



EDTA-Dependent Pseudothrombocytopenia(EDP) Dengan Pemeriksaan Immature Platelet Fraction (IPF) Yang Tinggi

Budiono Raharjo^a, Solichul Hadi^b

^aBagian Patologi Klinik - Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma
Surabaya

^bBagian Patologi Klinik- Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya
E-mail: dr.budi.sby81@gmail.com

Abstract

Introduction: Pseudothrombocytopenia is a phenomenon in which the number of platelets reported by an automated counting device is less than the actual number of invivo circulations

Case: A 53-year-old man regularly controls for diabetes mellitus disease. On physical examination within normal limits. The first complete blood test using anticoagulant Ethylene Diamine Tetraacetic Acid (EDTA) was obtained hemoglobin 15.7 g / dL, MCV 82.3 μm^3 , MCH 30.3 pg, MCHC 36.8%, Erythrocytes: 5.19 jt / L , RDW 11.8 %, Hematocrit 42.7%, leucocytes 7,270 / cmm, thrombocytopenia with platelet count 15,000 / cmm and immature platelet fraction (IPF) 49.8%. The second complete blood test using sodium citrate anticoagulant was obtained hemoglobin 15.2 g / dL, MCV 81.4 μm^3 , MCH 30.1 pg, MCHC 30.1%, Erythrocyte: 5.05 jt / L, RDW 11.4 %, Hematocrit 41.1%, leukocyte 9,690 / cmm, thrombocyte to 222,000 / cmm and IPF of 5,1%. In the first sample edge blood smear was found clumping platelets.

Discussion: EDTA-dependent pseudothrombocytopenia (EDP) is an invitro phenomenon caused by a specific protein from a sample that only reacts with platelets if EDTA is present and causes clumping. At high IPF examination changes being normal may be caused by EDP.

Conclusion: If high IPF examination is found with thrombocytopenia should be examined for peripheral blood smear to see whether there is a clustered thrombocyte

Keywords: EDTA-dependent pseudothrombocytopenia (EDP), thrombocytopenia, IPF

Abstrak

Latar Belakang: *Pseudothrombocytopenia* adalah fenomena dimana jumlah trombosit yang dilaporkan oleh alat hitung otomatis jumlahnya lebih sedikit dibandingkan jumlah sesungguhnya pada sirkulasi invivo

Kasus: Seorang laki-laki 53 tahun kontrol rutin untuk penyakit diabetes melitus. Pada pemeriksaan fisik dalam batas normal. Pada pemeriksaan darah lengkap pertama dengan menggunakan antikoagulan *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid* (EDTA) didapatkan hemoglobin 15,7 gr/dL, MCV 82,3 μm^3 , MCH 30,3 pg,

MCHC 36,8 %, Eritrosit:5,19 jt/L, RDW 11,8 %, Hematokrit 42,7 %, leukosit 7.270/cmm, trombositopenia dengan jumlah trombosit 15.000/cmm dan *immature platelet fraction* (IPF) 49,8 %. Pada pemeriksaan darah lengkap kedua dengan menggunakan antikoagulan natrium citrat didapatkan hemoglobin 15,2 gr/dL, MCV 81,4 μm^3 , MCH 30,1 pg, MCHC 37,0 %, Eritrosit:5,05 jt/L, RDW 11,4 %, Hematokrit 41,1 %, leukosit 9.690/cmm, trombosit menjadi 222.000/cmm dan IPF sebesar 5.1%. Pada hapusan darah tepi sampel pertama ditemukan trombosit yang bergerombol (*clumping*).

Diskusi: *EDTA-dependent pseudothrombocytopenia* (EDP) merupakan fenomena *invitro* yang disebabkan oleh protein spesifik dari sampel yang hanya bereaksi dengan trombosit apabila terdapat EDTA dan menyebabkan *clumping*. Pada perubahan pemeriksaan IPF yang tinggi dengan menjadi normal dapat disebabkan oleh EDP.

Simpulan: Apabila ditemukan pemeriksaan IPF yang tinggi dengan trombositopenia maka sebaiknya dilakukan pemeriksaan hapusan darah tepi untuk melihat ada tidaknya trombosit yang bergerombol

Kata Kunci: *EDTA-dependent pseudothrombocytopenia* (EDP), trombositopenia, IPF

PENDAHULUAN

Pseudothrombocytopenia adalah fenomena dimana jumlah trombosit yang dilaporkan oleh alat hitung otomatis jumlahnya lebih sedikit dibandingkan jumlah sesungguhnya pada sirkulasi *invivo*. Kehati-hatian pada fenomena ini penting sebab *pseudothrombocytopenia* ini akan menimbulkan kesalahan diagnosis, sehingga menimbulkan pemeriksaan laboratorium tambahan yang tidak perlu, dan pemberian terapi yang tidak sesuai. (Bizzaro, 2007)

Pseudothrombocytopenia yang terjadi akibat *clumping* trombosit pada kondisi *invitro*, dipicu oleh dua sebab yaitu a) *antibody-mediated agglutination* dengan penyebab utama adalah *EDTA-dependent agglutination* dan *thrombocyte satellitism* atau b) agregasi sekunder akibat aktivasi trombosit karena teknik pengambilan sampel darah atau terlambatnya *mixing* dengan antikoagulan pada tabung (kesalahan preanalitik). (Bizzaro, 2007)

EDTA-dependen pseudothrombocytopenia (EDP) merupakan fenomena *invitro* yang disebabkan oleh protein spesifik dari sampel yang hanya bereaksi dengan trombosit apabila terdapat EDTA dan menyebabkan *clumping*. Prevalensi rate EDP berkisar antara 0,07% sampai 0,20 % dari seluruh pemeriksaan darah lengkap. Pada pasien rawat inap insidensinya 0,1 -0,2%. Fenomena ini tidak hanya terjadi pada manusia tetapi juga terjadi pada kuda dan kucing. EDP pertama kali dideskripsikan oleh Gowland et.al pada tahun 1969. Sejak saat itu fenomena tersebut banyak dipelajari secara luas, dan saat ini diketahui bahwa mekanisme yang menyebabkan terbentuknya trombosit *clumping* adalah kompleks dan dipengaruhi oleh faktor imunologis (*antithrombocyte antibody*), kimia (antikoagulan) dan fisik (temperatur) yang secara bersama sama menyebabkan fenomena tersebut terjadi hanya secara *invitro*. (Bizzaro, 2007; Zandecki, 2007)

Semua kelas antibodi dapat terlibat dalam fenomena trombosit *clumping*, yaitu antibody IgG, IgM, IgA dan kombinasi IgG dan IgM atau IgG dan IgA. Beberapa peneliti melaporkan IgG sebagai penyebab tersering tetapi penelitian lain menyebut IgM sebagai penyebab tersering. Kebanyakan autoantibodi bersifat *cold agglutinin* menunjukkan aktivitas maksimum antara suhu 4°C dan

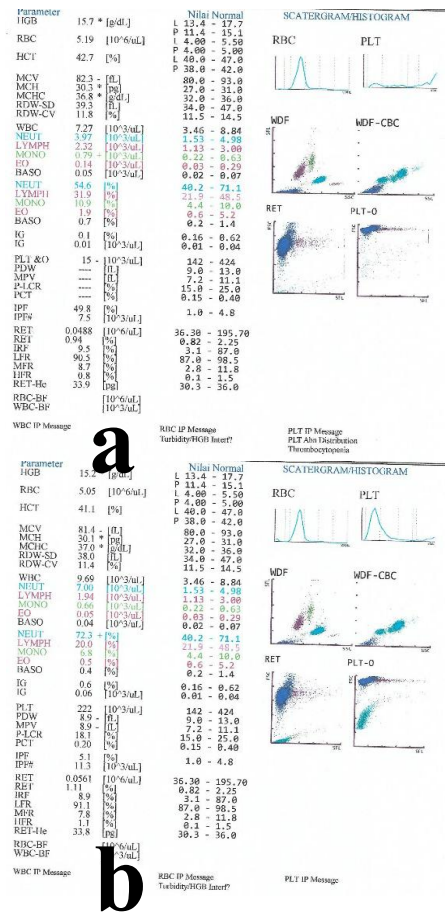
20°C. Meskipun demikian 20% kasus *agglutinin* tersebut dapat bereaksi baik pada suhu ruang (sekitar 22°C) ataupun 37°C.^{1,3} Meskipun antibodi biasanya aktif apabila terdapat EDTA, tapi sekitar 10 sampai 20 % kasus , trombosit *clumping* juga terjadi pada penggunaan sitrat sebagai antikoagulan. Hal ini juga terjadi akibat efek *chelating* pada ion kalsium. (Bizzaro, 2007)

Pseudothrombocytopenia dapat terjadi pada penderita dengan berbagai kelainan penyakit antara lain penyakit autoimun, infeksi bakteri dan virus, sindrom metabolik, dan keganasan, setelah transplantasi stem sel dan pada orang sehat. Setelah muncul *pseudothrombocytopenia*, biasanya akan menetap, dan sebagian kecil akan sementara menetap dan kemudian menghilang setelah beberapa waktu. Pada orang sehat adanya *pseudothrombocytopenia* dapat menetap lebih dari 20 tahun , hal ini menunjukkan bahwa adanya *pseudothrombocytopenia* autoantibodi pada penderita tersebut tidak berarti orang tersebut mempunyai resiko tinggi untuk berkembangnya penyakit tertentu dimasa datang atau terjadinya penyakit autoimun. Dan tentu saja seseorang dengan *pseudothrombocytopenia* ini tidak perlu monitoring klinis ataupun laboratoris karena kondisi tersebut adalah tidak berbahaya. (Bizzaro, 2007; Zandeki, 2007)

KASUS

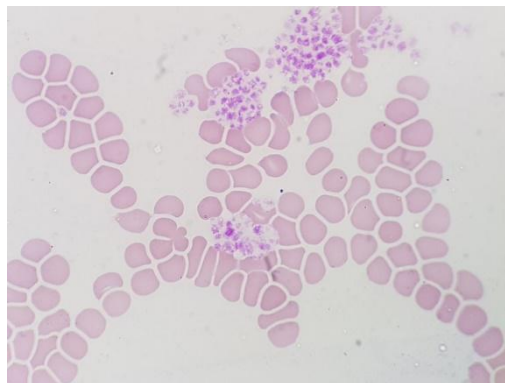
Seorang laki-laki 53 tahun kontrol rutin untuk penyakit diabetes melitus. Pasien mempunyai riwayat suka minum-minuman keras dan merokok. Pasien pernah berobat ke dokter penyakit dalam dan di diagnosa sebagai *Idiopathic Thrombocytopenia Purpura* (ITP) dan telah mendapatkan pengobatan sejak 6 bulan yang lalu sampai sekarang, dimana hasil pemeriksaan laboratorium sering didapatkan trombositnya rendah dan tidak membaik dengan pengobatan tersebut. Pasien mempunyai riwayat diabetes mellitus sejak 10 tahun yang lalu dan sering kontrol teratur untuk penyakit diabetes mellitusnya. Pemeriksaan fisik didapatkan tekanan darah 120/80mmhg, nadi 80 x/menit, respiration rate (RR) 20x/menit, suhu axillar 36,5°C. Pada pemeriksaan fisik dalam batas normal.

Pada pemeriksaan laboratorium, pemeriksaan darah lengkap pertama dengan menggunakan antikoagulan *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid* (EDTA) pada tanggal 01 Agustus 2017 didapatkan hemoglobin 15,7 gr/dL, MCV 82,3 µm³, MCH 30,3 pg, MCHC 36,8 %, Eritrosit:5,19 jt/L, RDW 11,8 %, Hematokrit 42,7 %, leukosit 7.270/cmm, trombositopenia dengan jumlah trombosit 15.000/cmm dan *immature platelet fraction* (IPF) 49,8 %. Pada pemeriksaan darah lengkap kedua dengan menggunakan antikoagulan Natrium citrat pada tanggal 01 Agustus 2017 didapatkan hemoglobin 15,2 gr/dL, MCV 81,4 µm³, MCH 30,1 pg, MCHC 37,0 %, Eritrosit:5,05 jt/L, RDW 11,4 %, Hematokrit 41,1 %, leukosit 9.690/cmm, trombosit menjadi 222.000/cmm dan IPF sebesar 5.1%. Semua pemeriksaan darah lengkap dilakukan pada hari yang sama dan menggunakan alat *hematology analyzer* yang sama yaitu alat sysmex XN-L 350.

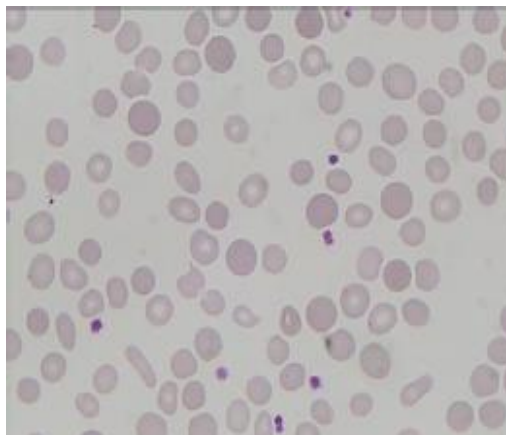


Gambar. 1. Hasil darah lengkap (a) dengan menggunakan antikoagulan EDTA, (b) dengan menggunakan antikoagulan Natrium citrat

Pada hapusan darah tepi sampel pertama dengan menggunakan antikoagulan EDTA tampak gambaran trombosit relatif hipogranulasi dengan didapatkan adanya trombosit yang bergerombol (*clumping*) dari ringan sampai yang berat (gambar 2). Pada hapusan darah tepi menggunakan antikoagulan Natrium citrat terdapat gambaran normal dari trombosit dan tidak didapatkan adanya trombosit yang bergerombol (gambar 3).



Gambar 2. Hapusan darah tepi dari sampel darah-EDTA dengan pewarnaan Wright pembesaran 100x tampak trombosit *clumping* dengan hipogranulasi.



Gambar 3. . Hapusan darah tepi dari sampel darah-sitrat dengan pewarnaan *Wright* pembesaran 100x tampak trombosit dengan granulasi yang normal, *solitair*.

Pada pemeriksaan faal hemostasis tanggal 01 Agustus 2017 didapatkan fibrinogen 282 mg/dl (dengan nilai normal 168-390 mg/dl). Pada pemeriksaan kimia klinik tanggal 01 Agustus 2017 didapatkan HbA1c sebesar 6.3%, kolesterol total 271 mg/dl, kolesterol HDL 69 mg/dl, kolesterol LDL 173 mg/dl, trigliserida 108 mg/dl, ratio kolesterol/HDL 3,93, pemeriksaan faal ginjal didapatkan BUN sebesar 10 mg/dl, kreatinin 0,98 mg/dl, asam urat sebesar 4,3 mg/dl, insulin puasa 8,03 u/ml, HOMA B 62,24 %, HOMA IR 2,14 %, C-peptide 2,20 ng/ml, Lp(a) 8,0 mg/dl.

Pada pemeriksaan urine lengkap tanggal 01 Agustus 2017 didapatkan hasil dalam batas normal glukosa negatif, protein negatif, bilirubin negatif, keton negatif, BJ:1,025, darah negatif, pH:6,5, urobilinogen: negatif, nitrit: negatif, leukosit negatif, dengan sedimen urine: leukosit: 0-1/lpb, eritrosit: 0-1/lpb, silinder: negatif, epitel negatif, bakteri positif, kristal amorph, lain-lain negatif.

PEMBAHASAN

Pasien pada kasus ini mempunyai riwayat diabetes melitus dan didalam 6 bulan terakhir ini didiagnosa oleh dokter penyakit dalam menderita ITP dan telah mendapatkan pengobatan untuk ITP selama 6 bulan terakhir. Pasien mengeluhkan bahwa trombosit tidak membaik walau telah mendapatkan pengobatan untuk ITP sejak 6 bulan yang lalu.

Pada pemeriksaan laboratorium dengan menggunakan antikoagulan EDTA didapatkan trombosit 15.000/cmm dan *immature platelet fraction* (IPF) 49,8 %, sedangkan pada hapusan darah tepi didapatkan adanya trombosit yang bergerombol. Pada pemeriksaan kedua yang dilakukan pada hari yang sama dengan menggunakan antikoagulan Natrium citrate didapatkan trombosit menjadi 222.000/cmm dan IPF sebesar 5.1%.

Struktur yang menjadi target antibodi, pertama kali diidentifikasi oleh Pegels dkk (1982). yang mengamati bahwa *EDTA-dependent antibodi* tidak bereaksi dengan platelet dari penderita *Glanzmann thrombasthenia*, menunjukkan bahwa *glikoprotein(GP) alpha IIb beta IIIa (GPIIb/IIIa)*, terlibat pada EDP. GPIIb/IIIa adalah *Ca²⁺ heterodimer dependent*. Pengambilan

kalsium oleh *chelator* EDTA menyebabkan hilangnya fungsi reseptor GPIIb/IIIa. Ikatan Ca²⁺ dengan EDTA juga mempengaruhi formasi kompleks GPIIb/IIIa kedalam beberapa epitop yang sesuai untuk antibodi platelet aglutinasi. Pada haemostasis, platelet GPIIb/IIIa mempunyai peran penting untuk berikatan dengan fibrinogen dan *von willebrond faktor* selama pembentukan sumbat platelet. Akan tetapi untuk terjadinya EDP, *soluble fibrinogen* nampaknya tidak diperlukan karena terjadinya platelet *clumping* dapat diinduksi pada sampel darah penderita dengan *afibrinogenaemic*. Plasma EDTA pada EDP tidak hanya menginduksi aglutinasi trombosit dari pasien tetapi juga menginduksi aglutinasi dari platelet EDTA hampir semua individu normal. (Casonato *et al.*, 1994; Pegels *et al.*, 1982; Onder *et al.*, 1980)

Pada tahun 1986 Von dem Borne *et al* memperkenalkan istilah *cryptantigens* atau *hidden antigen*. Antigen tersebut terjadi secara eksklusif hanya pada trombosit, lebih tepatnya pada membran glikoprotein IIb/IIIa kompleks. Sesuai dengan namanya *cryptantigens*, secara normal tidak nampak pada trombosit dalam sirkulasi, tetapi menjadi nampak ketika membran trombosit mengalami penyesuaian ketika ion Ca²⁺ dilepas oleh *chelator* EDTA. (Criswell *et al.*, 2001)

Bizzaro (1995) melakukan penelitian dengan observasi sepanjang 10 tahun pada 122 kasus EDP. Didapatkan 93 penderita mempunyai antibodi antiplatelet (48 IgM, 30 IgG, 3 IgA dan 12 mempunyai dua *isotipe* yang berbeda). Pada 20% pasien , adanya antibodi IgM mempunyai karakteristik dimana aglutinasi platelet juga terjadi pada suhu 37°C dan dengan antikoagulan natrium citrat. Fenomena ini tidak berhubungan dengan jenis kelamin, dan dapat terjadi baik pada pasien sakit atau pada orang sehat. Penelitian andrzej dkk. (2009) Pada 217 kasus EDP didapatkan 39% terjadi pada orang sehat dan 61% pada pasien dengan penyakit tertentu seperti penyakit vaskuler, infeksi autoimun, liver dan penyakit metabolik. *EDTA-dependent antibodies* yang terjadi pada 97% kasus meliputi, antibodi IgG pada 19%, IgM pada 34% kasus, IgM dan IgG pada 44% kasus. IgG lebih sering pada orang sehat sedang IgM lebih sering pada orang sakit. Patofisiologi dari produksi antibodi tersebut tidak diketahui. Diduga bahwa antibodi tersebut berhubungan dengan autoantibodi alami atau antibodi yang didapat sebagai akibat destruksi trombosit pada kondisi septikemia, toksemia kehamilan, komplikasi thrombotik atau *myelodysplasia*. (Zandecki, 2007; Bizzaro, 1995; Szczepiński *et al.*, 2009)

Aglutinasi biasanya terjadi beberapa menit setelah *sampling* menggunakan EDTA dan akan terlihat mencolok pada sampel yang disimpan di suhu ruang. Agregat yang terbentuk pada hapusan darah tepi terdapat dalam berbagai ukuran, terdiri dari 3 – 5 trombosit tetapi tidak jarang terbentuk oleh 100 trombosit atau lebih. Pada kebanyakan laporan, turunnya hitung trombosit ada hubungannya dengan terbentuknya agregat yang besar. Heparin tidak direkomendasikan untuk menghindari hal tersebut tetapi alternatif yang paling mudah adalah menggunakan antikoagulan trisodium sitrat 10%, meskipun kemungkinan *clumping* juga dapat terjadi. Berbagai antikoagulan lain juga direkomendasikan untuk menghindari agregasi termasuk ACD, campuran sitrat, pyridoxal, dan tris, theofilin, MgSO₄ atau penambahan aminoglikosida. (Zandecki, 2007)

EDTA-Induce Pseudo-Gray Platelet Syndrome (PGPS) adalah fenomena yang jarang terjadi. PGPS hanya terjadi pada sampel darah dengan EDTA dan tidak dengan antikoagulan alternatif yang lain ataupun pada *direct smear*. Pada kasus PGPS tanpa disertai agregasi/*clumping* trombosit nampaknya terjadi akibat adanya faktor humoral (kemungkinan adalah antibodi) terhadap *cryptantigen* yang tidak dikenal yang menginduksi pelepasan granula *alpha* dan *delta*. Faktor humoral ini nampaknya berbeda dengan antibodi yang menyebabkan *EDTA induce trombosit aglutination*. Pada kasus ini gambaran PGPS ditandai oleh trombosit yang sebagian besar tampak *hipogranuler/agranuler* pada sampel darah dengan EDTA sedangkan hapusan dari sampel darah dengan Natrium citrat nampak granulasi trombosit yang normal. (Mues *et al.*, 2001)

Alat hematologi Sysmex telah mengembangkan pemeriksaan *Immature Platelet Fraction (IPF)*, dimana IPF ini merupakan suatu *Immature Platelet* ukuran pembuatan trombosit yang tepat guna seperti hitung retikulosit absolut di sel darah merah. *Immature Platelet Fraction* merupakan tolok ukur yang digunakan untuk menilai trombopoiesis. *Immature Platelet Fraction* dapat dicatat dengan persentase trombosit yang belum dewasa terhadap jumlah keseluruhan trombosit atau absolut. Hal tersebut menunjukkan bahwa IPF dapat membedakan antara kenaikan dan penurunan pembuatan trombosit. Respons sumsum tulang terhadap penurunan trombosit adalah dengan meningkatkan trombopoiesisnya dan dapat digambarkan dengan *Immature Platelet Fraction (IPF)* yang digunakan sebagai petunjuk tidak langsung hal tersebut terhadap trombositopenia. Nilai IPF yang rendah menunjukkan hipoproliferasi respons sumsum tulang, sedangkan nilai yang meningkat menggambarkan kenaikan jumlah sumsum tulang dalam pembuatan trombosit. (Briggs *et al.*, 2004)

Pada pemeriksaan laboratorium pasien ini menggunakan antikoagulan EDTA didapatkan trombosit 15.000/cmm dan *immature platelet fraction (IPF)* 49,8 %, sedangkan pada hapusan darah tepi didapatkan adanya trombosit yang bergerombol. Pada pemeriksaan kedua yang dilakukan pada hari yang sama dengan menggunakan antikoagulan Natrium citrate didapatkan trombosit menjadi 222.000/cmm dan IPF sebesar 5.1%. *Immature Platelet Fraction (IPF)* tinggi palsu pernah dilaporkan Bimpong *et al* oleh karena penyimpanan yang lama pada suhu 4°C, tetapi belum pernah dilaporkan kasus IPF yang tinggi pada kasus EDP. (Bimpong *et al.*, 2010)

Pada kasus pasien ini kemungkinan IPF tinggi berubah menjadi normal kemungkinan dapat disebabkan oleh karena adanya trombosit yang bergerombol sehingga alat akan mendeteksi trombosit yang bergerombol sebagai satu populasi trombosit dan menyebabkan trombositopenia yang palsu, selain itu alat juga akan mendeteksi IPF yang tinggi palsu oleh karena trombosit yang bergerombol tersebut.

Untuk mendeteksi adanya trombosit yang bergerombol maka dapat diidentifikasi awal dengan melihat jumlah trombosit dan histogram dari trombosit itu sendiri, dimana histogram akan menunjukkan gelombang yang tidak teratur pada seperti pada gambar 1a. Histogram trombosit yang normal akan menunjukkan gelombang dengan satu puncak dan jumlah trombosit yang normal, tetapi bila terdapat gelombang dengan beberapa puncak dapat

menunjukkan adanya trombosit yang bergerombol (*clumping*). (Moorhead *et al.*, 2016)

SIMPULAN

Telah dilaporkan kasus satu kasus *EDTA-dependent pseudothrombocytopenia* pada penderita diabetes melitus. Penegakan diagnosa didasarkan pada pemeriksaan klinis dan laboratorium. Penyebab *EDTA-dependent pseudothrombocytopenia* kemungkinan disebabkan oleh terjadinya platelet *clumping* pada sampel darah dengan EDTA. Antikoagulan EDTA pada kasus ini, selain menyebabkan fenomena *clumping* juga menyebabkan degranulasi platelet yang menyebabkan PGPS. Pada kasus *EDTA-dependent pseudothrombocytopenia* dapat menyebabkan *Immature Platelet Fraction* (IPF) juga dapat tinggi palsu, tetapi nilai IPF dapat menjadi normal dengan penggantian antikoagulan

SARAN

Untuk mengatasi kasus *EDTA-dependent pseudothrombocytopenia* tersebut cara yang paling umum digunakan adalah dengan mengganti antikoagulan EDTA dengan *trisodium citrate* 3,2%.

DAFTAR PUSTAKA

- Bizzaro N. Pseudothrombocytopenia in platelet 2^{ed} California: Elsevier Inc, 2007: 999-1004.
- Zandeki M, Genevieve F, Gerard J, Godon A. Platelet binding and phagocytosis by macrophages Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part I: platelets Int. Jnl. Lab. Hem 2007;29; 4–20.
- Casonato A, Bertomoro A, Pontara E, Dannhauser D, Lazzaro A R, Girolami A. EDTA dependent pseudothrombocytopenia caused by antibodies against the cytoadhesive receptor of platelet gplIIB-III. A J Clin Pathol 1994;47:625-630.
- 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, Vol. 59. No. 1.
- Onder O, Weinstein A, Hoyer LW. Pseudothrombocytopenia caused by platelet agglutinins that are reactive in blood anticoagulated with chelating agents. Blood 1980 Vol. 56. No. 2.
- Criswell KA, Breider MA, Bleavins MR. EDTA-Dependent Platelet Phagocytosis A Cytochemical, Ultrastructural, and Functional Characterization Am J Clin Pathol 2001;115:376-384.
- Bizzaro N. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a clinical and epidemiological study of 112 cases, with 10-year follow-up. Am J Hematol. 1995;50(2):103-9.
- Szczepiński A, Maślanka K, Mariańska B, Żupańska B. EDTA-Dependent Pseudothrombocytopenia— Clinical and Serological Study of 217 Cases. Adv Clin Exp Med 2009;18; 4;361–368.
- Mues G, Wians FH, Kroft SH. EDTA-Induced Pseudo-Gray Platelet Syndrome laboratory medicine 2001;7:32;361-364.

- Briggs C, Kunka S, Hart D, Oguni , Machin SJ. Assessment of an immature platelet fraction (IPF) in peripheral thrombocytopenia. *British Journal of Haematology*. 2004;126:93–99.
- Bimpong AO, Saleh M, Visner MS, Widness J, Pedersen PV. Correction for Effect of Cold Storage on Immature Platelet Fraction. *J Clin Lab Anal*. 2010; 24(6): 431–433.
- Moorhead KA, Discipulo ML, Hu J, Moorhead RC, Johns JL. Alterations due to dilution and anticoagulant effects in hematologic analysis of rodent blood samples on the Sysmex XT-2000iV. *Vet Clin Pathol*. 2016;45(2):215–224.