

Diagnóstico da leucemia linfoblástica aguda em crianças

Diagnosis of acute lymphoblastic leukemia in children

Diagnóstico de la leucemia linfoblástica aguda en niños

Recebido: 04/08/2021 | Revisado: 28/08/2021 | Aceito: 04/07/2022 | Publicado: 13/07/2022

Jadielson da Silva Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0473-981X>

Universidade Federal do Piauí, Brasil

E-mail: jadielsonsantos@outlook.com.br

Luiz Fernando Pereira de Sá

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6550-9962>

Centro Universitário Uninovafapi, Brasil

E-mail: luizfernandopereiradesa@hotmail.com

João Paulo de Oliveira Mata

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8671-1457>

Centro Universitário Uninovafapi, Brasil

E-mail: joaopaulomata@gmail.com

Atílio da Silva Teixeira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8024-1159>

Centro Universitário Uninovafapi, Brasil

E-mail: atilioteixeira7@gmail.com

Antonio Vinícius Sales de Moraes Souza Crisanto

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2408-5817>

Centro Universitário Uninovafapi, Brasil

E-mail: antonioviniciusc@outlook.com

Gabriela Rodrigues Amorim

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5588-2544>

Faculdade Faesf, Brasil

E-mail: gabryela-amorim@hotmail.com

Flávia Piauilino Pinheiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6934-0423>

Centro Universitário Uninovafapi, Brasil

E-mail: flavinhapiauilino@hotmail.com

Luana Amorim Guilhon

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6762-7591>

Centro Universitário Uninovafapi, Brasil

E-mail: luanaaguilhonn@hotmail.com

Ícaro Avelino Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5020-7267>

Hospital da Polícia Militar, Brasil

E-mail: icaro.ic@hotmail.com

Gabriel Franco de Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1208-1357>

Universidade Federal do Piauí, Brasil

E-mail: ag-anne@hotmail.com

Larissa dos Santos Pessoa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6723-3069>

Universidade Federal do Piauí, Brasil

E-mail: lalipessoa25@hotmail.com

Maria Pereira de Queiroga Aguiar

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8840-9614>

Universidade Federal do Piauí, Brasil

E-mail: maria.queirogaaguiar@ufpi.edu.br

Ulisses Nogueira de Aguiar

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9293-0309>

Universidade Federal do Piauí, Brasil

E-mail: ulissesfarmacia@yahoo.com.br

Amanda Miranda da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6476-4809>

Universidade Federal do Piauí, Brasil

E-mail: miraanda.sa@gmail.com

Walquer Vinicius Esteves Gonçalves

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5250-847X>

Prefeitura Municipal de Ji-Paraná, Brasil

E-mail: viniciusestevesp@hotmail.com

Resumo

A leucemia linfóide ou linfoblástica aguda (LLA) infantil é decorrente do ataque às células linfocíticas do tipo B imaturos, resultante de danos genéticos adquiridos e não herdados, ocupando o primeiro lugar no ranking de incidência de doenças, segundo o instituto nacional do câncer (INCA). A melhoria nas técnicas de estudo proporciona agora a oportunidade de obter informações biológicas clinicamente relevantes que poderão explicar as respostas aparentemente anômalas ao tratamento. Este estudo teve como objetivo descrever as formas de diagnóstico úteis para a classificação e tratamento de Leucemia Linfoblástica Aguda em Crianças e apresentar as implicações das técnicas de citomorfologia, citogenética, imunofenotipagem e citoquímica no diagnóstico e prognóstico das leucemias. A revisão sistemática para elaboração deste consenso baseou-se preferencialmente em artigos indexados, publicados nos últimos dez anos fundamentados nos dados PubMed, Scielo, NCBI. Com os resultados foi possível perceber em relação ao hemograma, a contagem global de leucócitos na LLA em crianças pode estar diminuída, normal ou aumentada. Já no mielograma, o diagnóstico da LLA em crianças é confirmado quando mais de 25% a 30% das células nucleadas são blastos. De acordo com as colorações citoquímicas, diagnostica-se LLA quando se obtém uma prova positiva para as técnicas de PAS. Portanto, o conhecimento a cerca das formas de diagnóstico e da classificação da LLA em crianças é de suma importância para um diagnóstico precoce e com isso promover um tratamento eficaz.

Palavras-chave: Câncer; Diagnóstico; Leucemia; Classificação; Tratamento de LLA.

Abstract

Childhood acute lymphoblastic or lymphoblastic leukemia (ALL) is the result of attack on immature type B lymphocytic cells, the result of acquired genetic damage rather than hereditary, occupying first place in the ranking of disease incidence, according to the National Institute of Cancer (INCA). Improvements in study techniques now provide the opportunity to obtain clinically relevant biological information that may explain apparently abnormal responses to treatment. This study aimed to describe useful diagnostic methods for the classification and treatment of acute lymphoblastic leukemia in children and to present the implications of cytomorphology, cytogenetics, immunophenotyping and cytochemical techniques in the diagnosis and prognosis of leukemia. The systematic review for the elaboration of this consensus was preferably based on indexed articles published in the last ten years based on data from PubMed, Scielo, NCBI. With the results, it was possible to verify, in relation to the hemogram, that the global count of leukocytes in ALL in children can be decreased, normal or increased. In myelogram, the diagnosis of ALL in children is confirmed when more than 25% to 30% of the nucleated cells are blasts. Based on the cytochemical stains, ALL is diagnosed when a positive test is obtained for the PAS techniques. Therefore, knowledge of ways to diagnose and classify ALL in children is extremely important for an early diagnosis and, therefore, to promote an effective treatment.

Keywords: Cancer; Diagnosis; Leukemia; Classification; ALL treatment.

Resumen

La leucemia linfoblástica o linfoblástica aguda infantil (LLA) es el resultado del ataque a células linfocíticas tipo B inmaduras, resultado de daño genético adquirido y no heredado, ocupando el primer lugar en el ranking de incidencia de la enfermedad, según el Instituto Nacional del Cáncer (INCA). Las mejoras en las técnicas de estudio brindan ahora la oportunidad de obtener información biológica clínicamente relevante que podría explicar las respuestas aparentemente anómalas al tratamiento. Este estudio tuvo como objetivo describir las formas de diagnóstico útiles para la clasificación y tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda en niños y presentar las implicaciones de la citomorfología, citogenética, inmunofenotipificación y técnicas citoquímicas en el diagnóstico y pronóstico de la leucemia. La revisión sistemática para la elaboración de este consenso se basó preferentemente en artículos indexados publicados en los últimos diez años con base en datos de PubMed, Scielo, NCBI. Con los resultados, se pudo ver, en relación al hemograma, el recuento global de leucocitos en LLA en niños puede estar disminuido, normal o aumentado. En el mielograma, el diagnóstico de LLA en niños se confirma cuando más del 25% al 30% de las células nucleadas son blastos. Según las tinciones citoquímicas, la LLA se diagnostica cuando se obtiene una prueba positiva para las técnicas de PAS. Por tanto, el conocimiento sobre las formas de diagnóstico y clasificación de la LLA en niños es de suma importancia para un diagnóstico precoz y, por tanto, para promover un tratamiento eficaz.

Palabras clave: Cáncer; Diagnóstico; Leucemia; Clasificación; Tratamiento de ALL.

1. Introdução

Os principais sintomas da leucemia surgem do acúmulo dessas células na medula óssea, prejudicando ou impedindo a produção dos glóbulos vermelhos (provocando anemia), dos glóbulos brancos (provocando infecções) e das plaquetas (provocando hemorragias). Depois de instalada, a doença se desenvolve rapidamente, exigindo com isso que o tratamento seja realizado logo após o diagnóstico e a classificação da leucemia (Saraiva & Palma, 2009).

De acordo com Farias e Castro (2011), as leucemias são divididas em quatro tipos de acordo com dois critérios, a

rapidez de sua evolução e o tipo de leucócito afetado. As leucemias agudas se desenvolvem rapidamente e as crônicas evoluem de forma mais lenta. As leucemias linfocíticas atacam os linfócitos; as leucemias mielóides (mielocíticas) atacam os mielócitos. A leucemia linfocítica aguda (LLA) é uma doença potencialmente letal, na qual as células que normalmente evoluem até formar linfócitos tornam-se cancerosas e substituem rapidamente as células normais na medula óssea.

Segundo o Inca (2016), a leucemia é o câncer que mais ocorre em crianças menores de 15 anos de idade, correspondendo entre 25% e 35% de todos os tipos, com exceção da Nigéria, onde esse percentual é de 45%.

De acordo com Farias e Castro (2004), essa leucemia afeta mais frequentemente crianças com idades entre 3 e 5 anos, podendo também afetar adolescentes e, menos comumente, adultos, especialmente com mais de 65 anos.

A leucemia linfocítica crônica (LLC) é a mais comum das leucemias e sua evolução é lenta (Saraiva & Palma, 2009). Segundo Merck, (2010) esse tipo de leucemia caracteriza-se por um grande número de linfócitos (um tipo de leucócito) maduros cancerosos e linfonodos aumentados de tamanho.

Segundo Merck (2010), a leucemia mielóide aguda (LMA) é uma doença na qual os mielócitos tornam-se cancerosos e substituem as células normais na medula óssea de forma muito rápida. Este tipo de leucemia afeta indivíduos de todas as idades, mas principalmente os adultos. A exposição a grandes doses de radiação e o uso de algumas drogas quimioterápicas antineoplásicas aumentam a probabilidade de ocorrência da leucemia mielóide aguda. As células leucêmicas acumulam-se na medula óssea, causando a destruição e a substituição das células que produzem as células sanguíneas normais. Elas são liberadas na corrente sanguínea e transportadas a outros órgãos, onde continuam a crescer e a dividir-se. Elas podem formar pequenos tumores (cloromas) na pele ou logo abaixo desta e podem causar meningite, anemia, insuficiência hepática e renal e lesões de outros órgãos. O tratamento é feito com um número menor de medicamentos que as outras leucemias e inicialmente piora o estado do paciente pelo fato de suprimir a atividade da medula óssea, resultando em menor número de leucócitos e uma maior probabilidade de infecção.

Diante do exposto, questiona-se: Quais as formas de diagnóstico para detecção da leucemia linfoblástica aguda em crianças?

Neste sentido o presente estudo tem como objetivo descrever as formas de diagnóstico úteis para a classificação e o tratamento de Leucemia Linfoblástica Aguda em Crianças e apresentar as implicações das técnicas de citomorfologia, citogenética, imunofenotipagem e citoquímica no diagnóstico e prognóstico das leucemias.

A incidência do câncer em crianças é baixa quando comparada com outras patologias pediátricas, fato este que leva a atrasos no diagnóstico, tornando o câncer uma das principais causas de óbito em pediatria e de perda potencial de anos de vida.

A relevância do estudo da Leucemia Linfóide Aguda consta no fato deste ser o tipo de câncer com maior incidência na faixa pediátrica, apresentando cura em 70% a 80% dos casos. No entanto, esta só pode ser válida, perante todo um diagnóstico rápido e preciso.

Em virtude disso achou-se interessante estudar sobre as formas de diagnóstico da LLA em crianças, no qual é de suma importância para a sua classificação como também os avanços para o seu diagnóstico precoce.

2. Metodologia

Esse estudo trata-se de uma revisão sistemática de caráter descritiva, exploratória e qualitativa. A revisão de literatura para elaboração deste estudo baseou-se preferencialmente em artigos indexados, publicados nos últimos dez anos fundamentados nos dados Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), National Library of medicine (PUBMED), PERIODICOS, SCIENCE DIRECT, Biblioteca Virtual em saúde – (BVS), Scientific Eletronic Library Online (SCIELO), Cochrane Library, HighWire Press, Scopus e Elsevier. como também em livros. Para a busca dos artigos e de livros utilizou-se os seguintes descritores: CÂNCER, DIAGNÓSTICO, LEUCEMIA, CLASSIFICAÇÃO E

TRATAMENTO DE LLA.

Foram selecionados artigos, disponíveis eletronicamente na íntegra, publicados, no período de 2005 a 2015, seguindo algumas recomendações para seleção dos artigos e livros para revisão: 1) Evitar resumos ou publicações em periódicos e livros sem revisores; 2) Dar prioridade a artigos e livros atualizados; 3) Dar precedência para trabalhos que pontuassem aspectos ligados à patofisiologia e características clínicas da doença. Foram excluídos dos resultados artigos e livros que discutissem outras doenças secundárias à leucemia.

3. Resultados e Discussão

Foram encontrados um total de 20 artigos (tabela 1) nas bases científicas: Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), National Library of medicine (PUBMED), PERIODICOS, SCIENCE DIRECT, Biblioteca Virtual em saúde – (BVS), Scientific Electronic Library Online (SCIELO), Cochrane Library, HighWire Press, Scopus e Elsevier. Foram utilizados como descritores: CÂNCER, DIAGNÓSTICO, LEUCEMIA, CLASSIFICAÇÃO E TRATAMENTO DE LLA nos idiomas inglês, português e espanhol. Onde obtivemos os artigos abaixo descritos na tabela 1 e discutidos em forma de tópicos relacionados com o tema.

Tabela 1. Artigos encontrados e selecionados.

	AUTORES	ARTIGOS	ANO
1	ABRALE – Associação Brasileira de	Linfoma e Leucemia.	2016
2	TEXEIRA, J. E. C.	Diagnóstico Laboratorial em Hematologia.	2006
3	SILVEIRA, N. A., ARRAES, S. M. A. A. A	Imunofenotipagem no Diagnóstico Diferencial das Leucemias Agudas: uma revisão.	2008
4	SILVA, P. H; HASHIMOTO, Y; ALVES, H. B.	Hematologia Laboratorial.	2009
5	SANTANA, L. R. et al	Perfil Epidemiológico das Leucemias em Crianças e Adolescentes no Estado da Bahia.	2006
6	SEBER, Adriana.	Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas em Crianças e Adolescentes com Leucemias Agudas	2010
7	CAZÉ, M. O.; BUENO, D.; SANTOS, M. E. F. dos.	Estudo Referencial de um Protocolo Quimioterápico para Leucemia Linfocítica Aguda Infantil.	2010
8	RODRIGUES, F. A. et al.	Diagnóstico Laboratorial de Leucemia Linfóide Aguda no Período de Janeiro a dezembro de 2003 no Centro de Hematologia de São Paulo	2010
9	QUIXABEIRA, V. B. L.; SADDI, V. A.	Importância da Imunofenotipagem e da Citogenética no Diagnóstico das Leucemias: uma revisão de literatura	2008
10	PINHEIRO, S. M. et al.	Alterações Metabólicas em Crianças com Câncer Hematológico Submetidas ao Transplante de Medula Óssea Alogênico.	2010
11	BARBOSA, C. M. P. L. et al.	Manifestações Músculo-Esqueléticas como Apresentação Inicial das Leucemias Agudas na Infância.	2005
12	OLIVEIRA, B. M. de. et al..	Avaliação da Adesão ao Tratamento através de Questionários: estudo prospectivo de 73 crianças portadoras de leucemia linfoblástica aguda	2005
13	MARCONI, Marina de A.; LAKATOS, Eva M.	Fundamentos de Metodologia Científica.	2005

14	MERCK, S. D.	Manual Merck de Informação Médica-Saúde para a Família.	2010
15	ECKER, C. S. et al.	Leucemia Linfóide Aguda: a importância do laboratório de líquido para o sucesso do tratamento	2009
16	FARIAS, M. G.; CASTRO, S. M. de	Diagnóstico Laboratorial das Leucemias Linfóides Agudas.	2005
17	LAMEGO, R. M. et al.	Transplante alogênico de células-tronco hematopoéticas em leucemias agudas: a experiência de dez anos do hospital das clínicas da UFMG.	2010
18	HOFFBRAND, A. V.; MOSS P. A. H.; PETTIT, J. E.	Fundamentos em Hematologia.	2008
19	INCA – Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva.	Leucemia: prevenção, genética, outros fatores de risco.	2016
20	HANNA, L.M.O.	Impacto do Câncer na Qualidade de Vida de Crianças Submetidas ao Primeiro Ciclo de Quimioterapia	2014

Fonte: Autores (2021).

De acordo com Farias e Castro (2005), a contagem global de leucócitos na LLA em crianças pode estar diminuída, normal ou aumentada. Já segundo Teixeira, (2006), Fadel (2010), algumas crianças e adultos portadores de leucemia podem apresentar contagens extremamente elevadas de blastos, fenômeno conhecido como hiperleucocitose, uma contagem periférica de leucócitos superior a 100.000/mm³, podendo ser observado em 5 a 20% dos pacientes diagnosticado com LLA, e está associada a alto índice de mortalidade precoce.

Já relacionado ao mielograma, Hoffbrand *et al.* (2008); Silva *et al.* (2009), dizem que o diagnóstico da LLA em crianças é confirmado quando mais de 25% a 30% das células nucleadas são blastos.

Segundo Quixabeira e Saddi (2008), sobre o exame de citogenética, afirmam que várias técnicas têm sido empregadas na avaliação genética das leucemias, incluindo a citogenética convencional, a citogenética molecular (FISH: hibridização fluorescente *in situ*; CGH: hibridização genômica comparativa), além dos métodos de biologia molecular como Southern blotting, amplificação de DNA ou RNA por PCR (reação em cadeia da polimerase), PCR em tempo real e a hibridização *in situ*, dentre outras.

Relacionado a colorações citoquímicas, Sonnenwirth & Jarett, (2009), afirmam que se diagnostica LLA quando se obtém uma prova positiva para as técnicas de PAS, uma importante prática na citoquímica de carboidratos, e também para a fosfatase ácida, uma enzima lisossomal (hidrolase) importante no processo de ataque e morte de micro-organismos fagocitados que atua, juntamente com a fosfatase alcalina, no processo de defesa primária e quando o resultado for negativo para mieloperoxidase, uma enzima lisossômica, localizada em grânulos azurófilos (primários) de neutrófilos e em grânulos de eosinófilos e monócitos, e para Sudan Black B, corante que possui a habilidade de se dissociar de seu solvente e penetrar em complexos lipoprotéicos, de modo a detectar lipídios celulares. No entanto este último apresenta menor especificidade em relação à mieloperoxidase.

De acordo com Quixabeira e Saddi (2008), dizem que Células leucêmicas apresentam características imunofenotípicas de células normais, porém, bloqueadas em um estágio de maturação. Fenótipos aberrantes de células leucêmicas misturam determinantes antigênicos de linhagens celulares (mielóide/ linfóide), assincronia de expressão gênica, fenótipos ectópicos e diferenciação anormal, dentre outras características. Estes fenótipos aberrantes traduzem as anormalidades genéticas presentes nestas células.

Em relação ao tratamento Cazé (2010), teve como resultado que nem sempre o tratamento de LLA com quimioterápicos é suficiente, sendo indicado o transplante de medula óssea. O tratamento é feito em várias fases. A primeira

tem a finalidade de atingir a remissão completa, ou seja, um estado de aparente normalidade que se obtém após a poliquimioterapia. Esse resultado é conseguido entre um e dois meses após o início do tratamento (fase de indução de remissão), quando os exames não mais evidenciam células leucêmicas. Isso ocorre quando os exames de sangue e da medula óssea (remissão morfológica) e o exame físico (remissão clínica) não demonstram mais anormalidade.

4. Conclusão

Na leucemia linfóide aguda infantil (LLA) pode-se observar vários métodos utilizados para o seu diagnóstico, em que cada uma possui suas formas diferenciadas de detecção da doença, mas que todas são de suma importância no diagnóstico e na classificação da doença. O tratamento da LLA em crianças depende muito do diagnóstico realizado por tais métodos, no qual a detecção precoce possibilita um tratamento mais eficaz.

Portanto, é de suma importância o conhecimento sobre as diversas formas de detecção da LLA em crianças, no qual esse conhecimento contribuirá bastante para que diminua os casos de óbitos advindos da LLA em crianças.

Referências

- ABRALE – Associação Brasileira de Linfoma e Leucemia. (2016).
- Barbosa, C. M. P. L. et al. (2005). Manifestações Músculo-Esqueléticas como Apresentação Inicial das Leucemias Agudas na Infância. *Jornal de Pediatria*, Rio de Janeiro, vol. 81, n.3.
- Cazé, M. O.; Bueno, D.; Santos, M. E. F. dos. (2010). Estudo Referencial de um Protocolo Quimioterápico para Leucemia Linfocítica Aguda Infantil. *Rev. HCPA*, Porto Alegre, vol.30, n.1, p.5-12.
- Ecker, C. S. et al. (2009). Leucemia Linfóide Aguda: a importância do laboratório de líquido para o sucesso do tratamento. *RBAC*, Mato Grosso do Sul, vol.41, n.3, p. 201-203.
- Farias, M. G.; Castro, S. M. de. (2005). Diagnóstico Laboratorial das Leucemias Linfóides Agudas. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* Rio de Janeiro, vol.40, n.2.
- Hoffbrand, A. V.; Moss P. A. H.; Pettit, J. E. (2008). *Fundamentos em Hematologia*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed.
- Hanna, L.M.O. (2014). *Impacto do Câncer na Qualidade de Vida de Crianças Submetidas ao Primeiro Ciclo de Quimioterapia*, SÃO PAULO.
- INCA – Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. (2016). *Leucemia: prevenção, genética, outros fatores de risco*.
- Lamego, R. M. et al. (2010). Transplante alogênico de células-tronco hematopoéticas em leucemias agudas: a experiência de dez anos do hospital das clínicas da UFMG. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, vol.32, n.2, p.108-115.
- Merck, S. D. (2010). *Manual Merck de Informação Médica-Saúde para a Família*. Seção 14 Distúrbios do Sangue, cap. 157 Leucemias. 2ª ed., Brasil: ROCA.
- Marconi, M. de A., LAKATOS, Eva M. (2005). *Fundamentos de Metodologia Científica*. 6ªed. São Paulo: Atlas S. A.
- Oliveira, B. M. de. et al. (2005). Avaliação da Adesão ao Tratamento através de Questionários: estudo prospectivo de 73 crianças portadoras de leucemia linfoblástica aguda. *Jornal de Pediatria*, Rio de Janeiro, vol. 81, n.3.
- Pinheiro, S. M. et al. (2010). Alterações Metabólicas em Crianças com Câncer Hematológico Submetidas ao Transplante de Medula Óssea Alogênico. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*, Rio de Janeiro, vol. 27, p.261-70.
- Quixabeira, V. B. L., Saddi, V. A. (2008). A Importância da Imunofenotipagem e da Citogenética no Diagnóstico das Leucemias: uma revisão de literatura. *RBAC*, vol. 40, n.3, p.199-202.
- Rodrigues, F. A. et al. (2010). Diagnóstico Laboratorial de Leucemia Linfóide Aguda no Período de Janeiro a dezembro de 2003 no Centro de Hematologia de São Paulo. *Rev. HCPA*, São Paulo, vol.30, n.1, p.5-12.
- SANTANA, L. R. et al. (2006). Perfil Epidemiológico das Leucemias em Crianças e Adolescentes no Estado da Bahia. *Gazeta médica da Bahia*, vol.76, n.3, p.51 – 54.
- Seber, A. (2010). Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas em Crianças e Adolescentes com Leucemias Agudas. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*. São Paulo, vol.32, n.5.
- SILVA, P. H; HASHIMOTO, Y; ALVES, H. B. (2009). *Hematologia Laboratorial*. Rio de Janeiro: Revinter.
- Silveira, N. A., Arraes, S. M. A. A. (2008). A Imunofenotipagem no Diagnóstico Diferencial das Leucemias Agudas: uma revisão. *Arq. Mudi.*, vol.12, n.1, p.5-14.
- Teixeira, J. E. C. (2006). *Diagnóstico Laboratorial em Hematologia*. 1ª ed. São Paulo: ROCA.