig M, Baccarani M. Incidence and diagnosis of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia in a consecutive outpatient population referred for isolated thrombocytopenia. *Vox Sang* 1995; **68**: 35-39.
4. Savage RA. Pseudoleukocytosis due to EDTA-induced platelet clumping. *Am J Clin Pathol* 1984; **81**: 317-322.
5. Bizarro N. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a clinical and epidemiological study of 112 cases, with 10 years follow up. *Am J Haematol* 1991; **50**: 103-109.
6. Berkman N, Michaeli Y, Or R, Eldor A. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a clinical study of 18 patients and a review of the literature. *Am J Haematol* 1991; **36**: 195-201.
7. Sakurai S, Shiojima I, Tanigawa T, Nakahara K. Aminoglycosides prevent and dissociate the aggregation of platelets in patients with EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. *Br J Haematol* 1997; **99**: 817-823.
8. Casonato A, Bertomoro A, Pontara E, Dannhauser D, Lazzaro AR, Girolami A. EDTA dependent pseudothrombocytopenia caused by antibodies against the cytoadhesive receptor of platelet gp IIb/IIIa. *J Clin Pathol* 1994; **47**: 625-630.
9. Fiorin F, Steffan A, Pradella P, Bizarro N, Potenza R, De Angelis V. IgG platelet antibodies in EDTA- dependent pseudothrombocytopenia bind to platelet membrane glycoprotein IIb. *Am J Clin Pathol* 1998; **110**: 178-183.
10. Christopoulos CG, Machin SJ. A new type of pseudothrombocytopenia EDTA-mediated agglutination of platelets bearing Fab fragments of a chimaeric antibody. *Br J Haematol* 1994; **87**: 650-652.