

İdiopatik trombositopenik purpura ön tanılı bir olguda EDTA'ya bağlı psödötrombositopeni

[EDTA-dependent pseudothrombocytopenia in a patient with the prediagnosis of idiopathic thrombocytopenic purpura]

Fatih Özçelik¹,
Muzaffer Öztosun²,
Murat Gülsün³,
Erol Arslan⁴,
Muhittin A. Serdar⁵

¹Gümüşsuyu Asker Hastanesi, Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı, İstanbul

²TSK Sağlık Komutanlığı, Sağlık Hizmetleri Komutanlığı, Ankara

³Isparta Asker Hastanesi, Psikiyatri Servisi, Isparta

⁴GATA Ankara, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara

⁵GATA Ankara, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara

Yazışma Adresi
[Correspondence Address]

Fatih Özçelik

Tıbbi Biyokimya Uzmanı
Gümüşsuyu Asker Hastanesi
Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı
34437 Taksim, İstanbul
Fax: +90 212 2519597
E Mail: 68ozcelik@myynet.com

Kayıt Tarihi : 30 Eylül 2011; Kabul Tarihi : 12 Haziran 2012
[Registered: 30 September 2011; Accepted: 12 June 2012]

ÖZET

Amaç: EDTA'ya bağlı psödötrombositopeni, EDTA ile antikoagüle edilen kandaki trombositlerin kümeleşmesi sonucu normalden düşük olarak saptanmasıyla karakterize bir fenomendir. Günümüzde trombositopeni tanısı konulan hastaların önemli bir kısmı aslında psödötrombositopeni olgularıdır. Bu olguların doğru olarak saptanması yanlış tedavi ve uygulamaların engellenmesi açısından önemlidir.

Yöntem: Psödötrombositopeni düşünülen hastanın EDTA'lı ve sedimentasyon analizi için alınmış sitratlı kanları kullanılarak oda sıcaklığında ve 37 °C'de trombosit sayıları ölçüldü. Ayrıca EDTA'lı kan örneğine kanamisin eklendikten sonra hem oda sıcaklığında hem de 37 °C'de trombosit sayımları tekrarlandı.

Bulgular: Ölçümler sonucunda EDTA'lı kan örneğindeki trombosit sayısı, hem oda sıcaklığı hem de 37 °C'de düşük olarak saptandı (sırasıyla, $13 \times 10^3/\text{mm}^3$ ve $19 \times 10^3/\text{mm}^3$). Ancak sitratlı ve kanamisin eklenmiş EDTA'lı kan örneklerinde, her iki sıcaklıkta da trombosit sayıları normal olarak bulundu.

Sonuç: Yapılan laboratuvar analizleri sonucunda ITP düşünülen hastanın gerçekte EDTA'ya bağlı psödötrombositopeni olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: İdiopatik Trombositopenik Purpura, Psödötrombositopeni, EDTA

Çıkar Çatışması: Yazarlar F. Özçelik, M. Öztosun, M. Gülsün, E. Arslan, M. A. Serdar'ın çıkar çatışması bulunmamaktadır.

ABSTRACT

Objective: EDTA-dependent PTCP is a phenomenon characterized by a spurious low platelet count due to platelet clumping in blood sample anticoagulated with EDTA. Nowadays, a significant number of patients who are considered thrombocytopenia are actually pseudothrombocytopenia cases. The detection of these cases is extremely important for prevention of the wrong treatments and practices.

Method: The platelet counts of the patient who was thought to have pseudothrombocytopenia were measured at room temperature and 37 °C by using the blood samples with EDTA and citrate taken for erythrocyte sedimentation rate. In addition, platelet counts were repeated at room temperature and 37 °C after adding kanamycin in blood sample containing EDTA.

Results: As a result of measurement, low platelet counts were found in blood sample containing EDTA at room temperature and 37 °C. However, platelet counts in blood samples containing citrate and kanamycin supplemented blood sample containing EDTA at both temperatures were normal.

Conclusion: In this paper, we presented a patient with a spurious diagnosis idiopathic thrombocytopenic purpura, but who is in fact a case of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia after laboratory analyses.

Key words: Idiopathic Thrombocytopenic Purpura, Pseudothrombocytopenia, EDTA.

Conflict of Interest: The authors F. Özçelik, M. Öztosun, M. Gülsün, E. Arslan, M. A. Serdar does not have a conflict of interest.

Giriş

Günümüzde etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) kan alma tüplerinde antikoagülasyon amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak EDTA, nadiren de olsa trombositlerin kümeleşmesiyle karakterize bir psödotrombositopeniye neden olabilir. Trombositlerin bu kümeleşmesinden trombosit yüzey antijenlerine karşı oluşmuş IgM, IgG ve IgA yapısındaki otoantikörler sorumludur [1-3]. Düşük sıcaklık ve EDTA'nın kalsiyum iyonlarına bağlanırken oluşturduğu kombine etki, normalde saklı olan ve trombosit yüzeyinde bulunan glikoprotein IIb/IIIa molekülünü etkileyerek glikoprotein IIb epitopunu açığa çıkarır. Eğer kişide bu epitopa karşı otoantikör mevcutsa, antikör trombositlere bağlanarak trombositlerin kümeleşmesine neden olur [3-5]. Bu tedavi gerektirmeyen EDTA'ya bağlı psödotrombositopeni (EDTA-PTP) fenomeni, çoğu zaman gerçek trombositopenilerle karıştırılır. Klinik açıdan, psödotrombositopeninin hızlı ve kesin olarak belirlenmesi, gereksiz tedavi ve işlemlerin önlenmesi için önemlidir [1, 2].

Psödotrombositopenilerin en yaygın formu olan EDTA-PTP'nin görülme sıklığı 1/1000 olarak tahmin edilmektedir. Sodyum sitrat ve heparin gibi antikoagülanlara bağlı ortaya çıkan psödotrombositopeniler ise daha nadirdir [3, 6]. Psödotrombositopeni hasta kişilerde görülebildiği gibi sağlıklı kişilerde de görülebilir [7].

Bu sunumda, ITP tanısıyla hastanemize başvurmış ancak yapılan analizler sonucunda gerçekte EDTA-PTP olduğu saptanan bir hasta ele alındı. Bu sayede fenomenle sık karşılaşacaklarını düşündüğümüz laboratuvar uzmanlarının dikkatini çekmeyi hedefledik.

Hasta ve Yöntem

Trombosit düşüklüğü nedeniyle daha önce ITP ön tanısı almış 34 yaşındaki kadın hasta iç hastalıkları polikliniğine müracaat etti. Hastanın yapılan sorgulamasında; birkaç gün önce halsizlik, kırgınlık, baş ağrısı, ateş ve burun akıntısı nedeniyle bir tıp merkezine gittiği, bu merkezde yapılan muayene ve tetkikleri sonucunda gribal enfeksiyon ve trombosit düşüklüğü ile ITP ön tanısını aldığı saptandı. Hastanın, durumunu teyit etmek için ikinci bir tıp merkezine başvurduğu ve buradan da benzer sonuçla tam donanımlı bir hastaneye müracaatının önerildiği belirlendi.

Hastanın kan analiz sonuçları incelendiğinde; birinci tıp merkezinde trombosit sayısı $9 \times 10^3/\text{mm}^3$, lökosit sayısı $5600/\text{mm}^3$, eritrosit sayısı 4.5 milyon/ mm^3 , hemoglobin değeri 12.4 g/dl, hematokrit değeri %36.8 ve sedimantasyon değerinin 7 mm/saat, ikinci tıp merkezinde ise trombosit sayısı $11 \times 10^3/\text{mm}^3$, lökosit sayısı $6100/\text{mm}^3$, eritrosit sayısı 4.4 milyon/ mm^3 , hemoglobin düzeyi 12.8 g/dl ve hematokrit değeri %37.9 olarak saptandığı belirlendi.

Olgu Analizi

Hasta ileri tetkik ve izlem amacıyla hastaneye yatırıldı. Yapılan fizik muayenesinde ateş 37.0°C , arteriyel kan basıncı 135/80 mm Hg, nabız 112 vuru/dakika olarak tespit edildi. Çıplak gözle ve otoskopla yapılan muayenede her-

hangi bir peteşi, purpura, morarma, diş eti ve burun kanaması tespit edilmedi. Oldukça endişeli olduğu tespit edilen hastanın diğer sistem muayeneleri ise normaldi. EKG'si sinüs taşikardisi dışında normal olarak değerlendirildi. Hastanın yapılan ilk laboratuvar tetkiklerinde trombosit sayısı $13 \times 10^3/\text{mm}^3$, lökosit sayısı $5900/\text{mm}^3$, eritrosit sayısı 4.6 milyon/ mm^3 , hemoglobin düzeyi 12.6 g/dl, serum glukoz düzeyi 86 mg/dl, serum üre düzeyi 29 mg/dl, serum kreatinin değeri 1.0 mg/dl, C-Reaktif protein düzeyi 12 mg/L, sedimantasyon değeri 6, tiroid stimüle edici hormon düzeyi 1.1 mIU/ml ve fT4 düzeyi 1.7 ng/dl olarak saptandı.

Trombosit sayısı düşük olarak saptanan hastanın, EDTA'lı ve sedimantasyon için alınan sitratlı kan örnekleri kullanılarak psödotrombositopeni açısından ileri tetkikleri yapıldı. Tetkikler dört aşamada tamamlandı: Hastadan EDTA'lı ve sitratlı (eritrosit sedimantasyon hızı tüpüne) kan örnekleri alındı. Bu örnekler kullanılarak oda sıcaklığında hastanın trombosit sayısı ölçüldü. Sitratlı örnek sonuçları 1.25 dilüsyon faktörü (1.6 kan + 0.4 sitrat nedeniyle) ile çarpıldı.

İlk aşamada kullanılan kan örneklerinde, 37°C 'de 30 dakika bekletildikten sonra trombosit sayımları tekrarlandı. EDTA'lı kan örneğine 1 ml başına 20 mg kanamisin (KN-EDTA) eklendi. Trombosit sayımları oda sıcaklığında ve 37°C 'de 30 dakika bekletildikten sonra tekrarlandı.

Oda sıcaklığında ve 37°C 'deki EDTA'lı, KN-EDTA'lı ve sitratlı kan örnekleri kullanılarak periferik yaymalar yapıldı. Periferik yayma için Giemsa boyası kullanıldı.

Bulgular

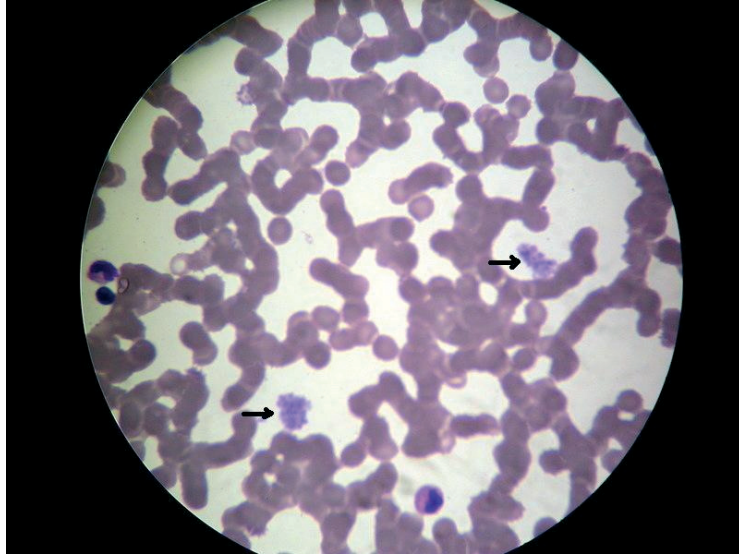
Hastanın oda sıcaklığındaki EDTA'lı kan örneğinde oldukça düşük ölçülen trombosit sayısı, sitratlı ve KN-EDTA'lı kan örneklerinde hem oda sıcaklığında hem de 37°C 'de normal olarak bulundu. Ancak 37°C 'deki EDTA'lı kan örneğinde trombosit sayısındaki düşüklük devam etmekteydi. Sitratlı ve KN-EDTA'lı kan örneklerine ait lökosit sayısı değerleri ise EDTA'lı örneğin sonuçlarına kıyasla daha düşüktü. Her iki sıcaklıkta sitratlı ve KN-EDTA'lı kan örneklerinden ölçülen lökosit ve trombosit sayıları arasında belirgin bir fark yoktu (Tablo 1).

Hem oda sıcaklığında hem de 37°C 'de EDTA'lı kan örneğinden hazırlanan periferik yaymalarda her alanda yaygın küme trombositlere rastlandı (Şekil 1). Sitratlı ve KN-EDTA'lı örneklerle hazırlanan yaymalarda ise bu yaygın kümelere rastlanmadı.

Hastanın hastanemizden taburcu edildikten 6 ay sonraki EDTA'lı ve sitratlı kan örneklerinde ölçülen trombosit sayısı normal olarak saptandı.

Tartışma

Psödotrombositopeni için karakteristik özellik invitro ortamda EDTA içeren kandaki trombosit sayısının yanlış olarak düşük bulunmasıdır. Bunun sebebi düşük sıcaklık ve EDTA'lı ortamda trombositlerin kümeleşmesine neden olan antitrombosit antikörlerinin varlığıdır [1, 8]. Günümüzde trombositopeni tanısı konulan hastaların önemli bir kısmı gerçekte EDTA-PTP olgularıdır [6].



Şekil 1. Oda sıcaklığında EDTA'lı kan örneğinden hazırlanan periferik yaymanın 100 büyütmedeki mikroskopik görüntüsü. Yayımda trombositlerin oluşturdukları kümeler görülmektedir.

Bu olguların bir kısmı çoğu zaman ITP olarak değerlendirilebilmektedir. Oysa psödotrombositopeni olgularında trombosit sayısı ve fonksiyonunda gerçekte herhangi bir anormallik yokken ITP olgularında bağışıklık sistemindeki bir bozukluk nedeniyle trombositlere karşı oluşan otoantikorlara bağlı otoimmün bir hastalık söz konusudur. Bu otoantikorlar trombositlere bağlanarak trombositlerin bağışıklık sistemi tarafından yıkılmasına neden olurlar [9]. ITP vakalarında tedavinin hedefi; bağışıklık sisteminin baskılanarak trombositlere karşı antikor oluşumunu önlemek ve böylece dalakta trombositlerin yıkımını engellemektir. Bu amaçla kortikosteroid, intravenöz immünglobulin, trombosit süpsansiyonları ve splenektomi önerilmektedir [10]. Ancak bu tedavilerin iştah artışı, vücutta tuz ve su tutulumu, kan şekerinde yükselme, hipertansiyon, deride incelme, kadınlarda kılınma ve adet düzensizlikleri, enfeksiyonlara eğilimde artma gibi önemli komplikasyonları vardır [11]. Bu nedenle psödotrombositopeni fenomeni, ITP ile karıştırılırsa hastalar ciddi zararlar görebilirler [7]. Ayrıca ayırıcı tanı için yapılacak olan gereksiz tetkik ve işlemler, zaman, iş gücü ve ekonomik kayıplara neden olacaktır. Burada sunulan ITP ön tanılı hasta, ITP tedavisinden kaynaklanabilecek ciddi zararlara maruz kalmamıştı. Ancak ciddi bir hastalığa yakalanmış olma endişesiyle psikolojik açıdan etkilenmiş ve durumsal anksiyeteye bağlı bir sinüs taşikardisi geçirmiştir. Laboratuvar analizleri sonucunda ITP olmadığını öğrenen hastanın durumsal anksiyete bulguları dramatik olarak düzeldi. Sonuçta, yaşanan bu olay yanlış konabilecek tanının yalnız fiziksel, ekonomik ve iş gücü kaybına değil, aynı zamanda psikolojik olarak da önemli yeti yitimlerine neden olabileceğini gösterdi. Bu nedenle laboratuvar uzmanlarının psödotrombositopeniyi gerçek trombositopeniden ayırt edebilmesi oldukça önemlidir. Ancak trombositopeni tanısı sadece laboratuvar bulgularına dayanarak değil, klinik bulgularla birlikte değerlendirilerek bir klinisyen tarafından konulmalıdır.

Psödotrombositopeniyi saptamak için farklı yöntemler bulunmuştur. EDTA yerine diğer antikoagülanların (sodyum sitrat, oksalat ve heparin) kullanılması [12, 13], EDTA ile antikoagüle edilmiş kanın 37 °C'ye getirilerek incelenmesi [1, 4], mikroskop altında trombosit kümeleşmesinin saptanması [5], mekanizması henüz bilinmemesine rağmen kanamisin eklenmiş kan örneklerinin kullanılması bu yöntemlerdendir [8]. Çalışmamızda psödotrombositopeniyi saptamak amacıyla EDTA yerine antikoagülan olarak ilk aşamada sitratı seçtik. Eğer sitratlı örnekte gerçek trombosit sayısına ulaşılamazsa heparin veya diğer antikoagülanlar düşünülebilir. Kan örneğinin 37 °C'ye getirilerek incelenmesinde temel mekanizma, glikoprotein IIb/IIIa kompleksinin bu sıcaklıkta ayrışmasıyla trombositlerin kümeleşememesine bağlanmıştır [4]. Ancak psödotrombositopeniyi sahip bazı vakalarda bilinmeyen bir mekanizma nedeniyle kümeleşmenin 37 °C'de de devam ettiği bildirilmiştir [1]. Bizim olgumuzda da EDTA'lı örneğin 37 °C'ye getirilmesine rağmen trombosit sayısında belirgin düzelme olmaması buna bağlanmıştır. Bu durum, hem oda sıcaklığında hem de 37 °C'de aktive olabilen farklı bir trombosit aglütinin varlığını akla getirdi.

Psödotrombositopeni ve ITP ayırıcı tanısı için yapılacak olan mikroskopik incelemelerde trombosit sayısı ve morfolojisi değerli bilgiler verebilir. Nitekim trombosit sayısı normal olan ITP olgularında trombosit büyüklükleri ve morfolojileri normal iken trombosit sayısı <50.000/µl olanlarda ise trombositler daha büyüktür (14). ITP'de gözlenen trombosit büyüklüğündeki artış, myeloproliferatif bozukluklarda, megaloblastik anemi, Bernard-Soulier sendromu ve May-Heggelin anomalisinde de görülebilir (15). Psödotrombositopeni fenomeninde ise trombositler normal büyüklük ve morfolojiye sahiptir ancak yaygın kümeleşme gösterirler (2, 5). Olgumuzda ise EDTA'lı örneğe kıyasla oda sıcaklığındaki sitrat-

lı ve KN-EDTA'lı örneklerden yapılan yaymalarda trombosit kümeleşmesi yaygın olmadığı gibi trombosit sayısı ve büyüklükleri de normaldi. Bu bulgu olgunun ITP hastası olmadığını ve psödotrombositopeninin saptanmasında sitratlı ve KN-EDTA'lı örneklerin kullanımını desteklemektedir. Sonuç olarak periferik yayma psödotrombositopeninin saptanmasında önemli bir yöntemdir. Ancak bu yöntem psödotrombositopeni açısından fikir verse de gerçek trombosit sayısını tam olarak belirleyememekte ve boyama esnasındaki hatalardan da etkilenmektedir.

Sitratlı örneklerde yapılan analizler sonucunda gerçek trombosit sayısına ulaşılması sedimantasyon için alınmış sitratlı örneklerin EDTA-PTP'yi saptamak amacıyla kullanılabileceğini gösterdi [13]. Ayrıca EDTA'lı örneğin yanında genellikle sedimantasyon için alınmış sitratlı örneğin de bulunması sayesinde hastadan tekrar kan almaya gerek kalmayacaktır. Hastada EDTA ve sitrata bağlı psödotrombositopeni bulunması durumunda trombosit kümeleşmesi için gerekli olan soğuk ortamı engellemek için örnekler 37 °C'ye getirildikten sonra ölçümler tekrarlanabilir [4]. Ancak örneklerin 37 °C'ye getirilmesine rağmen trombosit kümeleşmesi devam edebilir. Bu durumda EDTA'lı örneğe kanamisin eklenerek psödotrombositopeni tespit edilebilir. Bu yüzden laboratuvar uzmanlarına kanamisin veya KN-EDTA'lı tüpleri bulundurmalarını önermekteyiz.

Hastanın taburcu edildikten 6 ay sonraki trombosit sayımlarının normal olarak saptanması, daha önceden bildirildiği gibi anti-trombosit antikorların enfeksiyon veya ilaç kullanımı ile ortaya çıkıp, belirli süre sonra kaybolabileceğinin kanıtıdır [6].

Psödotrombositopenide diğer önemli bir konu, trombosit kümelerinin kan sayım cihazlarında küçük lenfositler gibi algılanarak lökositlerin hatalı şekilde yüksek sayılmasıdır. Gribal enfeksiyon nedeniyle aslında lökopenik olması beklenen hastanın lökosit sayısının normal bulunması bunun önemli bir kanıtı olabilir. Laboratuvar uzmanları psödotrombositopeniden şüphelenilen vakalarda bu olasılığı göz önünde bulundurmalıdır.

Sonuç olarak, ITP olarak değerlendirilen hastaların bir kısmı tedavi gerektirmeyen EDTA-PTP olgularıdır. Bu olgular tekrar kan alınmasına gerek kalmadan sedimantasyon için alınan sitratlı örnekler kullanılarak kolaylıkla tespit edilebilir.

Teşekkür

Yazarlar Uğur İlga (Gümüşsuyu Asker Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul) ve Nigar Özçelik (Harp Akademileri Dispanseri, İlk Yardım Servisi, İstanbul) ve İsmail Kurt'a (GATA Ankara, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara) kanların toplanması, periferik yaymaların hazırlanması, fotoğraflanması ve literatürlerin bulunmasındaki katkılarından dolayı teşekkür ederler. Psödotrombositopeni fenomeninin saptanması ile ilgili proje F. Özçelik, M. Öztosun ve M. A. Serdar tarafından oluşturuldu. Hastanın muayenesi, ön tanısı, psikolojik değerlendirmesi ve sonlandırma işlemleri M. Gülsün ve E. Arslan tarafından yapıldı. Makalede yer alan

yazarlardan Erol Arslan Gümüşsuyu Asker hastanesine Bağlı Balmumcu Polikliniği, Muzaffer Öztosun ise Gümüşsuyu Asker hastanesi Laboratuvar Bölüm şefi olarak görev yapmaktaydı.

Çıkar Çatışması

Yazarlar F. Özçelik, M. Öztosun, M. Gülsün, E. Arslan, M. A. Serdar'ın çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Kaynaklar

- [1] 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.
- [2] 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(3):195-201.
- [3] Casonato A, Bertomoro A, Pontara E, Dannhauser D, Lazzaro AR, et al. EDTA dependent pseudothrombocytopenia caused by antibodies against the cytoadhesive receptor of platelet gplIb-IIIa. *J Clin Pathol*. 1994;47(7):625-30.
- [4] Fiorin F, Steffan A, Pradella P, Bizzaro N, Potenza R, et al. IgG platelet antibodies in EDTA-dependent pseudothrombocytopenia bind to platelet membrane glycoprotein IIb. *Am J Clin Pathol* 1998;110(2):178-83.
- [5] Stiegler H, Fischer Y, Steiner S, Strauer BE, Reinauer H. Sudden onset of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia after therapy with the glycoprotein IIb/IIIa antagonist c7E3 Fab. *Ann Hematol*. 2000;79(3):161-4.
- [6] Mori M, Kudo H, Yoshitake S, Ito K, Shinguu C, et al. Transient EDTA-dependent pseudothrombocytopenia in a patient with sepsis. *Intensive Care Med* 2000;26(2):218-20.
- [7] Allerheiligen D, Houston R, Vermedahl B. EDTA-induced pseudothrombocytopenia. *J Am Board Fam Pract* 1996;9(3):212-4.
- [8] 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(4):817-23.
- [9] Chu YW, Korb J, Sakamoto KM. Idiopathic thrombocytopenic purpura. *Pediatr Rev* 2000;21(3):95-104.
- [10] British Committee for Standards in Haematology General Haematology Task Force. Guidelines for the investigation and management of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults, children and in pregnancy. *Br J Haematol*. 2003;120(4):574-96.
- [11] Donihi AC, Raval D, Saul M, Korytkowski MT, DeVita MA. "Prevalence and predictors of corticosteroid-related hyperglycemia in hospitalized patients". *Endocr Pract*. 2006;12(4):358-62.
- [12] Lombarts AJ, de Kieviet W. Recognition and prevention of pseudothrombocytopenia and concomitant pseudoleukocytosis. *Am J Clin Pathol* 1988;89(5):634-9.
- [13] Ozcelik F, Arslan E, Serdar MA, Yiginer O, Oztosun M, et al. (2012) A Useful Method for the Detection of Ethylenediaminetetraacetic Acid- and Cold Agglutinin-Dependent Pseudothrombocytopenia. *Am J Med Sci*. 6 January doi: 10.1097/MAJ.0b013e318242603d [Epub ahead of print]
- [14] Zeigler Z, Murphy S, Gardner FH. Microscopic platelet size and morphology in various hematologic disorders. *Blood*. 1978;51(3):479-86.
- [15] Lynch EC. Peripheral Blood Smear. In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. 3rd edition. 1990; pp. 732-734, Boston: Butterworths.