

Les pièges de la numération automatisée des plaquettes

Difficulties of Automatic platelet count

Ghariani Ines¹, Brahem Néjia², Bakir Leila¹

1 : Service laboratoire de biologie clinique (unité d'hématologie), CHU Mongi Slim la Marsa

2 : Service d'hématologie, CHU Farhat Hached Sousse

Auteur correspondant:

Ines Ghariani

Service laboratoire de biologie clinique (unité d'hématologie), CHU Mongi Slim Sidi Daoued 2046

e-mail : gharianiines@gmail.com

Résumé

La numération plaquettaire constitue un examen capital dont les résultats influent sur les décisions d'ordre clinique ou thérapeutique. Les automates d'hématologie de dernière génération associent des techniques d'impédance et des méthodes optiques (diffraction laser et fluorescence) pour obtenir un résultat exact. Cependant, des erreurs de comptage par excès (pseudothrombocytose) ou par défaut (pseudothrombopénie) existent et ne doivent pas être méconnues. Les multiples causes responsables de ces erreurs sont répertoriées, mais la liste n'est pas exhaustive. Dans le cadre des fausses thrombopénies, l'agrégation plaquettaire in vitro en présence d'EDTA est la situation préanalytique la plus fréquente. A l'opposé, la difficulté à discriminer les plaquettes avec d'autres particules de taille, de densité ou de diffraction comparables, comme les hématies de taille réduite, les fragments cytoplasmiques de certains leucocytes, les cryoglobulines, les filaments de fibrine, les lipides ou les bactéries, peut aboutir à une fausse thrombocytose. Pour chacune de ces situations aboutissant à une erreur potentielle de la numération plaquettaire, il est primordial de connaître le mécanisme responsable de ces anomalies et la capacité de divers automates à gérer ces particularités en fonction de leur principe de mesure. Une conduite pratique est proposée le cas échéant pour obtenir un résultat exact.

Mots-clés : numération plaquettaire, pseudothrombocytose, pseudothrombopénie

Abstract

Platelet count constitutes a capital test of which results have an effect on the clinical or therapeutic decisions. The last generation of automated hematology analyzers associate impedance measure techniques and optical methods (laser diffraction and fluorescence) to obtain a figure nearest to reality. However, counting errors per excess (pseudothrombocytosis) or default (pseudothrombocytopenia) exist and do not have to be ignored. The multiple causes responsible for these errors are listed but the list is not exhaustive. Aggregation of platelets EDTA-dependent is the most common cause of pseudothrombocytopenia. However difficulties to discriminate platelets from other particles with similar size, density or diffraction as small erythrocytes, cytoplasmic fragments of some leukocytes, fibrin filaments, lipids or bacteria, may cause pseudothrombocytosis. A simple decisional diagram is proposed to solve the downward biases of the rate of the platelets or pseudothrombocytopenia. It can be useful in the daily management of the isolated and random thrombocytopenia cases.

Keywords: Platelet count, pseudothrombocytosis, pseudothrombocytopenia.

INTRODUCTION

Les plaquettes sont essentielles pour le maintien de l'intégrité vasculaire et l'arrêt de saignement lorsqu'il existe une brèche vasculaire. Elles sont au carrefour de l'hématologie et de l'hémostase. Les plaquettes sont issues par fragmentation cytoplasmique des mégacaryocytes de la moelle osseuse. Chacune en libère 1000 à 8000 environ. Les plaquettes circulantes sont des cellules de petite taille (volume moyen 8 à 9 μm^3), anucléées, incapables de synthèse protéique, dont la durée de vie est d'environ 10 jours et elles sont finalement éliminées par le système phagocytaire de la rate.

Le thrombocyte, même en tant que cellule sans noyau, possède toutes les structures fonctionnelles, les organelles plaquettaires, les enzymes et les glycoprotéines membranaires.

A l'état de base, le nombre normal des plaquettes est compris entre 150 et 400 G/L.

Il existe deux méthodes de numération plaquettaire :

*une méthode manuelle qui a recours au comptage en cellule calibrée après dilution sur prélèvement capillaire au doigt. Le coefficient de variation des résultats est important (10 à 30%) ;

*une méthode automatique qui utilise soit une technique de variation d'impédance, soit une technique optique. Certains systèmes sont hybrides afin d'augmenter la précision du comptage. Le coefficient de variation des résultats est faible (1 à 5%). Les automates d'hématologie fournissent des résultats précis et reproductibles, bien que des erreurs de comptage par excès (pseudothrombocytose) ou par défaut (pseudothrombopénie) existent et ne doivent pas être méconnues.

Il s'agit d'une mise au point des difficultés et pièges de la numération plaquettaire au sein des laboratoires de biologie.

1-Principes généraux de la numération automatisée des

plaquettes :

La technique de numération des plaquettes par impédance est basée sur le passage des cellules, d'un échantillon de sang total prélevé sur EDTA, dans un liquide conducteur à travers un orifice ce qui modifie la résistance électrique entre deux électrodes. Cette modification est enregistrée sous forme d'une impulsion [1]. En outre, la taille de cette impulsion est proportionnelle à la taille de la particule correspondante. Les impulsions sont enregistrées individuellement puis classées au sein d'un histogramme (figure 1A). Selon les automates, les seuils identifiant les particules comptées comme des plaquettes varient de 2 à 6 fentolitre (fL) pour le seuil inférieur (discrimination des plaquettes et du bruit de fond) et de 20 à 40 fL pour le seuil supérieur (discrimination avec les globules rouges) [2]. Afin d'améliorer la précision du décompte, de nombreuses améliorations ont été apportées à cette analyse : la production d'une courbe lissée puis extrapolée si la courbe de distribution obtenue est log-normale, et/ou la présence d'un seuil mobile pour distinguer les plaquettes et les globules rouges [3]. Des messages d'alerte apparaissent lorsque l'automate ne réussit pas à extrapoler une courbe lissée ou à séparer nettement les plaquettes des globules rouges. La technique de numération optique utilise la cytométrie de flux : les particules d'un échantillon de sang dilué sont aspirées et cheminent individuellement dans un capillaire. Chaque particule traverse un faisceau lumineux (ou laser) et va à la fois interrompre le faisceau et le diffracter. La quantité de lumière à 1, 2, 3 ou même 4 angles est proportionnelle au volume, mais renseigne aussi sur le contenu de la particule. Les plaquettes sont identifiées sur un histogramme biparamétrique plaquettaire (volume/indice de réfraction) (figure 1B).

Si dans la majorité des cas, la numération automatisée des plaquettes est précise et exacte, diverses situations peuvent conduire à des résultats erronés.

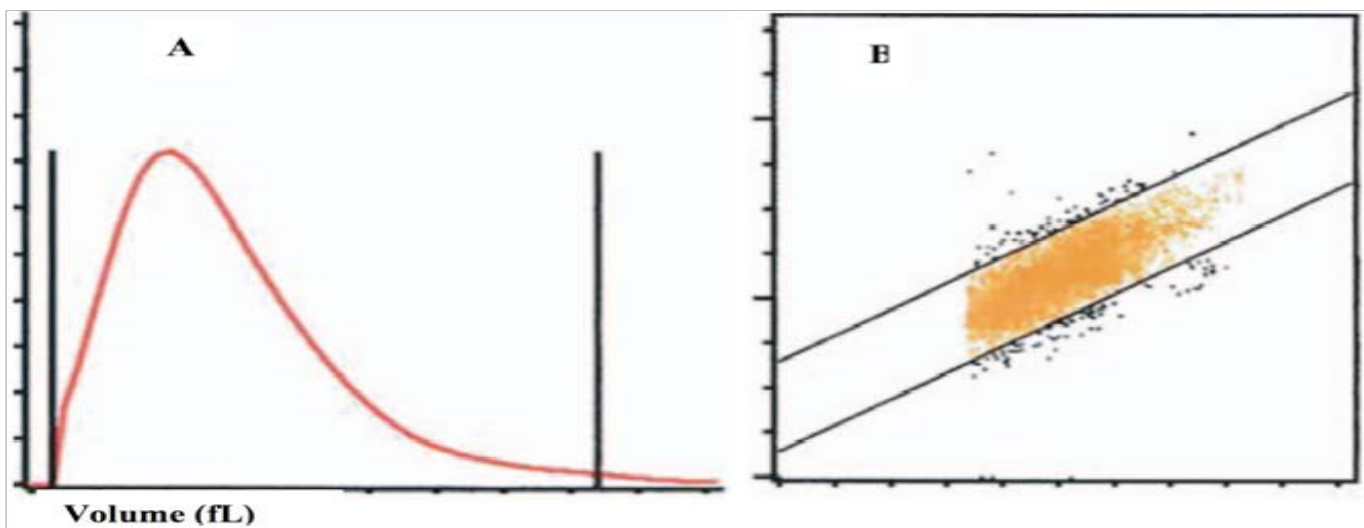


Figure 1 : A : Histogramme normal de la distribution plaquettaire par impédance [2]. B : Histogramme normal de distribution des plaquettes par technique optique [2].

2-Numération plaquettaire par excès (pseudothrombocytose) :

Dans un certain nombre de cas, des particules dans l'organisme ou dans le tube de prélèvement peuvent prendre toutes les caractéristiques des plaquettes. Elles réalisent parfois un mimétisme, quant à leur volume, leur nombre et leur histogramme de distribution. Selon la littérature, la nature des particules qui peuvent interférer par mimétisme avec les plaquettes sont d'origines diverses (tableau I) [4,5].

Tableau I : Les causes responsables des fausses numérations plaquettaires

Pseudothrombocytoses	Pseudothrombopénies
<ul style="list-style-type: none"> Schizocytes Microcytes (VGM<60fL) Débris cytoplasmiques de leucocytes Cryoprotéines Lipides Micro-organismes : bactéries, parasites (<i>Plasmodium</i> sp), levures (<i>Candida</i>) 	EDTA dépendantes : <ul style="list-style-type: none"> Agrégats Satellitisme
	EDTA indépendantes : <ul style="list-style-type: none"> De nature auto-immune De nature physique De nature chimique

2-1 Les hématies fragmentées :

Les automates d'hématologie énumèrent les plaquettes et les globules rouges sur le même canal de dilution. Pour ceux qui utilisent la technique par impédance, l'élément primordial de séparation entre plaquette et globule rouge est le volume. Lorsque le sang est riche en globules rouges de taille réduite (microcytose importante, nombre élevé de schizocytes, grands brûlés) ces particules peuvent se localiser dans une région correspondante habituellement aux plaquettes et génèrent les fausses courbes lissées avec excès d'éléments de grande taille, ce qui conduit à une numération plaquettaire faussement augmentée (figure 2 et 3A) [6]. Dans les brûlures sévères, les globules rouges qui éclatent et donnent de nombreux petits fragments perturbent la numération des plaquettes.

Pour les automates utilisant la numération par diffraction lumineuse (méthode optique), ils permettent dans la plupart des cas une bonne discrimination des plaquettes avec les hématies très microcytaires ou les schizocytes.

L'examen du frottis sanguin, le décompte microscopique et/ou l'utilisation d'une autre méthode de comptage (diffraction optique plutôt que l'impédance) sont souhaitables quand l'histogramme des volumes plaquettaires ne revient pas à la ligne de base à 20 fL, quand une population de microcytes apparaît sur l'histogramme plaquettaire et que celui-ci n'est pas lissé ou quand le volume plaquettaire moyen est très élevé

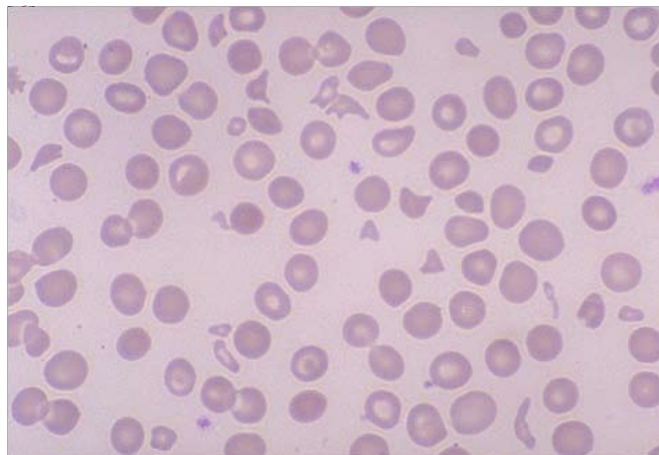


Figure 2 : Pseudothrombocytose par présence de nombreux schizocytes [40]

2-2 Les débris cytoplasmiques de cellules nucléées :

Les fragments du cytoplasme des leucocytes peuvent provoquer un excès de numération plaquettaire. Il peut s'agir de fragments de blastes, de cellules lymphomateuses ou de tricholeucocytes [7-10]. La numération des plaquettes est faussée, aussi bien par la technique d'impédance que par la technique optique (figure 4A). L'incidence de cette anomalie est loin d'être négligeable et une étude a montré que l'on pouvait trouver au moins quelques fragments cytoplasmiques sur le frottis sanguin de 25,4% des patients ayant une leucémie aiguë, et que dans 7 cas (4,1%), la numération plaquettaire vraie était inférieure à 15 G/L, alors que le comptage automatisé variait entre 21 et 75 G/L [11].

2-3 Les microorganismes :

Parmi les microorganismes qui sont à l'origine d'une fausse augmentation de la numération plaquettaire on peut citer :

- Les bactéries : bien qu'il s'agisse d'une situation rare, même chez les patients septiques, la présence de bactéries *in vivo* peut induire une pseudothrombocytose [12,13]. L'histogramme des volumes plaquettaires est anormal et montre un décalage vers un excès de particules de petite taille qui correspondent à des bactéries ou à des amas de bactéries [2].
- Les champignons : peuvent présenter la même taille que les plaquettes. Il a été rapporté dans la littérature que chez des patients thrombopéniques infectés par des *Candida*, ces derniers ont été observés sur le frottis sanguin et ont provoqué une fausse élévation de la numération plaquettaire [14].
- Les parasites : il a été rapporté chez un patient traité pour le paludisme, une pseudothrombocytose du fait que les petits globules rouges infectés par les trophozoïtes de *Plasmodium falciparum* ont été identifiés à tort comme étant des plaquettes [15].

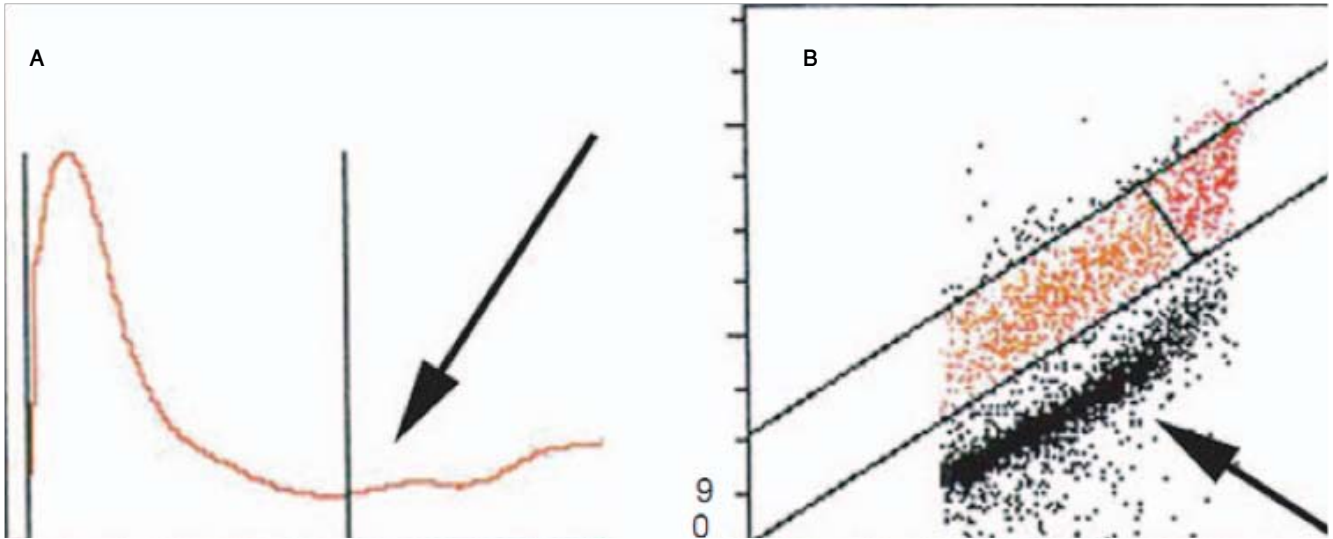


Figure 3 : Perturbation de la numération plaquettaire en présence de microcytes ou de schizocytes [2].

A : histogramme des volumes plaquettares avec non retour à la ligne de base à 20fL (flèche noire) par présence de schizocytes. (Technique par impédance)

B : histogramme des volumes plaquettares avec des schizocytes (en noir) qui sont en dehors de la fenêtre localisant les plaquettes (orange). (Technique optique)

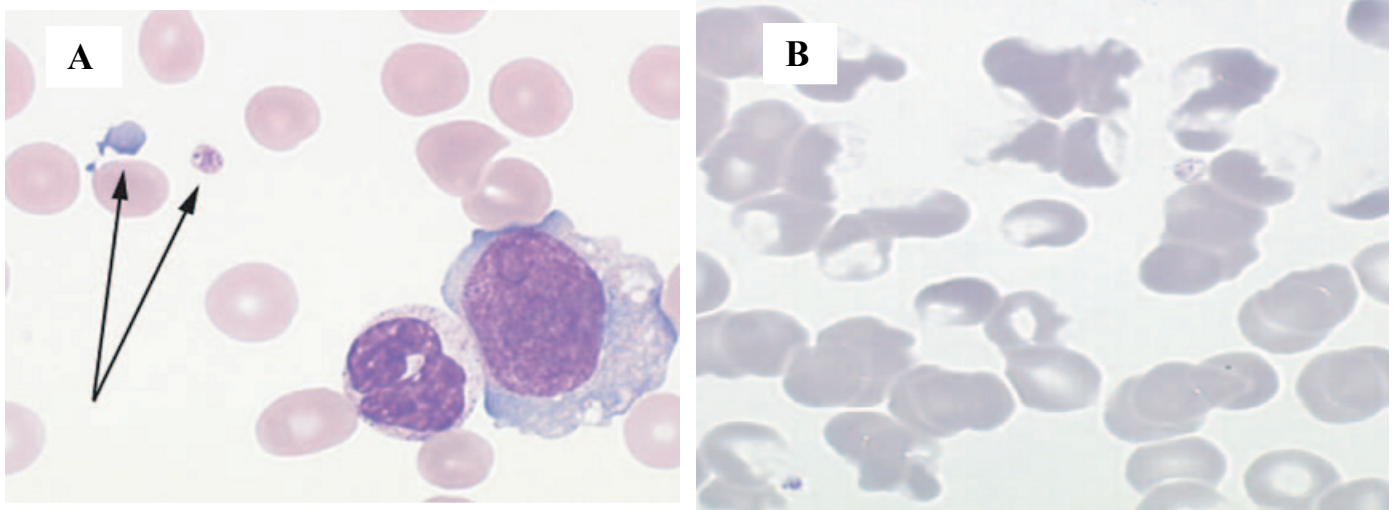


Figure 4 : A : Pseudothrombocytose par présence de fragments cytoplasmiques de blastes au cours de certaines leucémies aiguës: leur taille est assez superposable à celle des plaquettes (flèche de droite), mais ils sont habituellement très basophiles (flèche de gauche) [2].

B : Pseudothrombocytose par présence d'amas de cryoglobulines variablement colorés ou totalement incolores mais déformant les hématies et leur conférant un aspect « mordue » [37].

2-4 Les lipides :

En présence d'un excès de chylomicrons ou lors de prélèvement des échantillons de sang après un repas, ou au cours d'une nutrition parentérale avec lipides, il peut se former de petites micelles lipidiques *in vitro* qui peuvent perturber la numération des plaquettes [16]. Selon des études comparatives de l'influence de l'excès des chylomicrons sur la numération plaquettaire réalisée par deux types d'automates d'hématologie : il a été observé une augmentation modérée pour ceux utilisant une technique de comptage optique

par rapport à ceux utilisant une méthode de comptage par impédance qui ne semble pas être affecté [16,17].

2-5 Cryoglobulines et cryofibrinogène :

La présence de cryoglobuline dans le sang induit fréquemment des anomalies de la numération plaquettaire (figure 4B). Souvent, ce sont les cryoprotéines précipitant en amas qui perturbent les automates. En effet, les précipités de taille réduite induisent une fausse augmentation de la numération des plaquettes. Ainsi la méthode par impédance est nettement

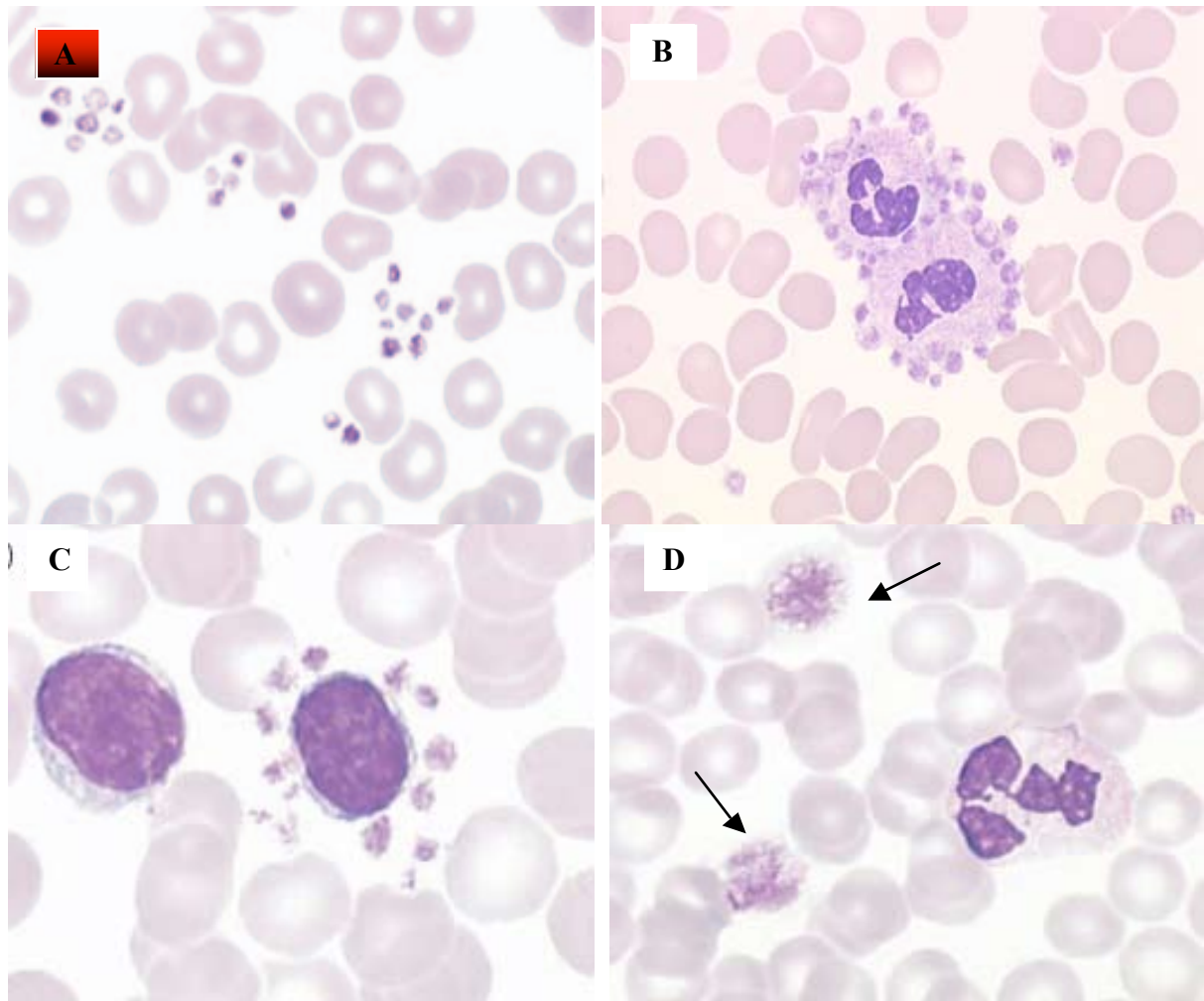


Figure 5 : A : Agrégats de plaquettes sur frottis sanguin
 B: Satellitisme des plaquettes autour de polynucléaires neutrophiles
 C: Satellitisme des plaquettes autour d'un lymphocyte
 D : Plaquettes géantes

perturbée par la présence d'une grande quantité de particules anormales et de taille réduite, alors que le décompte par technique optique n'est pas très perturbé et fournit des résultats convenables [2].

3-Numération plaquettaire par défaut (pseudothrombopénie) :

Les pseudothrombopénies se divisent en deux grands groupes : Les pseudothrombopénies EDTA dépendantes et Les pseudothrombopénies EDTA indépendantes (tableau I).

3-1 Les pseudothrombopénies EDTA dépendantes (PTE) :

Dans ce cas la sous-estimation de la numération des plaquettes, qui sont normalement libres et détachées les unes des autres en présence de l'EDTA, est due soit à l'agglutination irréversible des thrombocytes entre eux formant des agrégats soit à une disposition particulière et insolite autour d'un leucocyte, ce phénomène particulier est appelé satellitisme.

3-1-1 Les agrégats plaquettaires :

Il s'agit d'un phénomène provoqué *in vitro* par des anticorps particuliers, présents dans l'échantillon sanguin prélevé sur EDTA, et qui réagissent avec les plaquettes provoquant leur agrégation (figure 5A). Les automates d'hématologie sont incapables d'énumérer les plaquettes incluses dans les agrégats ce qui induit une pseudothrombopénie parfois majeure [18]. La prévalence de cette anomalie varie selon les études de 0,007 à 0,2% pour les patients hospitalisés [19-22] et elle constitue 75 à 95% des étiologies des pseudothrombopénies [23]. L'incidence est assez superposable chez les hommes, les femmes et les patients âgés. Ces fausses thrombopénies peuvent paraître isolées ou inversement associées à des affections auto-immunes, néoplasiques ou inflammatoires [24]. L'hypothèse d'une relation possible avec ces pathologies a été émise par certains auteurs [24-27].

❖ **Mécanisme d'agrégation :** le mécanisme de la PTE est essentiellement de type immunologique. Elle est liée à

des anticorps dirigés contre des épitopes cryptiques du complexe de la GPIIb/IIIa de la membrane plaquettaire. Ces épitopes sont exposés à la suite de la dissociation de l'hétérodimère GPIIb/IIIa par l'effet chélateur du calcium de l'EDTA. Des études ont montré que le plasma des patients présentant une PTE était capable d'agréger les plaquettes de tous les patients sauf celles des sujets atteints de la thrombasthénie de Glanzmann, suggérant que le complexe glycoprotéique IIb/IIIa, était impliqué dans les fausses thrombopénies liées à l'EDTA [25,28]. Bien que plutôt restreinte à l'EDTA, l'agrégation des plaquettes se produit parfois avec d'autres anticoagulants dont le citrate trisodique [25]. Quelques études ont rapporté que d'autres protéines que les anticorps pourraient être responsables de la PTE, voire que des complexes immuns interviendraient par un jeu d'interactions entre les fragments Fc des immunoglobulines et les récepteurs plaquettaires [27,29].

- ❖ **Les anticorps responsables des PTE :** les isotypes des anticorps responsables des PTE sont des IgG (33 à 50% des cas), des IgM (10 à 63% des cas) ou des IgA (4 à 40% des cas) selon les séries de la littérature [27,30]. Les hypothèses d'auto-anticorps naturels ou d'anticorps « acquis » résultant de la destruction des plaquettes après septicémie, toxémie gravidique, microangiopathie thrombotique, syndromes myélodysplasiques, ou apparaissant pendant l'hospitalisation et particulièrement après une infection, ont été souvent évoquées [6]. Ces anticorps sont considérés comme ayant un maximum d'action à température ambiante [27,31]. Dans 20% des cas, ils sont actifs à 37°C [25]. La cinétique de l'agrégation est rapide, débutant dans les minutes qui suivent le contact du sang avec l'EDTA et devenant maximale soit après quelques minutes, soit, au contraire, après quelques heures.
- ❖ **Mise en évidence de la PTE sur les automates :** la présence d'amas de plaquettes est plus ou moins facilement détectée selon les automates d'hématologie et selon la taille des agrégats. Lorsque l'agrégation est d'intensité modérée avec un mélange de plaquettes libres et de petits amas, ces derniers sont considérés comme de grosses plaquettes. L'histogramme plaquettaire montre un excès d'éléments de grande taille, sans retour à la ligne de base vers 20 fL. Lorsque les amas sont plus volumineux, l'histogramme plaquettaire ne visualise que les plaquettes non agrégées. Par contre, les amas volumineux sont visualisables sur l'histogramme biparamétrique de la formule leucocytaire sous forme de particules anormales non leucocytaires.
- ❖ **Conduite pratique :** devant la suspicion d'une PTE (message d'alerte ou thrombopénie découverte récemment) l'examen d'un frottis sanguin coloré au May Grünwald Giemsa (MGG) est nécessaire à la recherche d'amas plaquettaires : l'étude attentive des franges

latérales et de l'extrémité est nécessaire, les amas très volumineux étant rejetés en périphérie lors de l'étalement. En pratique quotidienne on préconise la réalisation d'un prélèvement de contrôle sur un autre anticoagulant que l'EDTA et son traitement automatisé dans les deux heures qui suivent. Le citrate trisodique est le plus utilisé sans oublier la correction par un facteur de 10% du fait de la dilution liée au citrate. La numération plaquettaire sur les prélèvements héparinés est déconseillée car ils peuvent eux même générer des agrégats importants [32,33]. Parfois une agrégation plaquettaire avec l'EDTA et d'autres anticoagulants dont le citrate trisodique peut survenir. Dans ce cas, le recours à la numération manuelle sur cellule hématimétrique sur un prélèvement capillaire permet d'obtenir un résultat plus réaliste.

3-1-2 Le phénomène de satellitisme:

Il s'agit d'un phénomène acquis *in vitro* en présence d'EDTA et lié à la disposition régulière des plaquettes en rosette autour d'un globule blanc. Le leucocyte concerné par le satellitisme est presque toujours un polynucléaire neutrophile (PNN) (figure 5B), mais il peut s'agir de façon exceptionnelle de lymphocytes atypiques (figure 5C) [34], de polynucléaires basophiles [35] ou de monocytes [36]. Cet aspect morphologique est rare (sa fréquence est estimée à 0,008% [37]), quelque fois relié à un processus auto immun mais, dans la plupart des cas, sans relation avec une maladie spécifique [38]. Ce phénomène implique la présence d'un auto-anticorps IgG dirigé contre un antigène cryptique commun au complexe GPIIb/IIIa des plaquettes et au récepteur Fc gamma III (CD16) des PNN et qui sera démasqué en présence d'EDTA [39]. Dans le satellitisme, le fragment Fab de l'auto-anticorps va se fixer à la glycoprotéine IIb/IIIa plaquettaire alors que le fragment Fc se lie au récepteur Fc gamma III des leucocytes, entraînant ainsi la formation de ponts entre les thrombocytes et les globules blancs.

3-2 Les pseudothrombopénies EDTA indépendantes :

3-2-1 Les pseudothrombopénies de nature auto immune :

Le mécanisme est également immunologique, mais non imputable à l'EDTA. La formation d'agrégats plaquettaires est sous la responsabilité d'un auto-anticorps de type agglutinine froide qui apparaît lors des pathologies auto-immunes. C'est un phénomène thermodépendant et réversible qui disparaît après chauffage au bain marie à 37°C. Il se développe *in vitro* à température ambiante ou à 4°C [40].

3-2-2 Les pseudothrombopénies de nature physique dues aux macrothrombocytes (figure 5D) :

Il s'agit d'une anomalie de détection des plaquettes du fait de leur taille ou de leur volume. En effet, dans certaines pathologies quelques plaquettes peuvent présenter une taille identique ou proche de celle des leucocytes et ne sont donc pas identifiées comme telles, ou peuvent être incluses dans

le décompte des hématies et/ou des leucocytes. Même si des améliorations considérables ont été apportées afin de mieux distinguer les macroplaquettes des autres particules (histogramme volumétrique avec courbe lissée, seuil mobile entre thrombocytes et hématies, diffraction lumineuse à plusieurs angles, analyse de l'indice de réfraction), la précision et l'exactitude de la numération plaquettaire restent faibles, comme le montre par exemple leur faible reproductibilité au cours des macrothrombopénies constitutionnelles (maladie de Bernard-Soulier par exemple) [41].

3-2-3 Les pseudothrombopénies de nature chimique :

Dans ce type de phénomène, les plaquettes *in vitro* chez un malade donné se mettent en agrégats. C'est un phénomène non immunologique, irréversible et indépendant de l'EDTA ou du citrate conventionnel utilisé. La formation de l'agrégat dans ce cas est due à une augmentation du pH dans le tube au cours du temps correspondant à un phénomène d'alcalinisation du milieu. Afin d'avoir un comptage exact, il faut prélever le sang sur un tube contenant du citrate spécial dit « citrate acide » [42].

Conclusion : La numération automatique des plaquettes par les automates d'hématologie est plus précise et plus rapide que les méthodes manuelles conventionnelles. Cependant, cette technique fiable peut entraîner des erreurs de comptage par excès (pseudothrombocytoses) et par défaut (pseudothrombopénies). Pour se prémunir contre ces pièges, des procédures peuvent être proposées :

*toute première découverte d'une thrombocytose, isolée ou associée à d'autres anomalies doit être contrôlée ;

*d'importantes anomalies paramétriques associées à un chiffre de plaquettes normal ou subnormal doit inciter à rechercher une éventuelle thrombopénie masquée ;

*face à la première découverte d'une thrombopénie, il faut systématiquement rechercher dans le tube un caillot dont la présence correspond à un prélèvement coagulé. En l'absence de celui-ci, un contrôle de la thrombopénie sur un frottis coloré au MGG doit être systématique.

Références:

- 1- Briggs C, Harrison P, Machin SJ. Continuing developments with the automated platelet count. *Int Jnl Lab Hem* 2007; 29: 77-91.
- 2- Tessier-marteau A, Geneviève F, Godon A, Macchi L, Zandecki M. Anomalies et erreurs de détermination de l'hémogramme avec les automates d'hématologie cellulaire. *Ann Biol Clin* 2010 ; 68 : 393-407.
- 3- Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, Godon A. Spurious counts and spurious results on haematology analysers : a review. Part I: platelets. *Int Jnl Lab Hem* 2007; 29: 4-20.
- 4- Ault KA. Platelet counting : Is there room for improvment

? Lab Hematol 1996 ; 2: 139-143.

- 5- Ault KA, Mitchell J, Knowles C, Van Hove L. Implementation of the immunological platelet count on a hematology analyser-the Abbott Cell-Dyn» 4000. *Lab Hematol* 1997 ; 3:125-128.
- 6- Savage RA, Hoffman GC. Spuriously high platelet counts. *Am J Clin Pathol* 1985 ; 84 : 406-7.
- 7- Ballard HS, Sidhu G. Cytoplasmic fragments causing spurious platelet counts in hairy cell leukemia: ultrastructural characterization. *Arch Intern Med* 1981 ; 141 : 942-4.
- 8- Hammerstrom J. Spurious platelet counts in acute leukaemia with DIC due to cell fragmentation. *Clin Lab Haematol* 1992 ; 14 : 239-43.
- 9- Li S, Salhany KE. Spurious elevation of automated platelet counts in secondary acute monocytic leukemia associated with tumor lysis syndrome. *Arch Pathol Lab Med* 1999 ; 123 : 1111-4.
- 10- Kakkar N, Garg G. Cytoplasmic fragments of leukaemic cells masquerading as platelets in an automated haematology analyser. *J Clin Pathol* 2005 ; 58 : 224.
- 11- Van der Meer W, MacKenzie MA, Dinnissen JWB, de Keijzer MH. Pseudoplatelets : a retrospective study of their incidence and interference with platelet counting. *J Clin Pathol* 2003 ; 56 : 772-4.
- 12- Gloster ES, Strauss RA, Jimenez JF, Neuberg RW, Berry DH, Turner EJ. Spurious elevated platelet counts associated with bacteremia. *Am J Hematol* 1985 ; 18 : 329-32.
- 13- Kakkar N. Spurious rise in the automated platelet count because of bacteria. *J Clin Pathol* 2004 ; 57 : 1096-7.
- 14- Latif S, Veillon DM, Brown D, Kaltenbach J, Linscott AJ, Oberle A, et al. Spurious automated platelet count. Enumeration of yeast forms as platelets by the Cell-Dyn 4000. *Am J Clin Pathol* 2003 ; 120 : 882-5.
- 15- Crabbe G, Van Poucke M, Cantinieaux B. Artefactually-normal automated platelet counts due to malaria-infected RBC. *Clin Lab Haematol* 2002 ; 24 : 179-82.
- 16- Cantero M, Conejo JR, Jimenez A. Interference from lipemia in cell count by hematology analysers. *Clin Chem* 1996 ; 42 : 987-8.
- 17- Kabutomori O, Iwatani Y, Kabutomori M. Effects of hypertriglyceridemia on platelet counts in automated hematology analysis. *Ann Intern Med* 1999 ; 130 : 452.
- 18- Cohen A, Cycowitz Z, Mittelman M, Lewinski UH, Gardyn J. The incidence of pseudothrombocytopenia in automatic blood analysers. *Haematologica* 2000 ; 30 : 117-21.

- 19- Payne BA, Pierre RV. Pseudothrombocytopenia : a laboratory artifact with potentially serious consequences. *Mayo Clin Proc* 1984 ; 59 : 123-5.
- 20- 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 : 629-36.
- 21- 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 : 817-23.
- 22- Bragnani G, Bianconcini G, Brogna R, Zoli G. Pseudothrombocytopenia : clinical comment on 37 cases. *Minerva Med* 2001 ; 92 : 13-7.
- 23- Gérome P, Cardon N, Crevon L, Ehrmann P, Dusseau J Y, Masseron T et al. Un artefact de laboratoire à dépister : la pseudothrombopénie liée à l'EDTA. *Ann Biol Clin* 2003 ; 61 : 88-93.
- 24- Casonato A, Bertomoro A, Pontara E, Dannhauser D, Lazzaro AR, Girolami A. EDTA dependent pseudothrombocytopenia caused by antibodies against the cytoadhesive receptor of platelet GPIIb-IIIa. *J Clin Pathol* 1994; 47: 625-30.
- 25- Bizzaro N. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a clinical and epidemiological study of 112 cases, with 10 years follow up. *Am J Hematol* 1995 ; 50:103-109.
- 26- 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: 195-201.
- 27- Bizzaro N, Brandalise M. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. Association with antiplatelet and antiphospholipid antibodies. *Am J Clin Pathol* 1995; 103: 103-7.
- 28- Schrezenmeier H, Muller H, Günsilius E, Heimpele H, Seifried E. Anticoagulant-induced pseudothrombocytopenia and pseudoleucocytosis. *Thromb Haemost* 1995 ; 73 : 506-13.
- 29- Manthorpe R, Kofod B, Wiik A, Saxtrup O, Svehag SE. Pseudothrombocytopenia. In vitro studies on the underlying mechanism. *Scand J Haematol* 1981 ; 26 : 385-92.
- 30- Van der Meer W, Allebes W, Simon A, Van Berkel Y, Keijzer MH. 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* 2002 ; 69 : 243-7.
- 31- Pegels JG, Bruynes EC, Engelfriet CP, Von Dem Borne AE. pseudothrombocytopenia: an immunological study on platelet antibodies dependent on ethylene diamine tetra-acetate. *Blood* 1982 ; 59 : 157-61.
- 32- Silvestri 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 : 35-9.
- 33- Savage RA. Pseudoleukocytosis due to EDTA-induced platelet clumping. *Am J Clin Pathol* 1984 ; 81 : 317-22.
- 34- Cesca C, Ben-Ezra J, Riley RS. Platelet satellitism as presenting finding in mantle cell lymphoma. A case report. *Am. J. Clin. Pathol* 2001; 115: 567-570.
- 35- Liso V, Bonomo L. Platelet satellitism to basophils in a patient with chronic myelocytic leukaemia. *Blut* 1982 ; 45: 347-350.
- 36- Cohen AM, Lewinski UH, Klein B, Djaldetti M. Satellitism of platelets to monocytes. *Acta Haematol* 1980 ; 64: 61-64.
- 37- Nakul-Aquarone D, El Yakine A, Starck B, Bayle J. Les pièges de la numération automatique des plaquettes. *Rev Fr Lab* 2002 ; 347 : 21-25.
- 38- Lazo-Langner A, Piedras J, Romero-Lagarza P, Lome-Maldonado C, Sanchez-Guerro J, Lopez-Karpovitch X. Platelet satellitism, spurious neutropenia, and cutaneous vasculitis : casual or causal association ? *Am J Hematol* 2002 ; 70 : 246-9.
- 39- Bizzaro N, Goldschmeding R, Von dem Borne AE. Platelet satellitism is Fc gamma RIII (CD16) receptor-mediated. *Am J Clin Pathol* 1995 ; 103 : 740-4.
- 40- Schimmer A, Mody M, Sager M, Garvey MB, Hogarth M, Freedman J. Platelet cold agglutinins: a flow cytometric analysis. *Transfus Sci* 1998; 19 : 217-224.
- 41- Latger-Cannard V, Proust A, Devignes J, Salignac S, Bensoussan D, Salmon A, et al. Syndrome de Wiskott-Aldrich chez un enfant révélé par l'examen morphologique attentif des plaquettes. *Hématologie* 2008 ; 14 : 387-91.
- 42- Berning H, Stilbo I. Pseudothrombocytopenia and the haematology laboratory. *Lancet* 1982 : 1469-1470.