

Evans Syndrome

Asri Ragil Kemuning¹

¹Fakultas Kedokteran IPB University

Pendahuluan

Evans Syndrome (ES) pertama kali diketahui oleh Robert Evans pada tahun 1951. *Evans Syndrome* merupakan penyakit autoimun yang langka, dimana sistem kekebalan tubuh menghasilkan antibodi yang secara keliru menghancurkan eritrosit, trombosit, dan kadang leukosit (neutrofil). *Evans Syndrome* (ES) dikarakteristikan dengan perkembangan simultan atau sekuensial dari *Autoimmune Haemolytic Anemia* (AIHA) dan *Immune Thrombocytopenia Purpura* (ITP) dan/atau *immune neutropenia* tanpa etiologi yang mendasari, sehingga *Evans Syndrome* merupakan diagnosa eksklusif.¹⁻⁵

Etiologi dan Patofisiologi

Insiden ES pada anak-anak dan dewasa di dunia belum diketahui, mengingat masih jarang angka kejadian sindroma ini serta definisi yang bervariasi dan terus berkembang selama bertahun-tahun. Beberapa tahun terakhir dilaporkan kasus dengan ES yang lebih besar baik pada anak maupun dewasa, akan tetapi sebagian besar literatur terbatas pada laporan kasus dan penelitian retrospektif, dengan definisi yang belum konsisten dan tindak lanjut jangka panjang yang tidak banyak.⁴

Sampai saat ini etiologi dan patofisiologi ES belum diketahui dengan pasti (idiopatik). *Evans Syndrome* banyak dikaitkan dengan infeksi penyakit lain. Sekitar 50% pasien ES terkait dengan kondisi autoimun seperti lupus erimatosus sistemik, gangguan limfoproliferatif dan penyakit autoimun lain, limfadenopati kronis, atau hipogamaglobulinemia serta vaksin MMR dan influenza.^{1,5-8}

AIHA merupakan suatu kondisi klinis dimana antibodi IgG dan atau IgM terikat pada permukaan sel darah merah dan menimbulkan destruksi eritrosit melalui jalur komplemen dan sistem retikuloendotelial. Destruksi eritrosit dari sirkulasi darah terjadi sebelum masa hidup normal eritrosit 120 hari. Mekanisme

hemolisis dapat terjadi dalam dua cara, hemolisis intravaskuler dan hemolisis ekstravaskuler. Hemolisis intravaskuler adalah destruksi eritrosit di sirkulasi diikuti keluarnya zat dalam sel ke plasma. Hemolisis ekstravaskuler yang lebih sering terjadi pada AIHA, adalah destruksi dan pengeluaran eritrosit melalui perubahan membran oleh makrofag hepar dan lien. Hal penting lain dalam ES yaitu bahwa hanya anemia hemolitik tipe hangat yang mencirikan kejadian *Evans Syndrome*.^{2,9-11}

ITP merupakan kelainan perdarahan yang ditandai dengan trombositopenia *isolated* (trombosit <150000/uL), yang tidak terkait kelainan sistemik. ITP dipercaya terjadi akibat adanya autoantibodi IgG yang menyerang protein struktural membran glikoprotein trombosit IIb-IIIa. Hal ini membuat trombosit difagositosis oleh makrofag lien dan sel Kupffer hepar.^{7,12}

Norton dan Roberts (2005) mendefinisikan *Evans syndrome* sebagai suatu kondisi tidak umum yang didefinisikan sebagai kombinasi (simultan atau sekuensial) dari ITP dan AIHA dengan hasil positif dari *Direct Antiglobulin Test* (DAT) dan tidak diketahui adanya penyakit lain yang mendasari. *Direct anti-human globulin* (DAT) adalah tes yang digunakan untuk menentukan apakah sel darah merah telah terlapisi secara *in vivo* oleh imunoglobulin atau komplemen atau keduanya.^{1,6}

Evans Syndrome juga dapat diikuti dengan timbulnya neutropenia karena kerusakan autoimun. Meskipun tingkat immunosupresi bisa berat, tidak ada kasus pasien ES dengan neutropenia yang dilaporkan mengalami infeksi yang mengancam jiwa. Kejadian AIHA, ITP, dan neutropenia dapat berkembang secara bersamaan saat penegakkan diagnosis, atau seperti dalam beberapa kasus, salah satu kondisi muncul lebih dulu dan kondisi lain muncul berurutan setelahnya.^{1,3,5-7}

Beberapa penulis memberikan gambaran yang berbeda-beda terkait mekanisme *Evans Syndrome*, tetapi semuanya berkaitan dengan disregulasi sistem imun dengan adanya antibodi terhadap eritrosit, trombosit dan / atau granulosit serta penurunan rasio CD4:CD8. Informasi tentang antigen yang dapat memacu reaksi antibodi tersebut sayangnya masih sulit didapatkan.^{1,6,13}

Patofisiologi ES kemungkinan melibatkan autoantibodi *non-cross-reacting* yang ditujukan terhadap antigen spesifik pada eritrosit, trombosit, atau neutrofil. Autoantibodi terhadap protein dasar golongan darah Rh yang menghancurkan sel darah merah, dan kelompok autoantibodi lain menyerang GPIIb / IIIa trombosit yang kemudian menghancurkan trombosit.^{1,2,6,7,10,14}

Teori tentang patofisiologi ES yaitu terkait adanya defisiensi CTLA-4 (CD152) dan LRBA. CTLA-4 (*Cytotoxic T-lymphocyte Associated Antigen*) atau CD152 adalah inhibitor reseptor transmembran pada permukaan sel T regulator yang mengikat dengan afinitas tinggi molekul CD80 / CD86 dalam *antigen presenting cells*, menyebabkan endositosis serta penurunan regulasi dan berkontribusi terhadap homeostasis imun. LRBA (*Lipopolysaccharide responsive and beige-like anchor*) adalah protein intraseluler yang mengikat fraksi sitoplasmik CTLA-4 dalam sel T regulator diikuti proses endositosis, agar tidak terjadi degradasi. Defisiensi CTLA-4 sebagai penyebab perubahan pada homeostasis sel T telah didokumentasikan pada hewan coba. Baru-baru ini, sebuah gen mutasi pada protein LRBA dan CTLA-4 telah dikaitkan dengan kejadian ES.^{1,3,4}

Teori lainnya adalah adanya defisit TPP2. Sebuah uji klinis baru-baru ini mengungkapkan bahwa *tripeptidyl peptidase 2* (TPP2) adalah molekul dengan peran penting dalam penuaan, autoimunitas, dan tumorigenesis. Kekurangan TPP2 dikaitkan juga dengan ES. Analisis serologis menunjukkan defisit TPP2 terkait dengan keberadaan anti-nukleolus, anti-sitoplasma, dan antibodi anti-nuklear.¹

Kelainan regulasi imun baik humoral maupun seluler telah ditunjukkan juga pada pasien ES dengan penurunan kadar T helper dan peningkatan sel T sitotoksik dengan rasio CD4 : CD8 yang rendah dibandingkan dengan orang sehat. Rasio ini dapat bertahan walau pasien sudah dilakukan splenektomi. Produksi berlebihan T limfosit sitotoksik atau aktivitas sel T helper yang menurun dapat mengurangi produksi imunoglobulin (Ig) M dan G, seperti yang diamati pada pasien *Common Variable Immunodeficiency* (CVID). Penelitian secara *in vitro* menunjukkan adanya peningkatan kadar interferon gamma dan interleukoin 10 melalui sekresi spontan sitokin T helper setelah aktivasi sel-T CD8+, yang kemudian diikuti

stimulasi autoreaktif sel-B melawan eritrosit dan trombosit. Peningkatan aktivitas sel T-CD8+ ini bisa saja menyebabkan defisiensi CTLA-4, yang mengatur produksi sitokin inflamasi. Mekanisme ini dianggap dapat menyebabkan gangguan homeostasis sel-T dengan peningkatan konsentrasi interferon gamma dan aktivasi sel B yang menyerang eritrosit dan trombosit. Penurunan populasi sel Th dan peningkatan populasi sel T sitotoksik sama dengan yang ditemukan pada anemia hipoplastik kongenital dan trombositopenia amegakariotik. Penemuan ini memunculkan spekulasi bahwa sitopenia pada sindrom Evans mungkin berkorelasi dengan abnormalitas sel T.^{1-3,6,8,13,14}

Peran imunisasi masa kanak-kanak dalam pengembangan ITP atau AIHA telah diteliti oleh sejumlah penulis meskipun hubungan spesifik ES dan imunisasi belum pernah dilaporkan. Trombositopenia pernah dilaporkan muncul pada anak yang mendapat vaksinasi *Mumps, Measles, Rubella* (MMR), dengan memperkirakan risiko untuk ITP terjadi dalam waktu 6 minggu setelah vaksinasi MMR dan risiko yang mungkin timbul untuk berkembang menjadi ITP dalam 6 minggu vaksinasi menjadi 1 dari 25.000 vaksinasi. Nieminem *et al* pada tahun 1993 melaporkan frekuensi ITP 1 banding 40.000 kejadian pada mereka yang menjalani vaksinasi MMR. Dalam kasus AIHA, AIHA yang mengancam jiwa telah dideskripsikan pada seorang gadis berusia 6 minggu, 5 hari setelah vaksinasi diptheria-pertusis-tetanus (DPT) pertamanya. AIHA juga dapat berkembang setelah vaksinasi MMR. Dua anak dalam laporan oleh Seltsam dkk tahun 2000 juga menunjukkan AIHA setelah vaksinasi ulang DPT, polio, dan hepatitis B. Hal ini mencerminkan adanya respon imun sekunder. Secara keseluruhan, laporan-laporan ini menunjukkan bahwa imunisasi dapat menjadi pemicu perkembangan penyakit *Evans Syndrome* pada individu yang rentan dan juga dapat menyebabkan peningkatan risiko yang berkelanjutan.⁵

Manifestasi Klinis

Gejala dan tingkat keparahan *Evans syndrome* sangat bervariasi dari satu orang ke orang lainnya, termasuk onset, perjalanan, dan durasi penyakit. Sebagian besar individu menunjukkan perjalanan penyakit kronis dengan periode eksaserbasi

(memburuk) dan periode remisi, dimana biasanya diinduksi sementara oleh pengobatan. Gambaran klinis pasien ES yang muncul berhubungan dengan anemia dan trombositopenia. Pasien dapat datang dengan AIHA atau ITP baik secara terpisah atau bersamaan. Perkembangan sitopenia kedua dapat terjadi berbulan-bulan hingga bertahun-tahun setelah sitopenia imun pertama, dan hal ini dapat menyebabkan penegakkan diagnosis yang terlambat. Neutropenia juga dapat terjadi pada pasien ES hingga 55%.^{1,4,6,14}

Rendahnya kadar eritrosit yang beredar karena anemia hemolitik dapat menyebabkan berbagai gejala seperti kelelahan, pucat, nyeri kepala, sesak napas, urin berwarna gelap, takikardi, dan bahkan gagal jantung pada kasus yang parah. Beberapa pasien mungkin dapat timbul demam dan memiliki warna kuning pada kulitnya, terutama pada sklera.^{5,6,15}

Rendahnya jumlah trombosit dapat menyebabkan gejala-gejala perdarahan spontan berupa bintik-bintik kemerahan atau ungu pada kulit (petekiae), ekimosis, purpura yang muncul di ekstremitas atas dan ekstremitas bawah, perdarahan juga dapat muncul pada membrane mukosa palatum, septum nasi yang bermanifestasi sebagai perdarahan gusi atau epistaksis, serta gejala perdarahan pervaginam berupa menometrorrhagia. Terapi immunosupresif yang berkepanjangan dan atau terkait defisit imun yang mendasarinya dapat menyebabkan peningkatan risiko 66,6% pasien mengalami infeksi saluran pernapasan.^{1,5,12}

Pemeriksaan fisik ES menunjukkan adanya ikterik, limfadenopati, hepatomegali, dan atau splenomegali. Organomegali ini dapat muncul secara intermiten atau kronis, dan dalam beberapa kasus mungkin hanya tampak selama episode eksaserbasi akut. Keparahan penyakit bervariasi dari gejala ringan sampai mengancam nyawa.^{5,6,14,15}

Pemeriksaan Penunjang

Pasien dengan ES seringkali memiliki ketidaksesuaian antara gejala klinis dan tingkat keparahan kelainan laboratorium. Kelainan laboratorium walaupun dapat mengarahkan diagnosa AIHA dan ITP, tidak ada tes tunggal yang dapat mengkonfirmasi diagnosis ES. Riwayat klinis lengkap pasien perlu diketahui

untuk mengetahui kemungkinan terjadinya *Evans Syndrome* sekunder, seperti infeksi, keganasan, penyakit autoimun, riwayat vaksinasi dalam waktu dekat, obat-obatan atau riwayat gangguan imun keluarga. Hal ini penting, karena perlu diingat bahwa diagnosa ES primer adalah diagnosis eksklusi dan ES sekunder harus dicari penyakit yang mendasarinya karena pengobatan dan responsnya sangat berbeda antara ES primer dan sekunder. Pemeriksaan fisik secara menyeluruh difokuskan pada tanda-tanda anemia atau trombositopenia.⁵

Studi laboratorium yang membantu dalam penegakkan diagnosis dan manajemen ES adalah gambaran yang menunjukkan terjadinya AIHA dan atau ITP diantaranya hitung darah lengkap, evaluasi apusan darah tepi, kimia klinik, pemeriksaan urin, dan pemeriksaan imunologi antibodi. Pemeriksaan darah lengkap akan menunjukkan hasil sitopenia. Evaluasi apusan darah tepi merupakan langkah penting untuk setiap anemia, termasuk penilaian morfologi eritrosit untuk memeriksa adanya AIHA (gambaran poikilositosis, sferositosis, polikromasi, autoaglutinasi) dan untuk mengeksklusikan penyakit lain yang dapat mendasari gambaran AIHA-ITP seperti malignansi, anemia hemolitik mikroangiopati, hemolitik kongenital, dan kondisi trombositopenia.^{1,3,5,9}

Penilaian laboratoris ES yang muncul akibat AIHA secara khusus dibagi meliputi 3 kelompok, yaitu :

1. **Gambaran peningkatan pemecahan eritrosit.** Laktat dehidrogenase dan hemoglobin dilepaskan ke dalam sirkulasi saat sel darah merah dihancurkan. Hemoglobin bebas diubah menjadi bilirubin tak terkonjugasi di lien atau dapat diikat dalam plasma oleh haptoglobin. Kompleks hemoglobin-haptoglobin dibersihkan dengan cepat oleh hati, menyebabkan penurunan kadar haptoglobin sampai kadar yang tidak terdeteksi. Dalam kasus hemolisis intravaskular berat, kapasitas pengikatan haptoglobin meningkat dengan cepat, dan hemoglobin bebas difiltrasi oleh glomerulus. Sel-sel tubulus ginjal dapat menyerap hemoglobin dan menyimpan zat besi dalam bentuk hemosiderin. Hemosiderinuria dideteksi dengan pewarnaan *Prussian blue* sebagai sel tubular yang mengelupas di sedimen urin kira-kira satu minggu setelah timbulnya hemolisis. Hemoglobinuria, yang menyebabkan urin berwarna

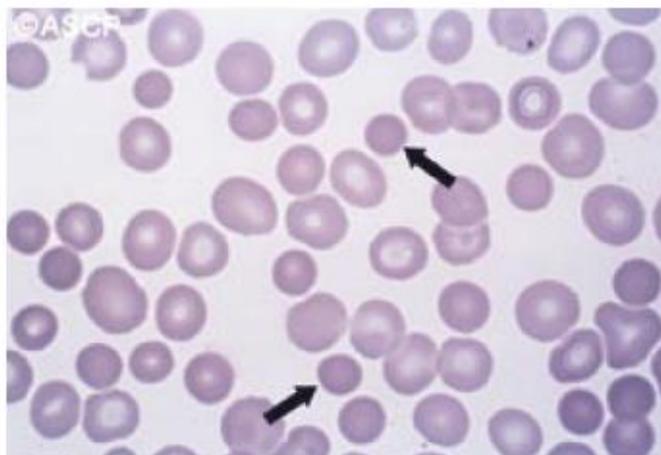
merah-coklat, diindikasikan oleh reaksi dipstick urin positif untuk heme pada kondisi tidak ditemukannya eritrosit urin.^{5,16-19}

Adanya destruksi eritrosit pada ES dapat dilihat dengan beberapa pemeriksaan berikut :

- a. Peningkatan bilirubin indirek serum
- b. Peningkatan hemoglobin dan uribilinogen urin.
- c. Penigkaran sterkobilinogen feses
- d. Peningkatan kadar LDL, terutama LDH isoenzim-2.
- e. Haptoglobin serum jauh berkurang atau hilang sama sekali

2. Gambaran peningkatan produksi eritrosit

- a. Peningkatan retikulosit. Retikulositosis merupakan respons normal dari sumsum tulang pada kondisi hilangnya sel darah merah di darah tepi. Retikulositosis perlu diamati dalam tiga hingga lima hari setelah terjadi penurunan hemoglobin.
 - b. Hiperplasia eritroid dari sumsum tulang belakang, dengan rasio M : E dapat berkurang menjadi 1:1 atau bahkan terbalik.
3. **Kerusakan eritrosit.** Kerusakan eritrosit itu sendiri dapat dilihat pada evaluasi apusan darah tepi. Gambaran evaluasi apusan darah tepi menunjukkan gambaran aglutinasi, polikromasi akibat peningkatan retikulosit, dan gambaran poikilositosis dengan ditemuan sferosit.^{9,10,15,19}



Gambar 1. Kelainan morfologi eritrosit (sferosit) akibat hemolisis⁹

Pemeriksaan sumsum tulang dapat digunakan untuk evaluasi *Evans syndrome* yang dibutuhkan untuk eksklusi proses infiltratif pada pasien yang menunjukkan hasil pansitopenia. Pada sumsum tulang dapat menunjukkan adanya hiperplasia eritroid dan peningkatan aktivitas megakariopoiesis seperti pada ITP. Megakariosit lebih besar ukurannya, dan bentuknya muda dengan nukleus tunggal, kontur yang halus, dan sitoplasma yang sedikit. Namun di sisi lain pemeriksaan biasanya tidak membantu karena temuan tidak spesifik dan mungkin normal.^{2,3,20,21}

Pemeriksaan adanya ITP pada pasien ES dapat menggunakan IPF (*Immature Platelet Fraction*), menunjukkan fraksi trombosit muda yang masih ada sisa-sisa RNA (seperti pada retikulosit). Sensitivitas dan spesifisitas IPF sebagai biomarker untuk mendiagnosis ITP adalah sebesar 86% dan 70%. Terdapat kolerasi terbalik antara jumlah trombosit dan IPF, semakin rendah jumlah trombosit maka semakin tinggi IPF-nya. Nilai IPF mencerminkan derajat keparahan destruksi trombosit. Sensitivitas pemeriksaan IPF sangatlah rendah untuk kasus-kasus trombositopenia yang bukan disebabkan ITP (sekitar 42%).^{20,21}

Pemeriksaan antibodi antiplatelet dan antigranulosit memiliki hasil yang berbeda-beda. Dalam laporan kasus oleh Fagiolo pada tahun 1976 pada 32 pasien dewasa dengan AIHA menunjukkan terdapat antibodi antiplatelet sebanyak 91%, terutama anti IIB-IIIa dan antibodi leukosit sebanyak 81% pasien. Pui dkk pada tahun 1980 menemukan antibodi antiplatelet hanya pada 2 dari 6 pasien yang dites dengan serotonin 14C dan antibodi granulositotoksik pada 3 dari 4 pasien.¹⁰

Pemeriksaan lainnya yaitu pemeriksaan kadar immunoglobulin. Kebanyakan pasien dengan sindrom Evans memiliki penurunan serum IgG, IgM, dan IgA dan penurunan pada sintesis *in vitro* IgG, IgM atau keduanya.^{2,10}

Antiglobulin test yang populer disebut dengan *Coomb's test*, ditemukan pertama kali oleh Coombs, Mourant dan Race pada tahun 1945 untuk mendeteksi antibodi yang tidak beraglutinasi dalam serum. *Coomb's test* menjadi sangat penting karena dapat mendeteksi antibodi IgG dan komplemen yang menghancurkan sel darah merah baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. Tes antiglobulin adalah metode untuk menunjukkan adanya antibodi atau komplemen

yang terikat pada membran eritrosit dengan menggunakan *anti-human globulin* untuk membentuk reaksi aglutinasi yang terlihat. Antiglobulin test terdiri dari *Indirect Antiglobulin Test* (IAT) dan *Direct Antiglobulin test* (DAT). IAT adalah pemeriksaan yang dilakukan untuk mengetahui antibodi yang beredar di plasma pasien, sedangkan DAT untuk melihat antibodi atau komplemen yang terikat langsung ke sel darah merah pasien, menunjukkan sensitisasi *in vivo*.²²

PROGNOSIS

Seperti yang telah didiskusikan sebelumnya, *Evans syndrome* ditandai dengan episode ITP dan AIHA berulang dan remisi. Pada beberapa pasien tampaknya penyembuhan jangka panjang hanya dapat dicapai dengan terapi *stem cell*. *Follow-up* jangka panjang sebagian besar peneliti menggambarkan episode ITP lebih sering terjadi dibandingkan dengan episode AIHA, dan lebih sulit dikendalikan. Penyebab kematian ES terutama terkait dengan perdarahan atau sepsis. Penelitian jangka panjang, mengingat derajat disregulasi imun terlihat pada banyak pasien, tetap tidak menemukan adanya perkembangan pasien ES menjadi keganasan (terutama pada anak-anak).^{1,3,5}

KESIMPULAN

Evans syndrome adalah kondisi tidak umum yang didefinisikan oleh kombinasi (baik secara simultan atau berurutan) dari ITP dan AIHA dengan DAT positif tanpa diketahui adanya etiologi yang mendasari. *Evans syndrome* terjadi karena adanya autoantibodi yang menyerang eritrosit, trombosit, dan terkadang neutrofil. Kondisi ini umumnya berjalan secara kronis, ditandai dengan eksaserbasi dan remisi yang berulang. Studi prospektif jangka panjang dan uji klinis berasal dari pengetahuan pada patofisiologinya diperlukan untuk meningkatkan angka remisi dan mencegah terjadinya relaps.

REFERENSI

1. Jaime-pérez JC, Salazar-cavazos L, Gómez-almaguer D. Evans syndrome : clinical perspectives , biological insights and treatment modalities. *Journal of Blood Medicine*. 2018;9:171–184.
2. Chandra H, Chandra S, Sharma A. Diagnostic dilemma in Evans syndrome. *Medicine and Health Sciences*. 2015;3(1):91–3.
3. Norton A, Roberts I. Management of Evans syndrome. *British Journal of Haematology* (2005);132:125–137. doi:10.1111/j.1365-2141.2005.05809.x.
4. Grimes AB. Evans Syndrome : Background , Clinical Presentation , Pathophysiology , and Management. *J. M. Despotovic (ed.), Immune Hematology*:125–150. doi:10.1007/978-3-319-73269-5.
5. Al Hazmi A, Winters ME. Evans Syndrome. 2019;III(2):128–31. DOI:10.5811/cpcem.2019.1.41028.
6. Pinto A, Lindemeyer RG, Alawi F. Management of a young patient with combined autoimmunity : Evans Syndrome : a case report. *Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;103:505-11. doi:10.1016/j.tripleo.2006.07.022.
7. Ghashghaei R, Popa R, Shen, J. Evans Syndrome. *Am. J. Med*. 2013;126(11), e7–8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2013.05.026>.
8. Kabir A, *et al*. Evans syndrome. *J. Med*. 2010;11:78-82.
9. Dhaliwal G, Cornett PA, Tierney LM. Hemolytic Anemia. *American Family Physician*. 2004;69(11):2599–606.
10. Lefkou E, Nelson-piercy C, Hunt BJ. Evans syndrome in pregnancy : A systematic literature review and two new cases. *Eur. J. Obstet. Gynecol*. 2010;149(1):10-17. doi:10.1016/j.ejogrb.2009.11.022.
11. Chaudhary RK, Das SS. Autoimmune hemolytic anemia : From lab to bedside. *Asian J Transfusion*. 2014;8(1):5-12. doi: 10.4103/0973-6247.126681.
12. Zainal A, Salama A, Alweis R. Immune thrombocytopenic purpura. *J. Community Hosp. Intern. Med. Perspect*. 2019;9(1):59–61.

<https://doi.org/10.1080/20009666.2019.1565884>.

13. Simon OJ, et al. Evans syndrome associated with sterile inflammation of the central nervous system : a case report. *Journal of Medical Case Reports*. 2013;7:1-6.
14. Kamamma R, Siddaraju ML, Badam S, Mahankali N. Evans syndrome with severe thrombocytopenia : a rare presentation. 2016;3(4):1474–6. <http://dx.doi.org/10.18203/2349-3291.ijcp20163705>.
15. Simarmata F. Seorang penderitanya Evans syndrome respon cepat terhadap terapi steroid. Denpasar : Program Pendidikan Dokter Spesialis Penyakit Dalam FK UNUD; 2017.
16. Aman A. Klasifikasi etiologi dan aspek laboratorik pada anemia hemolitik. USU Digit Lbr. 2003.
17. Packman CH. The Clinical Pictures of Autoimmune Hemolytic Anemia. 2015;42:317–24. doi:10.1159/000440656.
18. Zhang M, Zhang L, Pan W, Song X, Zhang SA. Case of recurrent and refractory Evans syndrome treated with rituximab, which led to severe fungal pneumonia. *Int. J. Clin. Exp. Med*. 2018;11(12):13887–91.
19. Hoffbrand AV. Hemolytic Anemias. Essential haematology. 5th ed. Malden, Mass. ; Oxford: Blackwell Pub; 2006. p. 58 – 71.
20. Neunert C, Lim W, Crowther M, Cohen A, Solberg L, Crowther MA. The American Society of Hematology 2011 evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia. *Blood*. 2011;117(16):4190-207. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-08-302984>.
21. Naz A, Mukry SN, Shaikh MR, Bukhari AR, Shamsi TS. Importance of immature platelet fraction as predictor of immune thrombocytopenic purpura. *J Med Sci*. 2016; 32(3) 575–579.
22. Parker V, Tormey CA. The direct antiglobulin test: Indications, interpretation, and pitfalls. *Arch. Pathol. Lab. Med*. 2017;141(2):305–10.