

PREVENCE V PEDIATRII

Novorozenecký screening přináší pokrok v diagnostice závažných vrozených poruch imunity

The expansion of national newborn screening marks an advancement in diagnosing patients with severe inborn errors of immunity

Markéta Bloomfield^{1,5} a Adam Klocperk^{1,5}, Helena Schneiderová², Eva Hlaváčková³, Marek Turnovec⁴, Lukáš Tichý⁵, Zbyněk Čech⁵, Petr Chrastina⁶, Lenka Dvořáková⁶, Karolína Pešková⁶, Renata Formánková⁷, Marcela Vlková³, Petr Bejdák³, Tomáš Kalina⁷, Eva Froňková⁷, Viktor Bílý^{3,8}, Dita Říčná⁸, Hana Grombířiková^{3,8}, Radana Zachová¹, Barbora Obermannová⁹, Petr Sedláček⁷, Jiří Litzman³, Tomáš Freiberger^{3,8}, Anna Šedivá¹

¹Ústav imunologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a FN Motol, Praha

²Pediatrická klinika, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita a FN Brno

³Ústav klinické imunologie a alergologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita a FN u sv. Anny v Brně

⁴Ústav biologie a lékařské genetiky, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a FN Motol, Praha

⁵Centrum molekulární biologie a genetiky, Interní hematologická a onkologická klinika, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita a FN Brno

⁶Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

⁷Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a FN Motol, Praha

⁸Centrum kardiovaskulární a transplantáční chirurgie Brno

⁹Pediatrická klinika, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a FN Motol, Praha

⁵Tito autoři přispěli ke vzniku článku stejnou měrou a sdílí první autorství.

SOUHRN

Bloomfield M a Klocperk A, Schneiderová H, Hlaváčková E, Turnovec M, Tichý L, Čech Z, Chrastina P, Dvořáková L, Pešková K, Formánková R, Vlková M, Bejdák P, Kalina T, Froňková E, Bílý V, Říčná D, Grombířiková H, Zachová R, Obermannová B, Sedláček P, Litzman J, Freiberger T, Šedivá A. Novorozenecký screening přináší pokrok v diagnostice závažných vrozených poruch imunity

Severe combined immunodeficiency (SCID) screening je souhrnný název pro nástroj časně detekce řady závažných vrozených poruch imunity. Současná kvantifikace excizních DNA molekul TREC a KREC umožňuje časně diagnostikovat závažné buněčné i protilátkové vrozené defekty imunity. Do dvouletého pilotního programu screeningu se v letech 2022–2023 v České republice zapojilo > 90 % novorozenců (vyšetřeno bylo 198 675 vzorků). Diagnostikováni byli 2 pacienti se SCID na podkladě CD3 epsilon deficiencie a atypického kompletního DiGeorgova syndromu a dalších 17 pacientů s jinými vrozenými poruchami imunity, z toho 9 s agamaglobulinemií. U dvou pacientů se SCID umožnil screening časnou kauzální terapii, tj. transplantaci hematopoetických buněk / thymu, u non-SCID pacientů vedla časná znalost jejich diagnózy k zavedení adekvátních režimových a profylaktických opatření za účelem snížení jejich následné morbidity. Od 1. ledna 2024 byl screening závažných vrozených poruch imunity spolu se spinální muskulární atrofii integrován do celoplošného novorozeneckého laboratorního screeningu.

Klíčová slova: screening, SCID, těžká kombinovaná imunodeficiencie, agamaglobulinemie, TREC, KREC

SUMMARY

Bloomfield M a Klocperk A, Schneiderová H, Hlaváčková E, Turnovec M, Tichý L, Čech Z, Chrastina P, Dvořáková L, Pešková K, Formánková R, Vlková M, Bejdák P, Kalina T, Froňková E, Bílý V, Říčná D, Grombířiková H, Zachová R, Obermannová B, Sedláček P, Litzman J, Freiberger T, Šedivá A. The expansion of national newborn screening marks an advancement in diagnosing patients with severe inborn errors of immunity

Severe Combined Immunodeficiency (SCID) screening is a collective term for an early detection tool for a range of serious inborn errors of immunity. The quantification of excision DNA molecules TREC and KREC allows for early diagnosis of severe cellular and antibody immune defects. The recently concluded Czech pilot screening program (2022–2023) included over 90% of newborns (with 198,675 samples examined). Two patients with SCID were diagnosed based on CD3 epsilon deficiency and atypical complete DiGeorge syndrome, and another 17 patients were found to have other inborn errors of immunity, including 9 agamaglobulinemia. Screening enabled early causal therapy, i.e., hematopoietic cell/thymus transplantation, for two SCID patients, while early diagnosis in non-SCID patients led to the implementation of appropriate regimen and prophylactic measures to reduce subsequent morbidity. As of January 1, 2024, screening for severe inborn errors of immunity, along with screening for spinal muscular atrophy, becomes integral part of the national laboratory newborn screening program.

Key words: screening, SCID, severe combined immunodeficiency, TREC, KREC

MB, AK a AS byli podpořeni MZ ČR – RVO, FN v Motole 00064203. HG a VB byli podpořeni grantem MŠMT MUNI/A/1098/2022.

Korespondenční adresa:

Markéta Bloomfield, M.D., Ph.D.
Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol
V Úvalu 84
150 06 Praha
marketa.bloomfield@fnmotol.cz

ÚVOD

Těžká kombinovaná imunodeficeience (severe combined immunodeficiency, SCID) spolu s dalšími kombinovanými imunodeficity jsou vzácné život ohrožující formy vrozených poruch imunity charakterizované poruchou vývoje T lymfocytů. Transplantace hematopoetických kmenových buněk / thymu představují kauzální terapie, jejich úspěšnost se však snižuje s věkem pacienta a prodělanými infekcemi,^(1,2) proto je klíčové časné stanovení diagnózy. Předmětem screenin-gového vyšetření je analýza tzv. T receptorových excizních kroužků (T-cell receptor excision circle, TREC) v periferní krvi ze suché kapky krve. TREC jsou malé cirkulární

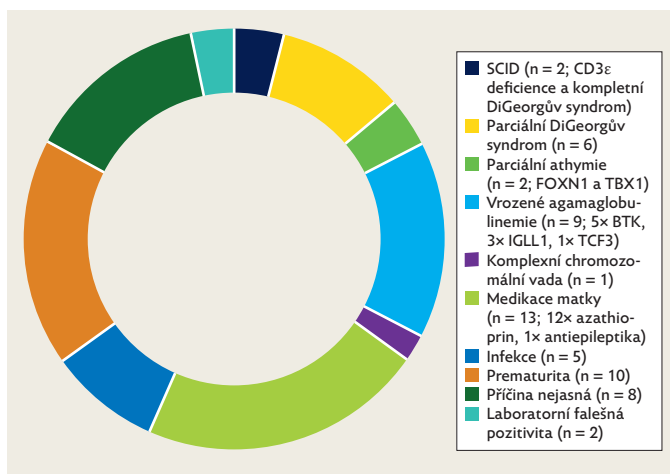
molekuly DNA, které vznikají při vývoji T lymfocytů v thymu, jejich snížení proto avizuje poruchu časného vývoje těchto buněk.^(3,4) Obdobnou metodou kvantifikující tzv. kappa rekombinační excizní kroužky (kappa recombination excision circle, KREC) lze ze stejného materiálu zjistit závažné vývojové poruchy B lymfocytů, tzv. agamaglobulinemie. Mezi vrozené poruchy imunity dnes řadíme více než 450 onemocnění rozdělených do 10 kategorií.⁽⁵⁾ Možnost jejich zachycení vyšetřením TREC a KREC uvádí tabulka 1.

V České republice proběhl v letech 2022–2023 pilotní program screeningu SCID, od ledna 2024 byl SCID screening začleněn do standardního novorozeneckého laboratorního

Tab. 1: Klasifikace vrozených poruch imunity podle IUIS⁽⁵⁾ a možnost jejich detekce pomocí vyšetření TREC a KREC z periferní krve

Kategorie ID	Příklady	Detekovatelné screenin-gem	TREC	KREC
Kombinované buněčné a protilátkové ID	Těžká kombinovaná ID – SCID (common g-chain, JAK3, IL7R α , CD3E, ADA, RAG deficeience, retikulární dysgeneze)	ANO	↓	↓/~
	X-vázaný hyperIgM syndrom	NE	~	~
ID se syndromickými rysy	DiGeorgův syndrom Ataxie teleangiektazie Nijmegen breakage syndrom	DLE TYPU A ZÁVÁŽNOSTI	↓/~	↓/~
	HyperIgE syndrom Comelův–Nethertonův syndrom	NE	~	~
Převážně protilátkové ID	X-vázaná agamaglobulinemie (Brutonova) AR agamaglobulinemie	ANO	~	↓
	Běžná variabilní imunodeficeience (CVID) Selektivní IgA deficeience Tranzientní hypogamaglobulinemie v dětství Deficit IgG podtříd	NE	~	~
Imunodysregulační onemocnění	Familiární hemofagocytující lymfohistiocytózy Autoimunitní lymfoproliferativní syndromy APECED syndrom	NE	~	~
Fagocytární poruchy	Chronická granulomatózní choroba Vrozené neutropenie	NE	~	~
Poruchy vrozené a intrinsické imunity	Vrozená vnímavost k mykobakteriázám Chronická mukokutánní kandidóza	NE	~	~
Autoinflamatorní onemocnění	Interferonopatie I. typu (SAVI, ADA2) HyperIgD syndrom Familiární středomořská horečka	NE, S VÝJIMKAMI	~/↓	~
Komplementové ID	Deficit lektinu vázajícího manózu Deficity klasické cesty (C1, C2) a terminální fáze (C5–C9) Deficity faktorů D, B, I, H, properdinu	NE	~	~
Selhání kostní dřene	Fanconioho anémie	ANO, PŘI POSTI- ŽENÍ LYMFOCYTŮ	↓/~	↓/~
Fenokopie ID	Somatické mutace TNFRSF6, KRAS, NLRP3	NE	~	~

↓ – snížená hodnota; ~ – normální hodnota; AR – autozomálně recesivní, ID – imunodeficeience; TREC – T cell receptor excision circle; KREC – kappa recombination excision circle



Obr. 1: Rozložení jednotlivých příčin abnormálních TREC/KREC u pacientů odeslaných k vyšetření do klinických center (n = 58) k ověření abnormálního screeningového výsledku v rámci pilotního programu SCID screeningu v ČR.

screeningu. Obdobně jako např. ve Švédsku⁽⁶⁾ či Švýcarsku⁽⁷⁾ sestává ze současného vyšetření TREC a KREC, čímž je možné identifikovat jak SCID, tak i vrozené agamaglobulinemie, např. X-vázanou agamaglobulinemii.⁽⁷⁻⁹⁾ Metodou vyšetření je polymerázová řetězová reakce v reálném čase (qPCR), používán je komerční kit (Perkin Elmer).

VÝSLEDKY

V průběhu dvouletého pilotního programu bylo vyšetřeno celkem 198 675 vzorků (128 694 v Praze, 69 981 v Brně), což představuje > 90 % všech novorozenců. Do klinických center bylo odesláno k vyšetření 58 pacientů a identifikováno bylo 19 vrozených poruch imunity, z toho 2 onemocnění SCID a 9 vrozených agamaglobulinemií (obr. 1). V celém souboru byly evidovány 2 případy laboratorní falešné positivity (tj. byl zjištěn abnormální počet KREC, ale následným vyšetřením byl stanoven normální počet B lymfocytů), ostatní positivity byly dány přítomností známých sekundárních faktorů interferujících s vývojem lymfocytů novorozence (prematurita, infekce, maternální medikace). U 8 pacientů zůstává jejich abnormální imunofenotyp bez vysvětlení. Oba pacienti se SCID podstoupili časně kauzální terapie (viz kazuistiky), žádné z dětí s agamaglobulinemií neprodělalo k lednu 2024 závažný infekt. Výsledky naznačily, že by incidence SCID v ČR mohla být mírně vyšší než původně odhadovaných 1 : 100 000, zatímco incidence vrozené agamaglobulinemie by se mohla zvýšit až na 1 : 20 000 (dříve udáváno 1–2 : 100 000).

KAZUISTIKY

SCID – CD3ε deficiencie

Pacient A je t.č. dvouletý chlapec narozený ve stanoveném termínu porodu zdravým rodičům jako eutrofický novorozenec. Měsíc před porodem proběhlo u matky onemocnění covid-19, poslední dva týdny gravidity užívala methyldopa pro gestační hypertenzi. Matka má vzácnou kongenitální methemoglobinemii (mutace *HBB* na chromozomu 11), otec je zdravý, osmiletá sestra má rovněž kongenitální methemoglobinemii a desetiletý bratr je zdravý. Devatenáctý den života pacienta byla klinickému pracovišti hlášena pozitivita SCID screeningu s výsledkem TREC „0 kopií / 100 000 buněk“ ze dvou různých odběrů (fyziologická hodnota TREC > 100 kopií na 100 000 buněk), KREC v normě. Rodina byla ihned informována o nutnosti urgentního vyšetření, jímž byla záhy potvrzena hluboká T lymfopenie svědčící pro onemocnění SCID s T-B+NK+ buněčným fenotypem. V odstupu necelých tří týdnů byla panelovým sekvenováním identifikována homozygotní mutace v *CD3E* (c.353-10C>G, na chromozomu 11), přičemž oba rodiče jsou přenašeči této mutace. Současně byla u pacienta potvrzena diagnóza methemoglobinemie, na jejíž přítomnost již poukazovala centrální cyanóza a mírné periferní desaturace kyslíku při křiku. Již při prvním klinickém vyšetření byla rodině doporučena přísná izolace v domácím prostředí a bylo ukončeno kojení pro riziko přenosu infekce cytomegalovirem (CMV) mateřským mlékem (matka byla CMV seropozitivní). U dítěte byla zahájena antibiotická profylaxe (sulfamethoxazol/trimethoprim) a imunoglobulinová substituce. U pacienta, rodičů a sourozenců byla vyžádána typizace human leukocyte antigen (HLA) a u pacienta byl vyloučen lymfopoetický chimérismus. V sedmi týdnech věku byl proveden převod nativního štěpu kostní dřeně od HLA identického bratra (přípravný režim: alemtuzumab, fludarabin, treosulfan; profylaxe reakce štěpu proti hostiteli – graft versus host disease, GVHD: cyklosporin A a mykofenolát mofetil). Engraftment (přihojení) trombocytů byl dokumentován sedmnáctý



Obr. 2: Pacient s těžkou kombinovanou imunodeficiencí (SCID) na podkladě CD3ε deficiencie diagnostikované screeningem TREC. Na obrázku uprostřed mezi sourozenci, dvacet měsíců po transplantaci hematopoetických kmenových buněk; dárce kostní dřeně byl bratr (vpravo).



Obr. 3: Mnohočetné obratlové anomálie u pacienta s atypickým kompletním DiGeorgeovým syndromem, zobrazené magnetickou rezonancí (hemivertebra Th7, L2, S1, anomální konfigurace Th8, fúzní anomálie Th9 a Th10).

potransplantační den, engraftment granulocytů den dvacátý. Dvacátý první den se rozvinuly příznaky akutního GVHD II. stupně – exantém na trupu a gastrointestinální příznaky, následně navýšení kortikoterapie mělo dobrý efekt. V dalším potransplantačním období nenastaly do dvou let věku dítěte závažné komplikace, pacient prodělal frekventnější v.s. virové respirační infekty a byl léčen pro sekundární hypertenzi, při postupně narůstajícím podílu autologních erytrocytů se opět objevila cyanóza. Imunosupresivní terapie byla ukončena po pátém měsíci po transplantaci. Ve dvanácti měsících věku dítěte bylo zahájeno standardní očkování dle protokolu pro pacienty po transplantaci kmenových hematopoetických buněk. Osmnáct měsíců po transplantaci prokazuje vyšetření chimérismus v neseřované periferní krvi 80 % genotypu příjemce, T lymfocyty jsou dárcovského původu a plně funkční (test blastické transformace v normě) a klinický stav pacienta je velmi dobrý (obr. 2).

SCID – KOMPLETNÍ ATHYMIE

Pacient B je nyní osmiměsíční chlapec narozený ve 38. týdnu gravidity s porodní hmotností 2845g jako první dítě tohoto páru. Matka měla suboptimálně kompenzovaný diabetes mellitus, a to převážně v perikoncepčním období (prekoncepčně a v raných fázích těhotenství měla dle ošetřujícího diabetologa převážně hyperglykemie), v prvním trimestru byl glykovaný hemoglobin HbA1c 45–49 mmol/mol, přičemž ideální hodnota v těhotenství pro diabetickou matku je < 42 mmol/mol. Již prenatalně byla u dítěte diagnostikována komplexní srdeční vada, postnatálně byly zjištěny mnohočetné vývojové vady páteře (hemivertebry,



Obr. 4: Pacient s atypickým kompletním DiGeorgovým syndromem (s athymí), diagnostikovaným na základě laboratorního novorozeneckého screeningu. Na obrázku krátce po transplantaci dárcovského thymu do ventrálních částí obou stehenních svalů ve věku tří měsíců.

fúze obratlů a motýlové obratle; obr. 3) a hypoparathyreóza. Hlášení o pozitivním výsledku screeningu obdrželo klinické pracoviště desátý den života dítěte s výsledkem TREC „0 kopií / 100 000 buněk“, KREC v normě. V diferenciálním krevním obraze byl patrný normální počet lymfocytů, ovšem vyšetření lymfocytárních populací prokázalo kompletní absenci T lymfocytů s normálním zastoupením dalších leukocytů (T-B+NK+ imunofenotyp). Ultrazvukovým vyšetřením ani magnetickou rezonancí hlavy a páteře nebyl nalezen thymus. Pacient byl převeden do izolačního režimu a již v prvním měsíci věku byla zahájena antimikrobiální profylaxe (sulfamethoxazol/trimethoprim, flukonazol a acyklovir), imunoglobulinová substituce a ukončeno kojení k prevenci přenosu CMV. Přes mnohočetné vývojové vady nebyla u pacienta nalezena očekávaná mikrodelece 22q11.2 svědčící pro DiGeorgův syndrom, následně se ani celoexomovým sekvencováním nepodařilo ozřejmit jiné monogenní příčiny vrozené aplazie thymu (např. geny *TBX1*, *PAX1*, *FOXN1*, *CDH7*, *FOXI3*). Po konzultaci s thymovým týmem z Great Ormond Street Hospital ve Velké Británii jsme jako pravděpodobnou příčinu SCID s thymickou aplazií stanovili diabetickou fetopatii. Dekompenzovaný diabetes matky je jednou z extrémně vzácných negenetických příčin kompletního fenotypu DiGeorgova syndromu (s celým spektrem vrozených vad). Pacient byl indikován ke kauzální terapii transplantací thymu. Předtransplantační průběh byl komplikován katérovou sepsí, hepatopatií s cholelithiázou pravděpodobně iatrogení etiologie a norovirovou infekcí. Pacientovi byl ve třech

měsících věku v Londýně transplantován thymus HLA-identického dárce (obr. 4). Měsíc po transplantaci došlo k tranzientnímu zvýšení T lymfocytů v periferní cirkulaci, přičemž se jednalo o lymfocyty dárce, jež během následujících tří měsíců opět vymizely. Pro přítomnost specifických protilátek proti HLA I. a II. třídy dárce, jež mohou mít nežádoucí vliv na příhojení thymového štěpu, byla zahájena terapie cyklosporinem A. Známky nové thymopoézy T lymfocytů jsou obvykle očekávány cca 5–6 měsíců po transplantaci thymu. V mezidobí zůstává pacient v domácím prostředí. Ačkoliv je do očekávané rekonstituce buněčné imunity zvýšené riziko infekcí a u dítěte je opakovaně prokazována přítomnost norovirů a *Clostridium difficile* ve stolici a viru parainfluenzy v horních cestách dýchacích, dosud žádnou další klinicky závažnou komplikaci neprodělal.

X-VÁZANÁ AGAMAGLOBULINEMIE

Případ nyní desetiměsíčního pacienta C přinesl (neúmyslně) příležitost zasloužit otestovat senzitivitu laboratorního screeningu. Klinickému pracovišti byl hlášen abnormální výsledek vyšetření KREC „0 kopií / 100 000 buněk“ (fyziologická hodnota KREC > 100 kopií na 100 000 buněk), normální TREC. V té době čtrnáctidenní donošený eutrofický novorozenec z druhé fyziologické gravidity byl pozván ke klinickému vyšetření, přičemž již v průběhu prvotního telefonického rozhovoru s matkou vyplynulo, že starší sourozenec má vrozenou poruchu protilátkové imunity, X-vázanou agamaglobulinemii (XLA, tzv. Brutonovu), a je známo, že matka dětí je přenašečkou patogení varianty v genu *BTK* (c.126T>A). U dítěte byl záhy verifikován nulový počet periferních CD19+ B lymfocytů a molekulárně genetickým vyšetřením byla potvrzena příčinná mutace v genu *BTK*. Od druhého měsíce věku dítěte byla zahájena subkutánní imunoglobulinová substituce (300 mg IgG / kg / měsíc), kterou aplikují rodiče dítěti doma. V dalším průběhu chlapec dosud dobře prospíval, závažně nestonal a nevyžadoval žádnou celkovou antibiotickou léčbu. Jedinou dosavadní komplikací jsou recidivující hemofilové konjunktivitidy, řešené lokálními antiseptiky a antibiotiky.

V době narození pacienta bylo jeho bratrovi pět let. Jeho anamnéza ilustrativně demonstruje průběh neléčené vrozené poruchy protilátkové imunity. Diagnóza XLA u něj byla stanovena ve třech a půl letech, kdy byl odeslán k imunologickému vyšetření pro vysokou infekční nemocnost: od deseti měsíců věku prodělal hnisavé otitidy, po prvním očkování proti spalničkám, zarděnkám a příušnicím rozvinul v odstupu 14 dnů pneumonii s vysokou zánětlivou aktivitou a nutností hospitalizace. Od nástupu do školky užíval opakovaně celková antibiotika pro protražované hnisavé rinitidy, otitidy a bronchitidy, byl prakticky trvale zahleněný. Imunologickým vyšetřením bylo zjištěno hluboké snížení IgG, IgA i IgM, absence CD19+ B lymfocytů v periferní krvi a absence postvakcinačních protilátek. Po zahájení imunoglobulinové substituce (300 mg IgG / kg / měsíc) se snížila infekční nemocnost dítěte, s výjimkou oboustranné maxilární sinusitidy závažněji nestonal, prodělal onemocnění covid-19 s mírným průběhem (obr. 5).



Obr. 5: Bratři s X-vázanou agamaglobulinemii. Pětiletý chlapec diagnostikovaný na základě klinických příznaků a desetiměsíční chlapec s abnormálním výsledkem KREC v novorozeneckém screeningu.

ZÁVĚR

Od 1. ledna 2024 se součástí celoplošného novorozeneckého laboratorního screeningu stal screening SCID, což představuje významný pokrok v péči o pacienty se závažnými vrozenými poruchami imunity. Screeningová metoda používaná v České republice detekuje nejzávažnější onemocnění postihující T a B lymfocyty, ale nezachytí všechny vrozené poruchy imunity. U screenovatelných onemocnění demonstrují pilotní data vysokou efektivitu celého metodického a klinického aparátu, pro podrobnou analýzu incidence a efektu časné diagnózy na prognózu pacientů bude nutné získat dlouhodobější data. Komplexní výstup z pilotního programu bude předmětem samostatné budoucí literární reference. |

Poděkování

Naše poděkování patří pacientům a jejich rodinám, jakož i týmům pracovišť, která se na organizaci SCID screeningu s mimořádnou houževnatostí podílejí. Konkrétně jsou to screeningové laboratoře Kliniky pediatrie a dědičných poruch metabolismu ve Všeobecné fakultní nemocnici v Praze a Centra molekulární biologie a genetiky ve Fakultní nemocnici v Brně, referenční klinická pracoviště Ústav imunologie Fakultní nemocnice v Motole v Praze a Pediatriká klinika Fakultní nemocnice Brno, Ústav klinické imunologie a alergologie, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně a genetické laboratoře Centra kardiovaskulární a transplantáční chirurgie v Brně a laboratorního centra CLIP v Praze.

LITERATURA

1. **Pai S-Y, et al.** Transplantation outcomes for severe combined immunodeficiency, 2000-2009. *N Engl J Med* 2014; 371: 434–446.
2. **Howley E, et al.** Impact of newborn screening for SCID on the management of congenital athymia. *J Allergy Clin Immunol* 2024; 153: 330–334.
3. **Adams SP, Kricke S, Ralph E, et al.** A comparison of TRECs and flow cytometry for naive T cell quantification. *Clin Exp Immunol* 2018; 191: 198–202.
4. **Garcia-Prat M, et al.** Extended immunophenotyping reference values in a healthy pediatric population. *Cytometry B Clin Cytom* 2018. doi:10.1002/cyto.b.21728
5. **Bousfiha A, et al.** The 2022 Update of IUIS Phenotypical classification for human inborn errors of immunity. *J Clin Immunol* 2022; 42: 1508–1520.
6. **Zetterström RH, et al.** Newborn screening for primary immune deficiencies with a TREC/KREC/ACTB triplex assay—a three-year pilot study in Sweden. *Screening* 2017; 3: 11.
7. **Trück J, et al.** Swiss newborn screening for severe T and B cell deficiency with a combined TREC/KREC assay – management recommendations. *Swiss Med Wkly* 2020; 150: w20254.
8. **Barbaro M, et al.** Newborn screening for severe primary immunodeficiency diseases in Sweden—a 2-year pilot TREC and KREC screening study. *J Clin Immunol* 2017; 37: 51–60.
9. **Gizewska M, et al.** Newborn screening for SCID and other severe primary immunodeficiency in the Polish-German transborder area: experience from the first 14 months of collaboration. *Front Immunol* 2020; 11: 1948.