



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA



DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA

TECNICA DE ASPIRADO DE MÉDULA ÓSEA EN NIÑOS

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MEDICO ESPECIALISTA EN:
PEDIATRÍA**

**PRESENTA:
DRA. JESSICA DENISE SANTILLÁN JUÁREZ**

**TUTOR:
DRA. ANGÉLICA CECILIA MONSIVÁIS OROZCO**

MEXICO D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



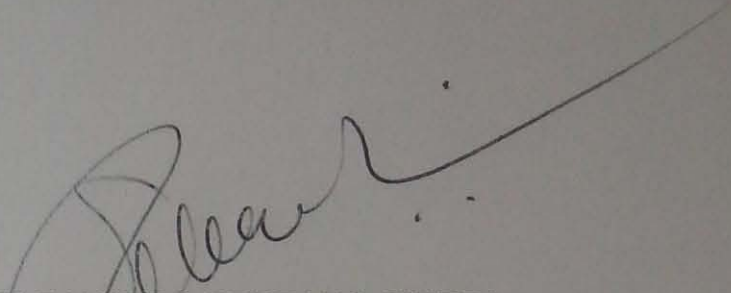
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

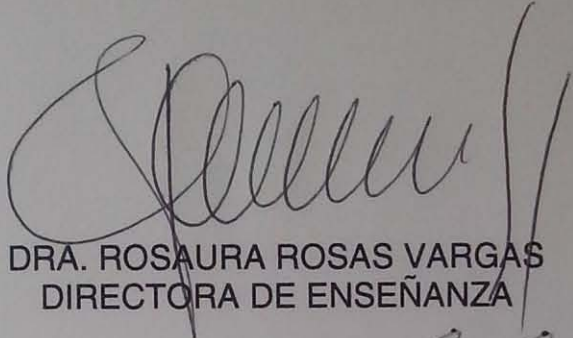
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

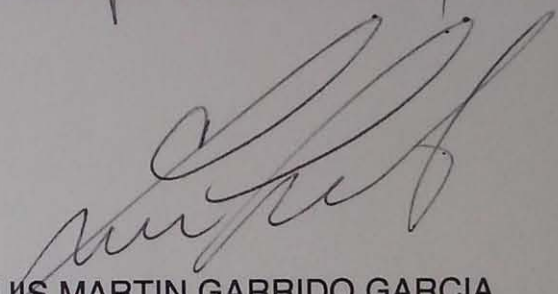
ASPIRADO DE MEDULA ÓSEA



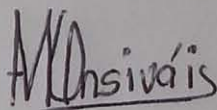
DR. ALEJANDRO SERRANO SIERRA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE
ESPECIALIZACION EN PEDIATRIA



DRA. ROSAURA ROSAS VARGAS
DIRECTORA DE ENSEÑANZA



DR. LUIS MARTIN GARRIDO GARCIA
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO



Monsivais

DRA. ANGELICA CECILIA MONSIVAIS OROZCO
TUTOR DE TESIS

ÍNDICE

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Indicaciones.....	4
Contraindicaciones.....	6
Equipo	6
Sitios de aspiración	7
Analgesia Local.....	8
Tipos de agujas para aspirado	8
Técnica.....	10
Técnica de aspiración de médula en el hueso iliaco.....	11
Técnica de aspiración de médula esternal.....	14
Técnica de aspiración de la médula tibial.....	15
Complicaciones.....	16
Bibliografía.....	17

RESUMEN

La médula ósea es el órgano principal de la hematopoyesis; es un órgano linfoide primario y secundario que proporciona un medio para la maduración celular.

El aspirado y la biopsia de la médula ósea son un complemento indispensable para el estudio de enfermedades de la sangre y en ocasiones pueden ser la única manera en que se pueda hacer un diagnóstico correcto. En niños las espinas ilíacas posteriores son el sitio preferido en la mayoría de los casos.

La indicación hematológica más frecuente para el aspirado de médula ósea corresponde a la disminución de elementos formes de la sangre periférica, las citopenias, leucopenia, anemia y trombocitopenia, ya sea en forma aislada o de las tres series (pancitopenia).

El uso creciente de agujas desechables por hematólogos se basa en consideraciones de seguridad para el paciente y el operador.

Para la toma de biopsia de médula ósea se prefieren agujas ligeramente más grandes con un mango T en la parte proximal tipo Jamshidi.

El hueso iliaco es perforable en varios puntos, para la aspiración de la cresta iliaca posterior se efectúa la aspiración con el paciente dispuesto como para una punción lumbar (decúbito prono lateral), con las rodillas y la espalda flexionadas. Se localiza un punto situado 2.5cm más abajo y 2.5cm por detrás de la cresta iliaca superior.

Una forma de medirlo es en el sitio localizado aproximadamente tres dedos de ancho lateral a la línea media y dos dedos de ancho inferior a la cresta iliaca. Acto seguido se introduce la aguja en dirección horizontal. Se perfora con el movimiento habitual de taladro hacia uno y otro lado, dirigiendo la aguja hacia la espina iliaca, una vez penetrada la cavidad medular, se procede a la aspiración con la jeringa de 10 o 20 ml previo retiro del estilete o mandril.

En general es un procedimiento bien tolerado. Las complicaciones son raras.

Introducción

La médula ósea (MO) comprende entre el 3.5 y 6% del peso corporal; es el principal órgano de la hematopoyesis; es un órgano linfoide primario y secundario que proporciona un medio para la maduración celular y la interacción inmunológica. Está regulada por factores que estimulan la producción normal de células sanguíneas. ¹

El aspirado y la biopsia de la médula ósea son un complemento indispensable para el estudio de enfermedades de la sangre y en ocasiones pueden ser la única manera en que se pueda hacer un diagnóstico correcto. La médula se puede conseguir por aspiración con aguja percutánea, biopsia por trépano o biopsia quirúrgica. Cuando se realizan correctamente son procedimientos sencillos y seguros que se pueden repetir varias veces y se pueden realizar de manera ambulatoria. ²

Se pueden obtener muestras satisfactorias de médula ósea del esternón, cresta ilíaca anterior o posterior, espinas ilíacas o tibia. En la mayoría de los casos las espinas ilíacas posteriores son el sitio de biopsia preferido y la selección de este sitio tiene la ventaja de que si no hay material en el aspirado, se puede realizar una biopsia inmediatamente. ²

El aspirado de médula ósea por aspiración es la técnica más común y suele proporcionar muestras adecuadas. En algunas ocasiones se produce una “extracción seca”, cuando la aspiración no logra extraer tejido medular. A veces tendrá éxito la aspiración realizada en otro punto. La imposibilidad de obtener una muestra por aspiración se puede explicar cuando se demuestra con distintas técnicas que la médula es acelular, fibrosa o esclerótica. ³

El consentimiento para el procedimiento debe llevarse a cabo de acuerdo con los lineamientos locales de operación y siempre debe incluir un análisis de los riesgos y beneficios del procedimiento.

Indicaciones

El aspirado de médula ósea está indicado en todas las enfermedades que puedan afectarla, ya sea en forma primaria o secundaria. En la tabla 1 se enlistan las indicaciones para el aspirado de médula ósea.

Tabla 1. Indicaciones de aspirado de médula ósea*

INDICACIONES DE ASPIRADO DE MÉDULA ÓSEA

1. Pacientes con citopenias no explicadas (bicitopenia, pancitopenia).
2. Sospecha de infiltración neoplásica con diagnóstico previo desconocido.
3. Estadificación oncológica de tumores con diagnóstico previo confirmado: linfomas, neuroblastoma, rhabdomyosarcoma, etc.
4. Anemias macrocíticas
5. Signos clínicos de enfermedad hematológica (linfadenopatía, esplenomegalia, hepatomegalia que no se explican por otros motivos).
6. Evaluación de la respuesta al tratamiento de algunas neoplasias: remisión o recaída de leucemia.
7. Pruebas radiográficas con lesiones óseas que puedan tener su origen en una enfermedad hematológica.
8. Identificación de parásitos como leishmania, histoplasma, plasmodium o tripanosomas.
9. Abordaje de fiebre de origen desconocido.
10. Con fines de investigación bacteriológica e histológica de granulomas.
11. Previo a la esplenectomía para determinar el estado funcional de la médula ósea.
12. Evaluación de la médula ósea antes del trasplante de células hematopoyéticas.
13. Evaluación de pacientes con enfermedades metabólicas por depósito.

*Modificada de De León-Bojorge¹

La indicación hematológica más frecuente corresponde a la disminución de elementos formes de la sangre periférica, las citopenias, leucopenia, anemia y trombocitopenia, ya sea en forma aislada o de las tres series (pancitopenia).¹

El aspirado de médula ósea permite obtener especímenes para evaluar la morfología celular, así como para realizar pruebas especiales, tales como la citometría de flujo para el análisis del inmunofenotipo, estudios citogenéticos, o estudios moleculares.

La biopsia de médula ósea se realiza a menudo como parte del procedimiento de aspirado y puede proporcionar información más específica sobre la celularidad de la médula ósea y la extensión de la enfermedad. Al igual que con cualquier procedimiento invasivo, el aspirado de médula ósea y la biopsia se deben realizar por personal calificado que conozca las indicaciones, contraindicaciones y las posibles complicaciones.⁴

Las especialidades médicas que con mayor frecuencia solicitan el aspirado de médula ósea son hematología, oncología, infectología y medicina interna.¹

Contraindicaciones

El aspirado y la biopsia de médula ósea no tienen contraindicaciones absolutas, pero puede haber contraindicaciones relativas relacionadas con el estado general del paciente o el riesgo de la anestesia o sedación profunda. Una infección activa en el sitio de aspiración, tal como la cresta ilíaca posterior, excluiría el uso de este sitio.

La trombocitopenia y otras coagulopatías como hemofilia y trastornos hemorrágicos congénitos similares no son contraindicaciones para realizar el procedimiento si es ejecutado por un médico experto, sin embargo se debe realizar la corrección de estas anomalías previo al procedimiento y mantener en observación al paciente posterior al procedimiento.

El esternón no se recomienda como un sitio para la biopsia.⁴

Equipo

Para realizar el procedimiento se requiere: solución estéril (preferentemente clorhexidina a menos que esté contraindicado se puede utilizar isodine), campos estériles, guantes estériles, anestesia local (lidocaína al 1% o al 0.25% o bupivacaína al 0.5%), una aguja de calibre 25 con dos jeringas de 5 ml para la administración de anestesia local, dos jeringas (10 ml o 20 ml) y una aguja de aspiración de médula ósea (preferiblemente desechable), aguja para biospia en caso de requerirla y laminillas. El anestésico local puede ser amortiguado con bicarbonato de sodio para minimizar la irritación de la inyección.⁴

Sitios de aspiración

El sitio de donde se obtiene la biopsia debe ser de fácil acceso, con mínimo trauma y sin peligro para el paciente.

La punción ilíaca, especialmente en la región posterior es generalmente el método de elección en niños. En ocasiones en los niños mayores obesos es difícil la palpación de la espina ilíaca posterior y se puede obtener de la espina iliaca anterior.²

El esternón, la cresta iliaca, apófisis espinosas vertebrales y otros lugares suelen proporcionar muestras equiparables, en ocasiones la aspiración fracasara en un punto y tendrá éxito en otro.

La elección del punto de aspiración es una cuestión personal, o bien se basa en indicaciones específicas, por ejemplo el extraordinariamente delgado esternón cartilaginoso del recién nacido convierte a la punción esternal en un acto difícil y peligroso.³

La superficie anteromedial de la tibia, justo debajo de la tuberosidad tibial es el sitio de elección para los lactantes menores de 12 meses de edad. Este sitio debe ser utilizado con precaución, ya que es vulnerable a las fracturas y laceraciones de los principales vasos sanguíneos adyacentes. En niños mayores, el hueso cortical tibial generalmente es demasiado denso y la médula suele ser menos activa por lo que no se recomienda.²

En raras ocasiones, las apófisis espinosas de los segmentos vertebrales (C7, L1, o L2) pueden ser utilizados especialmente en los adolescentes mayores.

Analgesia local

Se consigue la analgesia local infiltrando en la zona escogida una solución de lidocaína 1%. Primero se inyecta una pequeña cantidad por vía intradérmica en el punto elegido para la punción. Posteriormente se introduce mas la aguja perpendicularmente a la superficie de la piel hasta llegar al hueso. Se puede inyectar parte del anestésico a medida que la aguja atraviesa el tejido subcutáneo. Hay dos zonas potencialmente dolorosas que deben infiltrarse con cuidado: la piel y el periostio. La infiltración subperiostica eficaz se efectúa fijando firmemente la punta de la aguja hipodérmica en el hueso e inyectando el agente analgésico a presión. Una analgesia correcta del perisotio disminuye al paciente dolor posterior.³

Tipos de agujas para aspirado de medula ósea

Aunque una aguja de calibre 18 y una jeringa de 1 a 5 ml son adecuadas para la realización del aspirado de médula, una aguja más grande de calibre 16 y una jeringa de 20 a 50 ml garantiza mejores resultados en el diagnóstico cuando la médula está densamente poblada y cuando una muestra mayor es necesaria para la diferenciación de algún proceso leucémico.⁴

Las agujas deben ser firmes y estar hechas de acero inoxidable, con unos 7-8 cm de longitud, con un estilete que ajuste bien y que debe estar provisto de un protector ajustable. En las agujas reutilizables la punta y el borde del bisel se deben mantener bien afilados. Las agujas reutilizables más comunes son las de tipo Salah y Klima.

En la figura 1 se muestra la aguja tipo Klima.

El uso creciente de agujas desechables por hematólogos se basa en consideraciones de seguridad para el paciente y el operador.²

La aguja de punción Illinois es una aguja desechable excelente que permite sujeción firme y control absoluto en todo momento. Se presiona el seguro con las yemas de los dedos y se sujeta con firmeza el cuerpo de la aguja en la palma de la mano. La penetración en la cavidad medular se efectúa mediante una presión firme pero controlada, al tiempo que la aguja se gira de manera alternanada en ambos sentidos. De este modo se penetra gradualmente en la densa corteza sin dejar de vigilar la profundidad de la penetración.³ En la figura 2 se muestra la aguja tipo Illinois.

Para la toma de biopsia de médula ósea se prefieren agujas ligeramente más grandes con un mango T en la parte proximal, tipo Jamshidi, estas proporcionan un mejor agarre, son más fáciles de manejar y tienen éxito para biopsias de hueso excesivamente duro (por ejemplo osteosclerótico) o suave (osteoporosis). Una versión modificada de esta aguja tiene múltiples orificios en la parte distal del eje, además de abertura en la punta para los casos en que la médula no es uniforme.

En la figura 3 se muestra la aguja tipo Jamshidi.



Figura 1. Aguja tipo Klima**



Figura 2. Aguja tipo Illinois**

** Fotografías tomadas del material de trabajo de la unidad de de quimioterapia ambulatoria del Instituto Nacional de Pediatría



Figura 3. Aguja tipo Jamshidi para biopsia de médula ósea**

Técnica

Idealmente en niños o en pacientes no cooperadores, el procedimiento se debe realizar bajo sedación.¹

El sitio elegido para la aspiración de médula depende principalmente de la edad y tamaño del paciente. Es esencial realizar el procedimiento con pleno conocimiento de la anatomía del hueso es esencial para el éxito.⁵

La espina ilíaca posterior recubre una gran área que contiene médula y se pueden obtener volúmenes relativamente grandes de médula, por lo que en niños es el sitio preferido.²

Se deben utilizar sólo agujas diseñadas para ello, el operador debe usar siempre guantes estériles. La piel alrededor del área debe ser limpiada con alcohol al 70% o clorhexidina al 0.5%. Posteriormente se infiltra la piel, el tejido subcutáneo y periostio que recubre el sitio seleccionado con anestesia local con 2-5 ml de lidocaína. Espere hasta que la anestesia se haya logrado para iniciar el aspirado.^{1, 5,6}

** Fotografía tomada del material de trabajo de la unidad de de quimioterapia ambulatoria del Instituto Nacional de Pediatría

La muestra del aspirado de médula ósea refleja la condición de la médula ósea. Sin embargo la técnica puede tener consecuencias importantes en la evaluación del estado de remisión morfológica y la enfermedad mínima residual en los casos de leucemia. ⁶

Las diferencias en el contenido de blastos debido a las variaciones en el volumen del aspirado pueden dar lugar a una subestimación de la respuesta morfológica. Grandes volúmenes aspirados pueden llevar al fracaso en la evaluación de la muestra. Varios estudios de patología recomiendan aspirados en pequeña cantidad (0.25-0.3 ml) para la evaluación óptima del material obtenido, sin diluirse con sangre periférica. ⁶

Técnica de aspiración de médula en el hueso iliaco

El hueso iliaco es perforable en varios puntos, para la aspiración de la cresta iliaca posterior se efectúa la aspiración con el paciente dispuesto como para una punción lumbar (decúbito prono lateral), con las rodillas y la espalda flexionadas. Se localiza un punto situado 2.5cm más abajo y 2.5cm por detrás de la cresta iliaca superior. Una forma de medirlo es en el sitio localizado aproximadamente tres dedos de ancho lateral a la línea media y dos dedos de ancho inferior a la cresta iliaca. Acto seguido se introduce la aguja en dirección horizontal. ^{2,3}

El operador trabajará con más comodidad si el paciente se sitúa en el borde de la cama. Tras la infiltración habitual de la piel y el periostio, se realiza la punción en el sitio localizado según la descripción previa. ²

La cresta iliaca posterior se perfora con el movimiento habitual de taladro girando hacia uno y otro lado, dirigiendo la aguja hacia la espina iliaca, una vez penetrada la cavidad medular, se procede a la aspiración de 0.2 ml con la jeringa de 10 o 20 ml previo retiro del estilete o mandril.³

Finalizada la aspiración, se retira la aguja y se aplica al punto de punción un apósito estéril seco y se fija haciendo presión en el sitio.

Como regla, el material puede ser aspirado en la jeringa sin dificultad, en ocasiones puede ser necesario volver a insertar el estilete, introducir la aguja un poco más y aspirar de nuevo. La ausencia de aspirado de médula, es decir un aspirado seco sugiere fibrosis de la médula ósea.²

Debido a que la médula ósea se coagula más rápido que la sangre periférica el frotis debe realizarse sin demora, realizar un frotis en forma adecuada es esencial para asegurar la evaluación correcta de la morfología celular. Para realizar el extendido se pueden utilizar 2 portaobjetos de vidrio limpios de 75 x 25 mm, uno de los portaobjetos se utiliza como soporte del extendido y el otro como portaobjetos extensor. Se coloca una gota de la muestra de aspirado de médula ósea en el extremo del portaobjetos, colocar el portaobjetos extensor sobre la gota de médula ósea en sentido opuesto al portaobjetos de soporte y deslizarlo con rapidez y suavidad hacia el otro extremo. (Ver Figura 4).

El movimiento hacia delante del portaobjetos extensor demasiado lento acentúa la distribución incorrecta de las células debido a que empuja a las células más grandes hacia el final y los bordes del portaobjetos.

Otra técnica es dejar correr la muestra del aspirado sobre un portaobjetos inclinado sobre una caja de petri o algún objeto similar y al observar los fragmentos de médula ósea realizar el mismo procedimiento con el portaobjetos extensor.¹¹

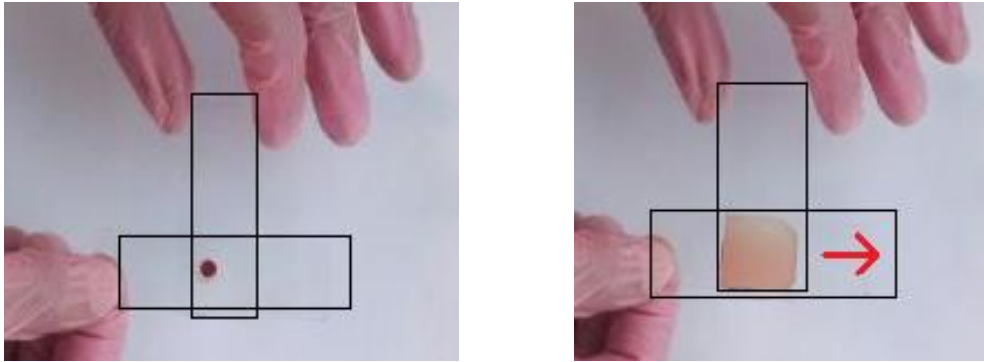


Figura 4. Técnica para realizar el extendido de la muestra de médula ósea.

Si se presento una aspiración seca inserte el estilete dentro de la aguja y empuje cualquier material sobre un portaobjetos y extienda ya que en los linfomas y carcinomas, el material puede ser suficiente para permitir el diagnostico.²

En algunas ocasiones se puede realizar el procedimiento guiado por radiología, generalmente para acceder a lesiones óseas específicas.¹ En la figura 5 y 6 se muestran los sitios de aspirado de médula iliaca posterior.

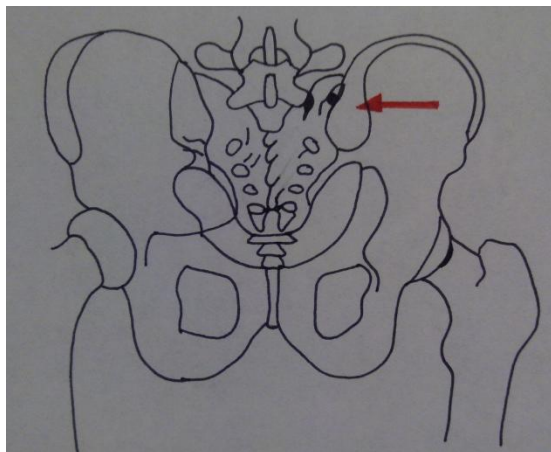


Figura 5. Sitio de aspirado de médula en la espina iliaca posterior. (De Santillán-Juárez)

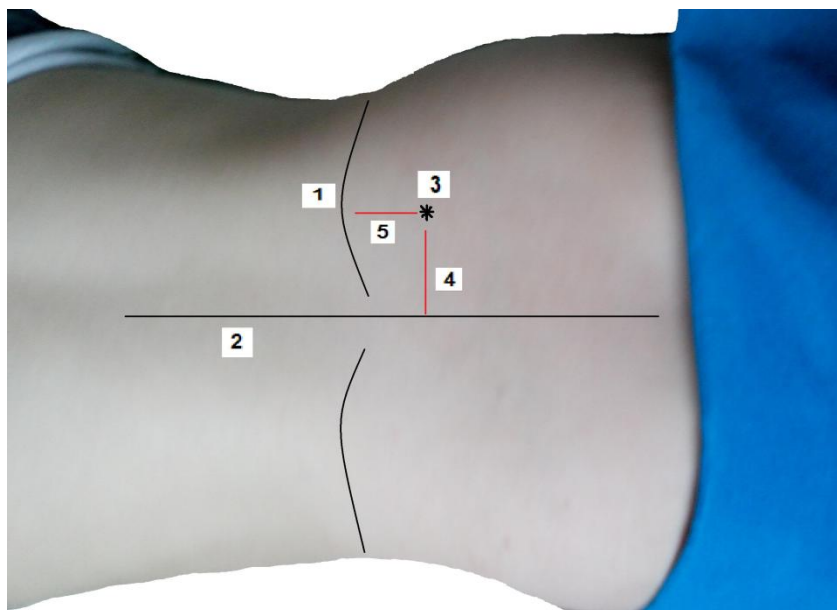


Figura 6. Sitio de aspirado de médula ósea en la cresta iliaca posterior, (1) cresta iliaca posterior, (2) línea media, (3) sitio de aspiración, (4) representa la distancia entre la línea media y el sitio de aspirado lo que corresponde aproximadamente a 3 dedos, (5) representa la distancia entre la cresta y el sitio de aspirado lo que corresponde aproximadamente a 2 dedos. (Fotografía realizada por Santillán-Juárez)

Técnica de aspiración de médula esternal

El punto de elección es el cuerpo del esternón a la altura del segundo espacio intercostal, donde dicho hueso está bien fijo y no suelen ser frecuentes anomalías congénitas.^{3,4}

Conseguida la analgesia adecuada, se localiza el segundo espacio intercostal siguiendo con los dedos índice y pulgar de la mano izquierda de los bordes laterales del esternón. Entonces se centra la punta de la aguja exactamente en el punto medio entre los bordes del esternón. Sujetando la aguja, perpendicular a la piel, se inserta con movimiento de taladro y presión firme pero no excesiva. En general, no hay necesidad de rasgar la piel si la aguja es afilada y suave. La presión de taladro se prosigue hasta penetrar la piel, tejido subcutáneo y la lamina externa. La descripción clásica de vencer una resistencia cuando se entra en la cavidad medular es inexacta. Una prueba más fidedigna de que se ha penetrado en la lámina externa consiste en inclinar suavemente la aguja.^{3,4}

Cuando se ha penetrado en la corteza externa la aguja se habrá fijado en un punto pero se podrá inclinar y si la punta de la aguja está tocando la lámina posterior se habrá fijado en dos puntos y no se inclinara. Tras haber determinado que la aguja está en la cavidad medular, se libera y extrae el mandril, se inserta en su lugar una jeringa de 20ml y se procede a aspirar con fuerza. No deben aspirarse más de 0.2ml de medula, a fin de reducir al mínimo la dilución de la misma con sangre sinusoidal. Finalizada la aspiración, se retira la aguja y se aplica al punto de punción un apósito estéril seco.^{3,4}

En recién nacidos y niños pequeños la aspiración de la cresta iliaca o las apófisis espinosas son más fáciles que la esternal, pero también es posible. En recién nacidos y niños de hasta 3 años de edad conviene usar la aguja Klima-Rosseger o cualquier otra aguja pequeña.

Dado que la lámina esternal de los recién nacidos es fundamentalmente cartilaginosa, la resistencia a la penetración es menor y hay que ejercer con suma prudencia la presión. Cuando se ha atravesado la lámina anterior, se encuentra en la cavidad medular. Puesto que 0.1mm^3 de médula contienen un promedio de 10,000 células bastara con uno o dos frotis bien preparados para los estudios habituales.³

Técnica de aspiración de la médula tibial

La aspiración de médula tibial se efectúa en recién nacidos y hasta los 12 meses de edad, no se recomienda en lactantes mayores.

La cortical del hueso adquiere densidad progresiva con los años, por lo que la penetración se va haciendo más difícil. La punción se efectúa en la cara interna de la cabeza de la tibia, debajo del cóndilo interno y la tuberosidad tibial. La técnica es idéntica a la de otros lugares.³

Complicaciones

En general es un procedimiento relativamente bien tolerado y con bajo riesgo de morbilidad. Las complicaciones son raras; generalmente debido a sangrados que pueden ocasionar hematomas. Otras complicaciones más serias son aún menos frecuentes, como la neuropatía transitoria, infección de la herida, osteomielitis, reacción a medicamentos, así como dolor persistente.¹

También pueden producirse complicaciones graves, como daño a las estructuras subyacentes como en el caso de la aspiración esternal donde se pueden presentar lesiones pulmonares o cardíacas.

En el caso del aspirado de medula ósea tibial los principales riesgos son fracturas o laceraciones de los principales vasos sanguíneos adyacentes.⁵

El riesgo de sangrado puede ser mayor en pacientes con trombocitopenia y alteraciones de la función plaquetaria; estos pacientes deben tenerse en observación en el hospital 24 horas después del procedimiento. La siembra de células malignas puede ocurrir excepcionalmente en pacientes con metástasis diseminadas.¹

BIBLIOGRAFIA

1. De León-Bojorge B. Biopsia de médula ósea. *Acta Pediatr Mex* 2010;31(4):178-187
2. Bain Barbara J, Bates Imelda, Laffan Michael A, Lewis S. Mitchell. *Practical haematology*. 11th ed. London: El Sevier; 2011: 123-127.
3. Miale, John B. *Hematología, Medicina de Laboratorio*. 6º edición. Madrid: Editorial Reverte; 1986: 230-240
4. Malempati Suman, Joshi Sarita, Lai Susanna, Braner A.V. Dana, Tegtmeyer Ken. Bone Marrow Aspiration and biopsy. *The New England Journal of Medicine* 2009(28): 361-365
5. Ching-Hon Pui, *Childhood leukemia*. 2o. ed. Tennessee USA: Cambridge University Press; 2006: 21,22
6. Helgestad Jon, Rosthoj Steen, Johansen Preben.,Varming Kim, Ostergaard Erik. Bone Marrow Aspiration Technique May Have an Impact on Therapy Stratification in Children with acute lymphoblastic leukaemia. *Pediatric Blood Cancer* 2011(57):224–226
7. Hyun BH, Gualti GL, Ashton JK. Bone marrow examination: techniques and interpretation. *Hematol Oncol Clin North Am* 1988(2):513.
8. Abla O, Friedman J, Doyle J. Performing bone marrow aspiration and biopsy in children: Recommended guidelines. *Paediatr Child Health* 2008(13):499-501.
9. Sola MC, Rimza LM, Christensen RD. A bone marrow biopsy technique suitable for use in neonates. *Br J Haematol* 1999 (107):458-60.
10. Ryan DH, Cohen HJ. *Hematology: Basic Principles and Practice*. 3rd ed. Philadelphia: Churchill Livingstone 2000: 2460.
11. Carr Jacqueline H, Rodak Bernadette F. *Atlas de Hematología Clínica*. 3ª Edición. Buenos Aires Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2011: 2