

TRIAGEM NEONATAL PARA IMUNODEFICIÊNCIA COMBINADA GRAVE (SCID) COM QUANTIFICAÇÃO DE TREC E KREC USANDO QRT-PCR: REVISÃO SISTEMÁTICA

NEONATAL SCREENING FOR SEVERE COMBINED IMMUNODEFICIENCY (SCID) WITH QUANTIFICATION OF TREC AND KREC USING QRT-PCR: SYSTEMATIC REVIEW

Silva, P. L.¹, Roll, J. S.¹, Crestani, A. P. J.¹, Martignoni, L.¹, Algeri, P. E.¹, Lucio, L. C.²

¹Discente do Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Francisco Beltrão, Paraná, Brasil.

²Docente do Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Francisco Beltrão, Paraná, Brasil.

Avenida São Cristóvão, nº 49, Centro, Marfrigópolis – Paraná, Brasil. CEP: 85.628-000. E-mail: priscilasilva6710@gmail.com

Resumo

A imunodeficiência combinada grave (SCID) é uma doença primária letal, quando não empregado tratamento precoce, diagnóstico por meio da análise do círculo de excisão do receptor de células T (TREC) e o círculo de excisão de recombinação kappa (KREC). Por intermédio dos cartões de Guthrie e do papel filtro, são extraídas as informações baseadas no teste molecular de reação em cadeia de polimerase (polymerase chain reaction, PCR), em tempo real (qRT-PCR), para avaliar simultaneamente as deficiências de células B e T e rastrear as alterações imunológicas. Deste modo, o objetivo desta revisão sistemática foi verificar a sensibilidade e especificidade da utilização de qRT-PCR, em TREC e KREC, no diagnóstico da SCID, conforme publicações nas bases de dados PUBMED e SCIELO, entre 2011 e 2021, resultando em 30 artigos completos, após aplicação da metodologia, em que foi possível concluir que a quantificação de TRECs e KRECs, ao utilizar o teste de qRT-PCR, foi eficiente na detecção das SCIDs e validada em vários países, no entanto, ainda pouco empregada no Brasil, evidenciando baixo diagnóstico de erros inatos da imunidade e alta taxa de mortalidade no primeiro ano de vida.

Palavras-chave: Imunodeficiência combinada grave (SCID); Triagem neonatal; Real-Time PCRs.

Abstract

Severe Combined Immunodeficiency (SCID) is a primary lethal disease, when early treatment is not employed, diagnosis through the analysis of the T cell receptor excision circle (TREC) and the kappa recombination circle excision (KREC). Using Guthrie cards and filter paper, information based on the real-time polymerase chain reaction (PCR) molecular test (qRT PCR) is extracted to simultaneously assess the deficiencies of B cells and T and track immunological changes. Thus, the objective of this systematic review was to verify the sensitivity and specificity of using qRT-PCR, in TREC and KREC, in the diagnosis of SCID, according to publications in the PUBMED and SCIELO databases, between 2011 and 2021, resulting in 30 articles complete, after applying the methodology, in which it was possible to conclude that the quantification of TRECs and KRECs, using the qRT-PCR test, was efficient in detecting SCIDs and validated in several countries, however, still little used in Brazil, showing low diagnosis of inborn errors of immunity and high mortality rate in the first year of life.

Keywords: Severe Combined Immunodeficiency SCID; Inborn errors immunity; Real-Time PCRs.

Introdução

O sistema imunológico pode ser acometido por Doenças Imunodeficientes Primárias (DIP), que causam erros inatos da imunidade. Atualmente, mais de 300 alterações genéticas foram descritas, sendo estas decorrentes de diversos fatores fisiopatológicos, podendo classificar-se como doenças desregulatórias imunológicas; distúrbios anti-inflamatório; imunodeficiência combinadas ou sindrômicas, aquelas que afetam a imunidade humoral e celular; deficiência de anticorpos, além de defeitos imunes intrínsecos e inatos, entre outros¹.

Sabe-se que as imunodeficiências podem ser divididas em dois tipos: primárias e secundárias. As primárias são decorrentes, geralmente, de distúrbios genéticos hereditários considerados raros, elas apresentam-se no nascimento, manifestando-se nos primeiros anos de vida. A imunodeficiência secundária é adquirida no decorrer da vida, oriundos de fatores ambientais associados ou outras patologias existentes, a mais conhecida é a Imunodeficiência Humana (HIV), que pode causar a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS)².

Avanços em tecnologias de diagnóstico têm permitido que bebês sejam identificados com PID (Imunodeficiência Primária) grave, antes das manifestações dos sintomas, o que, anteriormente, resultava-se em infecções graves e complicações prolongadas pela falta de identificação, hoje as buscas e os diagnósticos são antecipados.¹

A incidência de pessoas com diagnóstico de Imunodeficiência Combinada Severa (SCID) está estimada em 1:58.000. Estes pacientes possuem alterações nos elementos do sistema imunológico, podendo apresentar baixos níveis ou ausência de células T e inexistência ou não do funcionamento das células B, resultando em suscetibilidade do indivíduo a infecções virais, fúngicas e bactericidas, em que as doenças oportunistas apresentam risco à vida³.

Conforme estudos que avaliam a triagem de recém-nascidos¹, a SCID é uma doença imunodeficiente primária letal, quando não empregado tratamento precoce. Caso o diagnóstico e o tratamento sejam realizados, ainda, nos primeiros meses de vida, os resultados são satisfatórios, estudo cita, também, que o diagnóstico descreve análise do Círculo de Excisão do Receptor de Células T (TREC) e Círculo de Excisão de Recombinação Kappa

(KREC), por meio dos cartões de Guthrie, (papel filtro), em que são extraídos TRECs baseados na Reação em Cadeia da Polimerase, ferramenta útil para diagnóstico de SCIDs.

Para avaliar simultaneamente as deficiências de células B e T, pesquisa utilizou-se da PCR triplex⁴. Outro achado⁵ relata ainda que crianças que receberam transplante de células hematopoiéticas para tratar a SCID, apresentavam altas taxas de sobrevivência, com taxas de sobrevida de 94% para crianças com 3,5 meses de idade ou menos, 90% para aquelas sem infecções anteriores e mais velhas e 82% para as crianças com infecções tratadas.

Crianças com diagnóstico precoce para imunodeficiência combinada severa apresentam taxa de sobrevida maior, para que este diagnóstico ocorra em tempo hábil e, assim, serem tratadas antecipadamente. Para tanto, faz-se necessária busca por formas alternativas e eficazes de triagem e diagnóstico. Logo, este trabalho objetivou explicar sobre a detecção de TREC E KREC com a técnica do qRT-PCR, como método de diagnóstico eficaz em bebês com SCID.

Métodos

Esta revisão sistemática foi baseada nas diretrizes do método PRISMA⁶, tendo como o principal objetivo verificar a sensibilidade e especificidade da utilização de qRT-PCR, em TREC e KREC, no diagnóstico SCID. Para a pesquisa, consultaram-se as bases de dados *National Library of Medicine National Institutes of Health (PubMed)* e *Scientific Electronic Library Online (SCIELO)*, considerando o período de 2011-2021. Como descritores, utilizaram-se dos mesmos em língua inglesa, com cinco combinações diferentes: Severe Combined Immunodeficiency; Neonatal screening, TREC; KREC; PCR, Neonatal screening; PCR, Specificity; Sensitivity; PCR; TREC; KREC; e Inborn Immunity Error, Neonatal Screening for SCID. A estratégia de busca utilizada foi o uso do operador booleano “AND”, que permitiu a busca exata por temas relacionados à pesquisa.

Como critério de elegibilidade, selecionaram-se os estudos resultantes da busca de dados e efetuou-se a análise dos artigos. A presente avaliação foi realizada por cinco pesquisadores, sendo dividida em três etapas. Primeiramente, ocorreu a busca nas bases de dados, seguida da leitura de títulos e resumos e, por fim, a leitura dos artigos na íntegra. Avaliou-

se a pergunta de pesquisa e a formulou considerando os elementos da estratégia PICO, em que P refere-se a Recém-nascidos; I, a Teste de TREC e KREC; C equivale a qRT-PCR; e O corresponde à Sensibilidade e Especificidade dos testes para diagnóstico de SCID. Esta auxilia nessas definições, pois orienta a construção da pergunta de pesquisa, da busca bibliográfica e permite que o profissional da área clínica e de pesquisa, ao ter dúvida ou questionamento, localize de modo acurado e rápido a melhor informação científica disponível⁷. Os critérios de exclusão foram artigos que abordassem parcialmente o tema; preprints; estudos na forma de teses, dissertações, vídeos ou livros; carta para o editor; com resultados de estudos experimentais em animais de laboratório; artigos duplicados; literatura cinzenta; e artigos publicados antes do ano de 2011.

No total, a busca encontrou 715 trabalhos publicados, destes, 30 foram selecionados, de acordo com os critérios de elegibilidade mencionados, conforme Figura 1. Dos artigos que foram lidos na íntegra e após os elegidos para participar desta revisão, em planilha do Excel, registraram-se dados, como plataforma em que estão disponíveis, autores e

ano de publicação, país de publicação, objetivos e resultados.

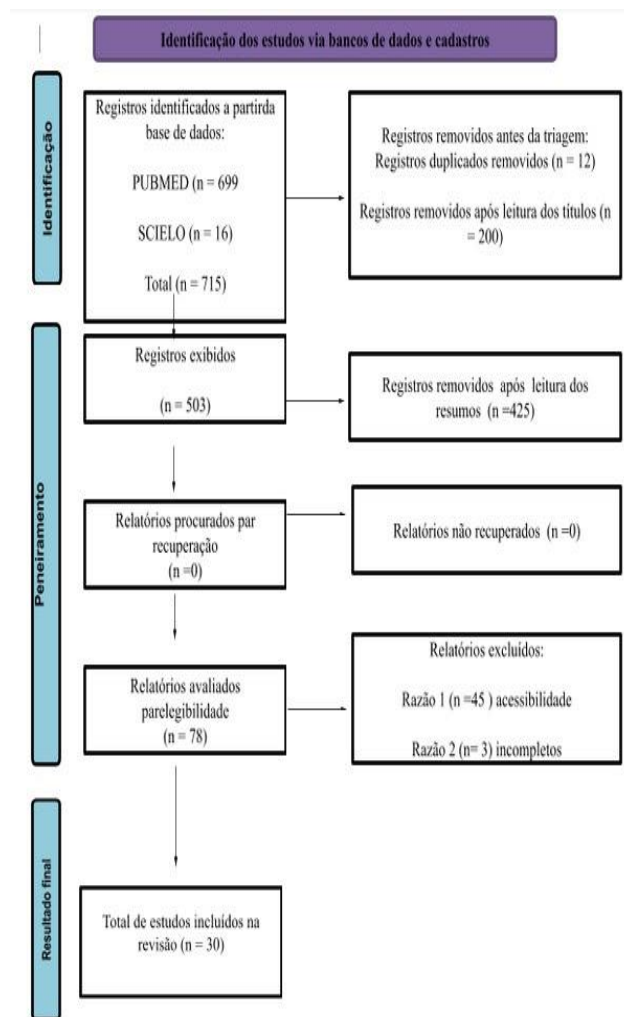


Figura 1 - Diagrama de fluxo do PRISMA 2020 para revisões sistemáticas atualizadas, sobre a extração das pesquisas dos bancos de dados, registros e outras fontes.

Resultados

Os artigos selecionados após a leitura na íntegra estão representados no Quadro I. A triagem neonatal para SCID era realizada pelo histórico familiar ou quando os bebês apresentavam sintomas clínicos característicos desta patologia. Embora as crianças recebam das mães anticorpos que permitam nascimento e

desenvolvimento normal nos primeiros anos de vida, nota-se que quando não tratadas as infecções oportunistas e recorrentes até aos dois anos de vida, estas podem se tornar fatal, quando se possui SCID. A diminuição do tempo de diagnóstico e realização de tratamento, como terapia genética, transplante de células tronco hematopoiéticas e terapia de reposição enzimática, são cruciais na sobrevivência dos bebês⁸.

A imunodeficiência combinada severa é manifestada pelos baixos níveis de linfócitos T ou pela ausência destes. Para o diagnóstico, inicialmente, utilizava-se de hemograma completo, com contagem de linfócitos, porém, observou-se sensibilidade nula, posteriormente, a citometria de fluxo sanguíneo no cordão umbilical para análise de células T, também, foi utilizada. Contudo, por ser método dispendioso e demorado, optou-se por outras triagens para linfopenia de células T¹.

A SCID pode ser diagnosticada pela contagem de TRECs em cartões de Guthrie, com manchas de sangue secas, utilizando-se da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR), para estimar os níveis de TRECs. Estes, sendo baixos, caracterizam-se como linfopenia de células T, visto que estes TRECs, decorrentes de recombinação do

receptor da célula T, são subprodutos do DNA⁹.

Estudos apresentaram a viabilidade do uso de TRECs, como biomarcador para diagnóstico de SCID que, quando comparado a ensaios clínicos retrospectivos, a incidência da imunodeficiência combinada severa foi de 1 em 58.000 nascidos, diferente da incidência sugerida de 1 em 100.000, em dados retrospectivos¹⁰.

Achados demonstram que a combinação de TREC e KREC permite o diagnóstico de DIP graves com linfopenia de células B e T, além da SCID, estas combinações podem ser utilizadas, pois não há alteração complexa na técnica de desenvolvimento do diagnóstico. Esta combinação ainda permite identificar precocemente erros inatos de imunidade, como síndrome de DiGeorge, agamaglobulinemia, ataxia-teleangiectasia, entre outras¹¹.

Ensaio de TREC e KREC multiplexados, quando comparados à triagem TREC isolada, apresentam diversas vantagens, além da verificação de defeitos nas células B, auxiliam no diagnóstico de diferentes PID, que não são identificadas em teste TREC isolado¹.

Na Suíça, para triagem de deficiências graves de células B e T de recém-nascidos, utiliza-se do ensaio que quantifica TRECs e

KRECs, por meio de qPCR, a partir de círculos de excisão do receptor de células T. Nestes, encontram-se fragmentos de DNA, caracterizados pelo formato de anéis, em que, no Timo, após maturar as células T, são produzidas residualmente, durante a recombinação somática do lócus do gene receptor da célula T, assim como círculos de excisão de recombinação, com deleção de kappa que são formados na maturação e recombinação do receptor de célula B. Observa-se que em crianças com linfopenia de células T grave ou com SCID, os TRECs são pouco detectáveis ou ausentes, diferentes das crianças saudáveis, em que os TRECs são produzidos em níveis altos ¹².

Pesquisadores, no ano de 2017, descrevem em estudos que o diagnóstico de SCID são decorrentes da PCR amplificada, sabe-se que resultados com níveis baixos podem ser consequentes de artefatos, amostra de sangue seco inadequada, inibidores da DNA polimerase, ou falha na eluição do DNA. Para que o resultado não seja falso-positivo, incluem-se, simultaneamente, na PCR um gene da ribonuclease P, gene da beta-actina, RPP30 ou ACTB. Com isso, ao detectar-se um gene na faixa desejada, indica que a quantificação do TREC é de confiança e as amostras são

amplificadas¹³. Para que seja estabelecido controle positivo no teste que avalia TREC e KREC, na Suíça, o marcador beta-actina auxilia na avaliação da quantidade de cópias, ou seja, este marcador sempre será usado junto aos testes de TREC e KREC ¹².

Nos Estados Unidos, alguns estados possuem protocolo em que se repetem ensaios de TRECs em recém-nascidos prematuros, até que possuam ao menos 36 semanas de idade gestacional corrigida, pois sabe-se que os recém-nascidos possuem valores mais baixos de TRECs ⁸. Outros achados ¹² justificam ainda que valores baixos de TREC e KREC em recém-nascidos prematuros podem ser derivados da imaturidade do sistema imunológico. Desta maneira, crianças que possuem TREC detectáveis, porém baixos, serão acompanhados de sinais clínicos, assim como repetidos, a cada duas semanas, os ensaios TREC e KREC, até que o bebê atinja 37 semanas gestacional ajustada.

Quadro I: Síntese dos artigos finais da busca de dados.

AUTORES /ANOS	PAÍSES	OBJETIVOS	PRINCIPAIS RESULTADOS
Kanegae, MPP, et al., 2016	Brasil	Aplicar o ensaio TREC, por meio da reação em cadeia da polimerase, em tempo real, no Brasil, para triagem de SCID, analisando a viabilidade de implantação deste ensaio no Brasil. População-alvo de 8715 amostras de RN.	A técnica de TREC mostrou-se confiável, podendo ser empregada na triagem neonatal no Brasil, após treinamento de equipes de saúde.
NourizadehM, et al., 2018	Irã	Identificar os pontos de corte do número de cópias TREC / KREC, com base na análise de amostras DBS de recém-nascidos iranianos saudáveis, bem como amostras de uma série de pacientes com DIP com diagnóstico definitivo. População de 2.160 recém-nascidos.	Para determinar os valores de corte, curvas ROC para números de cópias, TREC / KREC foram desenhadas. Os valores de corte foram estimados com sensibilidade de 100% para TREC e 97% para KREC, em detrimento da especificidade, na detecção de casos de SCID, XLA e CID. Os pacientes com SCID com fenótipos diferentes (sem um ou mais compartimentos de células T, B ou NK) não tinham cópias TREC detectáveis, mas números variáveis de cópias KREC, o que está de acordo com seu fenótipo. Pacientes com SCID autossômico recessivo apresentaram cópias KREC baixas ou ausentes, exceto para pacientes com IL-7R α . No entanto, os pacientes com SCID vinculados mostraram nível normal de KREC e zero cópias de TREC.
Kanegae MPP, et al. 2017	Brasil	Validar a quantificação de TREC e KREC POR qRT-PCR para triagem neonatal de imunodeficiências primárias que cursam com defeitos nas células T e/ou B no Brasil. População-alvo de 6.881 de RN.	Os ensaios com KRECs e Trechos permitiram o diagnóstico de crianças com linfopenias B/T, validando técnica e permitindo melhor triagem neonatal no Brasil.
Fronková E, et al., 2014	República Tcheca	Identificar qual proporção de pacientes com DGS poderia ser identificada no nascimento por triagem combinada de TREC e KREC, além de avaliar alterações em linfócitos pós-natais. População-alvo 32 crianças.	Embora a maioria dos pacientes analisados tenham apresentado níveis de KREC e TREC normais, observa-se que com a idade pacientes com DGS apresentam baixa nos níveis de KREC e TREC, podendo ser decorrente de alterações imunológicas com o decorrer da idade.
Barbaro M, et al., 2017	Suécia	Analisar crianças com linfopenia de células T e B, a fim de identificar aquelas com formas graves de	O estudo permitiu triagem neonatal ampla, ao utilizar simultaneamente KREC e TREC, diagnosticando RN com alterações em células B e T.

		imunodeficiências primárias graves, por meio de ensaio de TREC e KREC. População-alvo de 58.834 crianças.	
Borte, S, et al., 2012	Suécia	Avaliar a triagem simultânea de deficiência de células T e B, utilizando método novo de PCR triplex, avaliando o potencial da aplicação clínica. População-alvo foi de 2.560 amostras de sangue.	A pesquisa demonstrou que o ensaio triplex RT-qPCR, ao medir os níveis de TRECs e KRECs, fornece triagem adequada para SCID e linfopenia B ou T em RN.
Puck JM. 2019	Estados Unidos	Avaliar a Triagem Neonatal Universal (NBS), por meio do TREC para diagnósticos de SCID. População-alvo 3.252.156 RN.	Os TRECs demonstram ser um biomarcador sensível e específico, observa-se que a utilização do TREC permitiu diagnóstico e tratamentos de crianças, possibilitando aumento nas taxas de sobrevivência.
Taki M, Miah T, Secord E, 2019.	Estados Unidos	Avaliar SCID, por meio do ensaio TREC, e condições que resultem na baixa das células T. Não houve população-alvo, visto que se trata de revisão bibliográfica.	O ensaio TREC detecta 50% de linfopenia de células T e possui sensibilidade de quase 100% para SCID, mostrando-se econômico e altamente sensível.
Amatuni GS, et al. 2019	Estados Unidos	Avaliar o desempenho do programa de triagem SCID e os resultados dos bebês que foram identificados, por meio do ensaio TREC. População-alvo foi de 3.252.156 crianças.	Os ensaios com TREC mostram-se eficazes na identificação de SCID e linfopenia de células T, apresentando alta especificidade e sensibilidade.
King JR, Hammarström L. 2018	Estados Unidos	Identificar precocemente crianças assintomáticas com doenças graves, para que o diagnóstico e o tratamento antecipado evitem sequelas graves. Não houve população-alvo, visto que se trata de revisão bibliográfica.	As DIPs são grupos heterogêneos de distúrbios, e que não há diagnóstico que irá identificar todas as formas de imunodeficiência primária. Para isso, faz-se necessário analisar as várias formas de triagem neonatal.
Kwan A, et al. 2014	Estados Unidos	Apresentar dados de triagem neonatal com SCID, estabelecer incidência de base populacional para SCID e outras condições com linfopenia de células T e documentar a instituição precoce de tratamentos eficazes. População-alvo foi de 3030 083 bebês examinados.	Por meio dos ensaios TREC, lactentes com diagnósticos de alterações em células T ou SCID foram classificados.
Van der S, et al. 2015.	Holanda	Revisar sistematicamente o desempenho de TREC na triagem neonatal para	Estudo demonstra que estabelecer valores de corte para TREC e repetição de teste em pacientes com alterações nos

		diagnóstico de para SCID. Não houve população-alvo, visto que se trata de revisão bibliográfica.	resultados, seria mais eficaz a triagem de bebês, em que a adição do ensaio KREC auxiliaria simultaneamente no diagnóstico de alterações nas células B.
Pfisterer JC, et al. 2014	Brasil	Revisar aspectos fisiopatológicos, métodos diagnósticos e tratamentos utilizados em pacientes com SCID. Não houve população alvo, visto que se trata de revisão bibliográfica.	A revisão demonstrou dificuldades no diagnóstico laboratorial, clínico e genético-molecular, enfatizando o diagnóstico e tratamento precoce, o que contribui na qualidade de vida e prevenção de infecções e complicações clínicas.
Gizewska M, et al. 2020	Polônia e Alemanha	A pesquisa pretende expandir o painel de triagem neonatal para erros inatos do metabolismo e outras doenças raras, incluindo SCID. População-alvo foi de 44.287 RN.	Conclui-se que os programas de triagem neonatal, incluindo TREC e KREC, seguidos de avaliação imunológica detalhada, são de grande valor para evitar complicações em crianças com DIP não diagnosticada.
Ramírez AA, et al. 2020	Espanha	Detectar imunodeficiência combinada grave, por meio do teste TREC. População-alvo foi de 222.857 bebês.	No programa catalão, a quantificação de TREC na triagem neonatal para diagnóstico de SCID foi implementada com sucesso.
Truck, J. et al. 2020	Suíça	Descrever a triagem realizada na Suíça e recomendar diagnósticos e medidas de precauções de infecção de crianças com testes alterados Não houve população-alvo, visto que se trata de revisão bibliográfica..	A triagem neonatal, ao utilizar TREC e KREC, representa avanço no diagnóstico precoce de SCID, auxiliando em intervenções e prevenção dos casos de infecções, que se associam à morbimortalidade das crianças.
Biggs, CM, et al. 2017.	Canadá	Descrever a epidemiologia, o diagnóstico e a triagem de SCID e as formas de tratamentos existentes. Não houve população-alvo, visto que se trata de revisão bibliográfica.	O tratamento precoce diminui os custos clínicos totais, quando comparado aos custos com crianças que são diagnosticadas e tratadas mais tardiamente.
Folch. NV. et al. 2017	Estados Unidos	Desenvolver método de PCR digital multiplex (ddPCR) para medir quantidades absolutas de TREC em punção DBSs. População-alvo foi de 610 bebês.	Resultou em sensibilidade de 88,9% e especificidade de 100% em TRECs. Desenvolveu-se método ddPCR multiplex para quantificação absoluta de sangue seco TRECs que pode detectar SCID e outras condições linfopenia de células T concomitante associadas com TRECs ausentes ou baixos.
Ramírez, AA, et al. 2019	Espanha.	Avaliar a detecção precoce de SCID, na tentativa de emprego de tratamento acelerado. População-alvo iniciou-se com 130.903 amostras, após os critérios de exclusão, foram avaliados 129.614 RN.	A pesquisa demonstrou que a quantificação de TREC para diagnóstico de SCID, por meio de sangue seco, foi incluída de forma satisfatória no programa de triagem neonatal.

Kwan A, et al. 2013	Estados Unidos	Avaliar e relatar o uso do ensaio TREC na Califórnia, durante dois anos, na triagem neonatal. População-alvo foi de 993.724 bebês avaliados.	O ensaio TREC para triagem neonatal mostrou-se eficiente no diagnóstico precoce de SCID e outras condições com linfopenia de células T, contribuindo no tratamento e melhorando os resultados.
TagliaferriL, et al. 2017	Alemanha	Estabelecer e testar método simplificado, prático e econômico de triagem neonatal, com base na quantificação de (TREC), em sangue seco, por meio de qPCR. População-alvo 6.034 RN.	O ensaio TREC mostrou-se altamente específico e sensível, com método com boa relação custo-benefício, sendo adequado para triagem de RN com SCID.
Dorsey M.,Puck J, 2017	Estados Unidos.	Avaliar, nos Estado Unidos, a inserção da triagem neonatal para avaliação de SCID, com ensaios de TREC. População de 993.724 amostras triadas.	Os avanços na triagem neonatal para SCID nos EUA melhoraram nos últimos nove anos. Cada estado desenvolve um método de TREC, porém, o diagnóstico de SCID típico com TREC tem sido bem-sucedido.
Boyarchuk O, et al. 2021	Ucrânia	Realizar triagem para SCID com TREC e KREC para identificação de linfopenia de B e T. Não houve população alvo, visto que se trata de revisão bibliográfica.	A eficácia clínica e de custo-benefício da triagem de SCID pelo ensaio TREC TREC / KREC foi comprovada.
Jilkina O, et al. 2014	Canadá	Analisar TREC em confirmados com SCID, utilizando cartões Guthrie arquivados, sendo esta análise retrospectiva e cega. População-alvo foi 18 crianças com diagnóstico de deficiências imunológicas genéticas graves.	O método TREC identificou deficiência de células T em SCID e PID. Porém, para triagem de mutações específicas, faz-se necessária triagem direcionada ou multiplexada suplementar.
Al-Mousa H, et al. 2018.	Arábia Saudita	Avaliar a incidência de SCID entre a população de recém-nascidos da Arábia Saudita e examinar a viabilidade do uso de painel de genes PID. População de amostra foram 8.718 punções em cartões de Guthrie.	O ensaio com TREC mostrou-se rápido e econômico, podendo ser implementado como parte dos programas NBS para SCID.
Tagliaferri L, et al. 2017	Alemanha	Estabelecer e testar método simplificado, prático e econômico de triagem neonatal, com base na quantificação de (TREC), em sangue seco, por meio de qPCR. População-alvo: 6.034 RN.	O ensaio TREC mostrou-se altamente específico e sensível, com método com boa relação custo-benefício, sendo adequado para triagem de RN com SCID.
Atkins AE, et al. 2021	Estados Unidos	Avaliar se há diferença nos TREC entre recém-nascidos a termo e prematuros.	Dados sugerem que os TREC aumentam em taxa constante com o aumento da idade gestacional. Esses resultados

			fornece a justificativa para o procedimento de triagem de bebês prematuros, caso haja casos positivos em RN, realiza-se novamente TREC, ao invés da citometria de fluxo para SCID.
Puck JM, 2012	Estados Unidos	Avaliar testes de diagnóstico para SCID. População ultrapassa mais de 500.000 nascidos examinados.	O teste de círculos de excisão do receptor de células T (TREC), um biomarcador de DNA do desenvolvimento normal de células T, provou ser bem-sucedido, auxiliando em programas de saúde pública.
Roifman CM, et al. 2012.	Canadá	Determinar o número de células T circulantes em pacientes com SCID, em oposição àqueles com CID, para estudar sua função e avaliar possível detecção durante a triagem neonatal usando TREC. População de 103 pacientes avaliados.	Pacientes com SCID típica apresentam < 500 células T CD3 + circulantes. Pacientes que apresentam disfunção das células T apresentam TREC em níveis normais, não conseguindo diagnosticar SCID apenas com TREC.
Vogel BH, et al. 2014	Estados Unidos	Descrever o processo e avaliar os resultados nos primeiros dois anos de triagem neonatal para SCID no estado de Nova York. População triada foi de 485.912 crianças.	Neste estudo, observou-se que dez bebês com SCID foram identificados, durante os primeiros dois anos de triagem no NYS, apresentando incidência de, aproximadamente, 1 em 48.500 nascidos vivos, o que é consistente com a incidência observada por outros estados de triagem para SCID.
Kwok JSY, et al. 202	China	Avaliar a aplicações potenciais do ensaio combinado de TREC e KREC, com método de PCR multiplex, em tempo real, para auxiliar no diagnóstico de PIDD e no monitoramento da reconstituição imunológica em pacientes não neonatais. Avaliando também os níveis em diferentes faixas etárias e sexo. População de 479 indivíduos.	Observa-se que os níveis de TREC e KREC diminuem com a idade. As doenças de imunodeficiência primária (PIDD), assim como outras patologias, são diagnosticadas com sucesso TREC e KREC por RT-PCR.
Ramírez AA, et al. 2021	Espanha	Avaliar a triagem neonatal desenvolvida em três anos na Catalunha, por meio do ensaio TREC nas manchas de sangue seco. A População de RN triados foi de 222.857 no total.	A quantificação do TREC foi satisfatória no diagnóstico de SCID, observando-se benefícios do diagnóstico precoce e do tratamento curativo desta doença, incluindo-a nos programas de triagem neonatal.
De Felipe B, et al., 2016	Espanha	Identificar a determinação de TRECs e KRECs usando RT-PCR triplex (TRECS-KRECS-β-actina-Ensaio) nas manchas de sangue seco. População de 5.160 amostras de sangue foram testadas.	Total de 5.160 amostras foram testadas. Destes, 1,5% das amostras necessitaram de nova coleta. As amostras utilizadas como controle foram identificadas corretamente, sendo que o ensaio TRECS-KRECS-β-actina mostrou-se eficiente na identificação correta das linfopenias de células T e B.

Fonte: Elaborado pelas autoras.

Discussão

A partir dos estudos, foi possível compreender como utilizar as técnicas TREC e KREC, para triagem neonatal. No entanto, ainda existem dúvidas sobre os valores de corte para esse teste, tendo em vista diferenças entre as pesquisas relatadas, não apresentando consenso entre elas. Em pesquisas populacionais, percebe-se a alteração desse valor, motivado pelo tamanho amostral, base populacional, métodos utilizados pelo laboratório e algoritmos adotados nos programas de triagem. Vê-se, ainda, que os pontos de corte para TREC podem variar de 7 a 252 TRECs/ μ L¹⁴.

Segundo relatório de pesquisa sobre a triagem neonatal bem-sucedida para SCID na Nação Navajo, demonstrou-se a importância da implementação desses testes como obrigatórios e padrões ouro no diagnóstico de SCID. O mesmo diagnosticou quatro crianças com o TREC ausente, sendo que uma delas apresentou diagnóstico tardio, expondo-o a viroses antes de iniciar o tratamento. As outras três crianças tiveram o diagnóstico lampedo, não os expondo a vírus e bactérias, com início de

antibioticoterapia profilática e encaminhados para os órgãos competentes¹⁵.

O estudo relata que a incidência de crianças com SCID¹⁶ é subestimada em território nacional e que, por muitas vezes, essas crianças acabam evoluindo ao óbito antes mesmo do diagnóstico. Tal condição é decorrente da ausência de exames que possibilitem o diagnóstico precoce em todas as crianças. Com o exame de TREC e KREC como padrão ouro na investigação de SCID, muitos casos serão diagnosticados com possibilidade de tratamento da doença, minimizando desfechos trágicos.

Em outro estudo, foi demonstrado que, no Brasil, há a subnotificação dos casos, visto que em 15 anos, apenas 70 indivíduos foram diagnosticados, com provável incidência de 0,17 caso para SCID a cada 10.000 nascidos vivos, totalizando, no mínimo, 750 casos. Pode-se citar, também, que os sintomas destas patologias são inespecíficos, o que pode acarretar confundimento de diagnóstico, passando por infecção neonatal, ou ao déficit de crescimento. A SCID é caracterizada por ser as únicas patologias que podem ser diagnosticadas na triagem neonatal, e que se tem a possibilidade de

tratamento, muitas vezes, evoluindo para a cura¹⁷.

Conforme pesquisa, nos casos de SCID, o transplante com células hematopoiéticas é o mais efetivo, tendo um irmão compatível, este apresenta-se como um doador ideal. Estudo apresentou que quando criança com menos de 3,5 meses de idade diagnosticada e tratada apresentara sobrevida de 94%, semelhante àquela criança com idade maior que 3,5 meses sem casos de infecções (90%), ou com infecções tratadas anterior ao transplante (82%). Resultado que difere daquelas crianças que apresentavam infecções no momento do transplante, sem irmão compatível, cuja taxa de sobrevida foi de 50%¹⁸.

Estudo descreve que a avaliação do ensaio de número de círculos de excisão de receptor de células T presentes na SCID, é altamente sensível e específico, podendo chegar a 100% de sensibilidade e 99,98% de especificidade, em coorte de crianças submetidas à triagem neonatal para SCID¹⁹.

Quando avaliados os impactos econômicos do desenvolvimento de triagem para SCID²⁰, descreve que para examinar 100.000 recém-nascidos e tratar dois pacientes, o custo é de, aproximadamente, US\$ 1.065.000, menor do

que o empregado para tratar infecções e hospitalizações decorrentes de complicações, devido à falta de triagem. Estima-se que crianças com diagnóstico tardio e acometimento de infecções são frequentes, cujos valores dos custos são, aproximadamente, de US\$ 2 milhões, no primeiro ano de vida.

Observa-se que o custo empregado no rastreamento de SCID é recompensado com a redução do custo no diagnóstico, de tratamentos das complicações e para acompanhar o tratamento²¹.

Conclusão

A inclusão do teste de triagem para distúrbios primários graves de células T e B, no painel suíço de triagem neonatal de rotina, representa grande passo para melhoria do manejo clínico dessas doenças raras que estão, de outra forma, associadas à morbidade e mortalidade significativas, pois sem diagnóstico e tratamento adequados, as crianças com SCID evoluem para a morte nos primeiros dois anos de vida.

Conclui-se que a quantificação de TRECs e KRECs detectou crianças com linfopenia de células T e/ou B. A técnica é válida e pode ser amplamente empregada no Brasil,

sem a necessidade de coleta adicional de amostras, podendo ser utilizada a coleta do teste de triagem neonatal vigente. Portanto, a iniciativa para inclusão da triagem neonatal para linfopenia de células T e B, no país, está evoluindo para facilitar a triagem, o diagnóstico precoce e o tratamento de pacientes com imunodeficiências primárias. Deste modo, será possível salvar a vida de crianças com imunodeficiência combinada grave.

Referências

¹King JR., Hammarström L. Newborn Screening for Primary Immunodeficiency Diseases: History, Current and Future Practice. *J Clin Immunol* [Internet]. 2018 Jan [cited 2021 Aug 21];38(1):56-66. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5742602> doi: 10.1007/s10875-017-0455-x.

²Fernandez J. Manual MSD Versão Saúde para a Família. O fornecedor confiável de informações médicas desde 1899. Considerações gerais sobre imunodeficiências. 2021 [cited 2021 Aug 14]. Available from: <https://www.msmanuals.com/pt-br/casa/doen%C3%A7as-imunol%C3%B3gicas/doen%C3%A7as-decorrentes-de-imunodefici%C3%Aancia/considera%C3%A7%C3%B5es-gerais-sobre-imunodefici%C3%Aancias> >.

³Puck JM. Newborn screening for severe combined immunodeficiency and T-cell lymphopenia. *Immunol Rev* [Internet]. 2019 Jan [cited 2021 July 14];287(1):241-252. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6324582/> doi: 10.1111/imr.12729. PMID: 30565242; PMCID: PMC6324582. Acesso 14 de julho de 2021.

⁴Borte S, Dobein UV, Fasth A, Wang N, Janzi M, Winiarski J, et al. Neonatal screening for severe primary immunodeficiency diseases using high-throughput triplex real-time PCR. *Blood* [Internet]. 2012 [cited 2021 July 14];119(11):2552–2555. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article/119/11/2552/>

29652/Neonatal-screening-for-severe-primary doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2011-08-371021>.

⁵Pai SY, Logan BR, Griffith LM, Buckley RH, Parrott RE, Dvorak CC, et Al. Resultados do transplante para imunodeficiência combinada grave, 2000-2009. *The New England Journal of Medicine* [Internet]. 2014 [cited 2021 July 18];371(5):434-46. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4183064/> doi: 10.1056 / NEJMoa1401177.

⁶Galvão, T. F., Pansani, T. de S. A. e Harrad, D. Principais itens para relatar Revisões sistemáticas e Meta-análises: A recomendação PRISMA. *Epidemiologia e Serviços de Saúde* [Internet]. 2015 [cited 2021 Aug 15];24(2):335-342. Available from: <https://doi.org/10.5123/S1679-49742015000200017>

⁷ Audrain M, Thomas C. Neonatal Screening for SCID: The French Experience. *Int J Neonatal Screen*. [Internet] 2021 July [cited 2021 Aug 15];7(3):42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34287257/> doi: 10.3390/ijns7030042.

Van Der Spek J, Groenwold RH, Van Der Burg M, Van Montfrans JM. TREC Based Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency Disease: A Systematic Review. *J Clin Immunol*. [Internet] 2015 May [cited 2021 Aug 15];35(4):416-30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25893636/> doi: 10.1007/s10875-015-0152-6.

⁸Taki, M. Miah, T. Secord, E. Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency. *Pediatr Clin North Am*. [Internet]. 2019 Oct [cited 2021 July 18];66(5):913-923. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031395519300896?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.pcl.2019.06.007

⁹Van Der Spek J, Groenwold RHH, Van Der Burg M, Van Montfrans JM. TREC Based Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency Disease: A Systematic Review. *J Clin Immunol*. [Internet] 2015 May [cited July 18];35(4):416-30. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10875-015-0152-6> doi: 10.1007/s10875-015-0152-6.

¹⁰Kwan A, Abraham RS, Currier R, Brower A, Andruszewski K, Abbott JK, et al. Newborn screening for severe combined immunodeficiency in 11 screening programs in the United States. *JAMA* [Internet]. 2014 Aug [cited 2021 July 18];312(7):729-38. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4492158/> doi: 10.1001/jama.2014.9132.

¹¹Gizewska M, Durda K, Winter T, Ostrowska I, Oltarzewski M, Klein J, et al. Newborn Screening for SCID and Other Severe Primary Immunodeficiency in the Polish-German Transborder Area: Experience From the First 14 Months of Collaboration. *Front Immunol.* [Internet] 2020 Oct [cited 2021 July 20];16(11):1948. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01948/full> doi: 10.3389/fimmu.2020.01948

¹²TRÜCK J, Prader S, Natalucci G, Hagmann C, Brotschi B, Kelly J, et al. Swiss newborn screening for severe T and B cell deficiency with a combined TREC/KREC assay - management recommendations. *Swiss Med Wkly.* [Internet] 2020 June [cited 2021 July 20];24(150):w20254. Available from: <https://smw.ch/article/doi/smw.2020.20254> doi: 10.4414/smw.2020.20254.

¹³FOLCH NV, Milosevic D, Majumdar R, Gayrilov D, Matern YD, Raymond YZK, et al. A Droplet Digital PCR Method for Severe Combined Immunodeficiency Newborn Screening. *J Mol Diagn.* [Internet] 2017 Sep [cited 2021 July 30];19(5):755-765. Available from: [https://www.jmdjournal.org/article/S1525-1578\(17\)30161-7/fulltext](https://www.jmdjournal.org/article/S1525-1578(17)30161-7/fulltext) doi: 10.1016/j.jmoldx.2017.05.011.

¹⁴Nourizadeh M, Shakerian L, Borte S, Fazlollahi M, Badalzadeh M, Houshmand, et al. Newborn screening using TREC/KREC assay for severe T and B cell lymphopenia in Iran. *Scand J Immunol.* [Internet] 2018 [cited 2021 Aug 03];88:1-9. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/sji.12699> doi: 10.1016 / j.clim.2015.02.015

¹⁵Kwan A, Hu D, Song M, Gomes H, Brown DR, Bourque T, et al. Successful newborn screening for SCID in the Navajo Nation. *J Clin Immunol.*[Internet] 2015 Mar [2021 Aug 01];158(1):29-34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25762520/> doi: 10.1016 / j.clim.2015.02.015

¹⁶Kanegae MPP, Barreiros LA, Sousa LJ, Brito MAS, Oliveira Junior EB, Soares LP, et al. Triagem Neonatal de Imunodeficiências Graves Combinadas por meio de TRECS e KRECS: Segundo estudo piloto no Brasil. *Rev Paul Pediatr.* [Internet] 2017 [cited 2021 Aug 02];35(1):25-32. Available from: <https://www.scielo.br/j/rpp/a/RTcgk4cFnxbq3vM7pDFLD8K/abstract/?lang=pt> doi: <https://doi.org/10.1590/1984-0462/2017;35;1;00013>

¹⁷Kanegae MPP, Barreiros LA, Mazzucchelli JTL, Hadachi SM, Guilhoto MFF, Aquesta AL, et al. Neonatal screening for severe combined

immunodeficiency in Brazil. *J Pediatr.* [Internet] 2016 [cited 2021 Aug 18];92(4):374-80. Available from: <https://www.scielo.br/j/jped/a/px8JSGWnRtJzBYvRTNJBMK/abstract/?lang=en#> doi: <https://doi.org/10.1016/j.jped.2015.10.006>

¹⁸Dorsey M, Puck J. Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency in the US: Current Status and Approach to Management. *Int J Neonatal Screen.* [Internet] 2017 June [cited 2021 Aug 06];3(2):15. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6625796/> doi: 10.3390/ijns3020015.

¹⁹Biggs CM, Haddad E, Issekutz TB, Roifman CM, Turvey SE. Newborn screening for severe combined immunodeficiency: a primer for clinicians. *CMAJ.* [Internet] 2017 Dec [cited 3031 July 20];189(50):E1551-E1557. Available from: <https://www.cmaj.ca/content/189/50/E1551.1on> g doi: 10.1503/cmaj.170561.

²⁰Quinn J, Orange JS, Modell V, Modell F. The case for severe combined immunodeficiency (SCID) and T cell lymphopenia newborn screening: saving lives...one at a time. *Immunol Res.* [Internet] 2020 Feb [cited 2021 Aug 18];68(1):48-53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32128663/> doi: 10.1007/s12026-020-09117-9.

²¹Boyarchuk O, Yarema N, Kinash M, Chornomydz I. Newborn screening for severe combined immunodeficiency: clinical and cost-effectiveness approaches. *Pol Merkur Lekarski* [Internet] 2021 Feb [cited 2021 Aug 06];49(289):80-83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33713100/>

²²FRONKOVÁ E, Klocperk A, Svatoň M, Nováková M, Kotrová M, Kyserová J, et al. The TREC/KREC Assay for the Diagnosis and Monitoring of Patients with DiGeorge Syndrome. *Plos One.*[Internet] 2014 [cited 2021 Aug 03];9(12): 01-13, 2014. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0114514> doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114514>

²³Barbaro M, Ohlsson A, Borte S, Jonsson S, Zetterstrom RH, King J, et al. Newborn Screening for Severe Primary Immunodeficiency Diseases in Sweden-a 2-Year Pilot TREC and KREC Screening Study. *J Clin. Immunol.* [Internet] 2017 Oct [cited 2021 Aug 01];37(1):51-60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27873105/> doi: 10.1007 / s10875-016-0347-5.

- ²⁴Amatuni GS, Currier RJ, Church JA, Bishop T, Grimbacher E, Nguyen AC, et al. Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency and T-cell Lymphopenia in California, 2010-2017. *Pediatrics*. [Internet] 2019 Feb [cited 2021 Jul 18];143(2):e20182300. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6361357/> doi: 10.1542/peds.2018-2300.
- ²⁵PFISTERER, J.C, et al. Imunodeficiência combinada grave: uma revisão da literatura. *Braz J Allergy Immunol*. 2014;2(2):56-65. Acesso em 20 julho de 2021. Disponível em < http://aaai-asbai.org.br/detalhe_artigo.asp?id=686>.
- ²⁶Ramírez AA, Nalda AM, Soria JLM, Galera ML, Castillo JMGA, García SP, et al. Primer programa europeo de cribado neonatal para la inmunodeficiencia combinada grave: experiencia de tres años en Cataluña [First universal newborn screening program for severe combined immunodeficiency in Europe. Three-years' experience in Catalonia. *Rev Esp Salud Publica*. [Internet] 2020 Dec [cited 2021 Aug 04];6(94):e202012153. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33323927/>
- ²⁷Ramírez AA, Nalda AM, Soria JLM, Galera ML, García SP, Castillo JMGA, et al. First Universal Newborn Screening Program for Severe Combined Immunodeficiency in Europe. Two-Years' Experience in Catalonia (Spain). *Front Immunol*. [Internet] 2019 Oct [cited 2021 July 30];10:2406. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6818460/> doi: 10.3389/fimmu.2019.02406.
- ²⁸KWAN, A. Newborn screening for severe combined immunodeficiency and T-cell lymphopenia in California: results of the first 2 years. *J Allergy Clin Immunol*. [Internet] 2013 Jul [cited 2021 July 01];132(1):140-50. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3759317/> doi: 10.1016/j.jaci.2013.04.024.
- ²⁹Tagliaferri L, Kunz JB, Happich M, Esposito S, Bruckner T, Hubschmann D, et al.. Newborn screening for severe combined immunodeficiency using a novel and simplified method to measure T-cell excision circles (TREC). *Clin Immunol*. [Internet] 2017 Feb [cited 2021 July 27];175:51-55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27916705/> doi: 10.1016/j.clim.2016.11.016
- ³⁰JILKINA O, Thompson JR, Kwan L, Van Caesele P, Rockman-Greenberg C, Schroeder ML. Retrospective TREC testing of newborns with Severe Combined Immunodeficiency and other primary immunodeficiency diseases. *Mol Genet Metab Rep*. [Internet] 2014 Aug [cited 2021 Aug 06];1:324-333. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5121305/> doi: 10.1016/j.ymgmr.2014.07.003.
- ³¹AL-MOUSA H, Al-Dakheel G, Jabr A, Elbadaoui, Abouelhoda M, Baig M, et al. High Incidence of Severe Combined Immunodeficiency Disease in Saudi Arabia Detected Through Combined T Cell Receptor Excision Circle and Next Generation Sequencing of Newborn Dried Blood Spots. *Front Immunol*. [Internet] 2018 Apr [cited 2021 Aug 07];9:782. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.00782/full> doi: 10.3389/fimmu.2018.00782
- ³²ATKINS AE, Cogley MF, Baker MW. Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency: Do Preterm Infants Require Special Consideration? *Int J Neonatal Screen*. [Internet] 2021 Jul [cited 2021 Aug 07];7(3):40. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8293075/> doi: 10.3390/ijns7030040.
- ³³PUCK, J. M. Laboratory technology for population-based screening for severe combined immunodeficiency in neonates: the winner is T-cell receptor excision circles. *J Allergy Clin Immunol*. [Internet] 2012 Mar [cited 2021 Aug 10];129(3):607-16. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3294074/> doi: 10.1016/j.jaci.2012.01.032.
- Roifman CM, Somech R, Kavadas F, Pires L, Nahum A, Dalal I, et al. Defining combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*. [Internet] 2012 Jul [cited 2021 Aug 10];130(1):177-83. Available from: [https://www.jacionline.org/article/S0091-6749\(12\)00705-1/fulltext](https://www.jacionline.org/article/S0091-6749(12)00705-1/fulltext) doi: 10.1016/j.jaci.2012.04.029.
- ³⁵Vogel BH, Bonagura V, Weinberg GA, Ballow M, Isabelle J, DiAntonio et al. Newborn screening for SCID in New York State: experience from the first two years. *J Clin Immunol*. [Internet] 2014 Apr [cited 2021 Aug 10];34(3):289-303. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4090801/> doi: 10.1007/s10875-014-0006-7.
- ³⁶Kwok JSY, Cheung SKF, Ho JCY, Tang WH, Chul PWK, Leung EYS et al. Establishing Simultaneous T Cell Receptor Excision Circles (TREC) and K-Deleting Recombination Excision Circles (KREC) Quantification Assays and Laboratory Reference Intervals in Healthy Individuals of Different Age Groups in Hong Kong. *Front Immunol*. [Internet] 2020 Jul [cited 2021 Aug 10];11:1411. Available:

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01411/full> doi: 10.3389/fimmu.2020.01411.

³⁷ Ramírez AA, Nalda AM, Castillo JMGA, Galera RL, Soria JLM, García SP et al. Newborn Screening for SCID. Experience in Spain (Catalonia). *Int J Neonatal Screen*. [Internet] 2021 Jul [cited 2021 Aug 10];7(3):46. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8299329/> doi: 10.3390/ijns7030046.

³⁸ De Felipe B, Olbrich P, Lucenas JM, Delgado-Pecellin C, Pavon-Delgado A, Marquez J et al. Triagem neonatal prospectiva para deficiências graves de linfócitos T e B em Sevilha. *Pediatr Allergy Immunol.*, [Internet] Fev 2016 [cited 2021 Aug 15];27(1):70-7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26498110/> doi: 10.1111 / pai.12501.

Reservado aos Editores

Data de submissão: 02/10//2021

Data de aprovação: 09/11/2021