

ADIÇÃO DE SULFATO DE KANAMICINA EM AMOSTRAS DE PACIENTES COM PSEUDOTROMBOCITOPENIA INDUZIDA PELO ÁCIDO ETILENO DIAMINO TETRA ACÉTICO (EDTA)

Autores: JCC Guerra, RJ Lazaro, MR Ioshida, MBA Figueiredo, FA Lopes, C Bonet, IY Takihi, NS Bacal

INTRODUÇÃO:

A pseudotrombocitopenia EDTA-dependente é um artefato laboratorial que apresenta uma falsa diminuição da contagem de plaquetas, abaixo dos valores de referência, em analisadores hematológicos automatizados e está associada ao anticoagulante EDTA presente nos tubos de coleta para o exame de hemograma, utilizado na rotina dos laboratórios de hematologia. Este evento foi relatado inicialmente em 1969-1970^(1,2), os autores descreveram a presença de um fator no soro que provocava a aglutinação, *in vitro*, em contato com EDTA e em temperatura inferior a 37°C.

Embora contagens imprecisas de plaquetas possam ocorrer em amostras com plaquetas gigantes^(3,4) ou na presença de satelismo plaquetário^(5,6), a causa mais comum da pseudotrombocitopenia é a aglutinação plaquetária. Esta alteração forma grumos de plaquetas (figura 1) de dimensões comparáveis a leucócitos o que impede sua quantificação por contadores automatizados de células e faz com que estes grumos possam ser contados como leucócitos⁽⁷⁾. Este fenômeno de aglutinação das plaquetas pode ocorrer na presença de qualquer anticoagulante (citrato de sódio, oxalato de cálcio e heparina), sendo mais freqüente com EDTA.

A análise correta dos histogramas da contagem diferencial de leucócitos automatizada (figura 2) e a realização de esfregaços sem a presença de anticoagulantes, são ferramentas que possibilitam a detecção de possíveis casos de pseudotrombocitopenia.

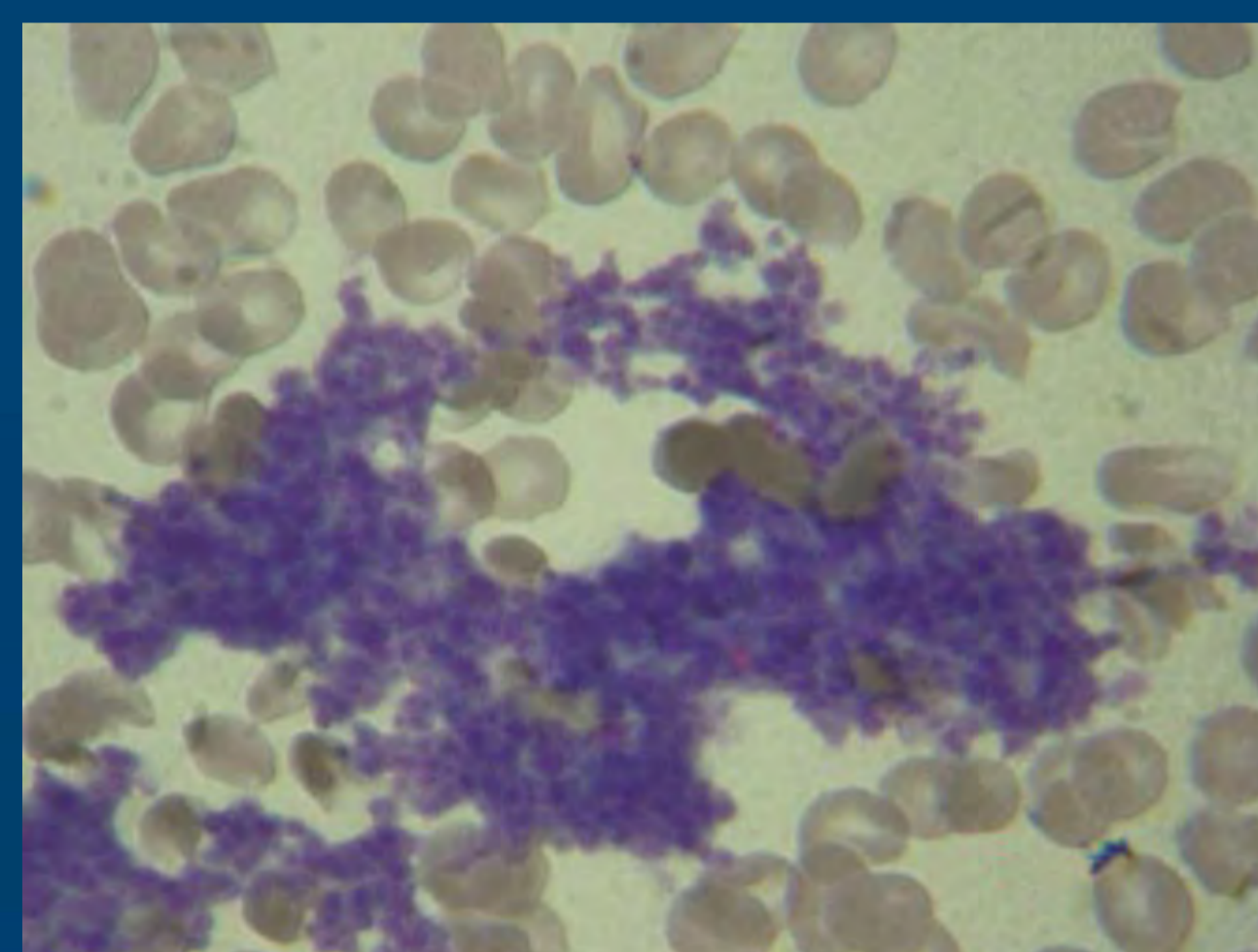


figura 1

A pseudotrombocitopenia EDTA dependente não possui sua fisiopatologia totalmente elucidada, porém autores propõem que auto-anticorpos presentes no plasma ligam-se, na presença do EDTA, a glicoproteína IIb do complexo IIb/IIIa na membrana da plaqueta^(8,9).

Em estudo realizado em 1997, foi proposta a hipótese de que a pseudotrombocitopenia EDTA dependente poderia estar relacionada a drogas utilizadas no tratamento

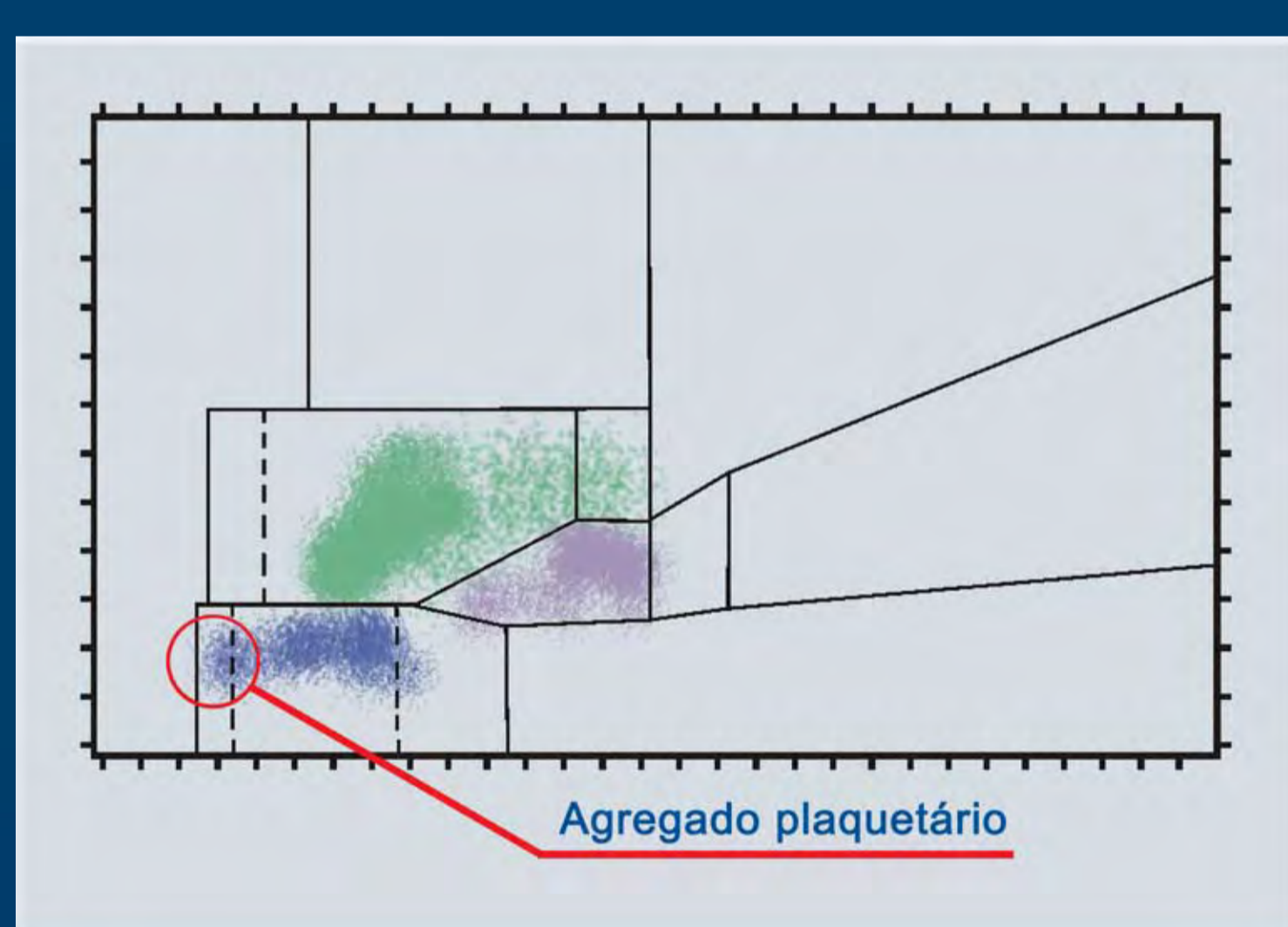


figura 2

de pacientes internados, Sakurai *et al.* observaram que alguns pacientes apresentavam, na admissão hospitalar, contagem de plaquetas normal e que após alguns dias de tratamento com antibióticos desenvolviam a pseudotrombocitopenia. A princípio acreditavam que os anticorpos antiplaquetários dos pacientes interagiam com os antibióticos administrados, mas concluíram que não havia relação entre estes antibióticos e aqueles que haviam demonstrado eficiência na prevenção de agregados plaquetários; portanto a hipótese era improvável. Contudo, dos antibióticos testados a kanamicina foi o único que além de impedir e desfazer agregados plaquetários como os outros não interferiu na morfologia celular⁽¹⁰⁾. A falha no reconhecimento deste artefato laboratorial pode levar a diagnósticos errôneos, realização de exames desnecessários e tratamentos inadequados⁽¹¹⁾.

OBJETIVOS:

- 1- Avaliar a eficácia do sulfato de kanamicina em impedir e / ou desfazer agregados plaquetários em amostras colhidas com EDTA k₃.
- 2- Avaliar a estabilidade da amostra em relação à contagem diferencial automatizada após a adição do sulfato de kanamicina.

CASUÍSTICA E MÉTODOS:

Foram selecionados seis pacientes com história prévia de pseudotrombocitopenia induzida por EDTA. As amostras foram processadas, nos tempos abaixo descritos, no anali-

sador eletrônico de células Horiba-ABX Pentra 120.

Foram colhidas de cada paciente cinco amostras de sangue, em EDTA k₃, adicionando-se sulfato de kanamicina na proporção de 20mg/mL de sangue, de acordo com o seguinte critério:

Tubo 1 (sem adição do sulfato de kanamicina a 25°C) processado no analisador eletrônico automatizado, imediatamente, 15, 30, 60, 120, 180 e 240 minutos após a coleta.

Tubo 2 (adição de sulfato de kanamicina 30 minutos após a coleta) processado no analisador eletrônico automatizado em 30, 60, 120, 180 e 240 minutos após a coleta.

Tubo 3 (adição de sulfato de kanamicina 60 minutos após a coleta) 60, 120, 180 e 240 minutos após a coleta.

Tubo 4 (adição do sulfato de kanamicina pré coleta) processado no analisador eletrônico automatizado imediatamente, 60, 120, 180 e 240 minutos após a coleta.

Tubo 5 (sem adição do sulfato de kanamicina a 37°C) 120, 180 e 240 minutos após a coleta.

O coeficiente de variação (CV) estabelecido, para o presente estudo, na contagem diferencial automatizada de leucócitos foi:

Neutrófilos CV = 3% \ Linfócitos CV = 3% \ Monócitos CV = 10% \ Eosinófilos CV = 10%

RESULTADOS:

Tubo 1- após 30 minutos houve queda $\geq 30\%$ na contagem de plaquetas em relação à contagem inicial nos seis pacientes.

Tubo 2 e 3 houve reversão dos agregados plaquetários em 5 pacientes.

Tubo 4 impediu a formação de agregados plaquetários em 5 pacientes.

A tabela 1 contém os resultados obtidos das contagens de plaquetas (valores expressos em mil/mm³)

	T0	15'	30'	60'	120'	180'	240'		T0	15'	30'	60'	120'	180'	240'	
Paciente 1	224	57	52	57	75	82	80	Paciente 2	234	99	68	68	68	44	33	
	-	-	226	232	225	222	223		-	-	-	218	212	216	218	226
	-	-	-	230	231	228	218		-	-	-	-	223	221	214	223
	235	-	-	225	220	225	235		-	236	-	-	228	225	223	211
-	-	-	-	53	53	52	-	-	-	-	-	-	87	87	87	
Paciente 3	359	189	89	23	13	6	17	Paciente 4	206	207	143	106	102	107	105	
	-	-	315	318	309	321	322		-	-	191	212	210	208	204	
	-	-	-	300	299	302	308		-	-	-	208	220	210	202	
	375	-	-	298	301	299	294		-	216	-	-	210	211	214	210
-	-	-	-	275	283	289	-	-	-	-	-	220	224	225		
Paciente 5	203	33	21	15	11	8	10	Paciente 6	210	174	115	97	65	68	70	
	-	-	58	57	52	51	44		-	-	211	205	208	204	204	
	-	-	-	49	49	42	42		-	-	-	198	191	198	191	
	208	-	-	96	69	61	54		-	208	-	-	196	197	186	192
-	-	-	-	105	89	104	-	-	-	-	-	191	186	187		

tabela 1

CONCLUSÃO:

A adição do sulfato de kanamicina em amostras de sangue de pacientes com suspeita de pseudotrombocitopenia induzida pelo EDTA mostrou-se eficiente em impedir a agregação e em desfazer agregados plaquetários em 83% dos casos estudados. A análise dos histogramas e os dados da contagem diferencial de leucócitos mostraram que a adição do sulfato de kanamicina não interferiu neste parâmetro laboratorial durante o período de 4 horas.

BIBLIOGRAFIA:

1. Gowland E, Kay HE, Spillman JC, Williamsom JR. Agglutination of platelets by a serum factor in the presence of EDTA. J Clin Pathol 1969;22:460-464.
2. Watkins SP Jr, Schulman, NR: Platelet cold agglutinins. Blood 1970;36:153-158.
3. Payne BA, Pierre RB: Pseudothrombocytopenia: a laboratory artifact with potentially serious consequences. Mayo Clin Proc. 1984;59:123-125.
4. Garcia SJ, Merno JL, Rodriguez M, Velasco A, Moreno MC: Pseudotrombocitopenia: incidência, causas y metodos de detección. Sangre.1991 jun;36 (3): 197-200.
5. Greipp PR, Gralnick MR: Platelets too leukocyte adherence phenomenon associated with thrombocytopenia. Blood. 1976;47:513-521.
6. Moraglio D, Banfi G, Arnelli A: Association of pseudothrombocytopenia and pseudoleukopenia: evidence for different pathogenic mechanisms. Scand J Clin Lab Invest. 1994;54:257-265.
7. Schrezenmeier H, Müller H, Günsilius E, et al. Anticoagulant-induced pseudothrombocytopenia and pseudoleukocytosis. Thromb Haemost 1995;73:506-513.
8. Florin, 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.
9. Pegels JG, Bruynes EC, Engelfriet CP, von dem Borne AE. Pseudothrombocytopenia: an immunologic study on platelet antibodies dependent on ethylene diamine tetra-acetate. Blood 1982;59:157-161.
10. Sakurai S, Shiojima I, Tanigawa T, Nakahara K. - Aminoglycosides prevent and dissociate the aggregation of platelets in patients with EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. British Journal of Haematology, 1997; 99: 817-823.
11. Berkman N, Michaeli Y, Or R, Eldor A: EDTA dependent pseudothrombocytopenia: a clinical study of 18 patients and review of the literature Am J Hema.1991;36:195-201.