

ACADEMIA DE CIENCIA E TECNOLOGIA - AC&T

**PSEUDOTROMBOCITOPENIA INDUZIDA POR EDTA E A
INFLUÊNCIA DOS ANALISADORES AUTOMATIZADOS**

Filipe Gadelha Navarro Vieira

São José do Rio Preto – SP
2022

RESUMO

A pseudotrombocitopenia induzida pela presença do ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) é um fenômeno raro, mas que acontece com certa frequência na rotina de um laboratório clínico e, se não forem detectadas, podem trazer consequências graves ao paciente. Com a incorporação dos analisadores automatizados, a rotina e a não confecção de esfregaços sanguíneos de todas as amostras analisadas, torna-se de extrema importância para o analista laboratorial, conhecer as alterações no resultado que podem indicar agregação plaquetária e como caracterizá-la de forma contundente, assim como, ter o domínio das técnicas para diminuir os erros causado por esse artefato.

Palavras Chave: Pseudotrombocitopenia, plaquetopenia, hematology analysers,

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Aglomerado de plaquetas em filme sanguíneo observado em aumento de 400X - Foto de Arquivo Pessoal.....8
- Figura 2** - M. ZANDECKI ET AL. ABNORMAL PLATELET COUNTS ON HAEMATOLOGY ANALYSERS – Scatergrama de um Bayer Advia 120 demonstrando os agregados de plaquetas.....9
- Figura 3** – Gráficos de plaquetas e leucócitos demonstrando as alterações provocadas pelos agregados de plaquetas.....10

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

EDTA – Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético;

FLAG – “Bandeira”: Sinaliza Alerta;

SP – São Paulo;

% - Porcentagem;

μL – Microlitros;

PLT – Plaquetas;

SUMÁRIO

1. OBJETIVO.....	6
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	7
3. CONCLUSÃO.....	11
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	12

1. OBJETIVO

Este trabalho tem por objetivo principal demonstrar como identificar as alterações presentes nos resultados liberados por aparelhos automatizados que indicam a presença de agregados de plaquetas nas amostras analisadas, além de indicar maneiras de se caracterizar a pseudotrombocitopenia ou pseudoplaquetopenia induzida pelo anticoagulante EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) e as formas de lidar com este artefato.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Plaquetas são células anucleadas provenientes de fragmentos do citoplasma dos megacariócitos. São produzidas na medula óssea e 80% destas células são liberadas para a corrente sanguínea e os outros 20% das plaquetas se estabelecem no baço. As plaquetas desempenham importante função na homeostase tendo com principal propriedade o estabelecimento de um "tampão" que oclui as lesões nos vasos impedindo o sangramento (hemostasia primária) (FERREIRA, 2013).

Ainda para o autor, em pessoas saudáveis a contagem de plaquetas varia entre 150 a 400 mil/mm³. Quando a contagem se encontra abaixo de 150.000/mm³, institui-se a plaquetopenia e a principal consequência é a hemorragia. Há outras causas de plaquetopenia com destaque: destruição precoce, baixa produção, e artefatos que causam falsas trombocitopenias.

O fenômeno da pseudotrombocitopenia se dá pela ação de anticoagulantes como o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA). Apesar de não ser um evento comum sua percepção se tornou ainda mais difícil com o uso dos analisadores automatizados, onde muitas vezes não se realiza análise de esfregaços sanguíneos das amostras, dificultando a detecção e o reconhecimento deste fenômeno. Esta falha pode acarretar em tratamentos inadequados e ou desnecessários, além de diagnósticos errôneos. (GUERRA et.al, 2011)

É de fundamental importância que se descarte a presença deste fenômeno quando algum "flag" (sinal de anormalidades de contagens celulares) é apresentado pelo equipamento. Um exemplo importante é o de pacientes que apresentam contagens de plaquetas elevadas, por alguma patologia ou condição, mas por terem agregados de plaquetas na amostra podem apresentar contagens dentro dos valores de referência normais dificultando o diagnóstico. Em pacientes que já possuem plaquetopenia este fenômeno pode atrapalhar muito a monitorização e acompanhamento do tratamento (DUSSE, VIEIRA E CARVALHO, 2004).

Os autores ainda destacam que o fenômeno pode ser confirmado ao se realizar uma análise na amostra com o anticoagulante EDTA imediatamente

após a coleta e analisar a mesma amostra após uma ou quatro horas onde se pode notar a queda gradual da contagem das plaquetas. A análise do filme sanguíneo é fundamental para caracterizar a pseudotrombocitopenia onde é possível encontrar os aglomerados plaquetários (Figura 1).

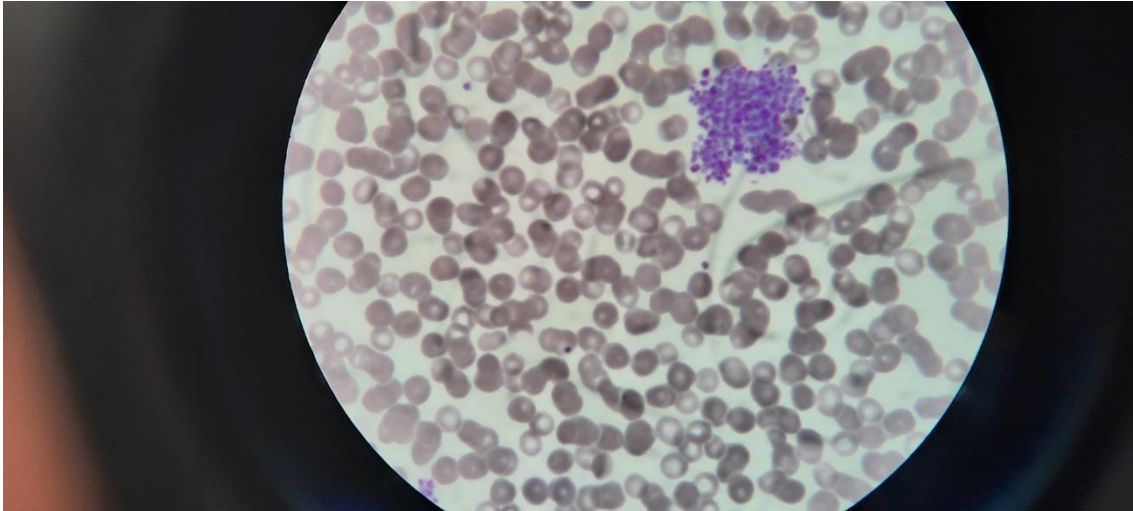


Figura 01 – Aglomerado de plaquetas em filme sanguíneo observado em aumento de 400X - Foto de Arquivo Pessoal.

Quando este fenômeno ocorre, o contador de células sinaliza com seu “Flag” e então se faz necessário avaliar o esfregaço sanguíneo do paciente. Os agregados de plaquetas variam em tamanho e quando chegam ao tamanho de leucócitos o aparelho não os inclui como leucócitos porém libera “flags” como “PLT Clumps”, “Giant PLT” ou algum relacionado (ZANDEKI et.al, 2007). O autor relata que os agregados de plaquetas são resistentes aos reagentes lisantes, e podem passar na abertura junto com os leucócitos; nestes casos os aparelhos que apresentam scattergrama, os agregados podem ser vistos como uma nuvem de células de tamanho pequeno a moderado como pode ser visto na figura 2 ao lado de linfócitos e abaixo de monócitos.

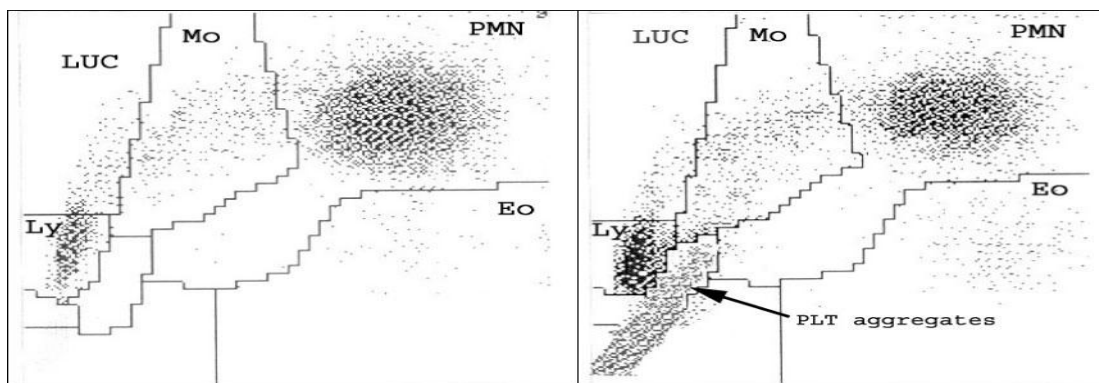


Figura 2 - M. ZANDECKI ET AL. ABNORMAL PLATELET COUNTS ON HAEMATOLOGY ANALYSERS – Scatergrama de um Bayer Advia 120 demonstrando os agregados de plaquetas.

Quando o tamanho desses aglomerados se assemelha ao tamanho de leucócitos é possível que ocorra aumento na contagem global de leucócitos, porém o equipamento não os considera em definitivo como tais. Estudos evidenciaram que a comparação de amostras com pseudoplaquetopenia e amostras do mesmo paciente sem a ocorrência deste fenômeno (por tratamento da amostra com aminoglicosídeos ou coletada em tubos sem anticoagulantes) não constataram aumento significativo de contagens globais de leucócitos (FERREIRA, 2013).

Outras alterações podem ser percebidas no resultado liberado pelo contador hematológico que indicam a presença de agregados de plaquetas, alterações estas muitas vezes desconhecidas ou negligenciadas. Quando se observa os gráficos de contagens de plaquetas e de leucócitos (Figura 3) podem-se notar duas alterações:

- 1) O gráfico que expõe o número de plaquetas pelo volume normalmente, se mostra em uma curva de aparência mais uniforme e lisa. No entanto, o gráfico de uma amostra contendo agregados de plaquetas se apresenta completamente serrilhado;
- 2) Em amostra contendo agregados de plaquetas estas se apresentam como um pico anormal do lado esquerdo da barra indicado pela seta na figura abaixo (NAGLER et.al, 2014).

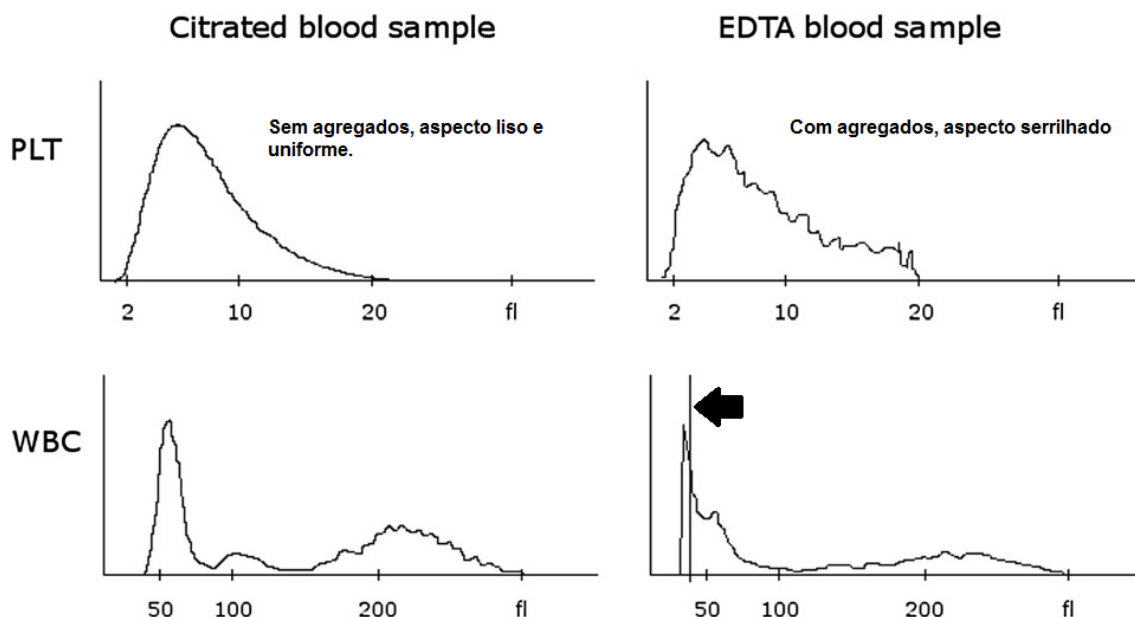


Figura 3 – Gráficos de plaquetas e leucócitos demonstrando as alterações provocadas pelos agregados de plaquetas (NAGLER et.al, 2014)

Essas alterações indicam a presença de agregados de plaquetas porém a confecção e análise minuciosa do esfregaço sanguíneo é imprescindível para caracterização da pseudotrombocitopenia a medida que se pode observar os agregados de plaquetas (DUSSE, VIEIRA E CARVALHO, 2004).

Este efeito pode ser evitado colhendo-se a amostra em tubos contendo outro anticoagulante como o citrato ou heparina, mas existem relatos que a agregação das plaquetas podem ocorrer da mesma maneira e causar a pseudotrombocitopenia. A adição de aminoglicosídeos à amostra se mostrou eficaz em dissociar o fenômeno e prevenir que aconteça (ZANDEKI et.al, 2007)

Ainda para os autores, amostras colhidas e mantidas à 37°C até a análise não desencadearam o fenômeno, porém se a agregação das plaquetas já tenha ocorrido, aquecer a amostras irá fazer com que os agregados aumentem de tamanho e número, deixando a técnica de aquecimento da amostra muitas vezes ineficaz para a resolução do problema.

Outra maneira também aceita é pedir uma nova amostra do paciente colhida sem nenhum anticoagulante com análise imediata onde se descarta a influência dos anticoagulantes presentes dos tubos (DUSSE, VIEIRA E CARVALHO, 2004).

3. CONCLUSÃO

1 – A pseudotrombocitopenia induzida pelo EDTA é um fenômeno importante que pode trazer várias consequências negativas ao paciente quando não é percebido pelo analisador

2 – Embora a inclusão dos analisadores automatizados na rotina do laboratório seja de suma importância é preciso que o analista laboratorial conheça as alterações que podem aparecer no resultado liberado pelo aparelho afim de que se detecte a pseudotrombocitopenia.

3 – Informações laboratoriais com erros técnicos podem ter consequências graves ao paciente.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DUSSE. Luci Maria Sant'ana; VIEIRA, Lauro Mello e CARVALHO, Maria das Graças – Pseudotrombocitopenias – 2004 – Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial; Volume 40 nº 5 p 321 – 4 - Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpm/a/8TDncSQfSd7R7dTJT5nwQpr/?lang=pt>;

FERREIRA, Patricia Alexandra da Silva – CONTAGEM AUTOMÁTICA DE PLAQUETAS: AÇÃO DE UM AMINOGLICOSÍDEO NA PSEUDOTROMBOCITOPENIA INDUZIDA PELO ÁCIDO ETILENODIAMINOTETRACÉTICO TRIPOTÁSSICO – 2013 – Instituto Politécnico de Coimbra. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpm/a/8TDncSQfSd7R7dTJT5nwQpr/?lang=pt>;

GUERRA, João Carlos de Campos, et.al – PLAQUETOPENIAS: DIAGNÓSTICO USANDO CITOMETRIA DE FLUXO E ANTICORPOS ANTIPLAQUETAS – 2011 – Hospital Israelita Albert Einstein nº 9 (2 pt 1): 130 – 4. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/eins/a/qfpRypyMSjTpGskkbXtVxvp/?format=pdf&lang=pt>;

M. ZANDECKI, F. GENEVIEVE, J. GERARD, A. GODON - Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part I: platelets – 2007 – Blackwell Publishing Ltd, International Journal of Laboratory Hematology nº 29, p 4–20. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2257.2006.00870.x>;

NAGLER, Michael; KELLER, Peter; SIEGRIST, Daniel and ALBERIO, Lorenzo - A case of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: simple recognition of an underdiagnosed and misleading phenomenon – 2014 - BMC Clinical Pathology nº14:19. Disponível em: <https://bmcclinpathol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1472-6890-14-19> ;