

Herramientas de laboratorio para el diagnóstico de errores innatos de la inmunidad: avances y desafíos

Laboratory tools for the diagnosis of inborn errors of immunity: Advances and challenges

Soriuska J. Mayora Hernández¹

RESUMEN

Los errores innatos de la inmunidad (EII), antes llamados inmunodeficiencias primarias, son un grupo heterogéneo de 555 trastornos genéticos que afectan la función del sistema inmunológico, elevando la susceptibilidad a infecciones, a la autoinmunidad y a otras complicaciones, como la linfoproliferación. Aunque su sospecha y diagnóstico recaen principalmente en la historia clínica y familiar del paciente, es importante destacar el papel fundamental de los estudios de laboratorio de rutina, que incluyen pruebas básicas esenciales para la identificación inicial y la confirmación de la sospecha clínica de estas enfermedades. Esta revisión tiene como propósito examinar de manera integral las herramientas de laboratorio disponibles para el diagnóstico de estos trastornos, así como los desafíos actuales asociados a su implementación, especialmente en entornos con recursos limitados. Las conclusiones subrayan que el diagnóstico precoz

de los EII depende de una integración efectiva entre la evaluación clínica y los estudios de laboratorio, y que son fundamentales la capacitación del personal de salud y el acceso a pruebas diagnósticas avanzadas.

Palabras clave: Errores innatos de la inmunidad, enfermedades de inmunodeficiencia primaria, diagnóstico de laboratorio

SUMMARY

Inborn errors of immunity (IEI), formerly known as primary immunodeficiencies, are a heterogeneous group of 555 genetic disorders that affect immune system function, increasing susceptibility to infections, autoimmunity, and other complications, such as lymphoproliferation. Although suspicion and diagnosis rely primarily on the patient's clinical and family history, it is important to highlight the fundamental role of routine laboratory tests, including basic tests essential for initial identification and clinical suspicion of these diseases. This review examines the laboratory tools available for diagnosing these disorders and the current challenges, particularly in resource-limited settings. The conclusions emphasize that early diagnosis of IEI depends on effective integration between clinical evaluation and laboratory testing, with training of healthcare personnel and access to advanced diagnostic tests being essential.

Keywords: Inborn errors of immunity, Primary immunodeficiency disorders, Laboratory diagnosis

ORCID:

¹ [0000-0002-7194-7264](https://orcid.org/0000-0002-7194-7264)

Instituto de Inmunología "Dr. Nicolás E. Bianco C.", Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela

*Correspondencia: Soriuska Mayora.

E-mail: soriuskamayora@gmail.com

Recibido: 26 de enero 2026

Aceptado: 31 de marzo 2026

INTRODUCCIÓN

Los errores innatos de la inmunidad (EII), antes llamados inmunodeficiencias primarias, constituyen un grupo heterogéneo de 555 enfermedades. Estos se originan en defectos genéticos que afectan el desarrollo o la función del sistema inmune (1). Los defectos genéticos asociados a los EII pueden manifestarse de diversas maneras: algunos afectan directamente el número de células inmunitarias, mientras que otros alteran sus funciones celulares, ya sea por pérdida o ganancia de función, sin modificar necesariamente el recuento celular. La naturaleza de estas alteraciones determina las consecuencias clínicas, que pueden incluir una disminución de las defensas del huésped (lo que se traduce en una mayor susceptibilidad a un amplio espectro de patógenos o a un grupo específico de microorganismos), una inflamación excesiva o una combinación de ambas. En otros EII, lo que se ve afectado principalmente es el compartimento soluble del sistema inmunitario, en lugar del brazo celular, que incluye citocinas, quimiocinas, productos del complemento o anticuerpos (2). La prevalencia se estima en 1:10.000 individuos y puede afectar tanto a niños como a adultos (3). La tasa de mortalidad por EII varía según las regiones geográficas y los países. Siendo de mayor prevalencia en los países de Oriente Medio y del Norte de África, donde se registran tasas más elevadas de matrimonios consanguíneos. Además, la supervivencia de los pacientes con EII se ve influida tanto por el defecto molecular como por el impacto de la mutación en el gen causal. Las mutaciones sin sentido suelen asociarse a fenotipos más leves que las mutaciones con cambio de marco. Los pacientes con defectos subyacentes de los linfocitos T, desregulación inmunitaria y defectos fagocíticos presentaban los peores pronósticos, y las infecciones constituían la principal causa de muerte (4).

A grandes rasgos, la evaluación del paciente se realiza de manera secuencial, iniciando con un estudio clínico detallado, con antecedentes familiares y examen físico, que sientan las bases para la solicitud de pruebas de laboratorio básicas e intermedias, como la hematología completa y

la medición de los niveles de inmunoglobulinas séricas. Estas pruebas orientan el diagnóstico hacia el tipo de defecto y, posteriormente, permiten realizar estudios más complejos, como la evaluación de subpoblaciones linfocitarias, estudios funcionales y análisis genéticos, los cuales están específicamente dirigidos a la confirmación final del diagnóstico y al establecimiento posterior de la terapéutica (5) (Figura 1).

Los defectos en el número o en la función de los elementos del sistema inmunitario determinan la presentación clínica de un EII. Con frecuencia, los primeros signos se deben a infecciones persistentes, inusuales, difíciles de tratar y recurrentes, así como a la aparición de efectos adversos tras la administración de una vacuna con un patógeno vivo. Además, se debe prestar atención a los signos de desregulación inmunitaria, que parecen igualmente importantes para la susceptibilidad a las infecciones al definir el EII (6,7).

Los retrasos en el diagnóstico son una causa importante de complicaciones de los EII que se presentan en la edad adulta. Este retraso se define como el tiempo transcurrido entre la aparición de los síntomas del EII y el diagnóstico y puede deberse a la falta de conocimiento sobre el EII por parte del público y de los médicos, así como a las barreras para acceder a la tecnología necesaria para realizar diagnósticos adecuados (8).

Esta revisión tiene como propósito examinar de manera integral las herramientas de laboratorio disponibles para el diagnóstico de estos trastornos, así como los desafíos actuales asociados a su implementación, especialmente en entornos con recursos limitados.

El laboratorio clínico de rutina y la sospecha de EII

El laboratorio clínico de rutina es un área fundamental en los sistemas de salud. Recibe su nombre porque realiza pruebas comunes, accesibles y recurrentes que constituyen la base del diagnóstico clínico y de la vigilancia sanitaria.

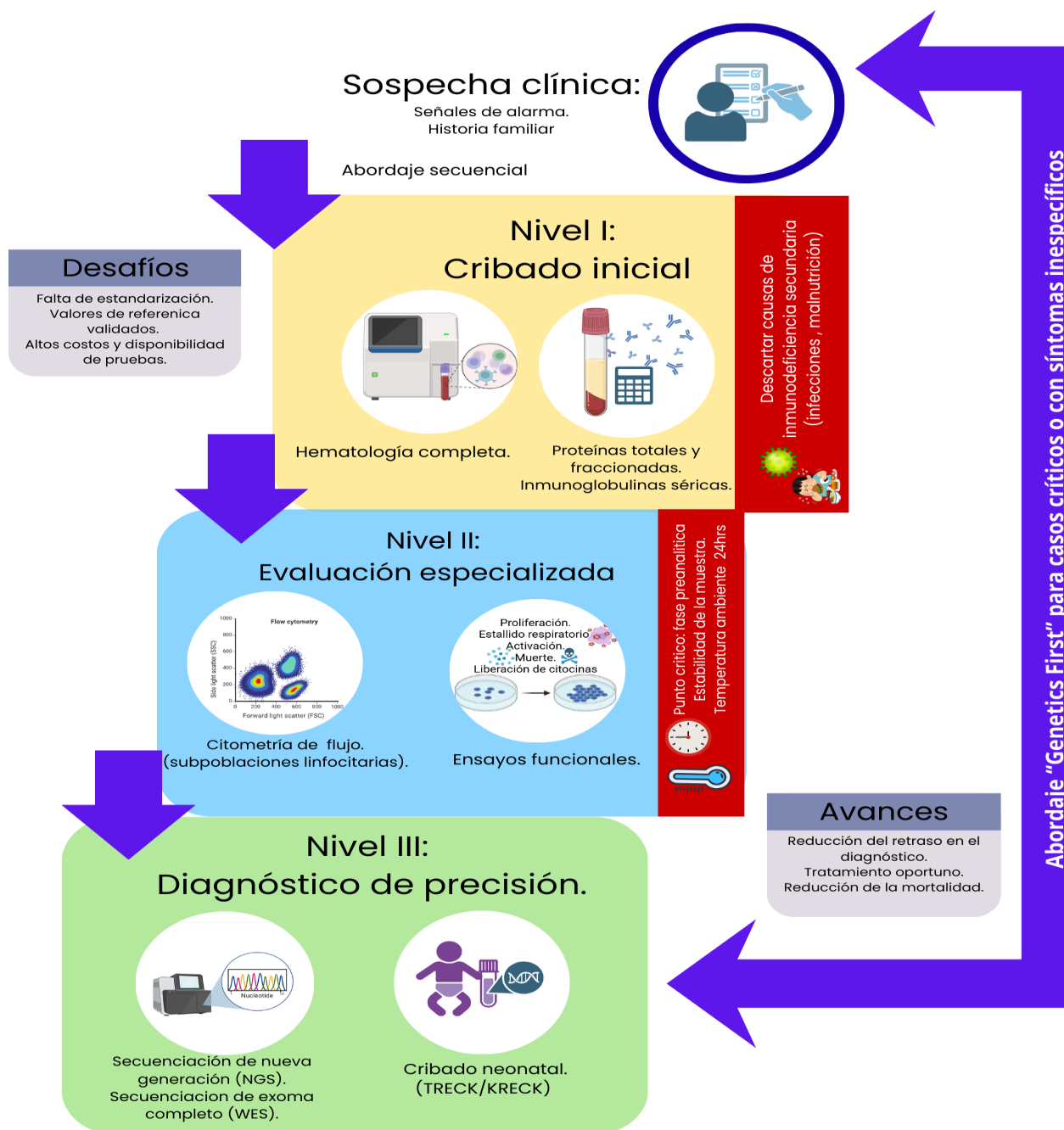


Figura 1. Algoritmo diagnóstico secuencial y desafíos en los Errores Innatos de la Inmunidad (EII). El abordaje diagnóstico de los EII se presenta como un proceso de múltiples niveles que abarca desde herramientas accesibles hasta tecnologías de alta complejidad. Nivel I (Cribado inicial): Destaca el uso de la hematología completa para la detección de citopenias, el cálculo de la globulina (proteínas totales – albúmina) y la medición de inmunoglobulinas como un marcador altamente costo-efectivos en entornos de recursos limitados. Nivel II (Evaluación Especializada): Incluye la caracterización fenotípica mediante citometría de flujo y el análisis de la función inmunitaria (p. ej., estallido respiratorio mediante DHR). Se enfatiza el punto crítico de la fase preanalítica, donde la estabilidad de la muestra (tiempo <24h y temperatura controlada) es vital para la viabilidad celular. Nivel III (Diagnóstico de Precisión): Representa la vanguardia diagnóstica a través del cribado neonatal (TREC/KREC) y la identificación de variantes patogénicas mediante Secuenciación de Nueva Generación (NGS) y secuenciación del exoma completo (WES).

Su trabajo es vital para la toma de decisiones médicas, pues facilita la detección temprana, el monitoreo de los tratamientos y la prevención de complicaciones. Aunque las pruebas que aquí se realizan son muy sensibles, algunas carecen de alta especificidad, lo que puede provocar resultados alterados en una amplia variedad de enfermedades. Por ello, la interpretación de los resultados debe realizarse de manera individual, en estrecha relación con la sospecha clínica o el diagnóstico presuntivo de cada paciente.

Un ejemplo de ello es la hematología completa, como prueba de base o pilar fundamental. La sangre incluye varios componentes celulares que se ven afectados en diversas patologías, entre ellas el EII. Esta prueba permite evaluar posibles alteraciones, como linfopenia o neutropenia en los leucocitos, anemia normocítica normocrómica en los glóbulos rojos y trombocitosis o trombocitopenia en las plaquetas, hallazgos que pueden indicar defectos inmunitarios (9,10). El frotis de sangre periférica también tiene un gran valor en la evaluación morfológica de estos defectos. Por ejemplo, la detección de linfopenia o neutropenia puede sugerir un defecto de linfocitos y fagocitos; en síndromes como el de Chédiak-Higashi se observan gránulos gigantes en los granulocitos, y la presencia de blastos puede indicar disfunciones hematológicas asociadas a EII. Aunque la hematología completa y el frotis no diagnostican directamente la inmunodeficiencia, sus hallazgos preparan el terreno para realizar pruebas funcionales y genéticas que confirmen el diagnóstico y orienten hacia el tipo específico de EII presente (11).

Asimismo, la cuantificación de proteínas totales en suero y su fraccionamiento en albúmina y globulinas tienen un alto valor diagnóstico en el EII. La albúmina, producida por el hígado, representa entre el 55 % y el 60 % de las proteínas séricas totales; mantiene la presión oncótica plasmática y actúa como transportadora de hormonas, ácidos grasos y otras moléculas. Por su parte, las globulinas representan aproximadamente el 38-40 % y constituyen un grupo heterogéneo que incluye inmunoglobulinas (Ig, anticuerpos), proteínas transportadoras,

componentes del sistema del complemento, proteínas de fase aguda e inhibidores de enzimas. Esta prueba puede revelar alteraciones sugestivas de inmunodeficiencias, como niveles bajos de proteínas totales o desequilibrios en la proporción albúmina/globulina (12). La globulina calculada (CG, proteína total menos los niveles de albúmina) se correlaciona bien con los niveles de IgG y se ha propuesto como método de detección adecuado para personas con deficiencias primarias de anticuerpos (PAD), siendo una prueba adecuada para la hipogammaglobulinemia en niños (13).

En un grupo particular de pacientes con una presentación clínica asociada a un proceso autoinmune, es importante evaluar marcadores inflamatorios como la proteína C reactiva (PCR), la velocidad de sedimentación globular (VSG) y la concentración de ferritina. Un aumento de estos elementos, también llamados reactantes de fase aguda, puede sugerir procesos infecciosos o inflamatorios crónicos asociados a algunos EII. Otros marcadores inflamatorios que pueden utilizarse son la haptoglobina, la ceruloplasmina, el fibrinógeno y la albúmina (14).

Asimismo, el análisis de orina se utiliza habitualmente para evaluar lesiones renales (como glomerulonefritis y nefritis intersticial) y, en estos casos, los resultados mostrarán proteinuria, hematuria o sedimento activo (cilindros de glóbulos blancos o rojos). Muchas otras enfermedades, como la nefropatía diabética, la hipertensión mal controlada o las infecciones, darán resultados similares, pero cuando se sospecha una enfermedad autoinmune, la evaluación de laboratorio habitual servirá como una primera señal de alerta para realizar pruebas adicionales (15).

Los tiempos de coagulación tienen un valor diagnóstico limitado pero relevante en algunos EII, especialmente en aquellos que afectan la función plaquetaria o la vía del complemento. Las alteraciones del tiempo de tromboplastina parcial activada (PTTa) y del tiempo de protrombina (PT) pueden reflejar deficiencias de factores de coagulación o la presencia de inhibidores, que, en el contexto de EII, podrían estar relacionados con

procesos autoinmunes o con consumo secundario por inflamación crónica (15).

Es importante señalar que además de las pruebas de laboratorio de rutina mencionadas, es fundamental descartar otras causas de alteración del sistema inmunitario. Muchas enfermedades infecciosas, metabólicas o neoplásicas pueden provocar alteraciones inmunológicas similares a las observadas en EII. Las infecciones crónicas pueden causar inmunodeficiencias al atacar directamente las células inmunitarias o al inducir una activación inmunitaria prolongada y el agotamiento inmunitario. Como ejemplo, se puede mencionar el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) que, en ausencia de terapia antirretroviral, conduce progresivamente a la disminución de los linfocitos T CD4+ y al deterioro de la inmunidad mediada por células, lo que aumenta la vulnerabilidad a las bacterias encapsuladas y a las infecciones oportunistas graves, incluidas las virales (16).

Adicionalmente, la malnutrición es una de las principales causas de inmunodeficiencia secundaria en todo el mundo y afecta tanto a niños como a adultos, especialmente en países de ingresos bajos. Las deficiencias crónicas de calorías y de proteínas afectan el desarrollo, la proliferación y la función de las células inmunitarias, lo que aumenta la susceptibilidad a las infecciones. Las deficiencias de micronutrientes, como zinc, vitamina A, vitamina D, hierro y selenio, debilitan las barreras mucosas y afectan las respuestas inmunitarias innatas y adaptativas. La hipoproteïnemia provoca una disminución de la generación y la función de las células T, con inmunosupresión que se correlaciona con la gravedad de la hipoproteïnemia (17).

Por ello, es indispensable realizar una evaluación clínica exhaustiva y considerar pruebas complementarias para identificar o descartar estas condiciones antes de establecer un diagnóstico definitivo de EII. Este enfoque integral asegura que las alteraciones inmunitarias detectadas se atribuyan correctamente a la causa subyacente.

El laboratorio de pruebas especiales: pruebas de segundo y de tercer nivel

En el laboratorio de pruebas especiales se realizan análisis específicos y avanzados que no forman parte del conjunto rutinario de pruebas. Estas pruebas especiales suelen requerir técnicas más sofisticadas, equipos especializados y personal altamente capacitado. Son cruciales para confirmar o descartar diagnósticos cuando las evaluaciones de laboratorio de rutina resultan insuficientes o poco específicas. Debido a su complejidad, suelen realizarse en laboratorios de referencia o especializados y requieren una interpretación clínica cuidadosa para contextualizar los resultados en el cuadro clínico del paciente.

En el contexto de los errores innatos de la inmunidad, las pruebas estarán orientadas al defecto inmunitario que se presume en el paciente. Aspectos como la manifestación clínica más prominente (infecciones, inflamación), el tipo de agente causal en el caso de las infecciones, la historia familiar e incluso los hallazgos en pruebas básicas servirán de guía para la selección de estas pruebas más especializadas, que, a pesar de su gran utilidad, en la mayoría de los casos resultan costosas o de difícil acceso. Por lo cual es de gran importancia hacer un uso consciente de ellas (18).

Deficiencias de anticuerpos: Determinación de inmunoglobulinas (Igs) séricas (IgG, IgA, IgM, IgE)

La cuantificación de las inmunoglobulinas ayuda a identificar deficiencias de la inmunidad humoral, frecuentes en muchos EII. Más del 80 % de los pacientes diagnosticados de un EII presentarán anomalías en las inmunoglobulinas séricas. Estas mediciones aportan información indirecta sobre varios aspectos del sistema inmunitario, ya que la síntesis de inmunoglobulinas requiere la coordinación entre los linfocitos B y T y las células presentadoras de antígenos. La detección oportuna de la deficiencia de anticuerpos previene el daño futuro en los órganos (19,20).

Estos pacientes presentarán infecciones recurrentes, principalmente de los sistemas respiratorio y gastrointestinal, causadas por patógenos como *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus* y *Pseudomonas* (21). Aunque los resultados deben interpretarse de acuerdo con la edad del paciente, niveles bajos de Ig sugieren una deficiencia de anticuerpos o una inmunodeficiencia combinada: un nivel de IgG < 300 mg/dL, un Ig total (IgG + IgM + IgA) inferior a 500 mg/dL o la ausencia completa de IgA y/o IgM en un niño mayor de seis meses indica una deficiencia de anticuerpos.

La deficiencia selectiva de IgA (DSIgA) es una patología frecuente cuyo diagnóstico se establece después de los 4 años de edad, y los resultados de laboratorio muestran un nivel de IgA de 7 mg/dL, con IgM dentro de la normalidad. Algunos pacientes con deficiencia de IgA pueden presentar deficiencias asociadas de IgG2 e IgG4. Además, se deben descartar otras causas de hipogammaglobulinemia. A diferencia de otros EII, la mayoría de los pacientes con DSIgA son asintomáticos. Las manifestaciones clínicas de los pacientes sintomáticos incluyen infecciones recurrentes de los tractos respiratorio, auditivo y gastrointestinal (22).

La medición rutinaria de la IgE sérica no es obligatoria en el manejo de pacientes con sospecha de deficiencia de anticuerpos y antecedentes de infecciones recurrentes. Sin embargo, los niveles de IgE significativamente elevados (>2000 UI/mL) pueden indicar un trastorno atópico monogénico o uno de los síndromes de inmunodeficiencia por hiper-IgE. De igual manera, es importante señalar que los trastornos de la producción funcional de anticuerpos pueden presentarse a pesar de niveles normales de IgG, y que los niveles normales de Ig no descartan la enfermedad (23).

Análisis de respuesta vacunal

La evaluación de la respuesta vacunal consiste en medir la IgG específica frente a los antígenos con los que el paciente ha sido

inmunizado. La evaluación de la respuesta a los antígenos proteicos se realiza midiendo la presencia de IgG frente a los toxoides tetánico y diftérico; sin embargo, también se pueden medir IgG frente al sarampión y la rubéola debido a la alta tasa de inmunización en la población general. La respuesta a los antígenos polisacáridos puede evaluarse en pacientes mayores de 2 años mediante la IgG frente a los 23 serotipos del neumococo. Para ello, se realiza la inmunización del paciente y, cuatro semanas después, se mide la producción de IgG frente a los serotipos aplicados. El valor normal depende de la edad de la persona (24, 25).

Evaluación del complemento

Las deficiencias del complemento representan aproximadamente el 5 % de todos los EII, según revela la última evaluación del registro de la Sociedad Europea de Inmunodeficiencias (ESID), pero pueden alcanzar cifras significativamente más altas (26). Los pacientes con estos trastornos suelen presentar una enfermedad autoinmune sistémica, similar al lupus eritematoso, o infecciones graves o recurrentes causadas por organismos encapsulados. Los ensayos nefelométricos o de inmunoprecipitación se utilizan habitualmente para medir las concentraciones de los componentes individuales del sistema del complemento. Los ensayos hemolíticos para evaluar las funciones de la vía clásica (CH50) y la vía alternativa (AH50) se utilizan desde hace más de 40 años y se basan en la cuantificación de la cantidad de suero necesaria para lisis el 50 % de una muestra de eritrocitos (27).

Citometría de flujo

La citometría de flujo permite detectar la ausencia de una población o subpoblación celular, la expresión alterada de una proteína extracelular o intracelular y evaluar cambios biológicos asociados a defectos inmunitarios específicos, así como determinadas características inmunitarias funcionales (28).

La cuantificación de las subpoblaciones linfocitarias es indispensable para evaluar posibles defectos de los linfocitos T o de los linfocitos T y B combinados. La citometría de flujo estándar implica la inmunofenotipificación de los linfocitos T (células CD3+ que coexpresan CD4 o CD8), las células B (células CD3-, CD19+/20+) y las células asesinas naturales (NK) (células CD3-, CD16+/56+). Cuando se centra en los linfocitos T, incluir el análisis de la expresión de marcadores como CD45RA, CD62L (o CCR7) y CD45RO, ayuda a identificar las etapas de maduración (por ejemplo, células CD45RA+/CD62L+, células de memoria central CD45RA-/CD62L+, células de memoria efectoras CD45-/CD62L- y células de memoria efectoras CD45RA+/CD62L- de memoria efectora que re-expresan CD45RA (T-EMRA); las isoformas CD45-RA y -RO representan poblaciones vírgenes y de memoria, respectivamente. Hay subconjuntos específicos de células T y B que se han asociado con la EII y la autoinmunidad. Estos incluyen la expansión de células T CD4+ TCRαβ (doble negativas) en el síndrome linfoproliferativo autoinmune (ALPS), de células B CD19hi CD21lo en la inmunodeficiencia común variable con autoinmunidad, y de células T helper foliculares (Tfh) en la deficiencia de CTLA4 (29-31).

Por otro lado, los niveles de Treg y la expresión de FoxP3 pueden evaluarse mediante citometría de flujo. En esta metodología, es habitual teñir las células con CD4, CD25 y CD127 para evaluar la frecuencia o el número de células Treg. Este estudio es de especial importancia para el diagnóstico de los errores congénitos de desregulación inmunitaria (grupo 4), que presentan un fenotipo caracterizado por la pérdida de mecanismos de tolerancia, lo que conduce a autoinmunidad, autoinflamación, linfoproliferación y/o atopia grave. En el registro de la Sociedad Europea de Inmunodeficiencias (ESID), las definiciones de trabajo para el diagnóstico clínico de los EII se utilizan únicamente en pacientes sin diagnóstico genético (32).

La interpretación de las subpoblaciones linfocitarias debe realizarse dentro de estrictos rangos de referencia ajustados por edad, dado

que la composición celular del sistema inmune es altamente dinámica, especialmente durante la infancia (33). Asimismo, el cumplimiento de los protocolos de transporte y de estabilidad de la muestra es esencial para garantizar la viabilidad celular requerida en estos ensayos (34). La evaluación cuantitativa del compartimento celular debe complementarse con una evaluación funcional in vitro mediante ensayos de proliferación celular, de producción de citocinas, de señalización intracelular y de citotoxicidad (35).

Más allá de los números, estudios funcionales

Defectos de la inmunidad innata

La evaluación de la función efectora de las células Natural Killer y de las células T citotóxicas, mediante ensayos de citotoxicidad, la movilización de CD107a o la cuantificación de perforinas, resulta fundamental ante sospechas de defectos de la inmunidad innata o de síndromes como la linfohistiocitosis hemofagocítica. También es importante evaluar su función efectora frente a infecciones causadas por patógenos de la familia Herpesviridae (35).

Esto puede hacerse mediante un ensayo de citotoxicidad que consiste en cultivar células mononucleares de sangre periférica (PBMC) con células diana marcadas y, posteriormente, medir la fluorescencia de marcadores de integridad de la membrana o analizar la expresión de marcadores de apoptosis (es decir, anexina V y 7-ADD). Por otra parte, el análisis de la movilización de CD107a, un marcador de desgranulación, así como la evaluación de la presencia de proteínas citotóxicas intracelulares (perforina/granzima), pueden ser útiles para evaluar a pacientes con estas características clínicas, consistentes con un defecto en la funcionalidad de estas células (36,37).

La evaluación funcional de los receptores tipo Toll (TLR), relevante en caso de una susceptibilidad restringida a un tipo de agente infeccioso, lo que sugiere una deficiencia de la inmunidad innata, se realiza mediante el ensayo de liberación de CD62L. Mediante varios estímulos

específicos dirigidos a distintos TLR, se evalúa la cantidad de CD62L liberada por los neutrófilos en el sobrenadante. El aumento de CD62L identifica vías de señalización sin alteración (38).

Defectos de los granulocitos

Las infecciones piógenas recurrentes, la inflamación granulomatosa y la mala cicatrización de las heridas pueden indicar un defecto en las células fagocíticas. Debido a la susceptibilidad inherente de las micobacterias, debe considerarse la enfermedad granulomatosa crónica en pacientes que desarrollan complicaciones tras la vacunación con bacilo de Calmette-Guérin (BCG). Del mismo modo, los abscesos orgánicos profundos pueden indicar una disfunción de los fagocitos. La vía de estallido respiratorio de los neutrófilos puede analizarse mediante pruebas con nitroazul de tetrazolio (NBT) o mediante un ensayo de citometría de flujo (DHR), cuyos resultados son anormales en pacientes con enfermedad granulomatosa crónica, aunque esta última prueba es más sensible (21).

La evaluación mediante citometría de flujo es un ensayo que se utiliza con frecuencia para determinar el estado de los polimorfonucleares en humanos. La generación de especies reactivas de oxígeno se cuantifica mediante un ensayo de formación de peróxido de hidrógeno. En este método, la producción de peróxido de hidrógeno se evalúa mediante la oxidación del colorante indicador dihidrorhodamina (DHR) a rodamina 123, un compuesto altamente fluorescente, en contraste con el DHR, que carece de fluorescencia (39).

Defectos de la respuesta adaptativa

Los ensayos de proliferación de linfocitos T permiten evaluar directamente la capacidad de replicación de estas células. Tras varios días de incubación en presencia de estímulos específicos, la proliferación puede cuantificarse mediante la incorporación de colorantes fluorescentes al ADN

de las células en división o mediante la medición de la expresión de marcadores tempranos de activación, como CD25, CD69 y CD154. Los resultados obtenidos pueden transformarse en un índice de estimulación que refleje la magnitud de la respuesta proliferativa (40). El sobrenadante del cultivo también puede utilizarse para detectar la producción de citocinas bajo las mismas condiciones (35).

A pesar de la gran importancia de los datos generados a partir de las pruebas funcionales, varias de ellas aún carecen de estandarización, incluidos los protocolos, los materiales de referencia y los programas externos de evaluación de la calidad. Además, aún no se han establecido valores de referencia bien establecidos, especialmente en las edades tempranas, cuando se manifiestan las afecciones más graves y el diagnóstico resulta fundamental para la supervivencia del paciente. Por lo tanto, en algunos inmunoensayos es importante reforzar la necesidad de procesar, en paralelo a la muestra del paciente, una muestra de un individuo aparentemente sano (41).

Pruebas genéticas

Al igual que con todas las enfermedades genéticas, la selección de las pruebas se basa en múltiples consideraciones, entre las que se incluyen la presentación clínica y la gravedad del paciente, el diagnóstico diferencial genético sospechado y la arquitectura genética asociada, así como el posible impacto en el manejo del paciente y en sus opciones terapéuticas futuras. Siendo realistas, las consideraciones socioeconómicas y familiares también suelen influir (42). La secuenciación genética mediante el método de Sanger sigue considerándose el patrón oro para el diagnóstico de mutaciones. Sin embargo, la secuenciación de nueva generación (NGS), adoptada desde 2010, permite investigar simultáneamente muchos más genes a un costo mucho menor. Estudios moleculares definitivos como la secuenciación del exoma/genoma, análisis de microarreglos y la hibridación *in situ* permiten la identificación precisa del defecto genético subyacente (43).

En lugares de todo el mundo donde solo se dispone de secuenciación Sanger para variantes seleccionadas o de paneles genéticos limitados, a menudo solo se pueden evaluar genes específicamente seleccionados a partir del fenotipo del paciente y de los parámetros de laboratorio disponibles. Lo cual supone un reto enorme incluso para los médicos más experimentados (44).

Lo ideal es que el análisis genético identifique un amplio espectro de anomalías genéticas que abarque no solo variaciones de un solo nucleótido, sino también variantes estructurales como duplicaciones, deleciones, inversiones y translocaciones, mediante un proceso optimizado y oportuno. También se reconoce cada vez más que las tecnologías genéticas más avanzadas requieren colaboraciones interdisciplinarias para lograr los mejores resultados posibles en diagnósticos y en el manejo de pacientes. Los genetistas, inmunólogos y médicos pueden desarrollar conjuntamente planes de tratamiento personalizados que tengan en cuenta tanto las variantes genéticas distintivas como las manifestaciones clínicas del paciente (45).

El diagnóstico precoz tiene como finalidad identificar la enfermedad antes de que aparezcan los síntomas. Especialmente en el caso de las formas graves de EII que requieren tratamiento correctivo en los primeros meses de vida, como la inmunodeficiencia severa Combinada. En la última década, el cribado neonatal (NBS) se ha implementado en muchos países del mundo. Se trata de una prueba de ADN en la que se cuantifican los círculos de escisión de la recombinación V(D)J del locus alfa del receptor de células T a partir de muestras de sangre seca (46).

La cuantificación, mediante la reacción en cadena de la polimerasa, de los círculos de escisión generados durante el reordenamiento de los receptores de células T y B constituye una herramienta de cribado particularmente útil. Estos círculos —TREC y KREC, respectivamente— pueden detectarse a partir de muestras obtenidas mediante manchas de sangre seca en papel de

filtro, lo que permite su aplicación en programas de tamizaje incluso en entornos con recursos limitados.

TREC es un círculo de ADN monocatenario que se forma durante eventos separados de recombinación del ADN en las cadenas α , β , γ y δ del receptor de células T (TCR) durante el desarrollo de las células T en el timo. El δ Rec- ϕ J α TREC se forma mediante la reorganización de los segmentos de unión de diversidad variable (VDJ) en la región variable del TCR, y el círculo de ADN resultante puede identificarse por su secuencia única en la unión de señal (47). Estos círculos de escisión del receptor de células T (TREC) sólo se forman en las células T en desarrollo. El ADN TREC no se replica a medida que las células T maduras se dividen; por lo tanto, el número de copias de TREC por célula disminuye con la edad. Por lo tanto, el número de copias de TREC no se ve afectado por la presencia de células T maternas (48).

Asimismo, es posible detectar linfopenia de células B mediante la cuantificación de los círculos de escisión de recombinación con deleción de kappa (KREC), que se forman en las células B en desarrollo.

La evaluación combinada de TREC y KREC en un único ensayo puede proporcionar más información sobre el defecto inmunitario (49). En regiones donde la vacunación con BCG es obligatoria al nacer, la identificación presintomática de linfopenias profundas, como la inmunodeficiencia combinada grave (SCID), es una prioridad clínica. El diagnóstico temprano permite postergar la administración de vacunas con patógenos vivos atenuados, evitando así complicaciones graves y potencialmente letales como la BCGosis diseminada. Por lo tanto, la expansión de estos programas de tamizaje no solo optimiza el acceso a terapias curativas como el trasplante de progenitores hematopoyéticos, sino que constituye una medida de seguridad biológica indispensable en el manejo inicial de los neonatos con sospecha de defectos inmunitarios (50).

Desafíos diagnósticos de los EII

Conciencia clínica y detección temprana

Muchas veces, los síntomas iniciales de los EII pueden ser similares a los de otras infecciones o trastornos inmunológicos menos graves, lo que provoca retrasos en la evaluación especializada. La sensibilización clínica y el reconocimiento temprano de signos sospechosos son cruciales, pero aún resultan insuficientes en algunos sistemas de salud. La capacitación continua en el campo de los EII para una amplia variedad de profesionales de la salud es fundamental para mejorar la detección precoz. Se debe evitar el uso indiscriminado de pruebas de laboratorio que, además de aportar información relevante, podrían generar confusión y retrasar el diagnóstico. La solicitud de exámenes médicos debe estar adaptada a la sospecha clínica de cada paciente, de acuerdo con la evaluación del médico tratante.

Fase preanalítica

La integridad de la fase preanalítica es determinante para la validez de los resultados en la evaluación de los EII. Factores biológicos y externos pueden inducir variaciones transitorias que simulan o enmascaran un defecto inmunitario; por ejemplo, las infecciones virales agudas pueden provocar linfopenias severas, mientras que procesos inflamatorios crónicos o inmunizaciones recientes pueden elevar artificialmente los niveles de anticuerpos. Asimismo, es crítico documentar el uso de fármacos con actividad inmunomoduladora, como corticosteroides, inmunoglobulinas intravenosas o incluso analgésicos comunes como el acetaminofén, que pueden interferir con los ensayos funcionales.

Más allá del estado del paciente, el manejo físico de la muestra es un desafío logístico crucial: pruebas como la citometría de flujo y los ensayos de proliferación celular requieren células viables, por lo que el tiempo de transporte debe ser mínimo (idealmente menos de 24 horas) y la temperatura debe mantenerse controlada para evitar la apoptosis celular. Siempre que la condición clínica lo permita, la recolección

de muestras debe realizarse antes de instaurar tratamientos que alteren la homeostasis del sistema inmunitario, a fin de garantizar que los hallazgos se atribuyan correctamente a la causa genética subyacente (Cuadro 1) (21,34,35).

Diagnóstico molecular y funcional

La heterogeneidad clínica de los EII y las variaciones en los perfiles inmunitarios dificultan la selección de pruebas diagnósticas específicas. El alto costo de las pruebas genéticas, como la secuenciación del exoma o la genómica integral, limita su uso rutinario, especialmente en entornos con recursos limitados, lo que genera disparidades en la atención diagnóstica y dificulta la identificación temprana y precisa de estos trastornos.

Dado el enorme volumen de datos generados por la NGS, no se puede subestimar la importancia de contar con técnicas de filtrado eficaces. Estas son necesarias para reducir la multitud de variantes identificadas a un subconjunto manejable de aquellas que podrían ser clínicamente relevantes. Las estrategias de filtrado adecuadas consideran factores como la frecuencia de las variantes en las bases de datos poblacionales, el impacto funcional previsto, el patrón de herencia y la coherencia con el fenotipo del paciente (51).

El Cambio de Paradigma: Del diagnóstico secuencial al “Genetics First”

El diagnóstico de los EII evoluciona hacia un modelo estructurado que trasciende la sospecha clínica inicial mediante el uso de herramientas de complejidad creciente. En entornos de infraestructura limitada, el laboratorio de rutina, específicamente la hematología completa, el cálculo de globulinas y la cuantificación de inmunoglobulinas, se mantiene como una primera línea de defensa diagnóstica indispensable para optimizar los recursos. No obstante, asistimos a un cambio de paradigma impulsado por el enfoque “Genetics First”, que representa un cambio estructural en la forma de diagnosticar, clasificar

Cuadro 1. Factores de interferencia en la fase preanalítica de las pruebas diagnósticas para errores innatos de la inmunidad

Factor	Efecto en la Prueba	Recomendación/ Observación
Antibióticos (aminoglucósidos/ beta-lactámicos)	Pueden causar neutropenia secundaria o interferir en la viabilidad de los cultivos celulares.	Documentar el uso; idealmente, tomar muestras para cultivos y pruebas funcionales <i>antes</i> del inicio del ciclo.
Analgésicos y AINEs (ibuprofeno)	El acetaminofén y ciertos AINES pueden interferir con el metabolismo celular en ensayos de proliferación y de estallido respiratorio.	Evitar la toma del medicamento al menos 12-24 horas antes de pruebas funcionales (DHR, proliferación con mitógenos).
Infección Viral Aguda	Causa linfopenia transitoria o activación inespecífica de células T.	Repetir los recuentos de subpoblaciones 4-6 semanas después de la resolución del cuadro agudo.
Corticosteroides	Inducen neutrofilia (debida a la demarginación) y linfopenia de corta duración.	Suspender 48-72 h antes si la condición clínica lo permite; interpretar con cautela si el paciente está en tratamiento crónico.
Inmunoglobulina IV (IGIV)	Eleva artificialmente los niveles de IgG sérica y puede suprimir la producción endógena de anticuerpos.	Esperar un ciclo completo (3-4 semanas) desde la última dosis para evaluar la producción basal de anticuerpos.
Vacunación Reciente	Elevación de títulos de anticuerpos específicos (falsos negativos para deficiencia de anticuerpos).	Documentar la fecha de la última dosis; útil para evaluar la respuesta vacunal si se realiza de forma programada.
Manejo de la Muestra (Transporte)	La refrigeración o el retraso (> 24h) causa apoptosis y pérdida de marcadores de superficie.	Mantener a temperatura ambiente (18-22 °C) y procesar en menos de 24 horas para citometría y pruebas funcionales.

y comprender las enfermedades humanas. Este modelo propone que el punto de partida del análisis clínico y biológico sea la identificación de variantes genéticas, en lugar de la caracterización inicial del fenotipo clínico. A partir del genotipo, se reconstruye y redefine el espectro fenotípico asociado. Este enfoque se ha consolidado gracias al acceso creciente a tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS), que permiten detectar alteraciones genéticas incluso en ausencia de manifestaciones clínicas claras. Esta tendencia prioriza el diagnóstico genético temprano cuando el fenotipo es altamente sugestivo de un defecto molecular o cuando la gravedad clínica exige intervenciones inmediatas y críticas, como el trasplante de precursores hematopoyéticos. En casos de EII con presentaciones atípicas o con

superposición de síntomas, el uso de paneles de genes dirigidos o de la secuenciación del exoma completo (WES) como herramienta de primera línea puede reducir significativamente la ‘odisea diagnóstica’. Este abordaje no solo acelera la instauración de terapias dirigidas, sino que, en ocasiones, revela defectos genéticos antes de que las alteraciones funcionales o celulares sean evidentes en las pruebas de laboratorio convencionales (52,53). Sin embargo, esta aproximación al diagnóstico está limitada en entornos de recursos escasos, donde las tecnologías de secuenciación de ADN no están disponibles o no son accesibles para la mayoría de la población. Por lo tanto, este enfoque queda supeditado a un desafío logístico basado en el envío de muestras hacia otras latitudes donde sí sea posible realizar estas pruebas.

CONCLUSIONES

El diagnóstico de los errores innatos de la inmunidad (EII) evoluciona hacia un proceso estructurado que integra la sospecha clínica con herramientas de laboratorio de creciente complejidad. Esta revisión reafirma que el laboratorio básico, específicamente la hematología completa, el cálculo de la globulina y pruebas intermedias como la cuantificación de inmunoglobulinas siguen siendo la piedra angular de abordaje diagnóstico, esencial para optimizar recursos en entornos de infraestructura limitada.

Sin embargo, el cierre de la brecha diagnóstica y la reducción de la mortalidad asociada a las infecciones dependen de la implementación y de un acceso más equitativo a la secuenciación de nueva generación (NGS), indispensable para consolidar el diagnóstico. Superar los desafíos actuales requiere no solo tecnología avanzada, sino también capacitación continua del personal de salud y formación de redes interdisciplinarias que permitan una interpretación precisa de las variantes genéticas en el contexto del fenotipo del paciente. En última instancia, el diagnóstico precoz no es solo un objetivo técnico, sino también una necesidad ética y clínica para transformar el pronóstico vital de los pacientes con EII.

Agradecimientos

Al Dr. Juan De Sanctis por su apoyo al proporcionar bibliografías clave para contribuir a la edición y mejora de este manuscrito, a la Dra. Inirida Belisario por su colaboración, al equipo del Instituto de Inmunología “Dr. Nicolás E. Bianco C” de la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela y del Curso de Perfeccionamiento en Errores Innatos de la Inmunidad.

Conflicto de interés

El autor declara no haber contado con patrocinio ni con fuentes de financiación para la elaboración de este artículo.

Contribución del autor

Conceptualización, escritura y validación a cargo de Soriuska J. Mayora Hernández

REFERENCIAS

1. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, Cunningham-Rundles C, Franco JL, Holland SM. Human Inborn Errors of Immunity: 2022 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol*. 2022;42(7):1473-1507.
2. Demir DD, Asnaashari K, Rezaei N, Özen A. Management of Inborn Errors of Immunity in the Genomic Era. *Turk Arch Pediatr*. 2022;57(2):132-145.
3. Seminario G, González-Serrano ME, Sánchez Aranda C, Sevciovic Grumach A, Rodrigues Silva Segundo G, Regairaz L, et al. The Latin American Society for Immunodeficiencies Registry. *J Clin Immunol*. 2025; 45(28).
4. Fekrvand S, Esfahani ZH, Yarahmadi M, Saeedi-Boroujeni A, Salehi H, Hakimelahi A, et al. Mortality rate and causes of death in inborn errors of immunity: A systematic review and meta-analysis. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 2025;796:108564.
5. Baloh CH, Chong H. Inborn Errors of Immunity. *Prim Care*. 2023 Jun;50(2):253-268.
6. Pieniawska-Śmiech K, Pasternak G, Lewandowicz-Uszyńska A, Jutel M. Diagnostic Challenges in Patients with Inborn Errors of Immunity with Different Manifestations of Immune Dysregulation. *J Clin Med*. 2022;11(14):4220.
7. Costagliola G, Peroni DG, Consolini R. Beyond Infections: New Warning Signs for Inborn Errors of Immunity in Children. *Front Pediatr*. 2022;10:855445.
8. Wang JF, Dhir A, Hildebrand KJ, Turvey SE, Schellenberg R, Chen LYC, et al. Inborn errors of immunity in adulthood. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2024;20(1):6.
9. Cunningham-Rundles C, Casanova JL, Boisson B. Common variable immunodeficiency: autoimmune cytopenias and advances in molecular diagnosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2024;2024(1):137-142.
10. Cortesi M, Soresina A, Dotta L, Gorio C, Cattalini M, Lougaris V. Pathogenesis of Autoimmune Cytopenias in Inborn Errors of Immunity Revealing Novel Therapeutic Targets. *Front Immunol*.

- 2022;13:846660.
11. Roberti G, Maestrini G, Polito B, Amato L, Parolo E, Casazza G, et al. Inborn Errors of Immunity in Pediatric Hematology and Oncology: Diagnostic Principles for Clinical Practice. *Journal of Clinical Medicine*. 2025; 14(17):6295.
12. Duvall LE, Shipman AR, Shipman KE. Investigative algorithms for disorders affecting plasma proteins with a focus on albumin and the calculated globulin fraction: a narrative review. *J Lab Precis Med*. 2023;8:19.
13. Frias Sartorelli de Toledo Piza C, Aranda CS, Solé D, Jolles S, Condino-Neto A. Calculated globulin can be used as a screening test for antibody deficiency in children and adolescents. *Front Immunol*. 2024;15:1495564.
14. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(2 Suppl 2):S238-47.
15. Panizo Morgado E, Páramo Fernández JA. Interpretación de las pruebas de coagulación. *Pediatr Integral*. 2021; XXV(5): 265.e1–265.e11.
16. Regina J, Doms J, Kampouri E, Gerber C, Manuel O, Bart PA, et al. Immunodeficiencies in Adults: Key Considerations for Diagnosis and Management. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2025;68(1):92.
17. García AH, Crespo FI, Mayora SJ, Martínez WY, Belisario I, Medina C. Role of Micronutrients in the Response to SARS-CoV-2 Infection in Pediatric Patients. *Immuno*. 2024; 4(3):211-225.
18. De Vries E; European Society for Immunodeficiencies (ESID) members. Patient-centred screening for primary immunodeficiency, a multi-stage diagnostic protocol designed for non-immunologists: 2011 update. *Clin Exp Immunol*. 2012;167(1):108-19.
19. Homburger HA, Singh RJ. Assessment of proteins of the immune system: Qualitative and Semi-Quantitative Immunoglobulin Testing. En *Clinical Immunology: Principles and Practice Expert Consult: Online and Print*. Elsevier. 2008. p. 1419-1434.
20. Marsh RA, Orange JS. Antibody deficiency testing for primary immunodeficiency. A practical review for the clinician. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2019; 123(5): 444-453.
21. Oliveira JB, Fleisher TA. Laboratory evaluation of primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(2 Suppl 2):S297-305.
22. Imam K, Huang J, White AA. Isotype deficiencies (IgG subclass and selective IgA, IgM, IgE deficiencies). *Allergy Asthma Proc*. 2024;45(5):317-320.
23. Roganović J, Bellesi G. Inborn Errors of Immunity: New Insights. *Acta Med Acad*. 2024;53(3):293-302.
24. Ballou M. Use of vaccines in the evaluation of presumed immunodeficiency. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2013;111(3):163-6.
25. Valderrama-Penagos JX, Vélez-Tirado N. Errores innatos de la inmunidad: ¿Qué debe saber y cuándo debe sospechar el otorrinolaringólogo? *Acta Otorrinolaringol Cir Cabeza Cuello*. 2022;50(3): 220-231.
26. Schröder-Braunstein J, Kirschfink M. Complement deficiencies and dysregulation: Pathophysiological consequences, modern analysis, and clinical management. *Mol Immunol*. 2019;114:299-311.
27. Brodzki N, Frazer-Abel A, Grumach AS, Kirschfink M, Litzman J, Perez E, et al. European Society for Immunodeficiencies (ESID) and European Reference Network on Rare Primary Immunodeficiency, Autoinflammatory and Autoimmune Diseases (ERN RITA) Complement Guideline: Deficiencies, Diagnosis, and Management. *J Clin Immunol*. 2020;40(4):576-591.
28. Fleisher TA, Madkaikar M, Rosenzweig SD. Application of Flow Cytometry in the Evaluation of Primary Immunodeficiencies. *Indian J Pediatr*. 2016;83(5):444-9.
29. Ma CS, Tangye SG. Flow Cytometric-Based Analysis of Defects in Lymphocyte Differentiation and Function Due to Inborn Errors of Immunity. *Front Immunol*. 2019;10:2108.
30. Ebadi M, Aghamohammadi A, Rezaei N. Primary immunodeficiencies: a decade of shifting paradigms, the current status and the emergence of cutting-edge therapies and diagnostics. *Expert Rev Clin Immunol*. 2015;11(1):117-39.
31. Walter JE, Ayala IA, Milojevic D. Autoimmunity as a continuum in primary immunodeficiency. *Curr Opin Pediatr*. 2019;31(6):851-862.
32. Kennedy-Batalla R, Acevedo D, Luo Y, Esteve-Solé A, Vlagea A, Correa-Rocha R, et al. Treg in inborn errors of immunity: gaps, knowns and future perspectives. *Front Immunol*. 2024;14:1278759.
33. Schatorjé EJ, Gemen EF, Driessen GJ, Leuvenink J, van Hout RW, de Vries E. Paediatric reference values for the peripheral T cell compartment. *Scand J Immunol*. 2012;75(4):436-44.
34. Gratama, JW. Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry; Approved Guideline—Second Edition. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.
35. Klangkalya N, Fleisher TA, Rosenzweig SD. Diagnostic tests for primary immunodeficiency disorders: Classic and genetic testing. *Allergy Asthma Proc*. 2024;45(5):355-363.

36. Locke BA, Dasu T, Verbsky JW. Laboratory diagnosis of primary immunodeficiencies. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2014;46(2):154-68.
37. Kim J, Phan MT, Kweon S, Yu H, Park J, Kim KH, et al. A Flow Cytometry-Based Whole Blood Natural Killer Cell Cytotoxicity Assay Using Overnight Cytokine Activation. *Front Immunol*. 2020;11:1851.
38. Grumach AS, Goudouris ES. Inborn Errors of Immunity: how to diagnose them? *J Pediatr (Rio J)*. 2021;97 Suppl 1(Suppl 1):S84-S90.
39. Bitzinger DI, Schlachetzki F, Lindner R, Trabold B, Dittmar MS. Flow-cytometric measurement of respiratory burst in rat polymorphonuclear granulocytes: Comparison of four cell preparation procedures, and concentration-response evaluation of soluble stimulants. *Cytometry A*. 2008;73(7):643-50.
40. Elst J, Mertens C, Van Houdt M, van der Poorten MM, Van Gasse AL, Toscano A, et al. Flow Cytometry-Assisted Analyses of Individual Human Basophils, Mast Cells and T Cells in the Diagnosis of Immediate Drug Hypersensitivity: A Review. *Allergy*. 2025;80(5):1242-1255.
41. Perazzio SF, Palmeira P, Moraes-Vasconcelos D, Rangel-Santos A, de Oliveira JB, Andrade LEC, et al. A Critical Review on the Standardization and Quality Assessment of Nonfunctional Laboratory Tests Frequently Used to Identify Inborn Errors of Immunity. *Front Immunol*. 2021;12:721289.
42. Peng X, Kaviany S. Approach to Diagnosing Inborn Errors of Immunity. *Rheum Dis Clin North Am*. 2023;49(4):731-739.
43. Gallo V, Dotta L, Giardino G, Cirillo E, Lougaris V, D'Assante R, et al. Diagnostics of Primary Immunodeficiencies through Next-Generation Sequencing. *Front Immunol*. 2016;7:466.
44. Mauracher AA, Henrickson SE. Leveraging Systems Immunology to Optimize Diagnosis and Treatment of Inborn Errors of Immunity. *Front Syst Biol*. 2022;2:910243.
45. Von Hardenberg S, Klefenz I, Steinemann D, Di Donato N, Baumann U, Auber B, et al. Current genetic diagnostics in inborn errors of immunity. *Front Pediatr*. 2024;12:1279112.
46. IJspeert H, Edwards ESJ, O'Hehir RE, Dalm VASH, van Zelm MC. Update on inborn errors of immunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2025;155(3):740-751.
47. Kobrynski LJ. Newborn Screening in the Diagnosis of Primary Immunodeficiency. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2022;63(1):9-21.
48. Quinn 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*. 2020;68(1):48-53.
49. Dasouki M, Jabr A, AlDakheel G, Elbadaoui F, Alazami AM, Al-Saud B, et al. TREC and KREC profiling as a representative of thymus and bone marrow output in patients with various inborn errors of immunity. *Clin Exp Immunol*. 2020;202(1):60-71.
50. Liu Q, Dai X, Wei S. BCGitis and BCGosis: Clinical Spectrum, Immunological Mechanisms, and Risk Management. *Vaccines (Basel)*. 2025;13(12):1179.
51. Chinn IK, Orange JS. A 2020 update on the use of genetic testing for patients with primary immunodeficiency. *Expert Rev Clin Immunol*. 2020;16(9):897-909.
52. Chen Y, Li D, Yin J, Xiong J, Xu M, Qi Q, et al. Diagnostic yield of next generation sequencing in suspect primary immunodeficiencies diseases: a systematic review and meta analysis. *Clin Exp Med*. 2024;24 (131).
53. Platt CD, Zaman F, Bainter W, Stafstrom K, Almutairi A, Reigle M, et al. Efficacy and economics of targeted panel versus whole-exome sequencing in 878 patients with suspected primary immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2021;147(2):723-726.