



TAMIZAJE NEONATAL UNIVERSAL PARA LA DETECCIÓN DE INMUNODEFICIENCIAS COMBINADAS GRAVES Y OTRAS CAUSAS DE LINFOPENIA: PROPUESTA PARA SU INCLUSIÓN EN EL PROGRAMA NACIONAL DE SALUD EN MÉXICO.

Yamazaki-Nakashimada Marco Antonio²

Bustamante-Ogando Juan Carlos¹

Espinosa-Padilla Sara Elva¹

Medina-Torres Edgar Alejandro ¹

García-Ramírez Mayela²

1 Instituto Nacional de Pediatría

2 FUMENI (Fundación Mexicana para Niñas y Niños con Inmunodeficiencias Primarias, A.C.)



TAMIZAJE NEONATAL UNIVERSAL PARA LA DETECCIÓN DE INMUNODEFICIENCIAS COMBINADAS GRAVES Y OTRAS CAUSAS DE LINFOPENIA: PROPUESTA PARA SU INCLUSIÓN EN EL PROGRAMA NACIONAL DE SALUD EN MÉXICO.

INTRODUCCIÓN

El sistema inmunológico es una red compleja de células y órganos que cooperan para proteger a las personas contra los microorganismos infecciosos (como bacterias, virus, hongos y protozoos) así como las amenazas internas, como el cáncer. El sistema inmune se especializa en identificar el peligro, contenerlo y finalmente erradicarlo. Se compone de células, proteínas, tejidos y órganos altamente especializados. Los linfocitos B y T, las células fagocíticas y los factores solubles como el complemento, son algunos de los componentes principales del sistema inmune y tienen funciones críticas específicas en la defensa contra microorganismos y agentes ambientales.

Las inmunodeficiencias primarias (IDPs) constituyen un grupo de enfermedades hereditarias, en su mayoría ocasionadas por defectos monogénicos que afectan el desarrollo, maduración y/o función del sistema inmune. Estas enfermedades confieren mayor susceptibilidad para infecciones, inflamación, autoinmunidad y cáncer. Estudios epidemiológicos con base

poblacional estiman una incidencia de 1:1,200 a 2,000 RN vivos. Para las formas más graves y letales se ha calculado una incidencia de 1:30,000 a 1:150,000 RN vivos.

Las IDPs se clasifican actualmente en 10 grupos con base en el componente del sistema inmune que está más afectado, actualmente hay más de 400 genes conocidos causantes de IDPs, y gracias a los avances en el conocimiento de la genética y las técnicas de secuenciación, el número de enfermedades conocidas aumenta cada año. De acuerdo a la última clasificación de la Organización Mundial de la Salud y la Unión Internacional de Sociedades de Inmunología (IUIS) en 2019, se reconocen diez grupos distintos de IDPs:

1. Inmunodeficiencias combinadas de células T y B.
2. Inmunodeficiencias combinadas con características sindromáticas asociadas.
3. Inmunodeficiencias predominantemente de anticuerpos.
4. Trastornos por desregulación inmunológica.
5. Inmunodeficiencias por defectos en el número y/o función de fagocitos.
6. Inmunodeficiencias por defectos en la inmunidad innata.
7. Síndromes auto-inflamatorios.
8. Deficiencias de complemento.
9. Fenocopias de inmunodeficiencias primarias.
10. Síndromes de falla medular.

Las inmunodeficiencias predominantemente de anticuerpos representan el grupo de IDPs más frecuente. Las inmunodeficiencias combinadas graves (SCID) son el grupo de IDPs con mayor letalidad, con tasas de mortalidad >90% en los primeros 2 años de vida, si no se inicia



tratamiento. El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) y la terapia génica (en algunos casos) constituyen la única opción de tratamiento definitivo. Los factores pronósticos más importantes para la supervivencia de estos pacientes son la edad del diagnóstico, la edad del trasplante, y las complicaciones que en este intervalo ocurren. En el mejor escenario posible (i.e. diagnóstico con tamiz neonatal, ninguna complicación infecciosa y trasplante antes de los 3.5 meses de vida), las tasas de supervivencia logran el 95%.

A diferencia de muchas otras enfermedades raras o de baja prevalencia, en el caso de las IDPs existen opciones de tratamiento efectivas para los pacientes, que pueden permitirles llevar a cabo una vida casi normal. Hoy en día, en el caso de las IDPs más graves, está la posibilidad de ofrecer tratamientos potencialmente curativos cuando son diagnosticadas oportunamente. Los pacientes con IDPs deben, por lo tanto, ser diagnosticados tempranamente e informados sobre el tratamiento más adecuado para su condición particular. Desafortunadamente, ninguna de las terapias disponibles puede revertir el daño de las complicaciones derivadas de un diagnóstico tardío.

Hablaremos en este documento sobre las opciones disponibles actualmente en el mundo para realizar tamizaje neonatal y detectar oportunamente las IDPs, particularmente las inmunodeficiencias combinadas graves (SCID, por sus siglas en inglés), el impacto que dicho tamizaje representa, y un panorama general de la situación en nuestro país exponiendo el impacto potencial que tendría implementar un tamizaje universal para esta enfermedad.

INMUNODEFICIENCIA COMBINADA GRAVE (SCID).



Las SCID son un grupo heterogéneo de enfermedades causadas por defectos monogénicos que afectan gravemente el desarrollo y/o la función de los linfocitos T, y en grado variable a los linfocitos B y NK, resultando en compromiso de la inmunidad adaptativa celular y humoral. La definición operacional más aceptada es dada por la concentración de linfocitos T (CD3+) < 500 células /mm³ y por un defecto funcional demostrado mediante pruebas de linfo-proliferación. Dependiendo del defecto genético, la ausencia/presencia de linfocitos B y NK permiten su ulterior clasificación. Estos defectos del sistema inmune representan el espectro más grave y letal de las IDPs con una mortalidad del 100% en los primeros dos años de vida si no reciben tratamiento oportuno y adecuado. Si se diagnostican tempranamente, el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) y la terapia génica (TG) en algunos casos, ofrecen la opción de un tratamiento curativo.

Existen mutaciones en un gran número de genes que pueden ocasionar SCID; si bien es importante y cada vez más necesario identificar el defecto genético que ocasiona la enfermedad, la identificación de la mutación no debe ser un requisito para iniciar el tratamiento oportuno y agresivo de las complicaciones en estos pacientes, dado que el acceso a diagnóstico molecular aún es limitado en muchos sitios.

Hasta hace unos años no se tenían cifras robustas de la incidencia y prevalencia de SCID. Recientemente, gracias al desarrollo e implementación de una prueba de tamizaje neonatal mediante la cuantificación de los círculos de escisión de ácido desoxirribonucleico de la recombinación del receptor de células T (TREC's), incluida ya en el programa universal de tamizaje neonatal de los Estados Unidos de Norte América (EUA) ha permitido tener datos

prospectivos con bases poblacionales. La incidencia general de SCID en promedio es de 1 : 55,000 recién nacidos vivos (RNV). El análisis por grupo étnico, ubica al grupo de hispanos como el más afectado, con una incidencia estimada de 1: 22,000 RNV (IC95% de 1 : 9,000 a 1 : 40,000). El panorama epidemiológico de las IDP en México es poco claro. Tomando en cuenta el número de nacimientos por año de nuestro país (aproximadamente 2,500,000) y extrapolando la incidencia estimada para población estadounidense de 1 : 55,000, cada año nacerían aproximadamente 46 niños o niñas con SCID. Si tomáramos en cuenta la incidencia estimada para el grupo étnico de hispanos, dicha cifra incrementaría a 114 pacientes con SCID al año. La mayoría de estos pacientes mueren a causa de complicaciones infecciosas secundarias al defecto inmunológico de base, en muchos casos sin diagnóstico.

Los datos del registro latinoamericano de IDPs (registro LASID, <https://lasidregistry.org>) ejemplifican el gran sub-diagnóstico de esta enfermedad.

CUADRO CLÍNICO Y DIAGNÓSTICO

El cuadro clínico típico de los pacientes con SCID consiste en: susceptibilidad incrementada a presentar infecciones graves y/o persistentes por cualquier tipo de microorganismos (bacterias, virus, hongos, micobacterias), falla de medro y diarrea crónica. En la exploración física se suele encontrar: ausencia de tejido linfoide (amígdalas y ganglios linfáticos), y ausencia de timo por estudios de imagen. Las pruebas de laboratorio iniciales consisten en: biometría hemática que muestra en la mayoría de los casos linfopenia, niveles séricos de inmunoglobulinas disminuidos (hipogammaglobulinemia) y subpoblaciones de linfocitos por

citometría de flujo que muestra número disminuido de linfocitos T con o sin disminución en el número de linfocitos B y/o células NK. Posteriormente se pueden realizar estudios de linfoproliferación con distintos estímulos que muestran defectos en la activación y función de los linfocitos T. El diagnóstico definitivo se establece mediante la identificación de mutaciones en alguno de los genes implicados en esta patología. Recientemente, se están describiendo casos de SCID donde el timo está presente y el número de linfocitos es normal pero la función está muy disminuida o ausente, ocasionando un cuadro clínico indistinguible.

En un estudio publicado recientemente, se analizaron las complicaciones secundarias a vacunación con BCG en pacientes con SCID de diferentes países: se recopilaron datos sobre 349 pacientes con SCID vacunados con BCG, provenientes de 28 centros en 17 países y se encontró que el 50% tuvieron complicaciones asociadas con la vacuna (34% diseminadas y 17% localizadas); los que recibieron la vacuna antes del mes de edad tuvieron mayor incidencia de complicaciones y se reportaron 46 muertes por complicaciones de BCG.

En una tesis realizada en el INP en 2010, se realizó un estudio retrospectivo sobre las complicaciones por aplicación de vacuna BCG en pacientes con SCID. Se identificaron 28 pacientes con el diagnóstico, de los cuales 15 (53%) tenían historia de aplicación de BCG al nacimiento. Seis de los pacientes vacunados (40%) presentaron infección secundaria a BCG.¹³ Es importante tomar en cuenta estas complicaciones en pacientes mexicanos, dado que a todos los recién nacidos se les aplica la vacuna.

TRATAMIENTO



El diagnóstico temprano de los pacientes con SCID es importante para lograr su referencia a un centro especializado en la atención de estos pacientes. Las únicas opciones terapéuticas curativas son el TCPH en la mayoría de los casos y la terapia génica en algunos casos. En las condiciones ideales (antes de los 3.5 meses de vida, sin episodios infecciosos) la supervivencia es mayor al 95%.

Para llevar a cabo un TCPH se requieren de diversos procesos. El tiempo necesario para llevarlos a cabo es de 3 meses en promedio e incluyen: determinación del genotipo y fenotipo de los antígenos leucocitarios humanos (HLA) del paciente, la determinación y búsqueda de compatibilidad de HLA en familiares de primer grado (idealmente hermanos, pero también posible madre o padre). Si el paciente no cuenta con hermanos como donadores compatibles, se prefiere la búsqueda de un donador no relacionado HLA-compatible (ya sea mediante búsqueda de células progenitoras hematopoyéticas derivadas de cordón umbilical o periféricas de bancos de sangre) y finalmente si no se cuenta con ninguna de éstas dos opciones, se puede optar por un trasplante de células progenitoras hematopoyéticas haplo-idéntico, proveniente de cualquiera de los padres, preferentemente la madre.

Para algunos diagnósticos y sólo en algunos centros especializados existe la posibilidad de realizar terapia génica. La inserción de copias “correctas” del gen mutado mediante transducción viral a las células progenitoras hematopoyéticas del paciente (previamente aisladas y cultivadas con el vector), corrige el defecto molecular y repara la función del sistema inmune mediante un trasplante autólogo.



Ambas modalidades de tratamiento requieren preparación del paciente para recibir las células de un donador sano (TCPH) o células autólogas corregidas (terapia génica) y favorecer el injerto de estas células, evitando el rechazo de las mismas y con ello el éxito del tratamiento curativo. Esta preparación consiste en la administración de medicamentos citotóxicos para eliminar en medida de lo posible todas las células sanguíneas y hematopoyéticas del paciente, con la finalidad de liberar el “nicho” de las células progenitoras hematopoyéticas defectuosas, y que entonces las “nuevas” células tomen este nicho y puedan proliferar e instituir un sistema inmune sano. Dicho proceso recibe el nombre de acondicionamiento.

En el caso de TCPH también se debe considerar la posibilidad del desarrollo de *enfermedad de injerto contra hospedero* (EICH - i.e. las células del donador reconozcan al receptor como extraño y monten una respuesta en su contra), sobre todo si las células donadas no son 100% HLA-compatibles (i.e. 10/10 antígenos HLA idénticos).

Debido a que los defectos moleculares causantes de SCID afectan el desarrollo y/o función de la respuesta inmune adaptativo, tanto celular como humoral y que ni el TCPH ni la terapia génica son intervenciones que se realicen de inmediato; una vez realizado el diagnóstico de SCID, el tratamiento de soporte es de vital importancia para lograr la sobrevida y mejores condiciones de salud durante el período de espera y preparación.

Los principales factores que influyen para lograr un tratamiento exitoso son: la edad al diagnóstico, la edad al momento del tratamiento curativo, y la presencia de infecciones activas al momento del tratamiento curativo. Hoy en día, los pacientes que se diagnostican y reciben TCPH o TG antes de los 3.5 meses de edad y sin infecciones activas, tienen una



posibilidad de éxito y supervivencia libre de enfermedad mayor al 90%, e inclusive algunos grupos reportan supervivencia del 100%. Lo anterior representa el avance en los últimos 20 años, de una enfermedad mortal a una enfermedad curable.

TAMIZAJE NEONATAL

Existen múltiples reportes y estudios multicéntricos, tanto retrospectivos como prospectivos, que demuestran que los pacientes con SCID tienen un mejor pronóstico cuando el tratamiento se inicia de forma temprana.

Debido a que los pacientes con esta enfermedad no presentan manifestaciones clínicas al nacer y que en la gran mayoría de los casos no se identifican casos familiares diagnosticados, desde hace años se inició la búsqueda de una estrategia que permita un tamizaje neonatal universal, con el objetivo principal de detectar tempranamente e iniciar el tratamiento, tanto de sostén como curativo, antes de que los pacientes presenten infecciones y sus complicaciones.

El tamizaje universal para inmunodeficiencias primarias, particularmente para SCID, representa un hito sin precedentes en el campo de la inmunología clínica. Se puede justificar el tamizaje para enfermedades raras o de baja prevalencia que no pueden ser reconocidas en las revisiones clínicas de rutina, pero que son tratables y el diagnóstico temprano permite mejorar el pronóstico y la calidad de vida del paciente y su familia, tal como es el caso de las SCID. Resulta indispensable contar con un biomarcador que sea extremadamente

sensible, dado que la posibilidad de falsos negativos implica la pérdida de potenciales casos de la enfermedad; también debe ser extremadamente específico para evitar gastos innecesarios y ansiedad en las familias asociada con la detección de falsos positivos.

Las SCID cumplen con los criterios originalmente propuestos por Wilson y Jungner para considerar una enfermedad susceptible de tamizaje neonatal:

- a) Ausencia de signos clínicos evidentes en la exploración física.
- b) Curso asintomático en edad temprana.
- c) Alta carga de enfermedad cuando no reciben tratamiento.
- d) Disponibilidad de un tratamiento efectivo. En el caso de SCID, a diferencia de otras enfermedades, existe la posibilidad de ofrecer un tratamiento “curativo”.
- e) Mejoría del pronóstico y la supervivencia cuando se detectan tempranamente.
- f) Disponibilidad de una prueba sensible, específica, y de bajo costo.

La mayoría de pruebas de tamizaje no están diseñadas para establecer un diagnóstico, sino para señalar una potencial enfermedad grave que amerita un seguimiento y estudios complementarios de inmediato. Por tal motivo, el tamizaje para SCID debe entenderse como un programa integral y no como una simple prueba de laboratorio. Describiremos en este documento las potenciales ventajas y también los retos para implementar un tamizaje universal de SCID en México, así como una propuesta de ruta crítica a seguir para los casos detectados.

INMUNOLOGÍA BÁSICA APLICADA AL TAMIZAJE DE SCID

El sistema inmunológico adaptativo requiere la generación de un repertorio de linfocitos T amplio (cada linfocito con un receptor de antígeno, conocido como TCR, único y específico para un antígeno), que permita reconocer la gran variedad de antígenos a los que nos exponemos desde el nacimiento y montar respuestas inmunológicas adecuadas que nos ayudan a defendernos y evitar enfermedades infecciosas. Gran parte de este repertorio de linfocitos se genera durante las etapas tempranas de la vida, durante la maduración de los linfocitos T en el timo.

Los timocitos (células precursoras de los linfocitos T) llegan procedentes de la médula ósea al timo, donde completan un proceso de selección y maduración que permitirá la generación de linfocitos T funcionales para asegurar procesos posteriores de defensa contra antígenos ajenos y de tolerancia contra antígenos propios. Para generar este repertorio amplio y variado de TCRs, existe un proceso de rearreglo genético en los genes que codifican para las porciones V-D-J del TCR. Este proceso de recombinación de genes es mediado por una serie de enzimas que realizan rupturas de doble hebra en el DNA en sitios específicos de las porciones V-D-J, así como el posterior empalme del DNA que da como resultado un TCR único y específico, lo que permite que el linfocito T continúe el proceso de selección y maduración que dará como resultado final el “repertorio” de linfocitos T vírgenes que migran desde el timo hacia la sangre periférica y los tejidos.

Las porciones de DNA escindidos durante el proceso de recombinación genética V-D-J del TCR, no son destinados a incorporarse en el TCR final, por lo que se ligan en sus extremos

terminales formando productos circulares de DNA conocidos como “círculos de escisión del TCR” (TREC, por sus siglas en inglés). Los TREC son producidos durante las fases finales de maduración en el 70% de todos los linfocitos T, son estables y no se replican durante la mitosis, por lo que persisten y se van diluyendo conforme los linfocitos T van proliferando. Estos TREC pueden detectarse mediante una reacción en cadena de polimerasa (PCR) utilizando “primers” que flanqueen la zona de unión del círculo de DNA. Por lo tanto, el número de copias de TREC es un indicador directo de la producción de linfocitos T vírgenes maduros en el timo.

El ensayo de medición de TREC fue adaptado para realizar tamizaje neonatal mediante una técnica de PCR en tiempo real que amplifica DNA extraído de la sangre en papel filtro para medir las copias de TREC como un biomarcador del repertorio de linfocitos T vírgenes. Un conteo disminuido o ausente de TREC es indicativo de un número insuficiente de linfocitos T vírgenes, independientemente de la causa subyacente. Es importante siempre incluir una prueba de control de amplificación de DNA con primers dirigidos a un segmento genómico de DNA expresado constitutivamente, como control de calidad que permite distinguir entre un resultado real de TREC bajos y una falta de amplificación causada por DNA insuficiente en cantidad o calidad.

La prueba de detección de TREC es un marcador que alerta sobre la presencia de SCID independientemente de la etiología genética, pero también sobre otras condiciones que ocasionan una producción inadecuada de linfocitos T maduros o una pérdida exagerada de linfocitos T en la circulación periférica. Esta prueba representa la primera prueba que permite



tamizar una inmunodeficiencia primaria, y también representa la primera prueba de tamizaje neonatal basada en tecnología de amplificación de DNA, lo que ha permitido diseñar pruebas de tamizaje para otras enfermedades, como por ejemplo la atrofia muscular espinal.

Inicialmente, se predijo mediante análisis de costo y mediante un modelo Markov (refs 32,33) que la prueba de TRECs es una estrategia costo-efectiva que permite salvar la vida de pacientes con SCID bajo una diversidad de escenarios posibles respecto a incidencia y costos del tratamiento temprano en comparación con tratamiento tardío. Hoy en día, dichas predicciones se han confirmado con evidencia de vida real tras la implementación del tamizaje universal para SCID mediante prueba de TRECs en todo el territorio de Estados Unidos de América. Existe también evidencia reportada de programas pioneros en otras partes del mundo, como describiremos más adelante.

EXPERIENCIA EN ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

En 2010 se inició un programa piloto de tamizaje neonatal universal para SCID en Wisconsin, que permitió la recomendación por parte del “Comité sobre enfermedades hereditarias en recién nacidos, niñas y niños” de ese país para la inclusión de SCID en el catálogo de enfermedades incluidas en el programa de tamizaje neonatal en EUA. Para 2013, aproximadamente la mitad de todos los recién nacidos en EUA eran tamizados mediante prueba de TRECs y para 2014, tras el análisis de los datos generados hasta ese momento en 11 programas estatales, se demostró la efectividad de la estrategia para tamizar esta enfermedad. Este análisis arrojó 3 conclusiones principales:

- a) Se detectaron oportunamente casos de SCID clásico y con fenotipos atenuados.
- b) No se identificaron casos de SCID que hayan escapado a la prueba de tamizaje y se hayan diagnosticado posteriormente.
- c) Los RN identificados fueron referidos rápidamente a centros especializados, recibieron tratamiento curativo de forma oportuna, y con altas tasas de supervivencia.

Para finales de 2018, los 50 estados de EUA y Puerto Rico ya estaban tamizando a todos los RN para SCID. Hoy en día, se han iniciado programas de tamizaje universal también en Israel, Nueva Zelanda, Noruega, Taiwán, y algunas provincias de Canadá. Existen programas piloto activos en varios países de Europa, Medio Oriente, y Latinoamérica.

En el periodo comprendido entre Agosto/2010 a Marzo/2017, en el estado de California se tamizaron 3, 252, 156 RN, de los cuales 562 (1 en 5,800 RN vivos) tuvieron resultados anormales de TRECs y requirieron evaluaciones posteriores. En 213 RN (57%) se confirmó linfopenia de LT mediante citometría de flujo (1 en 15,300 RN vivos), de los cuales 50 RN tuvieron un diagnóstico confirmado de SCID, y el resto tuvieron causas de linfopenia distintas a SCID, incluyendo: prematuridad (n=33), síndromes asociados con linfopenia (n=71) como síndrome de DiGeorge o delección 22q11.2 (n=47), ataxia-telangiectasia (n=5) y síndrome de Down (n=8), pacientes con linfopenia secundaria (n=25) e idiopática (n=33). Lo anterior muestra una ventaja adicional de esta prueba de TRECs, ya que permite detectar RN con linfopenia, independientemente de la causa subyacente. Particularmente, permite detectar pacientes con síndrome de delección 22q11.2, uno de las enfermedades genéticas más comunes en el mundo y que tiene un espectro clínico muy amplio. 52 de los 72 pacientes



detectados con linfopenia no causada por SCID, tuvieron confirmación de su diagnóstico etiológico durante el primer mes de vida.

Con base en la experiencia anterior, la incidencia general estimada para SCID tras la implementación de tamizaje neonatal universal en el Estado de California es de 1 en 33,000 RN vivos, y en la población Hispánica de California, se calcula alrededor de 1 en 22,000 RN vivos.

PRONÓSTICO DE LOS PACIENTES CON SCID IDENTIFICADOS MEDIANTE TAMIZAJE NEONATAL EN ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA.

En los 50 RN con SCID identificados en California mediante el programa de tamizaje neonatal, la edad media al momento de confirmar el diagnóstico fue de 21 días (0 a 40 días) y 48 de ellos estaban asintomáticos. Solo dos de los pacientes tenían historia familiar sugestiva de SCID detectada por su médico de contacto; al reinterrogar a las familias, 8 pacientes tenían historia de familiares relacionados finados con cuadros clínicos sugestivos de SCID en el pasado.

49 pacientes recibieron tratamiento definitivo con TCPH o TG, de los cuales 46 (96%) sobrevivieron con buena reconstitución inmunológica y están curados. Los tres pacientes que fallecieron, tenían ya infecciones virales previas a la realización del tratamiento definitivo.

La detección temprana de SCID, permite también buscar el diagnóstico genético definitivo en los pacientes previo al tratamiento curativo, lo cual tiene implicaciones importantes sobre

la planeación de este tipo de tratamientos, así como sobre el pronóstico. Además, el diagnóstico genético temprano permite también un mejor asesoramiento a las familias y permite establecer un panorama epidemiológico más exacto dentro de cada población. Por último, tener el diagnóstico genético preciso permite seleccionar a los pacientes susceptibles de tratamiento con terapia génica autóloga.

En diez años, solo hubo 2 pacientes que se presentaron tardíamente con SCID y que no fueron detectados por medio del tamizaje neonatal con TRECs, lo que representa una incidencia de resultados falsos negativos menor a 1 caso por cada millón de nacimientos.

EXPERIENCIA EN OTRAS PARTES DEL MUNDO

Recientemente se ha reportado la experiencia con la implementación de tamizaje neonatal universal en Cataluña, España durante un periodo de dos años (2017-2019), siendo el primer programa para tamizaje de SCID en España y Europa. Se tamizaron 129,614 recién nacidos, de los cuales se realizaron 30 detecciones positivas con TRECs bajos o ausentes. En el análisis subsecuente de los 30 pacientes, se encontraron varios diagnósticos: 1 paciente con SCID, 5 pacientes con síndrome de DiGeorge, 3 pacientes con linfopenia idiopática, 2 pacientes con quilotórax, 2 pacientes con prematuridad, y 1 paciente con síndrome de Down. Se calculó una incidencia de SCID de 1 en 130,903 RN vivos, y se remarca nuevamente la utilidad de la prueba para el diagnóstico oportuno de otras causas de linfopenia, particularmente del síndrome de DiGeorge. El paciente identificado con SCID recibió un TCPH a los dos meses de vida, con resultado exitoso y actualmente vive sin complicaciones

de la enfermedad ni del procedimiento curativo. Si bien el número pequeño de pacientes tamizados en esta región es una limitante del estudio, conforme se tamicen más RN en los próximos años, podrá evaluarse de forma más robusta la verdadera incidencia de SCID en la región.

En Holanda, se inició un programa piloto de tamizaje neonatal para SCID mediante TRECs en abril de 2018. Se incluyeron muestras de 140,593 RN entre 2018 y 2020, 333 RN requirieron una segunda prueba por TRECs bajos, y 47 RN de término fueron evaluados posteriormente debido a dos pruebas positivas. Uno de ellos tuvo SCID confirmado y se trasplantó en periodo asintomático con éxito. De los 46 RN restantes, 8 tenían un síndrome genético asociado con linfopenia, 28 con causas de linfopenia secundaria, 5 con linfopenia idiopática y 5 fueron falsos positivos.

En 2013, la Universidad de Nantes en Francia, inició un estudio para analizar la factibilidad, utilidad clínica y costo-efectividad del tamizaje neonatal para SCID rutinario en ese país (estudio DEPISTREC). El estudio incluyó 200,000 RN durante un periodo de dos años y se compararon con un grupo de pacientes diagnosticados con SCID sin tamizaje durante el mismo periodo. Durante el tamizaje se identificaron 3 pacientes con SCID (incidencia de 1 en 63,500 RN vivos; además se detectaron 59 RN con linfopenia no causada por SCID pero que ameritaba evaluación atención médica subsecuente, incluyendo 3 pacientes con síndrome de DiGeorge (deleción 22q11.2) completamente asintomático. En el grupo control (diagnóstico clínico), 5 pacientes con SCID fallecieron por infecciones graves antes de que pudieran recibir un trasplante, y los autores concluyeron que es altamente probable que estas



muerter fueran prevenibles de haber sido diagnosticados al nacimiento. Se demostró que el tamizaje para SCID a gran escala es factible y efectivo. Se espera que en el transcurso de 2021 el Ministerio Nacional de Salud en Francia publique las recomendaciones para el tamizaje neonatal universal de SCID.

Se publicó la experiencia durante el primer año de tamizaje universal con TREC's en Israel, donde este estudio se realiza a todas y todos los RN sin costo alguno para la población. Se detectaron 8 pacientes con SCID, lo que representa una incidencia de 1 en 22,500 RN vivos. De forma interesante, la presencia de consanguinidad en la población demostró ser un factor de riesgo. Si contrastamos estos resultados con los de población estadounidense, la incidencia resulta aún mayor dadas las características de cada población, y se demuestra que en poblaciones con niveles más elevados de consanguinidad y endogamia la posibilidad de detectar más casos de SCID es considerablemente mayor. Esta incidencia es parecida a la encontrada en población Hispana de EUA dentro del sub-análisis por grupos poblaciones del tamizaje en dicho país. Esta información es relevante dado que sabemos que en México, existen múltiples áreas geográficas donde la consanguinidad y endogamia siguen siendo bastante frecuentes, y además, sabemos también que dichas áreas geográficas suelen carecer de un sistema de salud y recursos adecuados que permitan la sospecha y diagnóstico clínico oportunos ni la atención inmediata necesaria para mejorar el pronóstico de RN con SCID.

En Europa, actualmente el tamizaje neonatal para SCID es obligatorio en Alemania, Suecia, Noruega, Suiza y Dinamarca. Otros países como Canadá, Israel, Taiwán, Hong Kong, Islandia y Nueva Zelanda han iniciado la implementación del programa.

En conjunto, las experiencias publicadas hasta el momento demuestran que es posible la implementación de una prueba de tamizaje neonatal universal para SCID, que la prueba de TRECs tiene una alta sensibilidad y un bajo porcentaje de falsos negativos, que permite detectar no solo SCID sino el síndrome de delección 22q11.2 (genopatía común) y otras múltiples causas de linfopenia que requieren evaluación y atención médica de forma temprana, y lo más importante, que realizar el diagnóstico de SCID mediante tamizaje mejora radicalmente el pronóstico de los pacientes, pasando de una enfermedad mortal sin tratamiento a una enfermedad curable al 100%.

ANÁLISIS ECONÓMICO DEL TAMIZAJE NEONATAL

En diferentes estudios, se ha calculado el costo del estudio para medición de TRECs: US\$4.22 en EUA, EUROS 3.70 en el estudio DEPISTREC (Francia). Se han realizado estudios económicos para calcular el costo y beneficios del tamizaje universal para SCID.

En 2011, Chan y cols. Utilizaron un modelo Markov para evaluar la costo-efectividad de esta intervención en cuanto a calidad de vida y expectativa de vida para RN enfermos, considerando la población de 5 Estados en EUA. Su objetivo principal fue estudiar si el beneficio del tamizaje excede al costo en términos de años de vida y años de vida ajustados a la calidad (QALYs, definido como un año de vida en perfectas condiciones de salud), ambas medidas económicas del valor de una vida humana. El costo anual de tamizaje en EUA se estimó en US\$22,377,379 para una cohorte de 4,112,052 RN. Para un periodo de 70 años, realizar tamizaje podría aumentar un total de 880 años de vida o 802 QALYs a la expectativa

de vida acumulada en la población estudiada, dando un estimado de costo-efectividad de US\$25,429 por año de vida o \$27,907 por QALY.

Otro estudio por Yao Ding y cols. Basado en una cohorte de 86,600 nacimientos anuales evaluó costo-efectividad y costo-beneficio del tamizaje neonatal para SCID. Calcularon un costo neto anual del tamizaje en \$424,470 (resultado de la diferencia entre el costo general estimado en US\$741,376 y los ahorros en tratamiento como resultado del tamizaje calculados en US\$316,905. En este modelo se estimó una ganancia de 12.02 años de vida cada año, con un valor estimado de US\$35,311 por cada año de vida salvado. Este estudio sugiere que el tamizaje para SCID es costo-efectivo y genera un beneficio económico neto en la población de Washington, EUA.

También es importante considerar que se estima que el costo de realizar un TCPH en etapas tardías con presencia de complicaciones previas y menores probabilidades de éxito es considerablemente mayor que el de un TCPH en RN detectados por tamizaje, sanos al momento del procedimiento y con altas probabilidades de éxito en el tratamiento curativo. Krantz y cols. ejemplifican esta idea con el reporte de dos casos en la misma familia, el primero diagnosticado clínicamente a los 4 meses de edad quien presentó múltiples complicaciones pre- y post-TCPH y falleció a los 18 meses de vida y el segundo diagnosticado al momento de nacer dado el antecedente familiar de su hermano con SCID, quien recibió TCPH a los 28 días de vida siendo exitoso y actualmente se encuentra libre de enfermedad. Así, la sobrevida de pacientes con SCID está íntimamente ligada al diagnóstico temprano y el inicio de infecciones. 80% de los afectados por SCID no tienen una historia



familiar bien identificada (REF 6,7). En otra revisión por Hamid y cols (REF 10) se reporta también una menor calidad de vida en pacientes con SCID con un diagnóstico y tratamiento tardíos.

SITUACIÓN EN MÉXICO Y LATINO AMÉRICA

En México, aún no se cuenta con tamizaje neonatal universal para SCID y por ello el diagnóstico de SCID sigue siendo tras la aparición de manifestaciones clínicas y ante la sospecha de un clínico familiarizado con estos diagnósticos. Unos cuantos pacientes se diagnostican como resultado de la búsqueda intencionada del diagnóstico tras el antecedente familiar de un hermano afectado con SCID. La mayoría de los niños mexicanos con SCID muere por complicaciones infecciosas sin haberse si quiera sospechado el diagnóstico de IDP.¹⁷⁻¹⁹

El promedio de edad al diagnóstico de SCID está entre los 6-12 meses de edad. La mayoría de los pacientes ya han presentado infecciones graves y/o complicaciones de las mismas al momento de ser referidos a los centros especializados donde se realizará el TCPH, o bien ha fallecido sin siquiera sospecharse SCID. Aunado a esto, los procesos necesarios para llevar a cabo el TCPH tardan en promedio entre 3 y 12 meses.

La mediana de edad al momento del diagnóstico de SCID en Latinoamérica es 179 días, comparado con 14 días en EUA tras la implementación del tamizaje neonatal universal ($p < 0.001$). La mayoría de pacientes con SCID que son trasplantados en Latinoamérica,



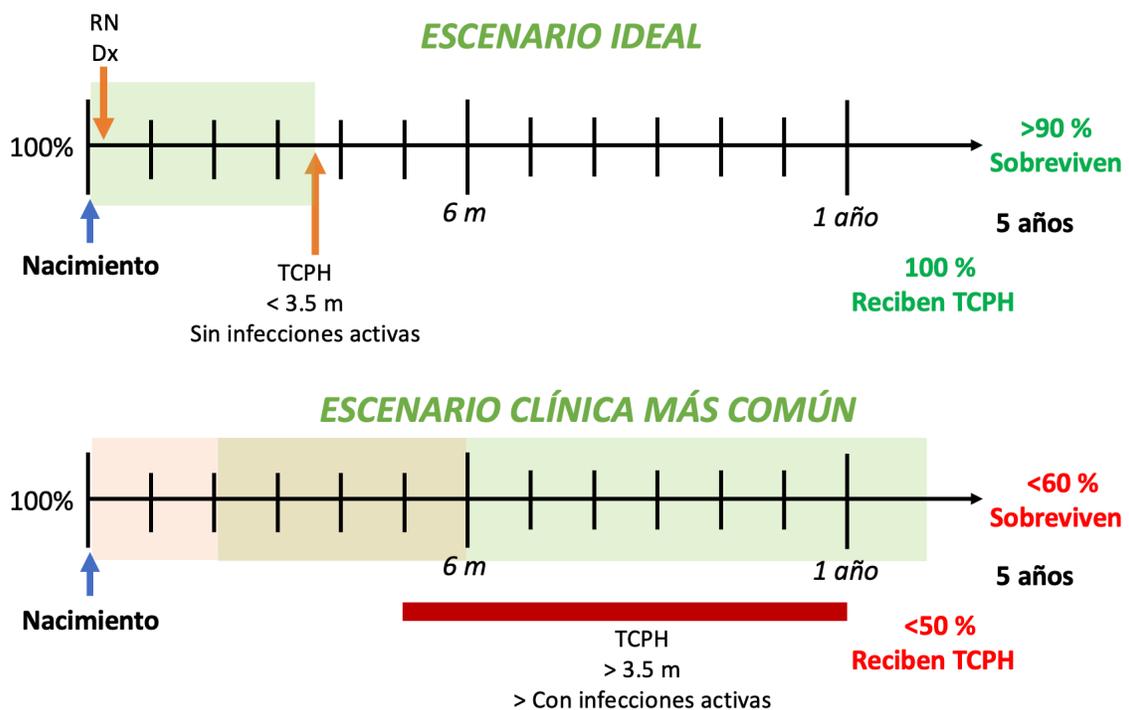
reciben este tratamiento en promedio a los 214 días de vida, comparado con los pacientes tamizados en EUA que reciben este tratamiento curativo en promedio a los 67 días de vida.

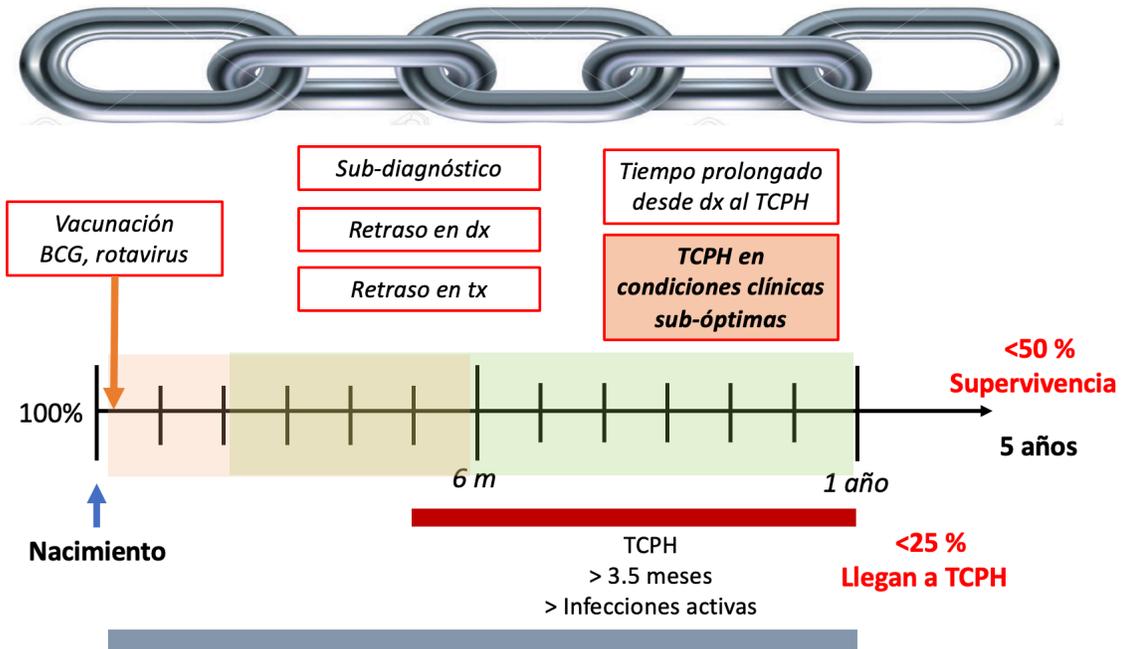
En Latinoamérica, y particularmente en México, tenemos retos sociales, ambientales y demográficos adicionales para el diagnóstico y tratamiento oportunos de pacientes con SCID. La ausencia de programas de tamizaje neonatal aunado a la baja prevalencia de esta enfermedad y el poco conocimiento o alerta de los médicos de primer contacto para el diagnóstico clínico oportuno, ocasionan un diagnóstico tardío o ausente en la inmensa mayoría de niñas y niños con SCID en el país.

Un problema particular al que se enfrentan estos pacientes en México y todos los países de Latinoamérica a excepción de Ecuador es que se aplica BCG al nacimiento de manera rutinaria, lo que ocasiona tuberculosis diseminada en el 51 a 65% de los pacientes con SCID y empobrece considerablemente el pronóstico final, aún cuando sean diagnosticados en los primeros meses de vida.

Por último, en México nos enfrentamos en muchas ocasiones a un Sistema de Salud con recursos humanos y materiales limitados, infraestructura inadecuada, pocos centros que realizan TCPH en pacientes con SCID y otras IDPs, así como un registro limitado de donadores altruistas de médula ósea, lo que limita y retrasa aún más el tratamiento definitivo de los pacientes con SCID diagnosticados tardíamente. Contar con un programa de tamizaje y detección temprana de SCID, permitiría focalizar recursos, referir oportunamente a los pacientes a centros especializados, mejorar la atención integral de los pacientes y sus familias, y mejorar finalmente el pronóstico de nuestras niñas y niños con SCID.

El diagnóstico temprano y la referencia oportuna afecta no solo la supervivencia de pacientes con SCID, sino que afecta positivamente la calidad de vida de los pacientes y de su familia, pero también impacta positivamente en el costo para los sistemas de salud. El costo de atender las complicaciones infecciosas de los pacientes con SCID diagnosticados tardíamente o que fallecen hospitalizados sin diagnóstico, es mayor al generado por la realización de un tratamiento de sostén y definitivo en etapas tempranas con los pacientes asintomáticos. Así mismo, el costo de realizar un TCPH en un paciente con múltiples complicaciones y estado clínico sub-óptimo previo al procedimiento es mucho mayor que cuando el TCPH se realiza en un paciente asintomático, sin infecciones y en mejores condiciones clínicas incluyendo un buen estado nutricional.



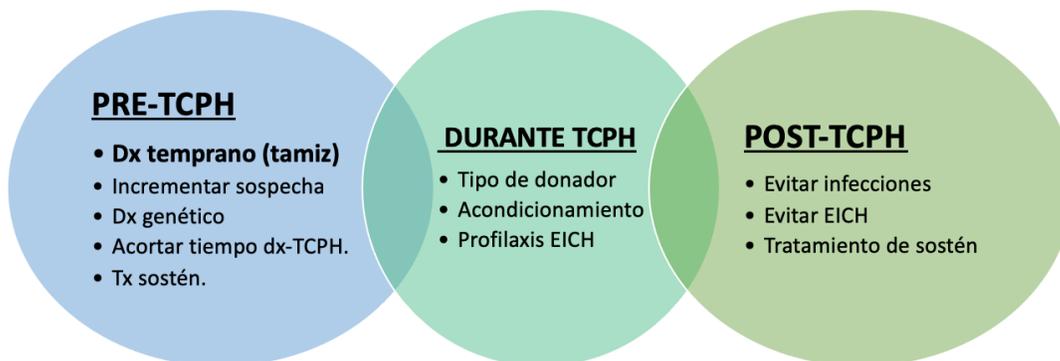


1. Medidas generales y de sostén.

(Lograr que los pacientes lleguen a un tratamiento definitivo en las mejores condiciones clínicas posibles).

Retos y oportunidades para mejorar el pronóstico de nuestros pacientes con SCID.

Estrategias para mejorar el pronóstico y supervivencia de los pacientes con SCID





PROPUESTA DE PROGRAMA NACIONAL PARA TAMIZAJE NEONATAL UNIVERSAL DE SCID.

Desde hace años, se inició en el Instituto Nacional de Pediatría el trabajo formal para mejorar el diagnóstico y la atención integral de las IDP en México. Se cuenta con un servicio de Inmunología Clínica que incluye la “Clínica de Inmunodeficiencias Primarias”, y se cuenta también con un programa de Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas que incluye dentro de las enfermedades a tratar las IDPs y hoy en día cuenta con una inmunóloga clínica dentro del equipo que realizan estos tratamientos.

Por otro lado, se creó en 2009, con el apoyo de Fumeni, el Laboratorio de Inmunodeficiencias Primarias que pertenece a la Red Global de Centros de la “Jeffrey Modell Foundation” para el diagnóstico de IDPs. Se han llevado a cabo distintas estrategias para mejorar el panorama de estas enfermedades en nuestro país: estrategias de educación dirigidas a médicos de primer contacto, investigación básica y clínica de alto nivel tanto a nivel nacional como en colaboraciones internacionales constantes, mejoras en el acceso al diagnóstico genético de los pacientes, entre otras.

Destaca la creación de un Curso de Alta Especialidad en Inmunodeficiencias, cuyos egresados y egresadas se encuentran hoy en día laborando en distintas partes de la República Mexicana diagnosticando, tratando y referenciando pacientes de forma oportuna. Existe hoy en día una red bastante sólida de inmunólogos e inmunólogas distribuida a los largo de todo el país. Sin embargo, debemos reconocer que aún hay mucho por hacer, y una de las principales estrategias a implementar será el tamizaje neonatal de estas enfermedades.



Respecto a la atención de pacientes con SCID, recientemente se publicó un trabajo latinoamericano, liderado por nuestro grupo de trabajo, para estandarizar la atención de pacientes desde el momento del diagnóstico hasta poder realizar un tratamiento definitivo, con el fin de mejorar el pronóstico final. Hemos propuesto en el mismo protocolo una serie de estrategias necesarias para mejorar el pronóstico de los pacientes con SCID en nuestra región en las distintas etapas de la atención clínica (previo, durante y después del tratamiento curativo); de todas ellas, consideramos que la piedra angular será mejorar el diagnóstico y detección de casos, y hacerlo en etapas tempranas.

Actualmente seguimos dependiendo de atender a los pacientes al momento del diagnóstico clínico; sin embargo, la posibilidad de diagnosticar pacientes mediante pruebas de tamiz en etapas asintomáticas será la mejor forma ofrecer un tratamiento definitivo óptimo, temprano, y exitoso.

PLATAFORMA EnLite™ Neonatal TREC Instrument.

En la mayoría de las experiencias reportadas para el tamizaje neonatal de SCID mediante medición de TRECs se ha utilizado la plataforma “EnLite™ Neonatal TREC Instrument” (PerkinElmer). Esta plataforma ofrece una opción integral que permite la implementación simple de esta prueba de laboratorio al eliminar pasos de procesamiento y disminuir la variabilidad del proceso que puede afectar el resultado final. Permite que desde el primer paso de extracción de DNA y hasta la realización de la PCR cuantitativa, todo ocurra en la misma placa, reduciendo el número de pasos en los que el operador manipula las muestras, y evita el trasvase de reactivos y productos.

Esta plataforma está integrada por los siguientes elementos:

- a. EnLite™ Neonatal TREC assay: consiste en los reactivos para realizar el ensayo.
- b. VICTOR™ EnLite instrument: es el lector de placa empleado para leer las señales de los marcadores de las sondas empleadas para detectar a los TRECs y el control interno de beta- actina.
- c. EnLite™ Workstation software: es el equipo que permite interpretar los resultados y elaborar los reportes.

Como principales ventajas de esta plataforma podemos mencionar que:

- Al tratarse de un sistema integral, contempla procedimientos específicos y equipos para realizar todos los procedimientos involucrados en la cuantificación de TREC, lo que reduce la variación que puede introducir el analista.
- Provee los controles necesarios para asegurar la calidad del ensayo, mismos que en otras opciones tienen que ser generados por el laboratorio en el que se realiza el ensayo.
- No debemos preocuparnos por la compatibilidad de materiales o reactivos con el equipo en el que realizaremos la PCR.
- Cuenta con su propio programa de cómputo (software) para realizar el análisis de los resultados obtenidos de la PCR, y en este programa el usuario solo tiene que realizar una serie de pasos que no le permiten alterar los resultados obtenidos.

Dado que el costo de diagnóstico por recién nacido varía de acuerdo al volumen de muestras procesadas, se recomienda realizar la medición de TRECs en un número limitado de laboratorios a nivel nacional. (DEPISTREC)

Hemos realizado un cálculo del costo por prueba para la medición de TRECs:

Costo de la prueba por paciente realizado en ensayos para realizar la cuantificación de 1, 8 y 40 pacientes por prueba.

# Pacientes	# Reacciones	Costo del ensayo	Costo por paciente
1	18	\$ 328.97	\$ 328.97
8	32	\$ 553.55	\$ 69.19
40	96	\$ 1,552.55	\$ 38.81

JUSTIFICACIÓN DE TAMIZAJE NEONATAL UNIVERSAL PARA SCID EN MÉXICO

En conclusión, la prueba de tamizaje para SCID por medio de la medición de TRECs combina facilidad en su implementación con una alta relevancia clínica para las poblaciones que han sido tamizadas, lo que ha permitido que el tamizaje neonatal para esta enfermedad esté ya implementado en EUA y en otros países del mundo.

Sabemos que la implementación de tamizaje neonatal universal para una enfermedad es complejo, y más allá de contar con una prueba sensible y costo-efectiva, implica cambios y ajustes en educación, finanzas públicas, logística, política, y cultura. La percepción,



conocimiento y aceptación por parte no solo de la comunidad científica sino de la población en la que se aplicarán estos programas es fundamental.

Por lo expuesto a lo largo del presente documento, consideramos que las SCID cumplen con los criterios necesarios para considerar una enfermedad candidata a tamizaje neonatal; se tienen argumentos clínicos sólidos para el uso de la prueba de TRECs para tamizaje de linfopenia neonatal (incluyendo la detección de SCID, síndrome de DiGeorge o delección 22q11.2, ataxia-telangiectasia, y otras causas que requieren atención inmediata), y hoy en día, se cuenta en el país con recursos humanos e infraestructura que permitiría la atención de pacientes con SCID detectados por tamizaje neonatal, tanto para el tratamiento de sostén como para la realización de tratamientos definitivos mediante TCPH, así como para la evaluación clínica y confirmación del diagnóstico, seguimiento y asesoramiento genético de las familias.

Ventajas potenciales adicionales en nuestro país del tamizaje neonatal universal para SCID son: la posibilidad de mejorar el conocimiento sobre la incidencia real de SCID en nuestra población, sobretodo en comunidades con altos índices de endogamia y/o consanguinidad, así como sobre las características y espectro clínico de pacientes con la enfermedad. Montar esta plataforma permitiría más adelante tamizar para otras enfermedades como la atrofia muscular espinal, mediante tecnología dependiente de amplificación de DNA. Basados en los resultados publicados en otras partes del mundo, hoy en día podríamos considerar a las SCID como una enfermedad totalmente curable, siempre y cuando se realice el diagnóstico

al nacimiento, se eviten complicaciones infecciosas, y se logre realizar un TCPH antes de los 4 meses de vida.

Presentamos este documento con el fin de poder incluir las SCID en la discusión del Comité Técnico de Tamizaje Neonatal para considerar el tamizaje neonatal universal de esta enfermedad en nuestro país.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ortega Martos L., López Medina JA, Peña Ortega JA. Diagnóstico clínico de las inmunodeficiencias primarias. Vox Pediátrica 2000;(89) 2: 30-34.
2. Picard C, Bobby Gaspar H, Al-Herz W, Boufisha a, Casanova JL, Chatila T, et al. International Union of Immunological Societies: 2017 Primary Immunodeficiency Diseases Committee Report on Inborn Errors of Immunity. J Clin Immunol 2018; 38: 96-128.
3. Fischer A, Notarangelo LD, Nelen B, cavazzana M, Puck JM. Severe combined immunodeficiencies and related disorders. Nat Rev Dis Primers 2015; 1:15061.
4. Gaspar HB, Qasim W, Davies EG, Rao K, Amrolia PJ, Veys P. How I treat severe combined immunodeficiency. Blood 2013; 122: 3749-58.
5. Chinn IK, Shearer WT. Severe combined immunodeficiency disorders. Immunol Allergy Clin North Am 2015; 35:671-94.
6. Kwan A, Abraham RS, Currier R, Brower A, Andruszewski K, et al. Newborn screening for severe combined immunodeficiency in 11 screening programs in the United States. JAMA 2014; 312:729-38.
7. Rivers L, Gaspar HB. Severe combined immunodeficiency: recent developments and guidance on clinical management. Arch Dis Child 2015; 100: 667-72.
8. Pai SY, Logan BR, Griffith LM, Buckley RH, et al. Transplantation outcomes for severe combined immunodeficiency, 2000-2009. N Eng J Med 2014; 371: 434-46.
9. Folloni J, Nichele S, Daudt L, Tavares R, et al. Transplantation of hematopoietic stem cells for primary immunodeficiencies in Brazil: challenges in treating rare diseases in developing countries. J Clin Immunol 2018; 38: 917-26.

10. Chan A, Scalchunes C, Boyle M, Puck J. Early vs Delayed diagnosis of severe combined immunodeficiency: a family perspective survey. *Clin Immunol* 2011; 139:360-62.
11. Nichols s, Krance R, Hanson JC, Mamlok R, Roifman C, et al. Early versus delayed diagnosis of SCID: triumph versus tragedy. *Clin Immunol* 2011; 139: 360-62.
12. Gardulf A, Winiarski J, Thorin M, et al. Costs associated with treatment of SCID-rationale for newborn screening in Sweden. *J allergy Clin Immunol* 2017; 139: 1713-16.
13. Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova J-L, Chatila T, et al. Primary Immunodeficiency Diseases: an update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency. *Front Immunol*, 5: 162.
14. Roifman C, Somech R, Kafadas F, et al. Defining combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*, 2012; 130 (1): 177-83.
15. Gennery A, Cant A. Diagnosis of severe combined immunodeficiency. *J Clin Pathol* 2001; 54: 191-95.
16. Van der Burg M, Gennery A. The expanding clinical and immunological spectrum of severe combined immunodeficiency. *Eur J Pediatr* 2011; 170: 561-71.
17. García-Cruz ML, Camacho R, Ortega-Martell JA, Berrón-Pérez R, Espinosa-Rosales F, Hernández-Bautista V, Rojas-Garrido A. Registro de inmunodeficiencias primarias en pacientes mexicanos en una institución de tercer nivel: experiencia de 30 años. *Alergia, Asma e Inmunología Pediátricas* 2002;12(2): 74-80.
18. Coria-Ramirez E, Espinosa.Padilla S, Espinosa-Rosales F, et al. Panorama epidemiológico de las inmunodeficiencias primarias en México. *Revista Alergia México* 2010; 57 (5): 159-63.
19. Dorsey M, Dvorak C, Cowan M, Puck J. Treatment of infants identified as having severe combined immunodeficiency by means of newborn screening. *J allergy Clin Immunol* 2017; 139: 733-42.
20. Marciano B, Huang CH, Joshi G, Rosenzweig S, et al. BCG vaccination in patients with severe combined immunodeficiency: complications, risks, and vaccination policies. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 133: 1134-41.
21. Buckley RH, Schiff SE, Schiff RI, et al. Hematopoietic stem-cell transplantation for the treatment of severe combined immunodeficiency. *N Eng J Med* 1999; 340:508-516.
22. Heimall J, Logan BR, Cowan MJ, et al. Immune reconstitution and survival of 100 SCID patients post hematopoietic cell transplant: a PIDTC natural history study. *Blood* 2017; 130:2718-2727.
23. Myers LA, Patel DD, Puck JM, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for SCID in the neonatal period leads to superior thymic output and improved survival. *Blood* 2002; 99: 872-878.

24. Chan K, Puck JM. Development of population-based newborn screening for severe combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 391-398.
25. Puck JM. Laboratory technology for population-based screening for severe combined immunodeficiency in neonates: the winner is T-cell receptor excision circles. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129: 607-616.
26. Verbsky JW, Baker MW, Grossman WJ, et al. Newborn screening for severe combined immunodeficiency: the Wisconsin experience (2008-2011). *J Clin Immunol* 2012; 32: 82-88.
27. Chan K, Davis J, Pai SY, Bonilla FA, et al. A Markov model to analyze cost-effectiveness of screening for severe combined immunodeficiency. *Mol Genet Metab* 2011; 104: 383-389.
28. Kwan A, Abraham RS, Currier R, et al. Newborn screening for severe combined immunodeficiency in 11 screening programs in the United States. *JAMA* 2014; 312: 729-738.
29. Hannon WH, Abraham RS, et al. Newborn blood spot screening for SCID by measurement of T-cell receptor excision circles: approved guideline. *Clinical and Laboratory Standards Institute* 2013; CLSI document NDS06-A.
30. Cossu F. Genetics of SCID. *Italian Journal of Pediatrics* 2010; 36: 76.
31. Cunningham-Rundles C, Ponda P. T- and B-cell primary immunodeficiency diseases. *Nature Reviews Immunology* 2005; 5: 880-92.
32. Notarangelo LD, Sorensen R. Is it necessary to identify molecular defects in primary immunodeficiency disease? *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122 (6): 1069-73.
33. Roifman C, Grunebaum E. Transplantation using HLA-matched unrelated donors for patients suffering from severe combined immunodeficiency. *Immunol Allergy Clin N Am* 2010; 30: 63-73.
34. Hönig M, Friedrich W. HLA-haploidentical donor transplantation in severe combined immunodeficiency. *Immunol Allergy Clin N Am* 2010; 30: 31-44.
35. Dell Railey M, Likhnygina Y, Buckley R. Long-term clinical outcome of patients with severe combined immunodeficiency who received related donor bone marrow transplants without pretransplant chemotherapy or post-transplant GVHD prophylaxis. *J Pediatr* 2009; 155: 834-40.
36. Lipstein E, Vorono S, Browning M, et al. Systematic evidence review of newborn screening and treatment of severe combined immunodeficiency. *Pediatrics* 2010; 125: e1226-35.
37. Mironishi Y, Imai K, Nakagawa N, et al. Identification of severe combined immunodeficiency by T-Cell receptor excision circles quantification using neonatal Guthrie cards. *J Pediatr* 2009; 155: 829-33.
38. Puck J. Neonatal screening for severe combined immunodeficiency. *Current Opinion in Pediatrics* 2011; 23: 667-73.

39. Verbsky J, Thakar M, Routes J. The Wisconsin approach to newborn screening for severe combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129: 622-27.
40. Dvorak CC, Cowan MJ, Logan BR, Notarangelo LD, Griffith LM, Puck JM, Kohn DB, Shearer WT, O'Reilly RJ, Fleisher TA, Pai SY, Hanson IC, Pulsipher MA, Fuleihan R, Filipovich A, Goldman F, Kapoor N, Small T, Smith A, Chan KW, Cuvelier G, Heimall J, Knutsen A, Loechelt B, Moore T, Buckley RH. "The natural history of children with severe combined immunodeficiency: baseline features of the first fifty patients of the primary immune deficiency treatment consortium prospective study 6901." *J Clin Immunol*. 2013 Oct;33(7):1156-64. doi: 10.1007/s10875-013-9917-y
41. IDF SCID Newborn Screening Campaign en <http://primaryimmune.org/idf-advocacy-center/idf-scid-newborn-screening-campaign/>; consultado 27/07/2014)
42. Modell V, Knaus M, Modell F. "An analysis and decision tool to measure cost benefit of newborn screening for severe combined immunodeficiency (SCID) and related T-cell lymphopenia." *Immunol Res*. 2014 Mar 6.
43. Bustamante-Ogando JC, Partida-Gaytán A, Espinosa-Rosales F, et al. Latin American consensus on the supportive management of patients with severe combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2019; <http://doi.org/10.1016/j.jaci.2019.08.002>.
44. Puck JM, et al. Population-based newborn screening for severe combined immunodeficiency: Steps toward implementation. *J Allergy Clin Immunol* 2007, 120 (4): 760-768.
45. Thomas C, Durand-Zaleski I, Frenkiel J, et al. Clinical and economic aspects of newborn screening for severe combined immunodeficiency: DEPISTREC study results. *Clinical immunology* 2019; 202: 33-39.
46. Bessey A, Chilcott J, Leaviss J, et al. A cost-effectiveness analysis of newborn screening for severe combined immunodeficiency in the UK. *Int Journal of Neonatal Screening* 2019; 5: 28. Doi:10.3390/ijns5030028.
47. Raspa M, Lynch M, Squiers L, et al. Information and emotional support needs of families whose infant was diagnosed with SCID through newborn screening. *Frontiers in Immunology* 2020; 11: 885.
48. Van der Ploeg C, Blom M, Bredius RG, et al. Cost-effectiveness of newborn screening for severe combined immunodeficiency. *European Journal of Pediatrics* 2019. <https://doi.org/10.1007/s00431-019-03346-3>.
49. Buelow BJ, Verbsky JW, Routes JM. Newborn screening for SCID: Lessons learned. *Expert Review of Hematolog* 2016: DOI: 10.1080/17474086.2016.1180243.
50. Thomas C, Hubert G, Catteau a, et al. Review: Why screen for severe combined immunodeficiency disease? *Archives de Pediatrie* 2020.
51. Blom M, Bredius R, Jansen M, et al. Parents perspectives and societal acceptance of implementarion of newborn screening for SCID in the Netherlands. *Journal of Clinical Immunology* 2021; 41: 99-108.

52. Argudo-Ramirez A, Martin-Nalda A, Marin-Soria JL. First universal newborn screening program for severe combined immunodeficiency in Europe. Two-years experience in Catalonia (Spain). *Frontiers in Immunology* 2019; 10: 2406.
53. Gaspar HB, Hammarstrom L, Mahlaoui N, Borte M, Borte S. The case for mandatory newborn screening for severe combined immunodeficiency. *J Clin Immunol* 2014; 34: 393-397.
54. Rechavi E, Lev A, Simon AJ, et al. First year of Israeli newborn screening for severe combined immunodeficiency-clinical achievements and insights. *Frontiers in Immunology* 2017; 8: 1448.