

## Asociación entre alteraciones del perfil linfoide ampliado por citometría de flujo y errores innatos de la inmunidad

### Association between alterations in the expanded lymphoid profile by flow cytometry and inborn errors of immunity

María Luz Martín,<sup>1</sup> Maximiliano Ezequiel Frías,<sup>1</sup> Laura Del Pino,<sup>2</sup> Débora Velázquez,<sup>2</sup> Víctor Skrie,<sup>2</sup> Beatriz María Inés Pereira,<sup>1</sup> Julio César Orellana<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Inmunología, Servicio de Laboratorio Central y Especializado.

<sup>2</sup>División de Alergia e Inmunología. Hospital de Niños de la Santísima Trinidad de Córdoba, Argentina.

#### Correspondencia

María Luz Martín  
luzmartin@hotmail.com

**Recibido:** 27-01-2024

**Aprobado:** 24-04-2024

**Publicado:** 30-09-2024

**DOI:** <https://doi.org/10.29262/ram.v71i3.1381>

#### ORCID

María Luz Martín

0009-0007-0213-1492

Maximiliano Ezequiel Frías

0009-0000-0824-338X

Laura Del Pino

0009-0003-9018-9467

Débora Velázquez

0009-0000-7468-7413

Víctor Skrie

0000-0001-9823-4953

Beatriz María Inés Pereira

0009-0008-1229-8584

Julio César Orellana

0000-0001-9807-7273

#### Resumen

**Objetivo:** Evaluar la asociación entre el perfil linfoide ampliado y los errores innatos de la inmunidad mediante citometría de flujo.

**Métodos:** Estudio observacional y transversal, de casos y controles, llevado a cabo en pacientes con diagnóstico o sospecha clínica de errores innatos de la inmunidad, atendidos en el Hospital de Niños de la Santísima Trinidad de Córdoba, Argentina, de agosto de 2021 a noviembre de 2022. Se recolectaron los datos clínicos y se obtuvieron muestras de sangre periférica para el análisis por citometría de flujo, mediante el tubo PIDOT, para identificar subpoblaciones de linfocitos alteradas. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba exacta de Fisher, razón de momios y modelo de regresión logística binaria.

**Resultados:** Se analizaron 40 casos y 20 controles. Las subpoblaciones de linfocitos más frecuentemente alteradas fueron: CD4+ n (63%), Mem c/s (60%) y Mem s/s (55%). Se encontró asociación estadísticamente significativa entre varias subpoblaciones de linfocitos y el estado de salud-enfermedad. La regresión logística binaria reportó Mem s/s y CD4+n como las subpoblaciones de linfocitos alteradas con mayor probabilidad de padecer errores innatos de la inmunidad.

**Conclusión:** Este estudio contribuye a mejorar la comprensión de los errores innatos de la inmunidad, y demuestra una sólida asociación con los perfiles de subpoblaciones de linfocitos alteradas. Los Mem s/s y CD4+n emergen como biomarcadores relevantes para su diagnóstico. La heterogeneidad en diferentes enfermedades y en la citometría de flujo subraya la importancia de evaluar a cada paciente individualmente, para mejorar el diagnóstico y tratamiento.

**Palabras Clave:** Errores innatos de la inmunidad; Citometría de flujo; Subpoblaciones de linfocitos; marcadores diagnósticos.

#### Abstract

**Objective:** To evaluate the association between the expanded lymphoid profile and inborn errors of immunity using flow cytometry.

**Methods:** Observational and cross-sectional, case-control study, carried out in patients with a diagnosis or clinical suspicion of inborn errors of immunity, treated at the Santísima Trinidad Children's Hospital in Córdoba, Argentina, from August 2021 to November 2022. Clinical data were collected, and peripheral blood samples were obtained for flow cytometry analysis, using the PIDOT tube, to identify lymphocyte subpopulations. For statistical analysis, Fisher's exact test, odds ratio and binary logistic regression model were used.

**Results:** 40 cases and 20 controls were analyzed. The most frequently altered lymphocyte subpopulations were: CD4+ n (63%), Mem c/s (60%) and Mem s/s (55%). A statistically significant association was found between several lymphocyte subpopulations and health-disease status. Binary logistic regression reported Mem s/s and CD4+n as altered lymphocyte subpopulations with a greater probability to have inborn errors of immunity.

**Conclusion:** This study contributes to improving the understanding of inborn errors of immunity and demonstrates a strong association with altered lymphocyte subpopulation profiles. Mem s/s and CD4+n emerge as relevant biomarkers for diagnosis. Heterogeneity in different diseases and in flow cytometry underlines the importance of evaluating each patient individually, to improve diagnosis and treatment.

**Keywords:** Inborn errors of immunity; Flow cytometry; Lymphocyte subpopulations; Diagnostic markers.

## ANTECEDENTES

Los errores innatos de la inmunidad son alteraciones hereditarias que afectan el sistema inmune, anteriormente consideradas raras, y hoy día pueden identificarse de forma temprana, debido a los avances en los métodos de diagnóstico, por ejemplo: *Next Generation Sequencing* (NGS) y citometría de flujo.<sup>1,2,3,4</sup> Hasta el momento existen 485 defectos genéticos identificados, *International Union of Immunological Societies* (IUIS) clasifica los errores innatos de la inmunidad en 10 categorías, según el defecto molecular.<sup>5,6</sup> Se caracterizan por infecciones recurrentes y persistentes, autoinmunidad, autoinflamación, alergias y elevada incidencia de neoplasias.<sup>1,3,7</sup>

El diagnóstico presuntivo o definitivo se establece según el fenotipo clínico y los hallazgos bioquímicos, y requiere más que estudios básicos de laboratorio.<sup>8</sup> La citometría de flujo es un nexo entre la evaluación inmunológica convencional y la secuenciación del ADN, ofrece resultados rápidos y precisos basados en el análisis de células linfoides individuales para el diagnóstico, clasificación y pronóstico de los pacientes con errores innatos de la inmunidad.<sup>3,7,9,10</sup>

La citometría de flujo detecta alteraciones en la producción y maduración de subpoblaciones linfocitarias relacionadas con algún defecto genético, incluso permite identificar si los signos y síntomas se asocian con defectos en la producción de linfocitos T, B, o células NK, o de alguna subpoblación (linfocitos T CD8+) o estadio madurativo (linfocito B *naïve*).<sup>1</sup> El tubo PIDOT (*Primary Immunodeficiency Orientation Tube*), diseñado por el consorcio EuroFlow, permite la detección eficiente de alteraciones en las subpoblaciones de linfocitos asociadas con defectos genéticos en más del 70% de los errores innatos de la inmunidad.<sup>10</sup>

El objetivo de este estudio fue: evaluar la asociación entre el perfil linfoide ampliado y los errores innatos de la inmunidad mediante citometría de flujo.

## MÉTODOS

Estudio transversal, observacional, de casos y controles, llevado a cabo en pacientes con diagnóstico o sospecha clínica de errores innatos de la inmunidad, evaluados entre agosto de 2021 y noviembre de 2022, en el Hospital de Niños de la Santísima Trinidad de Córdoba, Argentina.

## Grupos de estudio

### Casos

*Criterios de inclusión:* pacientes de ambos géneros, de 1 mes de vida a 70 años, con diagnóstico o sospecha de errores innatos de la inmunidad en los últimos 20 años, según los criterios de *European Society for Immunodeficiencies* (ESID) e IUIS; pacientes pediátricos y mayores de 7 a 18 años, cuyos cuidadores aceptaron firmar el consentimiento informado, al igual que pacientes adultos. *Criterios de exclusión:* sujetos que al momento del estudio padecían algún proceso infeccioso, y que hubieran padecido SARS-CoV-2 en los 3 meses previos a la obtención de la muestra.

### Control

*Criterios de inclusión:* pacientes de ambos géneros, de 1 mes de vida a 18 años, que ingresaron para cirugías menores programadas; pacientes cuyos cuidadores aceptaron firmar el consentimiento informado; personal de salud sano, interesados en participar en el estudio y que aceptaron firmar el consentimiento informado. *Criterios de exclusión:* sujetos con antecedente de errores innatos de la inmunidad u otras enfermedades que pudieran afectar al sistema inmunológico; en tratamiento con inmunosupresores en los últimos 12 meses; pacientes con valores hematológicos alterados para la edad y género; y quienes hubieran padecido SARS-CoV-2 en los 3 meses previos a la obtención de la muestra.

El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética del Niño y del Adulto y se llevó a cabo siguiendo los principios de la Declaración de Helsinki.

Se recopilaron los datos demográficos y clínicos generales. Se recolectaron muestras de sangre periférica de todos los individuos, obtenidas por punción venosa o capilar en un tubo EDTAK<sub>2</sub>, almacenadas a 4°C hasta su procesamiento dentro de las 36 h.

Se utilizó la técnica de citometría de flujo basada en EuroFlow para evaluar el perfil linfoide ampliado de los pacientes, mediante un citómetro de Flujo FACSCanto II (BD Biosciences, San José, CA, USA). La configuración y calibración del instrumento, y la preparación de las muestras se efectuaron según los procedimientos

operativos de referencia de la EuroFlow.<sup>10</sup> Se utilizó el Panel de anticuerpos propuesto por este consorcio: **CD27** BV421, **CD45RA** BV510, **CD8** FITC/ **IgD** FITC, **CD16** PE/ **CD56** PE, **CD4** PerCPCy5.5/**IgM** PerCPCy5.5, **CD19** PECy7/ **TCR  $\gamma\delta$**  PECy7, **CD3** APC y **CD45** APCH7. Los valores absolutos fueron calculados por estrategia de doble plataforma. La identificación de las subpoblaciones de linfocitos se describió con base en lo expuesto en el **Cuadro 1**.

## Análisis de los datos y estadística

Para el análisis de los datos se utilizaron los programas: *Infinicyt* (versión 1.7); *InfoStat* versión libre y *SPSS statistical software* (SPSS, Chicago, IL, USA).

**Cuadro 1.** Fenotipo de las subpoblaciones de linfocitos identificadas mediante PIDOT

Subpoblación	Fenotipo
<b>LiB</b>	FSC <sup>int</sup> /SSC <sup>int</sup> /CD45 <sup>hi</sup> /CD16+CD56-/CD3-/CD19+
<b>PreCG</b>	CD27-/sIgM+/sIgD++
<b>Mem s/s</b>	CD27+/sIgM++/sIgD+
<b>Mem c/s</b>	CD27+/sIgM-/sIgD-
<b>LiT CD3+</b>	FSC <sup>int</sup> /SSC <sup>int</sup> /CD45 <sup>hi</sup> /CD16+CD56-/CD3+/CD19-
<b>LiT CD4+</b>	CD4+/CD8-/TCR $\gamma/\delta$ -
<b>CD4+n</b>	CD27+/CD45RA+
<b>CD4+ MC</b>	CD27+/CD45RA-
<b>CD4+ ME</b>	CD27-/CD45RA-
<b>CD4+ 45RA+</b>	CD27-/CD45RA+
<b>LiT CD8+</b>	CD4-/CD8+/TCR $\gamma/\delta$ -
<b>CD8+n</b>	CD27+/CD45RA+
<b>CD8+ MC</b>	CD27+/CD45RA-
<b>CD8+ ME</b>	CD27-/CD45RA-
<b>CD8+ 45RA+</b>	CD27-/CD45RA+
<b>LiT DN</b>	CD4-/CD8-/TCR $\gamma/\delta$ -
<b>LiT <math>\gamma/\delta</math>+</b>	CD4-/CD8-/TCR $\gamma/\delta$ +
<b>NK</b>	FSC <sup>int</sup> /SSC <sup>int</sup> /CD45 <sup>hi</sup> /CD16+CD56+/CD3-/CD19-

LiB: linfocitos B; PreCG: linfocitos B pre-centro germinal; Mem s/s: linfocitos B de memoria sin switched de isotipo; Mem c/s: linfocitos B de memoria con switched de isotipo; LiT CD3+: linfocitos T CD3+; LiT CD4+: linfocitos T CD4+; CD4+ n: linfocitos T CD4+ naïve; CD4+ MC: linfocitos T CD4+ memoria central; CD4+ ME: linfocitos T CD4+ memoria efectora; CD4+ 45RA+: linfocitos T CD4+ memoria efectora terminalmente diferenciados 45RA+; LiT CD8+: linfocitos T CD8+; CD8+ n: linfocitos T CD8+ naïve; CD8+ MC: linfocitos T CD8+ memoria central; CD8+ ME: linfocitos T CD8+ memoria efectora; CD8+ 45RA+: linfocitos T CD8+ memoria efectora terminalmente diferenciados 45RA+; LiT DN: linfocitos T CD4-/CD8-; LiT  $\gamma/\delta$ +: linfocitos T  $\gamma/\delta$ +; NK: células Natural Killer.

Se llevó a cabo el análisis de correspondencia para explorar las posibles asociaciones de los datos. Se utilizó la prueba exacta de Fisher para cada una de las variables categóricas: LiB, PreCG, Mem s/s, Mem c/s, LiT CD3+, LiT CD4+, LiT CD8+, LiT DN, LiT  $\gamma/\delta$  +, CD4+n, CD4+ MC, CD4+ ME, CD4+ 45RA+, CD8+n, CD8+ MC, CD8+ ME, CD8+ 45RA+ y NK. Se consideró estadísticamente significativo el valor de  $p < 0.05$ .

El riesgo de padecer errores innatos de la inmunidad con afectación del sistema linfoide se determinó mediante la razón de probabilidades, *Odds Ratio* (OR), con intervalos de confianza del 95%. Se analizó la asociación entre errores innatos de la inmunidad y las subpoblaciones de linfocitos con el modelo de regresión logística binaria, mediante la selección de variables según los criterios estadísticos ( $OR > 1$ ), considerando modelos más pequeños con hasta 2 variables para evitar el sobreajuste.

## RESULTADOS

Se registraron 20 pacientes en el grupo control y 40 en el grupo de casos (**Cuadro 2**). Dentro de estos últimos, 29 eran caucásicos y 11 restantes hispanoamericanos; 3 tenían consanguinidad y 7 contaban con antecedente familiar de errores innatos de la inmunidad.

### Cuadro 3

El **Cuadro 4** expone las características clínicas de los pacientes del estudio: el 50% pertenecía al grupo III (IUIS), 25% al grupo II, 18% al I y 8% al IV. El 38% de los pacientes tenía inmunodeficiencia común variable (IDCV), siendo el error innato de la inmunidad más frecuente. El 45% de los casos tuvo diagnóstico definitivo, el 43% diagnóstico probable y el 12% diagnóstico posible.

Las subpoblaciones de linfocitos con mayor frecuencia alteradas fueron: CD4+n en un 63% de los pacientes, Mem c/s en 60% y Mem s/s en 55% (**Cuadro 5**). En el análisis de correspondencia se identificaron 2 grupos con potencial asociación: controles con parámetros normales y casos con parámetros alterados (**Figura 1**). Se encontró asociación estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ), mediante la prueba exacta de Fisher, entre diferentes variables y el estado de salud-enfermedad de los pacientes, no así entre controles y casos en LiT  $\gamma/\delta$  ( $p = 0.186$ ), CD4+ 45RA+ ( $p = 0.291$ ) y NK ( $p = 0.081$ ). **Cuadro 6**

**Cuadro 2.** Poblaciones estudiadas

Grupo	N° de estudiados	Media de edad (años)	Rango e tario (años)	Varones (años)	Mujeres (años)	Relación M /F	Test de correlación de Spearman
Controles	20	16.1	3.0 - 55.1	13 (65)	7 (35)	1.9	p - valor: 0.337
Casos	40	19.2	0.1 - 68.5	30 (75)	10 (25)	3.0	

Con el objetivo de evaluar la heterogeneidad de las poblaciones estudiadas se realizó la prueba de correlación de Spearman, obteniendo un p-v: 0.337, lo que indica diferencias estadísticamente significativas entre los casos y controles ( $p > 0.05$ ).

Mediante el valor de OR para cada variable se cuantificó la fuerza de las asociaciones entre las variables y padecer vs no padecer errores innatos de la inmunidad: Mem s/s OR= 23.22 (IC95%: 3.95 – 136.47), LiT CD8+ OR = 15.55 (IC95%: 2.65 – 91.36), CD4+n OR = 31.67 (IC95%: 5.36 – 187.16), CD4+ MC OR= 15.55 (IC95%: 2.65 – 91.36), CD4+ ME OR = 8.14 (IC95%: 1.36 – 48.72), CD8+n OR = 15.55 (IC95%: 2.65 – 91.36) y CD8+ ME OR = 11.4 (IC95%: 1.93 – 67.38).

Las subpoblaciones de linfocitos asociadas con mayor probabilidad de errores innatos de la inmunidad, mediante la regresión logística binaria, fueron: Mem s/s y CD4+n OR = 15.517 (IC95%: 1.908 - 160.800) y OR = 24.942. (IC95%: 2.800 – 222.163), respectivamente.

El **Cuadro 7** muestra la disminución o aumento de los valores de cada subpoblación de linfocitos de cada paciente.

## DISCUSIÓN

La cohorte de pacientes estudiada es heterogénea en manifestaciones clínicas y resultados de laboratorio, en línea con las cohortes de pacientes informadas anteriormente.<sup>11</sup> Los Mem s/s y CD4+ n fueron variables claves, debido a la importancia de evaluarlos *versus* poblaciones linfocitarias convencionales. En contraste, LiT  $\gamma/\delta$ , CD4+ 45RA+ y NK mostraron menos variabilidad en la enfermedad y pueden tener utilidad práctica limitada.

Dentro del **Grupo I** de IUIS (n = 7), los pacientes con deficiencia de DOCK8 (pacientes 8 y 9) y CD40L (pacientes 6 y 16) mostraron alteraciones específicas que coinciden con casos expuestos en la bibliografía. La deficiencia de DOCK8, vinculada con mutaciones que afectan la interacción de linfocitos T-B, provoca disminución de CD4+ n y CD8+n, y aumento de CD4+ ME,

CD8+ ME, CD4+ 45RA+, y CD8+ 45RA+, e indica senescencia prematura.<sup>12,13</sup> En cuanto al compartimento de linfocitos B, se describen valores elevados de Pre-CG y disminuidas de linfocitos B de memoria.<sup>13,14</sup>

La deficiencia de CD40L tiene interacción alterada de linfocitos T-B y reducción de la producción de Mem c/s T-dependientes.<sup>3,10,15</sup> Respecto al paciente 6, tuvo disminución de Mem s/s, Mem c/s, LiT CD4+ y CD4+ MC. Y aunque el paciente 16 reportó múltiples alteraciones en la citometría de flujo, permaneció sin síntomas. La sospecha clínica surgió a los dos meses de vida, debido a los antecedentes familiares de errores innatos de la inmunidad.

En el paciente 17, con diagnóstico de inmunodeficiencia combinada severa (IDCS) y fenotipo leve a los 11 años (mutación en la cadena  $\gamma$  común), además de las manifestaciones clínicas, la evaluación del perfil linfoide ampliado es decisivo para comprender el efecto inmunológico de la mutación. La disminución de ciertos linfocitos indica una alteración más leve o mutaciones hipomórficas.<sup>9,10</sup> Los casos 11 y 12, con probable inmunodeficiencia combinada (IDC), muestran un desequilibrio entre linfocitos T CD4+ y CD8+, lo que coincide con informes previos.<sup>12</sup>

En el **Grupo II**, 4 pacientes con síndrome de delección 22q. 11 tuvieron variabilidad clínico-inmunológica. El recuento de linfocitos T CD3+ tiende a ser bajo, y el paciente 38 fue el más afectado, lo que concuerda con la manifestación clínica más grave desde el nacimiento.<sup>16,17</sup> El caso 32, con mutación en TBX1, expresó un cuadro clínico complejo, destacando la variabilidad en el fenotipo inmunológico, según la mutación. La diversidad fenotípica resalta la influencia crucial de la naturaleza de las mutaciones en la expresión clínica, recalcando la importancia de la citometría de flujo para evaluar integralmente la inmunodeficiencia.<sup>5,6,9</sup>

**Cuadro 3.** Características generales de la población de estudio

Paciente	Género	Edad (años)	Etnia	Consanguinidad	Antecedente familiar de EII	Errores innatos de la inmunidad	Clasificación IUIS	Alteración identificada
P1	F	3.4	Caucásica	-	-	IDCV	III	Pendiente WES
P2	M	26.8	Caucásica	-	-	IDCV	III	No realizado
P3	M	12	Caucásica	-	-	PAD con LIB ausentes	III	Desconocido
P4	F	0.9	Caucásica	-	-	Síndrome de delección 22q.11	II	del22.q.11
P5	M	10.3	Caucásica	-	-	PAD	III	Desconocido
P6	M	5.1	Hispano americana	-	-	Deficiencia de CD40L	I	Ausencia de CD40L
P7	M	4.3	Hispano americana	-	-	Desregulación inmune	IV	Mutación en LRBA
P8	M	7.1	Hispano americana	Si (3 <sup>er</sup> grado)	-	IDC	I	Ausencia de DOCK8
P9	M	3.7	Hispano americana	Si (3 <sup>er</sup> grado)	Si (P8)	IDC	I	Ausencia de DOCK8
P10	F	10.3	Caucásica	-	Si (Déficit de IgA)	Desregulación inmune	IV	Pendiente WES
P11	M	6.5	Hispano americana	Si (4 <sup>to</sup> grado)	-	IDC	I	Pendiente WES
P12	M	39.4	Caucásica	-	-	IDC	I	No realizado
P13	M	8.3	Hispano americana	-	-	IDC asociada a Síndromes	II	Mutación en POLE
P14	F	68.5	Caucásica	-	-	IDCV	III	No realizado
P15	M	19.8	Caucásica	-	Si	Síndrome de delección 22q.11	II	del22.q.11
P16	M	15.5	Caucásica	-	Si (hermano y tío con Síndrome de Hiper IgM)	Deficiencia de CD40L	I	Ausencia de CD40L
P17	M	11.5	Caucásica	-	Si (hermano fallecido por EII)	IDCS con fenotipo leve	I	Mutación en cadena y común
P18	M	47.8	Caucásica	-	-	IDCV	III	No realizado
P19	M	50.8	Caucásica	-	-	IDCV	III	No realizado
P20	M	35.7	Caucásica	-	-	IDCV	III	No realizado
P21	F	49.8	Caucásica	-	-	IDCV	III	No realizado
P22	M	54.2	Caucásica	-	-	IDCV	III	No realizado
P23	M	67	Caucásica	-	-	IDCV	III	No realizado

P24	F	16.3	Caucásica	-	-	-	IDCV	III	No realizado
P25	M	12.8	Caucásica	-	-	-	PAD	III	No realizado
P26	F	26.1	Caucásica	-	-	-	IDCV	III	No realizado
P27	M	8.8	Caucásica	-	-	-	A-LX	III	Ausencia de BTK
P28	M	10.7	Caucásica	-	-	-	IDCV	III	No realizado
P29	M	0.9	Hispano- americana	-	-	-	WAS	II	Ausencia de WASP
P30	M	7.1	Caucásica	-	-	-	Síndrome de delección 22q.11	II	del22.q.11
P31	M	0.2	Caucásica	-	-	Sí (3 tíos maternos fallecidos por WAS)	WAS	II	Ausencia de WASP
P32	F	0.2	Hispano- americana	-	-	-	IDC asociada a Síndromes	II	Mutación en TBX1
P33	F	31.3	Caucásica	-	-	Sí (Hermano)	IDCV	III	No realizado
P34	M	49.8	Caucásica	-	-	-	IDCV	III	No realizado
P35	F	9.6	Hispa- no-ameri- cana	-	-	-	Síndrome de Hiper IgE	II	Pendiente WES
P36	M	7.6	Caucásica	-	-	-	PAD con LiB ausentes	III	Mutación en PIK3CD
P37	M	0.2	Hispa- no-ameri- cana	-	-	-	HLH	IV	Pendiente WES
P38	M	0.1	Caucásica	-	-	-	Síndrome de delección 22q.11	II	Pendiente WES
P39	M	16.3	Caucásica	-	-	-	IDCV	III	No realizado
P40	M	11.8	Hispano americana	-	-	-	Síndrome de Hiper IgE	II	Pendiente WES

F: femenino; M: masculino; IDCV: inmunodeficiencia común variable; WES: secuenciación del exoma completo; PAD: deficiencia predominantemente de anticuerpos; IDC: inmunodeficiencia combinada; IDCS: inmunodeficiencia combinada severa; A-LX: agammaglobulinemia ligada al X; WAS: síndrome de Wiskott-Aldrich; HLH: linfocitosis hemofagocítica.

Cuadro 4. Características clínicas y tratamiento

Paciente	Manifestaciones clínicas	Enfermedades asociadas	Infecciones recurrentes	Autoinmunidad	Autoinflamación	Gammaglobulina	ATB profilaxis
P1	Neumonías recurrentes, citopenias autoinmunes	DA, visceromegalias, talla baja, fallo de medro, linfoproliferación no maligna	Respiratorias, cutáneas, gastrointestinales	Citopenias, Coombs ++	-	Endovenosa	TMS
P2	Neumonías recurrentes	Obesidad, diarrea, hepatopatía, bicitopenia, visceromegalias	Respiratorias	-	-	Endovenosa	-
P3	Neumonías recurrentes	Bronquiectasias	Respiratorias	-	-	Endovenosa	TMS
P4	Cardiopatía congénita compleja, hipocalcemia, fenotipo facial	Desnutrición severa, trastorno de deglución, trastorno neurológico	Respiratorias, sistémicas	-	-	A requerimiento	TMS
P5	Infecciones respiratorias, oculares	Talla baja, asma severo, RA	Respiratorias, oculares	-	EII	Subcutánea	-
P6	Síndrome febril prolongado, neumonía, úlceras gingivales, neutropenia	Diarrea crónica	-	-	-	Subcutánea	-
P7	Citopenias autoinmunes	Talla baja, tubulopatía	-	AHAI, Coombs +++++, trombocitopenia severa	EII	Endovenosa	-
P8*	DA, neumonías recurrentes, otitis supuradas	Asma leve	Respiratorias	-	-	Endovenosa	-
P9*	DA severa	Alergia alimentaria	Cutáneas	-	-	-	-
P10	Otitis media recurrente	Asma persistente moderada, DA, hipoacusia	Respiratorias	Tiroiditis de Hashimoto	Errores innatos de la inmunidad	-	-
P11	Sepsis, encefalitis viral, AHAI	Retraso cognitivo, microcefalia por CMV congénito, talla baja, asma leve persistente	-	AHAI, Coombs +++	-	Endovenosa	-
P12	Infecciones recurrentes	Diarrea crónica	Urinarias	SjJ	-	-	-
P13	Neumonía con derrame, shock séptico	Retraso cognitivo	-	-	-	Endovenosa	-
P14	Infecciones recurrentes	Hipotiroidismo	Respiratorias	EC	-	Endovenosa	-
P15	Cardiopatía congénita compleja, hipocalcemia	RA, eccema, broncoespasmos, obesidad	Respiratorias, muguet oral	-	-	A requerimiento	TMS
P16	Asintomático	Neutropenia	-	-	-	Endovenosa	TMS
P17*	Neumonías recurrentes	Asma, verrugas	Respiratorias, abscesos perianales, onicomiosis	-	-	-	TMS
P18	Infecciones recurrentes	Anemia perniciosa	Respiratorias	Gastritis atrófica	-	Endovenosa	TMS
P19	Infecciones recurrentes	Autoinmunidad intestinal	-	Malabsorción intestinal autoinmune	-	Endovenosa	TMS
P20	Infecciones recurrentes	-	Respiratorias	Bicitopenia autoinmune	-	Endovenosa	TMS
P21	Neumonías recurrentes	AR	Respiratorias	AR	-	Endovenosa	TMS
P22	Infecciones respiratorias altas, diarrea crónica	-	Respiratorias	-	-	-	-



<b>P23</b>	Infecciones recurrentes	Hipertensión arterial, dislipemia, trombosis	Respiratorias	-	-	-	-	-
<b>P24</b>	Infecciones recurrentes	-	Respiratorias	-	-	-	Endovenosa	TMS
<b>P25</b>	Neumonías recurrentes	EPOC	Respiratorias	-	-	-	Endovenosa	-
<b>P26</b>	Infecciones recurrentes	-	Respiratorias	-	-	-	Endovenosa	TMS
<b>P27</b>	Neumonía con derrame	Varicela, enteroparasitosis, <i>Molusco contagiosum</i> , RA, eccema, asma	Respiratorias, aftas, urinarias	-	-	-	Subcutánea	-
<b>P28</b>	Infecciones recurrentes	Sepsis neonatal, meningitis, asma bronquial severo	Respiratorias	-	-	-	Endovenosa	-
<b>P29*</b>	Neumonías y gastroenteritis recurrentes, eccema leve, plaquetopenia	-	Respiratorias, gastrointestinales	-	-	-	Endovenosa	-
<b>P30</b>	Cardiopatía, retraso madurativo	Hipoacusia, sin control de esfínteres, trastorno del habla, DA, asma leve	Respiratorias	-	-	-	-	TMS
<b>P31*</b>	Convulsión afebril compleja, bicitopenia, trastorno del medio interno	Hipoparatiroidismo	Respiratorias, cutáneas, gastrointestinales	-	-	Ac-C1q +	Endovenosa	TMS
<b>P32</b>	Hipoparatiroidismo, alteración del metabolismo fosfórico, eritrodermia, dificultad respiratoria, convulsión	Trastorno en la deglución	-	-	-	-	A requerimiento	TMS
<b>P33</b>	Infecciones recurrentes	-	Respiratorias	-	-	-	-	-
<b>P34</b>	Infecciones recurrentes	Bronquiectasias, angioedemas agudos adquiridos, otomiosis	Respiratorias	-	-	CU	Endovenosa	-
<b>P35</b>	Eccema severo con sobreinfecciones cutáneas	Desnutrición severa	Cutáneas	-	-	-	-	-
<b>P36*</b>	Neumonías recurrentes	Talla baja, macrocefalia, hepatoesplenomegalia	Respiratorias	-	-	Poliposis colónica	Subcutánea	TMS
<b>P37</b>	Síndrome hemofagocítico	Trastorno de la deglución, retraso madurativo	-	-	-	-	Endovenosa	TMS
<b>P38</b>	Cardiopatía congénita compleja, hipocalcemia, fenotipo facial	-	Sistémicas	-	-	-	-	TMS
<b>P39</b>	Trombocitopenia, otitis media recurrente	-	Respiratorias	-	-	-	Endovenosa	-
<b>P40</b>	Abscesos recurrentes	RA	Abscesos	-	-	-	-	TMS

ATB: antibiótico; DA: dermatitis atópica; TMS: trimetoprima/sulfametoxazol; RA: rinitis alérgica; EII: enfermedad inflamatoria intestinal; AHAI: anemia hemolítica autoinmune; SSI: Síndrome de Sjögren; EC: enfermedad celíaca; AR: artritis reumatoidea; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; CU: colitis ulcerosa. \*Pacientes con TCHP

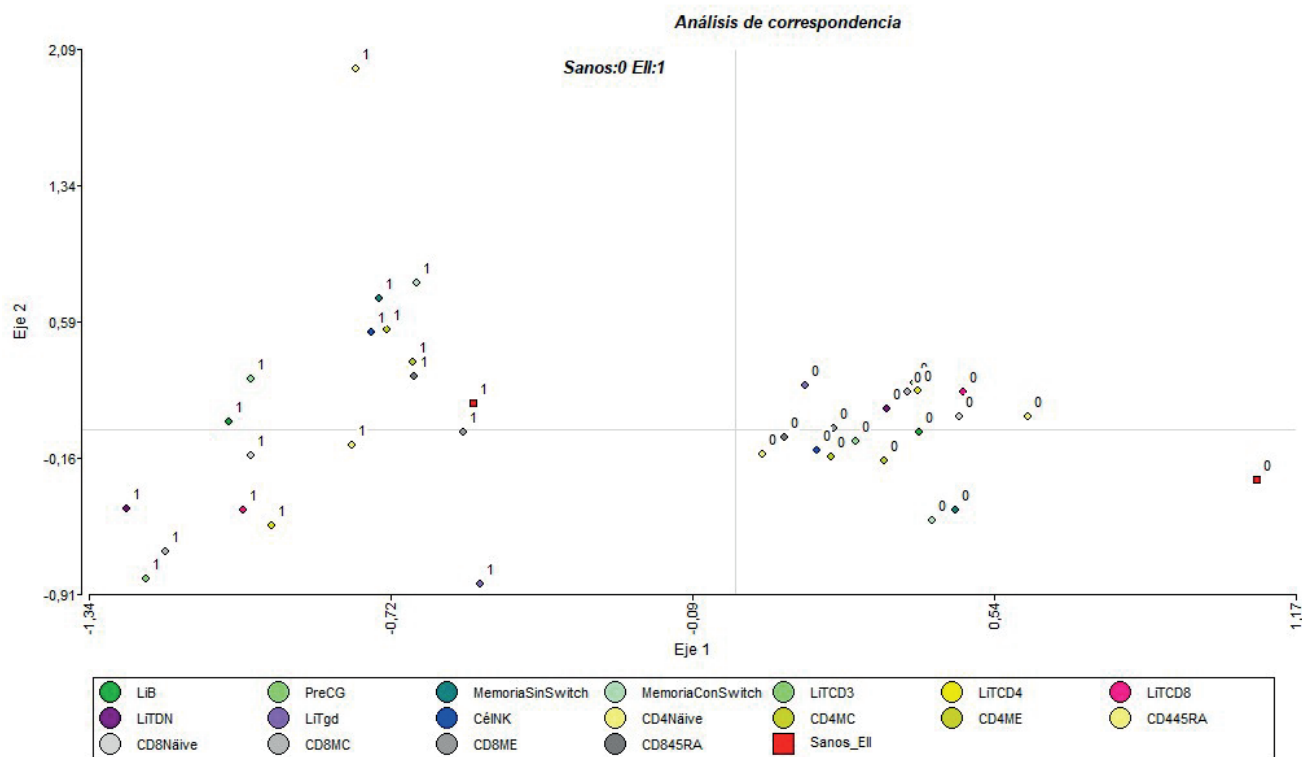




**Cuadro 5.** Frecuencia y porcentaje de alteraciones en las subpoblaciones en el perfil linfoide ampliado

<b>Frecuencia %</b>	<b>LiB</b>		<b>PreCG</b>	<b>Mem s/s</b>	<b>Mem c/s</b>
	16		12	22	24
	40%		30%	55%	60%
	<b>LiT CD3+</b>	<b>LiT CD4+</b>	<b>LiT CD8+</b>	<b>LiT DN</b>	<b>LiT <math>\gamma/\delta</math>+</b>
	14	17	17	18	11
	35%	43%	45%	30%	28%
	<b>CD4+n</b>	<b>CD4+ MC</b>	<b>CD4+ ME</b>	<b>CD4+ 45RA+</b>	
	25	18	12	4	
	63%	45%	30%	10%	
	<b>CD8+n</b>	<b>CD8+MC</b>	<b>CD8+ ME</b>	<b>CD8+ 45RA+</b>	
	18	14	14	8	
	45%	35%	35%	25%	
	<b>NK</b>				
	10				
	25%				

LiB: linfocitos B; PreCG: linfocitos b pre-centro germinal; Mem s/s: linfocitos B de memoria sin switched de isotipo; Mem c/s: linfocitos B de memoria con switched de isotipo; LiT CD3+: linfocitos T CD3+; LiT CD4+: linfocitos T CD4+; LiT CD8+: linfocitos T CD8+; LiT DN: linfocitos T CD4-/CD8-; LiT  $\gamma/\delta$ +: linfocitos T  $\gamma/\delta$ +; CD4+ n: linfocitos T CD4+ *naïve*; CD4+ MC: linfocitos T CD4+ memoria central; CD4+ ME: linfocitos T CD4+ memoria efectora; CD4+ 45RA+: linfocitos T CD4+ memoria efectora terminalmente diferenciados 45RA+; CD8+ n: linfocitos T CD8+ *naïve*; CD8+ MC: linfocitos T CD8+ memoria central; CD8+ ME: linfocitos T CD8+ memoria efectora; CD8+ 45RA+: linfocitos T CD8+ memoria efectora terminalmente diferenciados 45RA+; NK: células *Natural Killer*.

**Figura 1.** Análisis de correspondencia.

LiB: Linfocitos B; PreCG: Linfocitos B pre-centro germinal; MemoriaSinSwitch: linfocitos B de memoria sin switched de isotipo; MemoriaConSwitch: linfocitos B de memoria con switched de isotipo; LiTCD3: Linfocitos T CD3+; LiTCD4: Linfocitos T CD4+; LiTCD8: Linfocitos T CD8+; LiTDN: linfocitos T CD4-/CD8-; LiTgd: linfocitos T  $\gamma/\delta$ +; CéINK: células Natural Killer; CD4Naïve: linfocitos T CD4+ *naïve*; CD4MC: linfocitos T CD4+ memoria central; CD4ME: Linfocitos T CD4+ memoria efectora; CD445RA: Linfocitos T CD4+ Memoria Efectora terminalmente diferenciados 45RA+; CD8Naïve: linfocitos T CD8+ *naïve*; CD8MC: linfocitos T CD8+ memoria central; CD8ME: linfocitos T CD8+ memoria efectora; CD845RA: linfocitos T CD8+ memoria efectora terminalmente diferenciados 45RA+; Sanos\_EII: controles vs casos.

**Cuadro 6.** Resultados de prueba exacta de Fisher

	LIB	PreCG	Mem s/s	Mem c/s
		0.005	<0.001	<0.001
<b>Prueba exacta de Fisher / p-valor</b>	<b>LIT CD3+</b>	<b>LIT CD4+</b>	<b>LIT CD8+</b>	<b>LIT ADN</b>
	0.002	<0.001	0.001	0.005
	<b>CD4+n</b>	<b>CD4 + MC</b>	<b>CD4 + ME</b>	<b>CD4 + 45RA+</b>
	<0.001	0.001	0.043	0.291
	<b>NK</b>			
	0.081			

**Cuadro 7.** Alteraciones de las subpoblaciones linfocitarias en cada paciente

Paciente	Grupo IUIS	EII	LIB	PreCG	Mem s/s	Mem c/s	Lit CD3+	Lit CD4+	Lit CD8+	Lit DN	Lit y/δ+	CD4+ n	CD4+ MC	CD4+ ME	CD4+ 45RA+	CD8+ n	CD8+ MC	CD8+ ME	CD8+ 45RA+	NK	
P6	I	Deficiencia de CD40L			↓	↓	↓	↓	↓												
P16	I	Deficiencia de CD40L			↓	↓						↓	↓			↓	↓	↑	↑	↑	↓
P8	I	Deficiencia de DOCK8			↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓		↑		↓		↑			
P9	I	Deficiencia de DOCK8			↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓		↑	↑						
P11	I	IDLC			↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↑	↑	↓	↓	↓	↑		↑
P12	I	IDLC			↓	↓			↑	↑	↓	↓	↓								↑
P17	I	IDCS con fenotipo leve			↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓			↓	↓	↑			↑
P4	II	Síndrome de delección 22q.11	↓		↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓			↓	↓	↓			↓
P15	II	Síndrome de delección 22q.11			↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓			↓	↓	↓			↑
P30	II	Síndrome de delección 22q.11			↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓			↓	↓	↓			↑
P38	II	Síndrome de delección 22q.11	↓		↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓			↓	↓	↓	↑		↑
P13	II	Deficiencia de POLE	↓		↓	↓	↓	↓	↑	↓	↓	↓	↓			↓	↓	↓			↓





Los pacientes 29 y 31 (con síndrome de Wiskott-Aldrich) expresaron signos de activación en los linfocitos T (disminución de CD4+n, CD8+n y CD8+ MC y aumento de CD8+ ME), hallazgos consistentes con la bibliografía.<sup>16</sup>

El caso 13, con mutación en POLE, reportó inmunodeficiencia combinada, con cifras bajas de linfocitos B y signos de activación de linfocitos T CD8+, hallazgos similares a los encontrados por Frugoni y sus colaboradores.<sup>18</sup> Dos pacientes con síndrome de Hiper-IgE (sin diagnóstico genético) informaron diferencia en la citometría de flujo y según lo expuesto en la bibliografía. La ausencia del diagnóstico molecular puede explicar estas diferencias en el perfil linfoide ampliado comparado con otros estudios, que reportan disminución de linfocitos B Mem, hecho no observado en este estudio.<sup>14</sup>

**El grupo III (IUIS)**, el más prevalente entre las 10 categorías, representó el 50% de los casos con errores innatos de la inmunidad de nuestra cohorte, respaldado por la bibliografía.<sup>5,6</sup> Este grupo es heterogéneo; la evaluación de las subpoblaciones de linfocitos B es crítica para caracterizar pacientes con deficiencia predominante de anticuerpos (PAD).<sup>19</sup> Las alteraciones en las subpoblaciones son conocidas, principalmente en pacientes con inmunodeficiencia común variable (IDCV). En este estudio se diagnosticaron 15 casos con este trastorno, siendo el error innato de la inmunidad sintomático más frecuente, como se describe en todo el mundo.<sup>6,20</sup> La subpoblación de Mem c/s fue la más afectada (n = 13/15), pues se observaron valores bajos, y respaldan el diagnóstico.<sup>3,7,15,17,21,22,23</sup> Nuestros hallazgos resaltan anormalidades en otras subpoblaciones de linfocitos B; 6 pacientes tuvieron disminución de linfocitos B, 4 de PreCG y 11 de Mem s/s. Es importante considerar otras anormalidades de los linfocitos B en el contexto de la inmunodeficiencia común variable, como sugiere la definición de Ameratunga o el consenso internacional de IDCV.<sup>24,25</sup> Al evaluar los linfocitos T se destaca la disminución de CD4+n en el 80% de los pacientes (n = 12/15), similar a lo expuesto por otros investigadores.<sup>23,26,27</sup> Aunque existe un patrón heterogéneo de anormalidades en los linfocitos T del grupo de inmunodeficiencia común variable, resaltan la disminución de LiT CD3+, LiT CD4+, CD4+ MC, CD8+n y el aumento de LiT CD8+ y CD8+ME, alteraciones documentadas en otros ensayos.<sup>19,23,26,27</sup> Resulta interesante la expansión de ciertas poblaciones en los pacientes 1 y 34. P1 evidenciaba aumento

de CD4+MC, CD4+ME y CD4+45RA+, se caracterizó por debutar a temprana edad y manifestar diversos síntomas. El paciente 34 mostró un incremento en los linfocitos T CD8+, CD8+ ME y CD8+45RA+, con infecciones recurrentes y otras complicaciones. Attardi y su grupo sugieren que la expansión de los linfocitos terminalmente diferenciados puede asociarse con un curso clínico más grave, como sucedió en estos dos pacientes.<sup>12</sup> Los casos 23, 26, 28 y 39 expresaron un inmunofenotipo más cercano a inmunodeficiencia combinada: linfocitos T CD3+ y NK disminuidos, proporcionando una pista para el seguimiento más profundo en estos casos.

El paciente 27, con diagnóstico de agammaglobulinemia ligada al cromosoma X, reportó un fenotipo con células *naïve* y marcada disminución en linfocitos B, hallazgo típico en esta enfermedad.<sup>7,9,10,17</sup> El paciente 36, con diagnóstico de síndrome de p110δ activado, debido a la mutación autosómica dominante con ganancia de la función en el gen PIK3CD, se asoció con anormalidades en la diferenciación de células B y T, simulando un fenotipo similar al de inmunodeficiencia común variable.<sup>15,23,28</sup> La citometría de flujo de este paciente reflejó un claro fenotipo de activación-memoria, indicando el papel crucial de la vía PI3Kδ en el desarrollo de linfocitos B y regulación de la maduración de linfocitos T *naïve*.<sup>15,28</sup> Aunque la deficiencia predominante de anticuerpos resulta de la producción defectiva de anticuerpos, los estudios demuestran alteraciones en los linfocitos T y NK, como se observó en los casos 3, 5 y 25.<sup>11</sup>

Respecto al **Grupo IV**, el paciente 7 tenía una mutación autosómica recesiva en LRBA. El análisis de subpoblaciones de linfocitos coincide con la bibliografía. Diversos investigadores describen hallazgos similares en las poblaciones linfoides B.<sup>15,27,29,30</sup> La disminución de Mem s/s y c/s sugiere un desorden de IDCV-like, clínicamente reflejado en el paciente, con manifestación de citopenias autoinmunes severas.<sup>7</sup> El perfil de maduración de los linfocitos T mostró valores elevados de CD4+MC, también detectados por Habibi y sus colaboradores en el 52% de los pacientes con esta deficiencia.<sup>30</sup>

Las limitaciones de este estudio se correlacionan al interpretar los resultados. Obtener un grupo control de pacientes pediátricos sanos es desafiante, debido a la

escasez de una población de referencia, sin afecciones médicas preexistentes, lo que dificulta la evaluación precisa de los resultados y la extrapolación de conclusiones en el contexto pediátrico. Aunque el perfil linfóide ampliado mediante PIDOT es valioso en la detección de errores innatos de la inmunidad, la capacidad para analizar las subpoblaciones de linfocitos T o B es limitada. La tercera limitación se encuentra en la rareza, complejidad y heterogeneidad de los errores innatos de la inmunidad, lo que restringe el tamaño de la muestra para llevar a cabo análisis estadísticos más robustos.

## CONCLUSIÓN

Este estudio aporta a nuestra comprensión de los errores innatos de la inmunidad, el análisis y asociación con la alteración del perfil linfóide ampliado en 40 pacientes. Los hallazgos resaltan la heterogeneidad y complejidad de los errores innatos de la inmunidad, además de la utilidad de la citometría de flujo en el diagnóstico y caracterización.

Los resultados revelan diferencias significativas en el inmunofenotipo de pacientes con errores innatos de la inmunidad comparados con los controles sanos. Entre las variables analizadas, Mem s/s y CD4+n destacan como marcadores relevantes para el diagnóstico de errores innatos de la inmunidad. La heterogeneidad en las manifestaciones clínicas, y en la citometría de flujo, recalcan la importancia de evaluar a cada paciente de forma individual.

Aunque la genética desempeña un papel decisivo en el diagnóstico de errores innatos de la inmunidad, el tubo PIDOT (mediante la citometría de flujo) complementa la evaluación de la repercusión de las alteraciones genéticas en el sistema inmunológico. A pesar de las limitaciones, este estudio subraya la importancia de evaluar integralmente el perfil linfóide ampliado en pacientes con errores innatos de la inmunidad y destaca la utilidad de la citometría de flujo. Se espera que estos hallazgos mejoren el diagnóstico y el tratamiento de los pacientes con errores innatos de la inmunidad para su beneficio.

## Conflicto de interés

Los autores declaran no encontrar conflictos de intereses en el presente estudio.

## Financiamiento

Estudio autofinanciado.

## REFERENCIAS

1. Gonzalez de la Calle V, Pérez-Andrés M, Puig Morón N. Inmunodeficiencias primarias. *Med - Programa Form Médica Contin Acreditado*. 2016; 12 (21): 1191-1200. doi: 10.1016/j.med.2016.10.010
2. Picard C, Gaspar BH, Al-Herz W, et al. International Union of Immunological Societies: 2017 Primary Immunodeficiency Diseases Committee Report on Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol* 2018; 38 (1): 96-128. doi: 10.1007/s10875-017-0464-9
3. Knight V. The utility of flow cytometry for the diagnosis of primary immunodeficiencies. *Int J Lab Hematol* 2019; 41 (S1): 63-72. doi: 10.1111/ijlh.13010
4. Bousfiha A, Jeddane L, Picard C, et al. The 2017 IUIS Phenotypic Classification for Primary Immunodeficiencies. *J Clin Immunol* 2018; 38 (1): 129-143. doi: 10.1007/s10875-017-0465-8
5. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2022 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol* 2022: 1-35. doi: 10.1007/s10875-022-01289-3
6. Bousfiha A, Moundir A, Tangye SG, et al. The 2022 Update of IUIS Phenotypical Classification for Human Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol* 2022; 42 (7): 1508-1520. doi: 10.1007/s10875-022-01352-z
7. Kanegane H, Hoshino A, Okano T, et al. Flow cytometry-based diagnosis of primary immunodeficiency diseases. *Allergol Int* 2018; 67 (1): 43-54. doi: 10.1016/j.alit.2017.06.003
8. Conley ME, Notarangelo LD, Etzioni A. Diagnostic Criteria for Primary Immunodeficiencies. *Clin Immunol* 1999; 93 (3): 190-197. doi:10.1006/clim.1999.4799
9. van Dongen JJM, van der Burg M, Kalina T, et al. EuroFlow-Based Flowcytometric Diagnostic Screening and Classification of Primary Immunodeficiencies of the Lymphoid System. *Front Immunol* 2019; 10. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.01271>
10. van der Burg M, Kalina T, Perez-Andres M, et al. The EuroFlow PID Orientation Tube for Flow Cytometric Diagnostic Screening of Primary Immunodeficiencies of the Lymphoid System. *Front Immunol* 2019. doi: 10.3389/fimmu.2019.00246
11. Edwards ESJ, Bosco JJ, Aui PM, et al. Predominantly Antibody-Deficient Patients with Non-infectious Complica-



- tions Have Reduced Naive B, Treg, Th17, and Tfh17 Cells. *Front Immunol*. 2019; 10. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.02593>
12. Attardi E, Di Cesare S, Amodio D, et al. Phenotypical T Cell Differentiation Analysis: A Diagnostic and Predictive Tool in the Study of Primary Immunodeficiencies. *Front Immunol* 2019; 10. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.02735>
  13. 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. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.02108>
  14. Yaakoubi R, Mekki N, Ben-Mustapha I, et al. Diagnostic challenge in a series of eleven patients with hyper IgE syndromes. *Front Immunol* 2023; 13. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.1057679>
  15. Ahmed A, Lippner E, Khanolkar A. Clinical Aspects of B Cell Immunodeficiencies: The Past, the Present and the Future. *Cells* 2022; 11 (21): 3353. doi: 10.3390/cells11213353
  16. Kalina T, Bakardjieva M, Blom M, et al. EuroFlow Standardized Approach to Diagnostic Immunophenotyping of Severe PID in Newborns and Young Children. *Front Immunol*. 2020; 11. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.00371>
  17. Locke BA, Dasu T, Verbsky JW. Laboratory Diagnosis of Primary Immunodeficiencies. *Clin Rev Allergy Immunol* 2014; 46 (2): 154-168. doi: 10.1007/s12016-014-8412-4
  18. Frugoni F, Dobbs K, Felgentreff K, et al. A novel mutation in the POLE2 gene causing combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 137 (2): 635-638.e1. doi: 10.1016/j.jaci.2015.06.049
  19. Giraldo-Ocampo S, Bonelo A, Zea-Vera AF. B Cell Subsets in Colombian Adults with Predominantly Antibody Deficiencies, Bronchiectasis or Recurrent Pneumonia. *Adv Respir Med* 2022; 90 (4): 254-266. doi: 10.3390/arm90040035
  20. Álvarez-Álvarez JA, Duque AG, Vásquez-Echeverri E, et al. Application of the diagnostic criteria for Common Variable Immunodeficiency in resource-limited settings. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2022; 50 (4): 129-136. doi: 10.15586/aei.v50i4.496
  21. Seidel MG, Kindle G, Gathmann B, et al. The European Society for Immunodeficiencies (ESID) Registry Working Definitions for the Clinical Diagnosis of Inborn Errors of Immunity. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2019; 7 (6): 1763-1770. doi: 10.1016/j.jaip.2019.02.004
  22. Martelius T, Seppänen MRJ, Warnatz K. Editorial: Updates on the pathogenesis of common variable immunodeficiency (CVID). *Front Immunol* 2023; 13. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.1130418>
  23. Fekrvand S, Khanmohammadi S, Abolhassani H, et al. B- and T-Cell Subset Abnormalities in Monogenic Common Variable Immunodeficiency. *Front Immunol* 2022; 13. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.912826>
  24. Ameratunga R, Brewerton M, Slade C, et al. Comparison of Diagnostic Criteria for Common Variable Immunodeficiency Disorder. *Front Immunol* 2014; 5. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2014.00415>
  25. Bonilla FA, Barlan I, Chapel H, et al. International Consensus Document (ICON): Common Variable Immunodeficiency Disorders. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2016; 4 (1): 38-59. doi: 10.1016/j.jaip.2015.07.025
  26. Stuchlý J, Kanderová V, Vlková M, et al. Common Variable Immunodeficiency patients with a phenotypic profile of immunosenescence present with thrombocytopenia. *Sci Rep* 2017; 7 (1): 39710. doi: 10.1038/srep39710
  27. Szczawinska-Poplonyk A, Schwartzmann E, Bukowska-Olech E, et al. The pediatric common variable immunodeficiency – from genetics to therapy: a review. *Eur J Pediatr*. 2022; 181 (4): 1371-1383. doi: 10.1007/s00431-021-04287-6
  28. Jhamnani RD, Nunes-Santos CJ, Bergerson J, Rosenzweig SD. Class-Switch Recombination (CSR)/Hyper-IgM (HIGM) Syndromes and Phosphoinositide 3-Kinase (PI3K) Defects. *Front Immunol* 2018; 9: 2172. doi: 10.3389/fimmu.2018.02172
  29. Cabral-Marques O, Schimke LF, de Oliveira EB, et al. Flow Cytometry Contributions for the Diagnosis and Immunopathological Characterization of Primary Immunodeficiency Diseases With Immune Dysregulation. *Front Immunol* 2019; 10. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.02742>
  30. Habibi S, Zaki-Dizaji M, Rafiemanesh H, et al. Clinical, Immunologic, and Molecular Spectrum of Patients with LPS-Responsive Beige-Like Anchor Protein Deficiency: A Systematic Review. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2019; 7 (7): 2379-2386. e5. doi: 10.1016/j.jaip.2019.04.011