

Caso clínico

Pseudotrombocitopenia por EDTA en paciente con polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica

(Pseudothrombocytopenia induced by EDTA and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy)

Edgar Carvajal-Vega¹, Juan I. Padilla-Cuadra^{1,3}, Jorge López-Villegas², María del Milagro Mata-Sánchez²

Resumen

El ácido dietilenediaminotetraacético es un anticoagulante utilizado ampliamente en ciencias de la salud en el procesamiento de muestras médicas. Dado que en presencia de ciertas condiciones inmunitarias, este agente puede inducir un conteo plaquetario falsamente bajo (pseudotrombocitopenia), debe considerarse dentro del diagnóstico diferencial de trombocitopenia. Se presenta el caso en un paciente de 68 años en quien se reporta trombocitopenia severa, sin datos clínicos de sangrado, en el cual se logró demostrar posteriormente una pseudotrombocitopenia asociada a EDTA. La presencia de una falsa trombocitopenia se demostró mediante la aplicación de amikacina a la muestra sanguínea.

Descriptor: trombocitopenia, EDTA

Abstract

Ethylendiaminetetraacetic acid is an anticoagulant widely used in health sciences in the processing of medical samples. Given that, in the presence of certain immune conditions, this agent can induce a false low platelet count (pseudothrombocytopenia), it must be considered as part of the differential diagnosis for thrombocytopenia. The case presented is about a 68 year old patient with severe thrombocytopenia with no clinical evidence of bleeding, which was later demonstrated as pseudothrombocytopenia induced by EDTA. The presence of a false thrombocytopenia was demonstrated adding amikacin to the blood sample.

Afiliación de los autores: ¹Unidad de Neurocríticos, ²Laboratorio especializado de Hematología Hospital "Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia. CCSS, ³Universidad de Iberoamérica UNIBE.

✉ jipadillacuadra@gmail.com

ISSN 0001-6012/2016/58/2/84-87
Acta Médica Costarricense, © 2016
Colegio de Médicos y Cirujanos
de Costa Rica

Keywords: Thrombocytopenia, EDTA.

Abreviaturas: ácido dietilenediaminotetraacético, EDTA, pseudotrombocitopenia inducida por EDTA, PT-EDTA

Fecha recibido: 4 de enero 2016

Fecha aprobado: 18 de febrero 2016

La trombocitopenia es un hallazgo común en el paciente críticamente enfermo. Esto obliga a la realización de estudios de laboratorio para esclarecer su causa. Debe agregarse que la presencia de un conteo plaquetario bajo implica un manejo más complejo del paciente, en principio por el riesgo aumentado de sangrado. Además de las causas reales de trombocitopenia, existen condiciones o artefactos de laboratorio que pueden causar conteos plaquetarios falsamente bajos e inducir a estudios innecesarios. Uno de estos causantes de pseudotrombocitopenia es el anticoagulante ácido dietilenediaminotetraacético (EDTA) utilizado para el manejo de las muestras sanguíneas.

La pseudotrombocitopenia dependiente de ácido dietilenediaminotetraacético (PT-EDTA) es un fenómeno reconocido, que ocurre con cierta frecuencia y debe diferenciarse de trombocitopenia real, para evitar estudios adicionales o incluso someter al paciente a transfusiones plaquetarias innecesarias. Se reporta caso de esta entidad en un paciente que ingresa a la Unidad de Cuidado Neurocrítico, con el diagnóstico de polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica para terapia de aféresis.

Caso clínico

Paciente de 68 años, con el antecedente personal patológico de enfermedad crónica desmielinizante inflamatoria de reciente diagnóstico, quien debutó aproximadamente hace cuatro semanas con debilidad ascendente y trastornos sensitivos. Fue tratado en esa ocasión con gammaglobulina intravenosa y recuperó su capacidad funcional. Reingresa por exacerbación de cuadro, probablemente desencadenada por diarrea aguda.

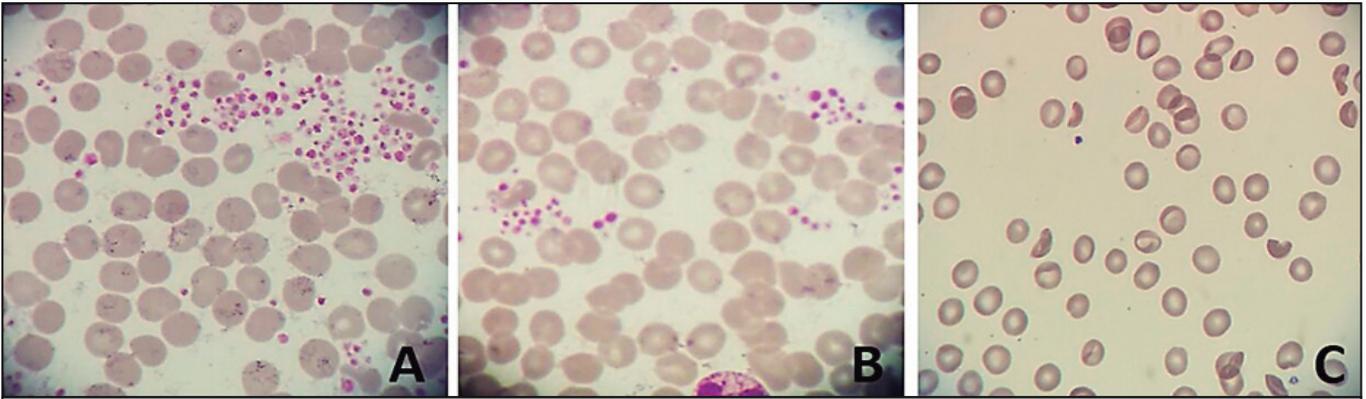


Figura 1. Frotis sanguíneo de muestra con EDTA, citrato y amikacina. Nótese la presencia de grupos plaquetarios en la muestra con EDTA (A), los cuales se reducen en la muestra anticoagulada con citrato (B) y desaparecen en la muestra con amikacina (C).

Al ingreso a Unidad de Neurocríticos se encuentra hemodinámicamente estable, con capacidad vital en 50 cc/kg de peso, y muestra dificultad. Además, asocia disminución de la sensibilidad distal y fuerza en extremidades, con incapacidad para vencer la gravedad y movimientos de desplazamiento horizontal conservados. Desde su ingreso se reporta trombocitopénico con conteo en plaquetario de 56000 / mm³, y una leyenda en el hemograma que describe “plaquetas en grumos”. En el segundo día de ingreso se intentó canalizar vía central yugular interna, y se realizó canalización errónea de carótida derecha, llamando la atención que a pesar de que se documentaban 5000 plaquetas en el hemograma general, no desarrolló hematoma expansivo o hemorragia asociada al procedimiento. Se logra colocar vía central yugular interna izquierda, con catéter para aféresis. Por lo anterior, se sospecha pseudotrombocitopenia y se decide probar con otros anticoagulantes y amikacina en la muestra, la cual ha demostrado revertir la pseudotrombocitopenia inducida por anticoagulante. Se realiza determinación plaquetaria con tubo de EDTA, citrato y amikacina. Se nota marcada agregación de plaquetas en la muestra con EDTA y la dispersión de las plaquetas aumenta al cambiar a citrato, desapareciendo los grumos con el uso del aminoglucósido (Figura 1). Con la misma muestra se logra evidenciar variaciones al frotis y en el conteo plaquetario (de 11000 /mm³ con EDTA a 91000 / mm³ con amikacina) (Figura 2).

Se inicia terapia de plasmaféresis con albúmina. El paciente desarrolla una infección pulmonar nosocomial, con insuficiencia respiratoria aguda, que requirió intubación y manejo con vasopresores a altas dosis. Evoluciona hacia *shock* séptico refractario y finalmente fallece.

Discusión

El caso presentado ilustra como la incongruencia entre hallazgos clínicos y de laboratorio (ausencia de sangrado a pesar de punción arterial en presencia de una supuesta trombocitopenia), hace sospechar un artefacto de laboratorio inducido por el anticoagulante en la muestra. La PT-EDTA fue descrita inicialmente en 1969 por Gowland.¹ En 1970, Watkins y Shulman describen un factor aglutinante en presencia de este anticoagulante a bajas temperaturas.² El uso generalizado de este anticoagulante para manejo de las muestras obedece que tiene la ventaja de que no distorsiona la morfología de las células.³ El fenómeno de pseudotrombocitopenia inducido por esta sustancia es un artefacto que resulta de la presencia de anticuerpos aglutinantes de plaquetas.⁴ La producción de grumos de plaquetas causa que los sistemas automáticos de conteo celular brinden un nivel falsamente bajo de plaquetas.

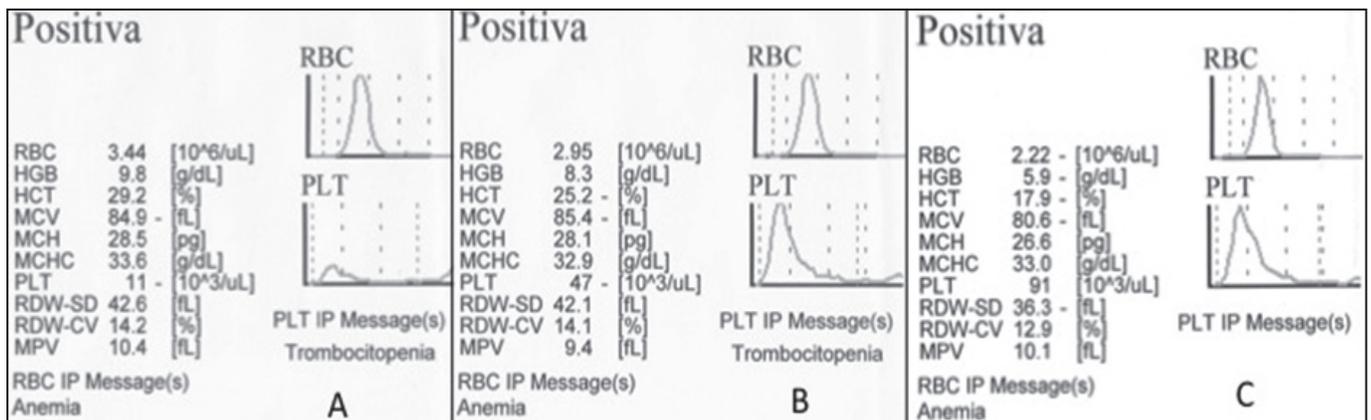


Figura 2. Histogramas de sangre periférica. Nótese los cambios en el conteo de plaquetas con cada anticoagulante y agregando el aminoglucósido: EDTA (A), citrato (B) y amikacina (C).

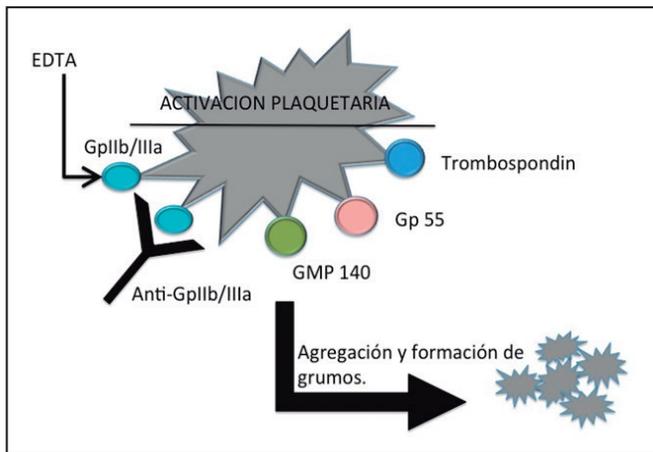


Figura 3. Patogénesis de la trombocitopenia inducida por EDTA. Se nota la interacción del anticuerpo con el heterodímero y la expresión de las proteínas GMP 140, Gp55 y trombospondina, con la subsecuente agregación y formación de grumos. Adaptado de Lippi *et al.*¹⁸

Además, estos grumos son malinterpretados por el aparato como “linfocitos”. Aunque se describe sobre todo en relación con EDTA, puede ocurrir también en sangre con heparina o citrato.⁵

Su prevalencia estimada es del 0,1 al 2% en pacientes hospitalizados y del 15-17% en pacientes externos.⁶⁻⁸ Los anticuerpos descritos son principalmente tipo Ig G, aunque puede haber mezclas de Ig-IgA, IgM, e incluso IgA que precipita a bajas temperaturas.⁹⁻¹³

Aunque se considera un fenómeno *in vitro* sin relevancia clínica,⁵ Ohashi-Fukuda *et al.*, reportan que la presencia del fenómeno podría asociarse a mayor mortalidad y a malignidad.¹⁴

Se presume que la glicoproteína de membrana IIB es el sitio de acople proteico para el anticuerpo dependiente de EDTA en la membrana de plaqueta. La glicoproteína IIB existe junto a la glicoproteína IIIA, como un heterodímero dependiente de calcio. Se teoriza que el dímero se disocia cuando la concentración de calcio, desciende y se reasocia cuando la disponibilidad del ion aumenta (Figura 3). El epitópo del anticuerpo antiplaqueta causante de la pseudotrombocitopenia por EDTA, es un criptoantígeno que solo se revela cuando se disocia la glicoproteína IIB.¹⁷

Es por este mecanismo que se supone que el EDTA, al bajar la concentración de calcio, permite la exposición del sitio de unión del anticuerpo y la consecuente formación de grumos de las plaquetas. De hecho, Hyojin *et al.*, lograron disociar las plaquetas tras la introducción de cloruro de calcio en las muestras *in vitro*.¹⁷

Investigaciones recientes han esclarecido aún más el tipo de reacción. Lippi *et al.* describen que los autoanticuerpos reaccionan óptimamente entre los 0 y 4 grados centígrados, y posterior a la unión con la glicoproteína, se estimula la expresión o activación de antígenos como: CD62P, conocido como la proteína de granulación de membrana 140 o GMP140, CD63 conocida como glicoproteína lisosomal tipo III o Gp55,

Cuadro 1. Criterios mayores para el establecimiento de diagnóstico de pseudotrombocitopenia inducida por EDTA

1. Conteo plaquetario típicamente menor a 100 000
2. Solo utilización de tubos de EDTA a temperatura ambiente
3. Tiempo de llegada de los especímenes a laboratorios
4. Presencia de grumos y agregados plaquetarios en tubos con muestras de EDTA
5. No correspondencia de signos y síntomas relacionados con el conteo de plaquetas bajas
Tomado de referencia ¹⁸

y trombospondina. Al final, esto dispara la tirosin-kinasa, que aglutina y agrupa las plaquetas, disminuyendo su conteo.¹⁸

Aunque la presencia de una enfermedad autoinmunitaria en el paciente podría relacionarse con anticuerpos involucrados en este fenómeno de aglutinación plaquetaria, no fue posible su demostración específica.

En cuanto a cómo realizar el diagnóstico de esta condición, la sospecha clínica debe ser la primera pista en aquellas condiciones donde el conteo plaquetario y la clínica no corresponden. Aumenta la sospecha si el reporte incluye grumos de plaquetas, tal como ocurrió en el presente caso. También se deben tener en cuenta las condiciones que rodean la toma de muestra, lo cual se incluye en los criterios mayores, para su diagnóstico¹⁸ (Cuadro 1).

Se han reconocido varias acciones para evitar este artefacto, incluyendo calentar la muestra a 37 C°, neutralizar con citrato de sodio, uso de heparina o litio, oxalato de amonio, teofilina, citrato trisódico y agregar aminoglucósidos.¹⁸ Como se demostró en este caso, se logró desagregar los grumos de plaquetas mediante la adición de amikacina. El mecanismo involucrado en este efecto es desconocido.¹⁹

El diagnóstico diferencial de la pseudotrombocitopenia incluye causas como defectos en el proceso de recolección, exposición a drogas (valproato, olanzapina, abciximab) y el síndrome de la plaqueta gigante. La principal recomendación para evitar este fenómeno es analizar la muestra de manera casi inmediata, o utilizar otros anticoagulantes. Se ha intentado también revertirlo mediante el uso de sustancias como teofilina.¹⁵ Dado que los aminoglucósidos revierten esta aglutinación plaquetaria, deben considerarse una herramienta para distinguir una trombocitopenia real de una pseudotrombocitopenia por este mecanismo.¹⁶

En conclusión, la PT-EDTA debe reconocerse como un artefacto y no requiere otros estudios diagnósticos ni transfusiones innecesarias. Su reconocimiento puede asistirse mediante un método simple, como la agregación de amikacina a la muestra, para revertir la aglutinación plaquetaria. El presente caso muestra la importancia de sospechar clínicamente la presencia de este artefacto y descartar una trombocitopenia real.

Referencias

1. Gowland E, Kay HE, Spillman JC, Williamson JR. Agglutination of platelet by a serum factor in the presence of EDTA. *J Clin Pathol* 1969; 22: 460-64.
2. Watkins SP, Shulman NR. Platelet cold agglutinins. *Blood* 1970; 36: 153-58.
3. Gordan HG, Larson NL. Use of sequestrene as an anticoagulant. *Am J Clin Pathol*. 1955; 23: 613-18.
4. 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 Hematol* 1991; 36:195.
5. Bizarro N. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a clinical and epidemiological study of 112 cases, with 10-year follow-up. *Am J Hematol* 1995; 50: 103-109.
6. Bartels PC, Schoorl M, Lombarts AJ. Screening for EDTA-dependent deviations in platelet counts and abnormalities in platelet distribution histograms in pseudothrombocytopenia. *Scand J Clin Lab Invest* 1997; 57: 629-636.
7. Vicari A, Banfi G, Bonini PA: EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a 12-month epidemiological study. *Scand J Clin Lab Invest* 1988; 48: 537-542.
8. Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, Godon A: Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part I: platelets. *Int J Lab Hematol* 2007; 29: 4-20.
9. Onder O, Weinstein A, Hoyer LW. Pseudothrombocytopenia caused by platelet agglutinins that are reactive in blood anticoagulated with chelating agents. *Blood* 1980; 56: 177-182.
10. Pegels JG, Bruynes ECE, Engelfriet CP, von dem Borne AEG. Pseudothrombocytopenia: An immunologic study on platelet antibodies dependent on ethylene diamine tetraacetate. *Blood* 1982; 59: 157-161.
11. Hoyt RH, Durie BGM. Pseudothrombocytopenia induced by a monoclonal IgM kappa platelet agglutinin. *Am J Hematol* 1989; 31: 50-52.
12. Ryo R, Sugano W, Goto M, *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. *Thromb Res* 1994; 74: 265-272
13. Imai H, Nakamoto Y, Miki K, Miyakuni T, Miura AB. Pseudothrombocytopenia and IgA-related platelet agglutinin in a patient with IgA nephritis. *Nephron* 1983; 34: 154-158.
14. Ohashi-Fukuda N, Inokuchi R, Sato H, Nakamura K, Iwagami M, Wada T, *et al.* Poorer prognosis with ethylenediaminetetraacetic acid-dependent pseudothrombocytopenia: a single-center case-control study. *Medicine (Baltimore)*. 2015; 94:e674.
15. Ohnuma O, Shirata Y, Miyazawa K. Use of theophylline in the investigation of Pseudo-Thrombocytopenia induced by EDTA. *J Clin Pathol*. 1988;41:915-17.
16. 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.
17. Hyojin Chae, Myungshin Kim, Jihyang Lim, Eun-Jee Oh, Yonggoo Kim and Kyungja Han. Novel method to dissociate platelet clumps in EDTA-dependent pseudothrombocytopenia based on the pathophysiological mechanism. *Clin Chem Lab Med* 2012;50: 1387-1391.
18. Lippi G, Plebani M. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: further insights and recommendations for prevention of a clinically threatening artifact. *Clin Chem Lab Med* 2012; 50:1281-1285.
19. Zhou X, Wu X, Deng W, Li J, Luo W. Amikacin Can Be Added to Blood to Reduce the Fall in Platelet Count. *Am J Clin Pathol* 2011; 136: 646-652.