

**Análise de métodos imunofenotípicos no diagnóstico precoce de leucemias agudas**

**Analysis of immunophenotypic methods in early diagnosis of acute leukemias**

**Análisis de métodos inmunofenotípicos en el diagnóstico precoz de leucemias agudas**

Recebido: 22/11/2020 | Revisado: 24/11/2020 | Aceito: 03/12/2020 | Publicado: 06/12/2020

**Carla Cleiciane Brasilino Santos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9093-2201>

Faculdade Santa Maria, Brasil

E-mail: [carla.cleiciane@hotmail.com](mailto:carla.cleiciane@hotmail.com)

**Alexsandra Laurindo Leite**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7322-4449>

Faculdade Santa Maria, Brasil

E-mail: [alexsandralaurindo@gmail.com](mailto:alexsandralaurindo@gmail.com)

**Dandara Dias Cavalcante Abreu**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1023-7522>

Faculdade Santa Maria, Brasil

E-mail: [dandaradias@hotmail.com](mailto:dandaradias@hotmail.com)

**Pierri Emanuel de Abreu Oliveira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0575-0831>

Faculdade Santa Maria, Brasil

E-mail: [pierre.eao@gmail.com](mailto:pierre.eao@gmail.com)

**Resumo**

Objetivo: Evidenciar a importância da utilização da imunofenotipagem no diagnóstico precoce de leucemias agudas. Metodologia: Trata-se de uma revisão integrativa da literatura, onde foram utilizados 12 artigos publicados entre 2016 e 2020. O idioma dos artigos referenciados foram inglês e francês, coletados no Scielo, LILACS, BVS e EBSCO. Utilizando a busca avançada para os seguintes descritores: Immunophenotyping, Acute Leukemia, Flow cytometry. Resultado: Os artigos utilizados foram publicados entre os anos de 2016 e 2020. Os artigos explicitaram que o uso da imunofenotipagem, especificamente a citometria de fluxo, é um método de extrema importância para o diagnóstico de leucemias agudas. Foram apontados marcadores utilizados em cada tipo e subtipo de leucemia, evidenciando assim a peculiaridade da doença. Conclusão: A utilização de métodos

imunofenotípicos com exames de rotina contribui no diagnóstico precoce de pacientes com leucemias agudas, fazendo com que o tratamento seja feito também de forma precoce, aumentando assim a sobrevida desses indivíduos. De acordo com os estudos analisados, a imunofenotipagem está em constante evolução e promete simplificar o processo de diagnóstico de vários tipos de leucemias.

**Palavras-chave:** Imunofenotipagem; Leucemia aguda; Citometria de fluxo.

### **Abstract**

**Objective:** To highlight the importance of using immunophenotyping in the early diagnosis of acute leukemias. **Methodology:** This is an integrative literature review, using 12 articles published between 2016 and 2020. The language of the referenced articles was English and French, collected from Scielo, LILACS, BVS and EBSCO. Using the advanced search for the following keywords: Immunophenotyping, Acute Leukemia, Flow cytometry. **Results:** The articles used were published in the years 2016 and 2020. The articles demonstrated that the use of immunophenotyping, specifically flow cytometry, is an extremely important method for the diagnosis of acute leukemias. Markers used in each type and subtype of leukemia were identified, thus showing the peculiarity of the disease. **Conclusion:** The use of immunophenotypic methods with routine examinations contributes to the early diagnosis of patients with acute leukemia, making the treatment also be done early, thus increasing the survival of these individuals. According to the studies analyzed, immunophenotyping is constantly evolving and promises to simplify the process of diagnosis of various types of leukemia.

**Keywords:** Immunophenotyping; Acute Leukemia; Flow cytometry.

### **Resumen**

**Objetivo:** Destacar la importancia del uso de inmunofenotipificación en el diagnóstico precoz de leucemias agudas. **Metodología:** Se trata de una revisión integradora de la literatura, utilizando 12 artículos publicados entre 2016 y 2020. El idioma de los artículos referenciados fue inglés y francés, obtenidos de Scielo, LILACS, BVS y EBSCO. Mediante la búsqueda avanzada de las siguientes palabras clave: inmunofenotipificación, leucemia aguda, citometría de flujo. **Resultado:** Los artículos utilizados fueron publicados entre los años 2016 y 2020. Los artículos demostraron que el uso de inmunofenotipificación, específicamente citometría de flujo, es un método extremadamente importante para el diagnóstico de leucemias agudas. Se identificaron los marcadores utilizados en cada tipo y subtipo de leucemia, mostrando así

la peculiaridad de la enfermedad. Conclusión: El uso de métodos inmunofenotípicos con exámenes de rutina contribuye al diagnóstico precoz de los pacientes con leucemia aguda, haciendo que el tratamiento también se realice de forma precoz, aumentando así la supervivencia de estos individuos.

**Palabras clave:** Inmunofenotipificación; Leucemia aguda; Citometría de flujo.

## 1. Introdução

A leucemia é uma patologia maligna que agride o tecido hematopoiético e lesiona principalmente os glóbulos brancos. Ela resulta de uma desordem das células, ocasionando a proliferação de blastos, gerando insuficientemente células maduras. O seu principal aspecto é o acúmulo de células imaturas na corrente sanguínea, que substituem os leucócitos maduros. (Sousa, 2020)

A leucemia é a 6ª principal causa de morte por câncer. Nas últimas décadas, apesar dos avanços no diagnóstico e tratamento do câncer, a incidência de leucemia continuou aumentando cerca de 0,3% ao ano na última década, com apenas uma melhoria geral na sobrevivência de cerca de 1,5% ao ano. O manejo da leucemia é complicado pelo fato de ser um grupo heterogêneo de doenças que afeta tanto a população pediátrica quanto a adulta e demonstra suscetibilidade variável a agentes quimioterapêuticos e prognóstico. (Hamidah et al., 2020)

A ocorrência de leucemia no Brasil tem aumentado com o passar dos anos e nos dias atuais equivale o 9º câncer mais comum. Há uma prevalência maior no sexo masculino, com porcentagem de 41,7 a 57,7 ocorrências por milhão de habitantes. Os registros brasileiros afirmam que esse tipo de câncer ocorreu em 180.988 pessoas em 2011, com uma taxa de mortalidade de 16,4%. A dimensão de casos de leucemia entre as áreas é instável e dilatou desde a última descrição do Instituto Nacional do Câncer (INCA). A região norte foi determinada como a localidade com menor relação de desenvolvimento humano municipal (IDHM) e maior índice de mortalidade infantil. (Silva-Junior et al., 2019)

Segundo Moraes et al. (2017) os tipos de leucemias são fragmentados em dois grupos: aguda e crônica, que se subdividem em mieloide e linfóide, resultando em quatro grupos. As leucemias agudas são mais agressivas e se originam na hematopoiese, determinadas pelo aumento acelerado na produção ocasionando em um acúmulo de células hematopoiéticas, levando a insuficiência da medula óssea.

Para Bhat et al. (2020) os quatros principais tipos de leucemias são leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia linfoblástica crônica (LLC), leucemia mieloide aguda (LMA) e leucemia mieloide crônica (LMC). A LLA é um dos tipos mais comuns entre crianças no mundo, enquanto os demais tipos são mais comuns em adultos. Em todos os tipos de leucemia, a multiplicação incomum de células da medula óssea e do sangue prejudica a produção de células saudáveis. Deste modo, a anemia ocorre em indivíduos com leucemia, sucedendo em uma redução da eficiência no combate a infecções e distúrbios de coagulação.

As leucemias agudas são consequência de uma sequência de mutações somáticas em uma célula hematopoiética primitiva multipotente. Constitui a maior parte de neoplasias hematopoiéticas diagnosticadas em todo o mundo. A leucemia mielóide aguda (LMA) em adultos é responsável por 80 a 90 dos casos de leucemias agudas. A leucemia linfoblástica aguda (LLA) apesar de ser comum na infância, englobando 12% de todas as leucemias. A ocorrência aumenta novamente na sexta década, mas esse pico de idade está ausente nos países em desenvolvimento. (Choudhury et al., 2017)

As leucemias são determinadas quanto à citomorfologia e condição de maturação. Classificam-se em mielóide e linfóide. A mielóide se dá pela supressão medular e a Linfóide quando essa supressão ocorre nos linfoblastos. São classificadas também pelo estágio de maturação, sendo estas agudas ou crônicas. Desse modo, essas neoplasias são divididas em: Leucemia Mielóide Crônica (LMC), Leucemia Linfóide Crônica (LLC), Leucemia Mielóide Aguda (LMA) e Leucemia Linfóide Aguda (LLA). (Trindade Zocante, Cardoso Silva & Santos Parizi, 2020).

As técnicas de citoquímica e imunofenotipagem são as mais usadas para diagnóstico e estratificação de risco das leucemias agudas ainda na infância. Entre os métodos normalmente utilizados de imunofenotipagem estão a imuno-histoquímica e a citometria de fluxo. Opta-se pelo que apresenta maior especificidade e rapidez. Analisando as duas técnicas observa-se que a imuno-histoquímica é uma técnica bastante útil para complementar o diagnóstico em 95% dos casos, contribuindo para a conduta cirúrgica e terapêutica com baixo custo e benefício. A citometria de fluxo é a melhor ferramenta para o diagnóstico de triagem quando comparada com a imuno-histoquímica. Entretanto, a citometria de fluxo possui variadas barreiras, como o alto custo e tempo. (Sanddhya et al., 2016)

Na necessidade de um diagnóstico preciso e de rapidez nas leucemias, é utilizada uma combinação de exames para definir o tipo, subtipo e conseqüentemente, o tratamento ideal. O uso da avaliação hematológica juntamente com a imunofenotipagem são os métodos mais usados recentemente e que demonstram um resultado mais preciso e rápido. Contudo, o

objetivo desse estudo foi analisar o uso de tais métodos no diagnóstico de pacientes com leucemias agudas.

## 2. Metodologia

Trata-se de uma revisão integrativa de literatura sobre a utilização da citometria de fluxo no diagnóstico precoce de leucemias agudas.

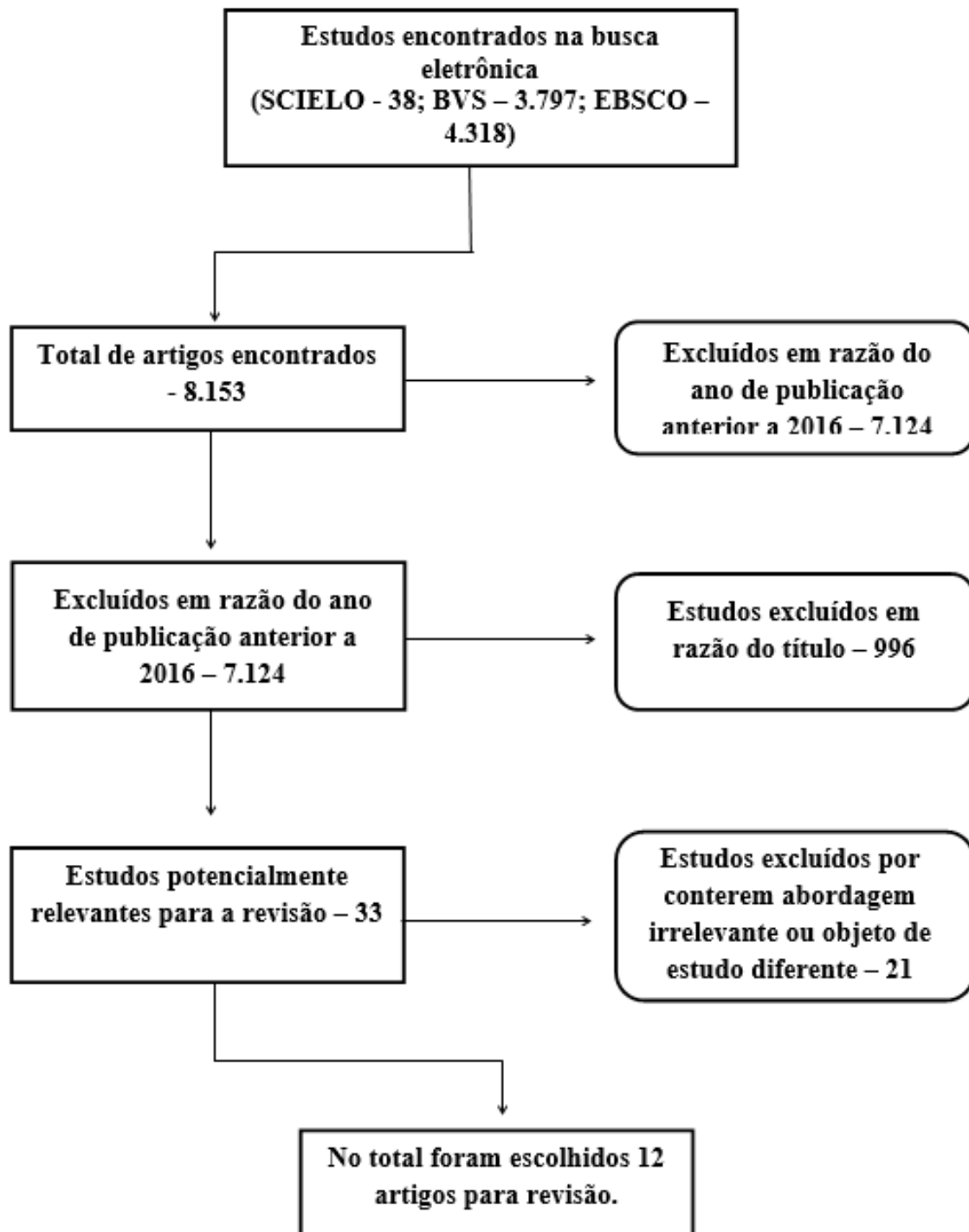
A revisão integrativa é uma norma que possibilita a síntese de informação e a introdução da finalidade de resultados de estudos relevantes na prática. Este tipo de estudo é a mais vasta abordagem metodológica relativa às revisões, possibilitando a inserção de estudos experimentais e não-experimentais para um discernimento completo do fato analisado. Correspondem ainda informações da literatura teórica e empírica, embora possua outros propósitos como: determinação de conceitos, revisão de teorias e fundamentos, e apreciação de problemas metodológicos de um tema específico. (Souza et al., 2010)

Para o desenvolvimento do estudo foi necessário obedecer as seis leis fases de acordo com Mendes et al., (2008) a 1ª é feita a identificação do tema, escolha da hipótese ou como será a pesquisa para a elaboração da revisão integrativa; 2ª organizar os critérios de inclusão ou exclusão do estudo e o processo de busca na literatura; 3ª tirar de dentro dos estudos conceitos das informações selecionadas e separação dos estudos; 4ª analise dos estudos incluídos na revisão integrativa; 5ª fase de entendimento dos resultados; 6ª apresentação da revisão e a abordagem do conhecimento.

Após estabelecer o tema, foi realizado o levantamento bibliográfico entre fevereiro e setembro de 2020, sendo empregados artigos científicos de revistas e periódicos atualizados. Foram utilizados como bases de pesquisa o Scientific Electronic Library online – SCIELO, Biblioteca Virtual de Saúde – BVS e Base de Dados da Faculdade Santa Maria – EBSCO, nos quais foram utilizados como critérios de inclusão: data de publicação e textos livremente disponíveis. Para critérios de exclusão foram escolhidos artigos que se repetiam nas bases de dados e artigos que não respondiam à questão norteadora – como o método de imunofenotipagem contribui no diagnóstico precoce das leucemias agudas?

Os artigos escolhidos foram classificados e ordenados em tabelas para melhor exposição dos artigos incluídos na revisão integrativa. Também foi utilizado um fluxograma, técnica usada na pesquisa, que ordena o número de artigos selecionados nas bases de dados e logo após adicionados os critérios de exclusão.

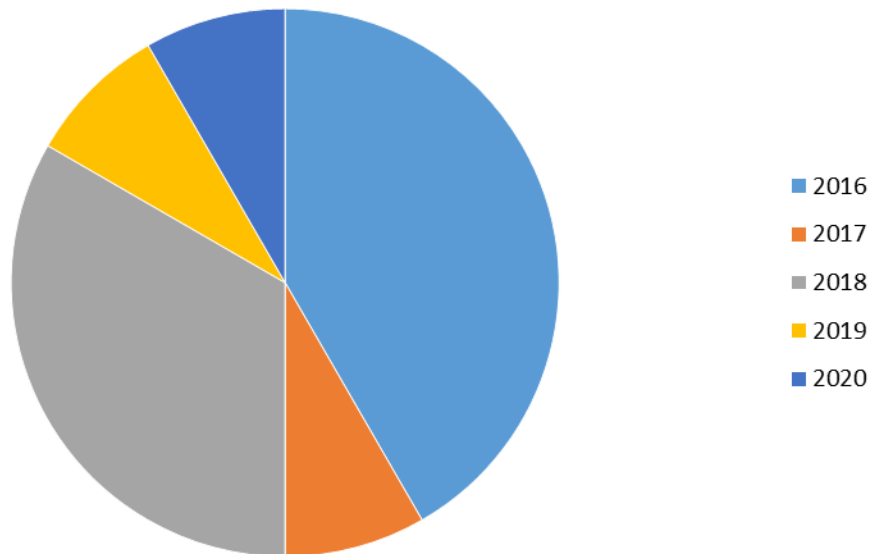
**Figura 1.** Fluxograma da pesquisa e seleção dos estudos para a revisão integrativa.



Fonte: Autores.

### 3. Resultados

**Gráfico 1.** Apresenta os artigos selecionados de acordo com o ano.



Fonte: Santos, (2020).

Os artigos utilizados foram publicados entre os anos de 2016 e 2020, sendo 5 publicados no ano de 2016 (42%), 1 publicado no ano de 2017(8%), 4 publicados no ano de 2018 (34%), 1 publicado no ano de 2019 (8%) e mais um no ano de 2020 (8%).

Os artigos contemplados trazem discussões sobre leucemias agudas com diagnóstico por métodos de imunofenotipagem.

Para uma melhor compreensão e planejamento, inicialmente foi feita uma definição categórica dos 12 estudos selecionados que conduziram a revisão integrativa da literatura. Fundamentado, houve a possibilidade de preparar tabelas e gráficos para uma melhor apresentação do tema. Os artigos analisados estão expostos na Tabela 1 a seguir.

**Tabela 1.** Fluxograma da pesquisa e seleção dos estudos para a revisão integrativa.

Ano	Autor (es)	Título	Resultados
1	2016 SHARMA, et al;	Characterization of immunophenotypic aberrancies in adult and childhood acute lymphoblastic leukemia: A study from Northern India.	O CD117 é um marcador mielóide expresso com relativa frequência, ao contrário de relatórios anteriores que descrevem sua expressão rara. Casos pediátricos e adultos de ALL com baixa contagem de blastos e positividade para CD34 têm maior probabilidade de expressar marcadores mielóides aberrantes. O estudo atual também suporta que a expressão do antígeno mielóide em adultos e a LLA pediátrica não está associada a características clínicas e biológicas adversas.
2	2016 PANT; TUMBAPO;	Immunophenotyping, Cytogenetic and Mutational Analysis in newly diagnosed AML patient and corresponding laboratory investigations for therapeutic monitoring and prognosis: Case Report.	A incorporação de novos marcadores moleculares para definir o prognóstico na LMA ajudou a investigar os novos agentes terapêuticos de direcionamento molecular.
3	2016 NORONHA, et al;	Immunophenotyping with CD135 and CD117 predicts the FLT3, IL-7R and TLX3 gene mutations in childhood T-cell acute leukemia.	A adição de CD135 e CD117 ao diagnóstico pode prever aberrações moleculares em configurações de T-ALL, principalmente segregando pacientes com FLT3-ITD, que se beneficiariam do tratamento com inibidores de tirosina.
4	2016 SINGH, N. et al	Proposed minimal panel of antibodies for cost-	O desempenho diagnóstico do painel de oito anticorpos é melhor do que a



			effectiveness and accuracy in acute leukemias immunophenotyping: Prospective study at a tertiary care center.	maioria dos outros painéis usados nos diferentes laboratórios em termos de rendimento, número de anticorpos usados e a abordagem científica usada para derivar e validar os resultados e, portanto, pode ser aplicado em qualquer configuração com recursos limitados para melhor precisão do diagnóstico.
5	2016	SANDDHYA, et al;	Evaluation of cost effective diagnostic tools in characterisation of Acute Leukemia in Southern India	As ferramentas de diagnóstico de baixo custo, nomeadamente a imunofenotipagem e a citotóxicidade, são úteis e melhoram a precisão, estratificando rapidamente o risco de pacientes que foram diagnosticados com leucemia aguda.
6	2017	TEKE, et al;	Is Flow Cytometric Immunophenotyping Useful for Predicting Acute Myeloid Leukemia Prognosis?	No prognóstico de LMA, não há efeito dos antígenos isoladamente. Acreditamos que os pacientes devem ser avaliados juntamente com fatores imunofenotípicos, citogenéticos e outros fatores prognósticos.
7	2018	JAIME, PJC et al;	Comparison of conventional cytomorphology, flow cytometry immunophenotyping, and automated cell counting of CSF for detection of CNS involvement in acute lymphoblastic leukemia	A imunofenotipagem por citometria de fluxo complementa a análise convencional do cytospin para a detecção de linfoblastos no LCR de pacientes com LLA em qualquer estágio clínico.
8	2018	TLAMÇANI, et al;	Profil immunophénotypique des leucémies aiguës lymphoblastiques chez	A citometria de fluxo se tornou uma ferramenta essencial no diagnóstico da LLA, integrada aos exames de rotina dessas doenças. A grande

9	2018	POOPAK, B. et al;	l'enfant Mixed-phenotype acute leukemia characteristics: first report from Iran.	sofisticação desta técnica pleomórfica que permite a identificação de múltiplas características foi gradualmente abandonada em favor de painéis diários simplificados. A avaliação das expressões de TdT, CD2, CD5, CD7 por citometria de fluxo nos critérios EGIL é útil para o melhor diagnóstico de subconjuntos MPAL. Além disso, a avaliação dos rearranjos de BCR / ABL1 e MLL em pacientes deve fazer parte da investigação padrão em MPAL.
10	2018	TIPU, et al;	Spectrum of acute leukemias and aberrant markers expression based on flowcytometry in a tertiary care centre.	A expressão de marcadores CD aberrantes deve ser mantida em mente durante a atribuição de linhagem de leucemias agudas durante a realização de imunofenotipagem por citometria de fluxo.
11	2019	REN, et al;	The CD9+CD11b–HLA-DR– immunophenotype can be used to diagnose acute promyelocytic leukemia	A combinação de anticorpos CD9 / CD11b / HLA-DR apresenta alta sensibilidade e especificidade e pode ser usada para diagnosticar APL.
12	2020	SHUKLA, et al.	Clinical, Morphological and Immunophenotypical Findings in Acute Leukemia: A Study from a Tertiary Care Hospital.	A imunofenotipagem deve ser realizada em todos os casos de AL, pois ajuda na estratificação de risco e no acompanhamento dos pacientes para avaliação de doença residual mínima.

Fonte: Santos, (2020).

#### 4. Discussões

As técnicas combinadas de citoquímica e imunofenotipagem estão sendo utilizadas atualmente para o diagnóstico definido e estratificação de risco de leucemias agudas ainda na infância. Dentre estas técnicas, a imuno-histoquímica e a citometria de fluxo tornaram-se os instrumentos de diagnóstico mais importantes por conta da sua alta especificidade, simplicidade e rapidez. Ao analisar a eficácia dessas duas técnicas, a imuno-histoquímica é um método de diagnóstico complementar útil em 95% dos casos e contribui para condutas cirúrgicas e terapêuticas de baixo custo e alto benefício. A citometria de fluxo é um instrumento de triagem mais eficaz para o diagnóstico quando comparada a imunohistoquímica. (Sanddhya et al., 2016)

A Citomorfologia Convencional Cytospin (CCC) é uma técnica padrão para identificar linfoblastos no líquido cefalorraquidiano (LCR) de pacientes com Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) e para orientar as decisões para o tratamento. A imunofenotipagem por citometria de fluxo complementa a análise clássica de cytopspin para a identificação de linfoblastos no líquido cefalorraquidiano de pacientes com leucemia linfoblástica aguda em qualquer estágio da patogenia. (Jaime et al., 2018)

A citometria de fluxo se tornou uma ferramenta fundamental no diagnóstico da LLA, complementada com exames de rotina dessas enfermidades. Os painéis utilizados são simplificados, a fim de simplificar a interpretação dos resultados. A atribuição da linhagem é o principal parâmetro para a orientação correta do clínico. Além disso, é útil para caracterizar recidivas. (Tlamçani et al., 2018)

Os métodos imunofenotípicos devem ser realizados em todos os casos de leucemias agudas, pois contribui na estratificação de risco e no acompanhamento dos pacientes. (SHUKLA, et al 2020) A imunofenotipagem requer uma seleção cuidadosa de combinações únicas de marcadores individuais com base em seu grau de especificidade para a identificação de uma dada linhagem celular, estágio de maturação e fenótipo aberrante, bem como a seleção do anticorpo apropriado clones e conjugados de fluorocromo para serem usados em combinações multicoloridas. (Singh et al., 2016)

A incorporação de novos marcadores moleculares não apenas define o prognóstico do paciente, como também contribui na investigação de novos agentes terapêuticos de direcionamento molecular que alteram a gravidade da doença. (Pant & Tumbapo., 2016)

Diversas variações imunofenotípicas foram identificadas em estudos sobre leucemias agudas. Na LLA, CD117 se destacou como um marcador mielóide expresso com frequência nos casos. Na maioria dos casos a LLA expressa antígeno mielóide único. Contudo, a expressão do antígeno mielóide é maior em casos de LLA em adultos do que em crianças. (Sharma et al., 2016)

A adição dos marcadores CD135 e CD117 ao diagnóstico pode prever aberrações moleculares em configurações de T-ALL em crianças, principalmente segregando pacientes com FLT3-ITD, que se beneficiariam do tratamento com inibidores de tirosina. (Noronha et al., 2016)

Para Ren et al. (2019) a combinação dos anticorpos CD9, CD11b e HLA-DR apresenta alta sensibilidade e especificidade e pode ser utilizada para diagnosticar APL. Já no diagnóstico de MPAL são avaliados os anticorpos TdT, CD2, CD5 e CD7. Além disso, a avaliação de rearranjos de BCR, ABL1 e MLL também fazem parte da investigação desse tipo de leucemia. (Poopak, B. et al., 2018)

Segundo Teke et al. (2017) a LMA, a expressão do antígeno TdT demonstra um mau prognóstico que tem efeito na sobrevida do paciente. Os antígenos na superfície dos blastos não afetam o prognóstico de LMA isoladamente. Contudo, os pacientes devem ser avaliados em conjunto com fatores imunofenotípicos, citogenéticos e outros fatores prognósticos.

Na LMA, quase todos os tipos de células leucêmicas podem expressar marcadores de linhagem cruzada denominados expressão de marcadores CD aberrantes. Este fato deve ser mantido em mente durante a realização de imunofenotipagem de citometria de fluxo multiparâmetros para evitar atribuição de linhagem imprecisa. Sempre que houver dúvida, o painel de anticorpos monoclonais deve ser estendido com diferentes marcadores de CD específicos de linhagem. (Tipu et al., 2018)

## **5. Considerações Finais**

A utilização de métodos imunofenotípicos com exames de rotina contribui no diagnóstico precoce de pacientes com leucemias agudas, fazendo com que o tratamento seja feito também de forma precoce, aumentando assim a sobrevida desses indivíduos.

O método mais utilizado para o diagnóstico de leucemias agudas é a citometria de fluxo. Ela analisa diversas linhagens simultaneamente com a combinação de marcadores que são específicos para cada tipo e subtipo de leucemias. Seu laudo é simplificado e de fácil interpretação, uma vez que é apresentada em gráficos.

De acordo com os estudos analisados, a imunofenotipagem está em constante evolução e promete simplificar o processo de diagnóstico de vários tipos de leucemias.

Como sugestões para futuras pesquisas sobre diagnósticos precoces de leucemias agudas, aponta-se 2 ideias: análise isolada de biomarcadores que atuam no diagnóstico de leucemias e análise da imunofenotipagem por citometria de fluxo nas neoplasias hematológicas na infância.

## Referências

Sousa, R. M. d. (2020). Telemonitoramento como tecnologia aliada ao cuidado de enfermagem ao paciente com doença onco-hematológica. *Research Society and Development*, (9)

Hamidah, H., Utama, S., Siswantining, T., & Rustam, Z. (2020). Multiclass classification of acute lymphoblastic leukemia microarrays data using support vector machine algorithms. *Journal of Physics Conference Series*.

Silva-Junior, A. L., Alves, F. S., Kerr, M. W. A., Xabregas, L. A., Gama, F. M., Rodrigues, M. G. A., Torres, A. S., Tarragô, A. M., Sampaio, V. S., Carvalho, M. P. S. S., Fraiji, N. A., Malheiro, A., & Costa, A. G. (2019). Acute lymphoid and myeloid leukemia in a Brazilian Amazon population: Epidemiology and predictors of comorbidity and deaths. *PLoS ONE*, 14(8), 1-16.

Moraes, E. S., Mello, M., Nogueira, F., Otero, U. B., & Carvalho, F. N. (2017). Analysis of individuals with leukemia: cancer surveillance system limitations. Análise de indivíduos com leucemia: limitações do sistema de vigilância de câncer. *Ciencia & saude coletiva*, 22(10), 3321–3332.

Bhat, A. A., Younes, S. N., Raza, S. S., Zarif, L., Nisar, S., Ahmed, I., Mir, R., Kumar, S., Sharawat, S. K., Hashem, S., Elfaki, I., Kulinski, M., Kuttikrishnan, S., Prabhu, K. S., Khan, A. Q., Yadav, S. K., El-Rifai, W., Zargar, M. A., Zayed, H., Haris, M., ... Uddin, S. (2020). Role of non-coding RNA networks in leukemia progression, metastasis and drug resistance. *Molecular cancer*, 19(1), 57.

Choudhury, R., A., S., Balakrishnan, C. H., & Ross, C. R. (2017). Clinical and laboratory profile of acute leukemia with special reference to flow cytometry. *Medica Innovatica*, 6(2), 10-19.

Zocante, P. T., Silva, P. C., & Parizi, A. G. S. (2020). Abordagem odontológica em paciente portador de leucemia linfóide aguda: revisão de literatura. *Colloquium Vitae*, 12(2).

Souza, M. T., Silva, M. D. & Carvalho, R. Revisão integrativa: o que é e como fazer. Einstein (São Paulo), v. 8, n. 1, p. 102-106, 2010.

Sanddhya, N. S., Kathick, D., Sachdanandam, P., Thilagavathy, S., & Shanthi, P. (2016). Evaluation of cost effective diagnostic tools in characterisation of Acute Leukemia in Southern India. *Technology and health care: official journal of the European Society for Engineering and Medicine*, 24(5), 639–646.

Mendes, K. D. S., Silveira, R. C. d. C. P., & Galvão, C. M. (2008). Revisão integrativa: método de pesquisa para a incorporação de evidências na saúde e na enfermagem. *Texto contexto - enferm*, 17(4), 758-764.

Sharma, M., Sachdeva, M. U., Varma, N., Varma, S., & Marwaha, R. K. (2016). Characterization of immunophenotypic aberrancies in adult and childhood acute lymphoblastic leukemia: A study from Northern India. *Journal of cancer research and therapeutics*, 12(2), 620–626.

Pant, V. & Tumbapo, A. (2016) Immunophenotyping, Cytogenetic and Mutational Analysis in newly diagnosed AML patient and corresponding laboratory investigations for therapeutic monitoring and prognosis: Case Report. *Journal of Institute of Medicine*.

Noronha, E. P., Andrade, F. G., Zampier, C., de Andrade, C. F., Terra-Granado, E., Pombo-de-Oliveira, M. S., & Brazilian Study Group for Childhood Leukaemia (2016). Immunophenotyping with CD135 and CD117 predicts the FLT3, IL-7R and TLX3 gene mutations in childhood T-cell acute leukemia. *Blood cells, molecules & diseases*, 57, 74–80.

Colocar espaço entre uma referência e outra. Lembre que usamos APA.

Singh, N., Pati, H. P., Tyagi, S., Deka, R., Sharma, R., & Saxena, R. (2016). Proposed minimal panel of antibodies for cost-effectiveness and accuracy in acute leukemias immunophenotyping: Prospective study at a tertiary care center. *Hematology (Amsterdam, Netherlands)*, 21(6), 338–342.

Teke, H. U., Davutoğlu, N. O., Gündüz, E., Andıç, N., Bal, C. & Aras, B. D. (2017) *İ. Is Flow Cytometric Immunophenotyping Useful for Predicting Acute Myeloid Leukemia Prognosis?. İstanbul Med.*

Jaime-Pérez, J. C., Borrego-López, M. F., Jiménez-Castillo, R. A., Méndez-Ramírez, N., Salazar-Riojas, R., Fernández, L. T., & Gómez-Almaguer, D. (2018). Comparison of conventional cytomorphology, flow cytometry immunophenotyping, and automated cell counting of CSF for detection of CNS involvement in acute lymphoblastic leukemia. *International journal of laboratory hematology*, 40(2), 169–174.

Tlamçani , I., Benaaddach, S. O., Abddaoui, M., Benmiloud, S., Hida , M., & Hassani , M. A. ( 2018.). Profil immunophénotypique des leucémies aiguës lymphoblastiques chez l'enfant. *Recherche*, 31(3).

Poopak, B., Khosravi, A., Bahoush-Mehdiabadi, G., Madani, T., Khodadi, E., Farahani, Z., Vahedi, A. A., Khosravipour, G., Poopak, P., & Poopak, A. H. (2018). Mixed-phenotype acute leukemia characteristics: first report from Iran. *Clinical and experimental medicine*, 18(4), 513–521.

Tipu, H. N., Mukarram Bashir, M., Altaf, C., Noman, M., & Malik, H. S. (2018). Spectrum of acute leukemias and aberrant markers expression based on flowcytometry in a tertiary care centre. *Pakistan Armed Forces Medical Journal*, 68(3), 450-454.

Ren, F., Zhang, N., Xu, Z., Xu, J., Zhang, Y., Chen, X., Tan, Y., Chang, J., & Wang, H. (2019). The CD9<sup>+</sup> CD11b<sup>-</sup> HLA-DR<sup>-</sup> immunophenotype can be used to diagnose acute promyelocytic leukemia. *International journal of laboratory hematology*, 41(2), 168–175.

Shukla, S., Chhikara, A., Bundela, T., Sharma, S., & Chandra, J. (2020). Clinical, Morphological and Immunophenotypical Findings in Acute Leukemia: A Study from a Tertiary Care Hospital. *Iran Journal of Pediatric Hematology Oncology*, 10(3), 136-143.

**Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito**

Carla Cleiciane Brasilino Santos – 35%

Alexsandra Laurindo Leite – 35%

Dandara Dias Cavalcante Abreu – 15%

Pierri Emanuel de Abreu Oliveira – 15%