

## **A importância da análise morfológica para o diagnóstico das doenças hematológicas: um relato de caso**

The importance of morphological analysis for the diagnosis of hematological diseases: a case report

La importancia del análisis morfológico para el diagnóstico de enfermedades hematológicas: reporte de un caso

Recebido: 15/05/2023 | Revisado: 28/05/2023 | Aceitado: 30/05/2023 | Publicado: 04/06/2023

**Paulo César Gregório**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8954-2855>

Universidade Federal do Paraná, Brasil

Centro Universitário de Ensino, Ciência e Tecnologia do Paraná, Brasil

E-mail: paulocezargregorio@gmail.com

**Fernanda Bovo**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-5185-5900>

Universidade Federal do Paraná, Brasil

E-mail: fernanda\_bovo@yahoo.com.br

**Aline Emmer Ferreira Furman**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-6058-3259>

Universidade Federal do Paraná, Brasil

E-mail: aline.emmer@ufpr.br

**Caroline Grisbach**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6088-8254>

Universidade Federal do Paraná, Brasil

E-mail: carolgrisbach@gmail.com

**Aline Borsato Hauser**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0514-9421>

Universidade Federal do Paraná, Brasil

E-mail: alinehauser@ufpr.br

**Railson Henneberg**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3334-8567>

Universidade Federal do Paraná, Brasil

E-mail: railson@ufpr.br

### **Resumo**

**Objetivo:** O presente estudo teve como objetivo descrever um caso clínico de identificação da hemoglobina C durante a realização do exame periódico em uma amostra de uma servidora da Universidade Federal do Paraná (UFPR). **Método:** Neste estudo, relatamos o caso de uma paciente de 40 anos, que compareceu ao laboratório escola de análises clínicas (LEAC) para realização dos exames periódicos de rotina. A paciente respondeu um questionário referente a doenças prévias e a mesma não reportou a presença de traço ou de anemia recorrente. **Resultados:** Durante a realização do hemograma e leitura da extensão sanguínea em microscopia óptica, verificou-se a presença de codócitos em grande parte da lâmina. Em um primeiro momento, suspeitou-se de codócitos artefatuais porém, foi realizada uma eletroforese de hemoglobina, onde se confirmou a presença de banda referente à HbC, e além disso foi realizada uma análise quantitativa por cromatografia (CLAE), onde foi encontrada a presença de aproximadamente 40 % de HbC. **Discussão:** O relato de caso demonstra a importância dos exames periódicos e da avaliação da extensão sanguínea nos laboratórios clínicos para o diagnóstico de situações clínicas leves, como a hemoglobinopatia C na sua forma heterozigota. No contexto de ser um laboratório escola, todas as amostras são avaliadas microscopicamente garantindo assim que pequenas alterações possam ser percebidas levando a diagnóstico mais acurado. **Conclusão:** Em suma, apesar de toda a evolução que ocorreu nos últimos anos em relação a automação do laboratório de hematologia, casos como este evidenciam que a microscopia e consequentemente profissionais bem treinados e experientes ainda são fundamentais para garantir que casos como esse sejam esclarecidos.

**Palavras-chave:** Hemoglobinopatia; Hemoglobinopatia C; Diagnóstico precoce; Microscopia; Analistas clínicos.

### **Abstract**

**Objective:** The present study aimed to describe a clinical case of hemoglobin C identification during the periodic examination in a sample of a female employee of the Universidade Federal do Paraná (UFPR). **Method:** In this study, we report the case of a 40-year-old patient who came to the laboratory school of clinical analysis (LEAC) for routine periodic examinations. The patient answered a questionnaire regarding previous diseases and she did not report the presence of trait or recurrent anemia. **Results:** During the performance of the CBC and reading of the blood extension

under light microscopy, codocytes were found to be present in a large portion of the slide. At first, artifactual codocytes were suspected, but hemoglobin electrophoresis was performed and confirmed the presence of the HbC band. In addition, a quantitative analysis by chromatography (CLAE) was performed, where the presence of approximately 40% HbC was found. Discussion: The case report demonstrates the importance of periodic exams and blood extension evaluation in clinical laboratories for the diagnosis of mild clinical situations, such as hemoglobinopathy C in its heterozygous form. In the context of being a school laboratory, all samples are evaluated microscopically thus ensuring that small alterations can be noticed leading to more accurate diagnosis. Conclusion: In summary, despite all the evolution that has occurred in recent years regarding the automation of the hematology laboratory, cases such as this one show that microscopy and consequently well-trained and experienced professionals are still fundamental to ensure that cases such as this are clarified.

**Keywords:** Hemoglobinopathy; Hemoglobinopathy C; Early diagnosis; Microscopy; Clinical analysts.

### Resumen

Objetivo: El presente estudio tuvo como objetivo describir un caso clínico de identificación de hemoglobina C durante el examen periódico en una muestra de un servidor de la Universidad Federal de Paraná (UFPR). Método: En este estudio reportamos el caso de una paciente de 40 años de edad que acudió al laboratorio escuela de análisis clínicos (LEAC) para exámenes periódicos de rutina. La paciente contestó un cuestionario sobre enfermedades previas y no refirió la presencia de anemia rasgo o recurrente. Resultados: Durante el hemograma y lectura de la extensión sanguínea en microscopía óptica se verificó la presencia de codocitos en gran parte del portaobjetos. En un principio se sospechó codocitos artefactos, sin embargo, se realizó una electroforesis de hemoglobina que confirmó la presencia de una banda referente a la HbC, y además se realizó un análisis cuantitativo por cromatografía (HPLC), donde se detectó la presencia de aproximadamente un 40% de HbC. Discusión: El reporte de caso demuestra la importancia de los exámenes periódicos y la evaluación de la extensión sanguínea en laboratorios clínicos para el diagnóstico de situaciones clínicas leves, como la hemoglobinopatía C en su forma heterocigota. En el contexto de ser un laboratorio escolar, todas las muestras se evalúan microscópicamente, lo que garantiza que se puedan notar pequeños cambios, lo que lleva a un diagnóstico más preciso. Conclusión: En definitiva, a pesar de toda la evolución que se ha producido en los últimos años en relación con la automatización de los laboratorios de hematología, casos como este demuestran que la microscopia y, en consecuencia, los profesionales bien formados y experimentados siguen siendo fundamentales para conseguir que casos como este sean esclarecidos.

**Palabras clave:** Hemoglobinopatía; Hemoglobinopatía C; Diagnostico temprano; Microscopía; Analistas clínicos.

## 1. Introdução

As hemoglobinopatias são um grupo de doenças hereditárias amplamente distribuída pelo mundo que afetam a estrutura da hemoglobina (Williams & Weatherall, 2012). A hemoglobinopatía C (HbC) é uma das formas mais comuns de hemoglobinopatía, caracterizada pela presença de uma mutação que leva à substituição do ácido glutâmico pela lisina na posição 6 da cadeia beta da hemoglobina, resultando em uma hemoglobina anormal (Mamas et al., 2022; Weatherall, 2008). A presença da hemoglobina C causa alterações na estrutura e função dos eritrócitos, diminuindo a sua flexibilidade resultando em uma maior destruição dos eritrócitos no baço, levando a anemia hemolítica leve e à esplenomegalia (Kohne, 2011). Além disso, ocorre um aumento da aderência dos eritrócitos aos vasos sanguíneos, causando crises de dor e outras complicações vasculares (Piel et al., 2013). A contagem de reticulócitos pode estar aumentada, refletindo a resposta eritropoética à hemólise (Cortellazzi et al., 2003).

As hemoglobinopatias são um grave problema de saúde que afeta 71% dos países (de Castro Lobo et al., 2014; Williams & Weatherall, 2012), e contribuem para 3,4% da mortalidade em crianças com menos de 5 anos de idade em todo o mundo (Kohne, 2011). De acordo com dados do Ministério da Saúde, estima-se que cerca de 6,5% da população brasileira seja portadora de algum tipo de hemoglobinopatía. Além disso, estima-se que cerca de 2% da população brasileira seja portadora da HbC, sendo mais comum na região nordeste do país (Mulumba & Wilson, 2015; Piel et al., 2013; WHO, 2008).

O diagnóstico da hemoglobinopatía é baseado na identificação da hemoglobina C em eletroforese de hemoglobina e/ou por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Rosenfeld et al., 2019), e o tratamento da doença é sintomático podendo incluir transfusões de sangue em casos graves (Viprakasit & Ekwattanakit, 2018).

Os homocigotos para a hemoglobina C têm hemólise crônica e em geral anemia hemolítica, com esplenomegalia e incidência aumentada de cálculos biliares. Os portadores heterocigotos de hemoglobina C (genótipo  $\beta/\beta C$ ) não apresentam

sintomas, e seu diagnóstico tem importância epidemiológica e de orientação genética (Angulo & Picado, 2009; Rosenfeld et al., 2019).

Com a automação completa do setor de hematologia e a inclusão da liberação direta do hemograma nas rotinas laboratoriais, doenças hematológicas que apresentam pequenas modificações nos índices hematimétricos podem passar despercebidas levando a subnotificação destes casos. A maioria das hemoglobinopatias no seu estado heterozigoto e algumas alterações leves de membrana eritrocitária com a eliptocitose hereditária, apresentam hemograma normal e em laboratórios que liberam seus exames sem a revisão de lâmina, estas situações clínicas não serão diagnosticadas, visto que seu diagnóstico depende fundamentalmente da visualização microscópica de alterações morfológicas (Harteveld et al., 2022; Traeger-Synodinos & Harteveld, 2014).

No traço da hemoglobinopatia C a extensão sanguínea pode ser normal ou mostrar codócitos que variam de raros a frequentes. Ocasionalmente eritrócitos irregularmente contraídos podem ser observados junto de hipocromia e microcitose (Harteveld et al., 2022; Mamas et al., 2022). Diante deste quadro morfológico é de suma importância o laboratório contar com profissionais qualificados e treinados a fim de detectar alterações que poderiam passar despercebidas, especialmente em pacientes assintomáticos.

O presente estudo teve como objetivo descrever um caso clínico de identificação de um caso heterozigoto de hemoglobina C durante a realização do exame periódico em uma amostra de uma servidora da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

## 2. Metodologia

O presente estudo consiste em uma análise observacional retrospectiva, que avaliou o hemograma, eletroforese em pH alcalino e CLAE de uma servidora no laboratório escola de análises clínicas da UFPR (LEAC). As amostras foram coletadas em tubos com o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) para realização do hemograma e extensão sanguínea, eletroforese em pH alcalino e CLAE. Além disso, foi utilizado como suporte metodológico para este trabalho o artigo de (Harteveld et al., 2022).

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal do Paraná (UFPR) sob o parecer CEP/SD-PB nº 4884646 e CAAE: 46418921.5.0000.0102.

### 2.1 Hemograma

A contagem total de eritrócitos, leucócitos e plaquetas, bem como a dosagem de hemoglobina, foi realizada no equipamento *ABX Micros 60 Horiba*®, enquanto que as contagens diferenciais de leucócitos foram obtidos por contagem manual por microscopia óptica.

### 2.2 Eletroforese de Hemoglobinas

Para a análise qualitativa das frações de hemoglobina, as moléculas foram separadas por eletroforese de hemoglobina em pH alcalino em fita de acetato de celulose e tampão Tris-EDTA borato 0,025M pH 8,4 (TEB pH 8,4), sendo que o hemolisado foi preparado em uma placa de 96 poços de polietileno com 100 µL de sangue total e 100 µL de saponina a 1%. Em uma cuba eletroforética foram adicionados 50 mL de TEB em cada lado da cuba, com a fita estendida sobre a ponte do aparelho. Foi aplicado 5 µL do hemolisado na fita e submetida a uma voltagem entre 400 a volts por 20 minutos. Após a corrida a leitura dos resultados foi realizada segundo técnica descrita por (Giovelli et al., 2011).

### 2.3 Cromatografia Líquida de Alta Performance (CLAE)

Para a metodologia CLAE, o sangue foi colhido em tudo EDTA e realizado a hemólise das amostras. Em seguida, foi realizado a eluição das amostras, que foram inseridas em uma coluna de TSK gel não porosa para troca iônica. Após a corrida cromatográfica, foi interpretado o cromatograma.

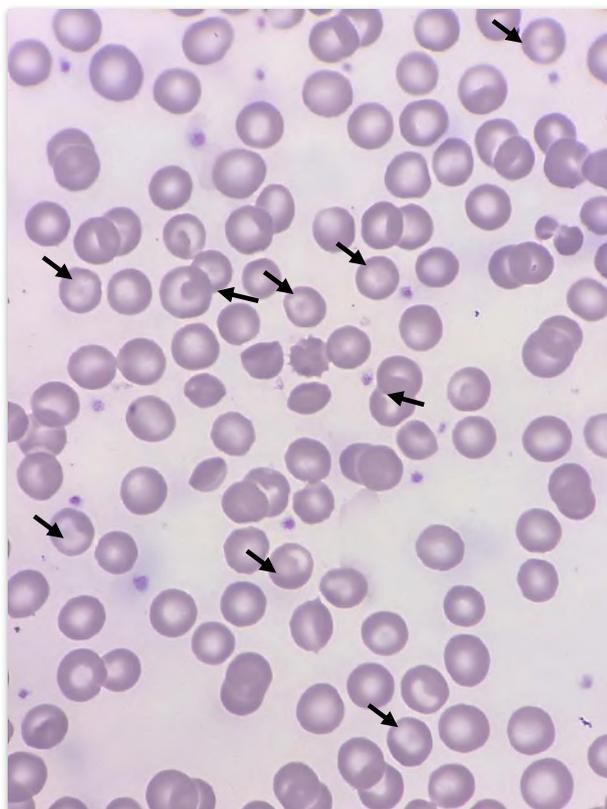
### 3. Descrição do Caso

Paciente do sexo feminino, C.S.L., caucasiana, 40 anos, servidora pública da UFPR. Foi encaminhada ao Laboratório Escola de Análises Clínicas da UFPR (LEAC-UFPR) para realização de exame periódico, o qual no aspecto laboratorial inclui os seguintes exames: hemograma completo, hemoglobina glicada, rotina de urina, perfil lipídico, dosagem de gama GT, creatinina, TSH, T4 livre, TGO e TGP.

Os resultados obtidos pelo equipamento *ABX Micros 60 Horiba®*, demonstraram uma leve diminuição da concentração de hemoglobina (11,7 g/dL) como principal alteração no hemograma. Por ser um laboratório escola e pela capacidade analítica do analisador utilizado, não há liberação direta do hemograma no LEAC, com análise da extensão sanguínea de todos os hemogramas da rotina.

Durante a análise microscópica da amostra estudada, foi observada hipocromia e alguns codócitos que apesar de presentes não eram suficientes para preencher o critério de quantificação utilizado pelo LEAC (*International Council for Standardization in Haematology (ICSH)*, 2016) (Keng et al., 2016). A Figura 1 demonstra um campo com eritrócitos onde é possível verificar alguns codócitos indicados pela seta.

**Figura 1** - Fotografia da extensão sanguínea da paciente.



Fotografia da extensão do sangue da paciente demonstrando um campo com eritrócitos onde é possível verificar alguns codócitos indicados pela seta. Fonte: Autores (2023).

Diante deste quadro, a amostra foi encaminhada para a realização de uma corrida eletroforética qualitativa no próprio LEAC para descartar a presença de uma hemoglobina variante. A Figura 2 demonstra o resultado da corrida eletroforética com a presença de banda A e C na amostra. Para a confirmação do caso, a amostra foi encaminhada para a realização de HPLC em laboratório de apoio, com confirmação de presença de 38% de hemoglobina C na amostra.

### 3. Resultados

#### 3.1 Hemograma

O resultado do hemograma está apresentado no Quadro 1 sendo que a principal alteração encontrada foi a concentração de hemoglobina de 11,7 g/dL (valor de referência: 11,8 a 15,4 g/dL), o que sugere uma anemia leve. Não houve maiores alterações no hemograma do paciente (Quadro 1).

**Quadro 1** - Hemograma completo do paciente relatado.

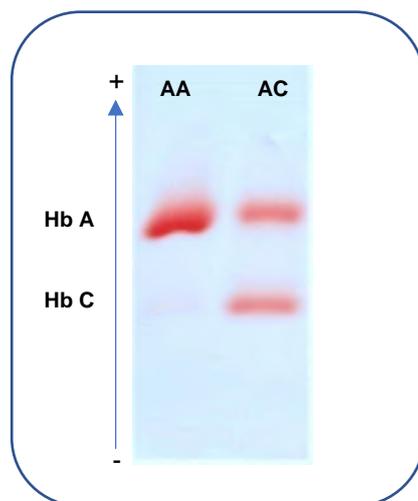
	Valores do Paciente	Valores de Referência
<b>Eritrograma</b>		
Eritrócitos	3,91 milhões/uL	4,7 milhões/uL (4 a 5,4)
Hemoglobina	11,7 g/dL	13,6 g/dL (11,8 a 15,4)
Hematócrito	33,4 %	41 % (35 a 46)
VCM	85 fL	87,3 fL (78 a 95,1)
HCM	29,9 g/dL	29,3 g/dL (25,6 a 32,1)
CHCM	35,1 g/dL	33,5 g/dL(31,9 a 35,4)
RDW	13,5 %	13,7 % (11,8 a 16,7)
<b>Leucograma</b>		
Leucócitos	3.100/uL	6.700/uL (3.800 a 10.4000)
Basófilos	2% - 62/uL	29,6/uL (0 a 99)
Eosinófilos	4% - 124/uL	228,5/uL (56 a 682)
Segmentados	33% - 1023/uL	3777,3/uL (1804 a 6460)
Linfócitos	59% -1829/uL	2175,3/uL (1157 a 3500)
Monócitos	2% - 62/uL	455,1/uL (208 a 807)
<b>Plaquetograma</b>		
Plaquetas	254.000/uL	284.100/uL (175 a 421)

Hemograma completo da paciente. Os valores de referências e suas variações descritos acima são para mulheres.  
Fonte: Autores (2023).

#### 3.2 Eletroforese de Hemoglobina em pH alcalino

A Eletroforese de Hemoglobina em pH alcalino de forma qualitativa evidenciou a banda de HbA e HbC, demonstrando que a paciente estudada apresenta hemoglobinopatia C, com fenótipo heterozigoto. A figura 2 apresenta detecção qualitativa de todas as hemoglobinas encontradas na paciente.

**Figura 2** - Fotografia da eletroforese.



Eletroforese de hemoglobina em acetato de celulose com pH alcalino (pH 8,6) mostrando da esquerda para a direita: HbA e HbC. Fonte: Autores (2023).

### 3.3 Cromatografia Líquida de Alta Performance (CLAE)

A CLAE evidenciou presença de HbA (58,2%) e HbC (38,6%), confirmando o perfil detectado na técnica manual. O quadro 2 demonstra a quantificação de todas as frações encontradas na paciente (Quadro 2).

**Quadro 2** - Resultados do teste CLAE para confirmação do diagnóstico.

CLAE		
Hemoglobina A1	58,2 %	Superior a 95,0 %
Hemoglobina A2	3,0 %	De 1,5 a 3,7 %
Hemoglobina Fetal	0,2 %	Inferior a 2,0 %
Hemoglobina S	0,0 %	Ausente
Hemoglobina C	38,6 %	Ausente
Outras	0,0 %	Ausente

Fonte: Laboratório de análises clínicas (LANAC - UFPR), 2023.

## 4. Discussão

A HbC é uma das formas mais comuns de hemoglobinopatia, resultante de uma mutação na posição 6 do agrupamento gênico da beta-hemoglobina (Mamas et al., 2022; Weatherall, 2008). As alterações com repercussões clínicas e laboratoriais decorrem da herança em homocigoto (HbCC) ou associado com HbS (SC) e talassemias. A paciente descrita pelo presente estudo, é portadora do traço C, ou seja, possui concentração de hemoglobina C menor que 50%, sendo assintomática, apesar da anemia leve e da presença de hipocromia e de alguns codócitos na extensão sanguínea, corroborando com estudos presentes na literatura (Lopes et al., 2022; Silva & Castro, 2017).

O caso em questão demonstra a importância dos exames periódicos no sentido da medicina do trabalho e da avaliação da extensão sanguínea nos laboratórios clínicos para o diagnóstico de situações clínicas leves, como a hemoglobinopatia C na sua forma heterocigota (Sant et al., 2010). No contexto de ser um laboratório escola, no LEAC todas as amostras são avaliadas microscopicamente garantindo assim que pequenas alterações possam ser percebidas levando a diagnóstico de situações como a descrita no presente caso. Diante do exposto, todas as formas de diagnosticar as alterações de hemoglobina de forma breve são

de suma importância para a população a fim de evitar complicações e melhorar o prognóstico do paciente. Além disso, permite o aconselhamento genético, que é importante para casais que desejam ter filhos e podem ser portadores da doença (Harteveld et al., 2022; Pecker & Naik, 2018).

Os critérios descritos pelo ICSH (2016) têm como objetivo padronizar as alterações de série vermelha nos hemogramas, buscando diminuir as variações encontradas entre os laboratórios, sendo documento a ser amplamente utilizado na rotina laboratorial. Porém, no caso estudado os critérios utilizados pelo ICSH para a descrição de codócitos não foi atingido, sendo que o fator que levou a pesquisa eletroforética, foi a experiência dos profissionais do laboratório frente a um hemograma relativamente normal com policitose leve (Harteveld et al., 2022; Keng et al., 2016).

Diante deste quadro, pela idade da paciente é provável que a falta de diagnóstico até o presente momento ocorreu pelo perfil do hemograma, que apresentou apenas um valor de hemoglobina discretamente baixa. Diante deste perfil, esta amostra se enquadra como “negativa” para avaliação da extensão sanguínea na maioria dos laboratórios que utilizam a liberação direta do hemograma. Nesse sentido, uma análise mais minuciosa sempre se faz necessária uma vez que confiar apenas no equipamento pode deixar casos como esse sem o devido diagnóstico.

## 5. Conclusão

O caso em tela demonstra a importância do laboratório clínico no diagnóstico das hemoglobinopatias, principalmente nas suas formas heterozigotas. Os profissionais que trabalham no setor de hematologia laboratorial devem correlacionar achados morfológicos do hemograma com as técnicas de confirmação, como a eletroforese de hemoglobina.

Apesar do HPLC ser técnica de alto custo e muitas vezes inacessível a maioria dos laboratórios, sistemas simples de corrida eletroforética (eletroforese em pH alcalino), apresentam-se economicamente viável podendo ser ferramenta útil na confirmação de algumas alterações morfológicas, principalmente os codócitos.

Em suma, apesar de toda a evolução que ocorreu nos últimos anos em relação a automação do laboratório de hematologia, casos como este evidenciam que a microscopia e consequentemente profissionais bem treinados e experientes ainda são fundamentais para garantir que casos como esse sejam esclarecidos. Sendo assim, mais estudos são necessários para à compreensão e diagnóstico das hemoglobinopatias.

## Referências

- Angulo, I. L., & Picado, S. B. R. (2009). Hemoglobina c em homozigose e interação com talassemia beta. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 31(6), 408–412. <https://doi.org/10.1590/S1516-84842009005000082>
- Cortellazzi, L. C., Teixeira, S. M., Borba, R., Gervásio, S., Cintra, C. S., & Grotto, H. Z. W. (2003). Reticulocyte parameters in hemoglobinopathies and iron deficiency anemia TT - Parâmetros reticulocitários nas hemoglobinopatias e na anemia ferropriva. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 25(2), 97–102. [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-84842003000200005&lang=pt%0Ahttp://www.scielo.br/pdf/rbhh/v25n2/v25n2a05.pdf](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842003000200005&lang=pt%0Ahttp://www.scielo.br/pdf/rbhh/v25n2/v25n2a05.pdf)
- de Castro Lobo, C. L., Ballas, S. K., Domingos, A. C. B., Moura, P. G., do Nascimento, E. M., Cardoso, G. P., & de Carvalho, S. M. F. (2014). Newborn screening program for hemoglobinopathies in Rio de Janeiro, Brazil. *Pediatric Blood & Cancer*, 61(1), 34–39. <https://doi.org/10.1002/pbc.24711>
- Giovelli, L. L., Danieli, K., Bortolotto, A. N., Mastella, A. K., Prior, M. P., Castro, S. M., Arrua, C. J., & Silva, J. E. P. da. (2011). Estudo comparativo entre metodologias de triagem para detecção de hemoglobina S em bancos de sangue. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 47(2), 137–140. <https://doi.org/10.1590/S1676-24442011000200007>
- Harteveld, C. L., Achour, A., Arkesteijn, S. J. G., ter Huurne, J., Verschuren, M., Bhagwandien-Bisoen, S., Schaap, R., Vijfhuizen, L., el Idrissi, H., & Koopmann, T. T. (2022). The hemoglobinopathies, molecular disease mechanisms and diagnostics. *International Journal of Laboratory Hematology*, 44(S1), 28–36. <https://doi.org/10.1111/ijlh.13885>
- Keng, T. B., De La Salle, B., Bourner, G., Merino, A., Han, J.-Y., Kawai, Y., Peng, M. T., & McCafferty, R. (2016). Standardization of haematology critical results management in adults: an International Council for Standardization in Haematology, ICSH, survey and recommendations. *International Journal of Laboratory Hematology*, 38(5), 457–471. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12526>
- Kohne, E. (2011). Hemoglobinopathies. *Deutsches Ärzteblatt International*, 108(31–32), 532–540. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2011.0532>

- Lopes, A., Dantas, M. T., & Ladeia, A. M. T. (2022). Prevalência das Complicações Cardiovasculares nos Indivíduos com Anemia Falciforme e Outras Hemoglobinopatias: Uma Revisão Sistemática. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 119(6), 893–899. <https://doi.org/10.36660/abc.20220207>
- Mamas, T., Kakourou, G., Vrettou, C., & Traeger-Synodinos, J. (2022). Hemoglobinopathies and preimplantation diagnostics. *International Journal of Laboratory Hematology*, 44(S1), 21–27. <https://doi.org/10.1111/ijlh.13851>
- Mulumba, L. L., & Wilson, L. (2015). Sick cell disease among children in Africa: An integrative literature review and global recommendations. *International Journal of Africa Nursing Sciences*, 3(2015), 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.ijans.2015.08.002>
- Pecker, L. H., & Naik, R. P. (2018). The current state of sickle cell trait: implications for reproductive and genetic counseling. *Blood*, 132(22), 2331–2338. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-06-848705>
- Piel, F. B., Howes, R. E., Patil, A. P., Nyangiri, O. A., Gething, P. W., Bhatt, S., Williams, T. N., Weatherall, D. J., & Hay, S. I. (2013). The distribution of haemoglobin C and its prevalence in newborns in Africa. *Scientific Reports*, 3(1), 1671. <https://doi.org/10.1038/srep01671>
- Rosenfeld, L. G., Bacal, N. S., Cuder, M. A. M., Silva, A. G. da, Machado, Í. E., Pereira, C. A., Souza, M. de F. M. de, & Malta, D. C. (2019). Prevalência de hemoglobinopatias na população adulta brasileira: Pesquisa Nacional de Saúde 2014-2015. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 22(suppl 2), 1–9. <https://doi.org/10.1590/1980-549720190007.supl.2>
- Sant, M., Allemani, C., Tereanu, C., De Angelis, R., Capocaccia, R., Visser, O., Marcos-Gragera, R., Maynadié, M., Simonetti, A., Lutz, J.-M., & Berrino, F. (2010). Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood*, 116(19), 3724–3734. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-05-282632>
- Silva, L. C. de M., & Castro, F. S. (2017). Hemoglobinopatias: relato de caso familiar. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, 49(3), 307–311. <https://doi.org/10.21877/2448-3877.201700567>
- Traeger-Synodinos, J., & Hartevelde, C. L. (2014). Advances in technologies for screening and diagnosis of hemoglobinopathies. *Biomarkers in Medicine*, 8(1), 119–131. <https://doi.org/10.2217/bmm.13.103>
- Viprakasit, V., & Ekwattanakit, S. (2018). Clinical Classification, Screening and Diagnosis for Thalassemia. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 32(2), 193–211. <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2017.11.006>
- Weatherall, D. (2008). Hemoglobinopathies Worldwide: Present and Future. *Current Molecular Medicine*, 8(7), 592–599. <https://doi.org/10.2174/156652408786241375>
- WHO. (2008). Management of haemoglobin disorders. *Report of a Joint WHO-TIF Meeting, Nicosia, Cyprus, November*, 16–18. <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Management+of+Haemoglobin+Disorders#4>
- Williams, T. N., & Weatherall, D. J. (2012). World Distribution, Population Genetics, and Health Burden of the Hemoglobinopathies. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(9), a011692–a011692. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011692>