



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

PEDIATRÍA

TITULO DE LA TESIS:

**TUBERCULOSIS DISEMINADA EN LACTANTE
CON DEFECTO INNATO DEL EJE IFN γ -IL 12/IL 23**

PRESENTA:

DRA. EUNICE SANDOVAL RAMÍREZ

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. LIZBETH BLANCAS GALICIA



MÉXICO, D. F. ENERO, 2013

TITULO DE LA TESIS:



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TUBERCULOSIS DISEMINADA EN LACTANTE CON DEFECTO INNATO DEL EJE
IFN γ -IL 12/IL 23

DR. ALEJANDRO SERRANO SIERRA

DIRECTOR GENERAL INP
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE
ESPECIALIZACION EN PEDIATRIA

DRA. ROSAURA ROSAS VARGAS
DIRECTORA DE ENSEÑANZA

DR. LUIS MARTIN GARRIDO GARCIA
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO

DRA. LIZBETH BLANCAS GALICIA
TUTOR DE TESIS

RESÚMEN

La vacuna BCG contiene bacilos de baja virulencia de *Mycobacterium bovis*, en México se administra al nacimiento con reporte de pocos efectos adversos en inmunocompetentes; sin embargo, su administración en pacientes con compromiso inmunológico predispone a reacciones adversas locales o sistémicas. En nuestro medio los padecimientos inmunológicos en donde se han observado reacciones adversas a la aplicación del BCG son: Enfermedad Granulomatosa Crónica (CGD), infección por Virus de Inmunodeficiencia Humana (HIV), Inmunodeficiencia Combinada Grave (SCID) y Síndrome de Susceptibilidad Mendeliana a Micobacterias (MSMD). Los defectos innatos del eje IFN- γ /IL-12/IL-23 constituyen la principal alteración implicada en pacientes con MSMD. Presentamos el caso de un lactante con infección diseminada por micobacterias y antecedente de administración de vacuna BCG al nacimiento en quien se demostró alteración en estudio funcional del eje IFN γ /IL12/IL-23, particularmente en la vía de IL-12, susceptible de mejoría con la administración de IFN- γ . Se decidió administrar tratamiento antituberculoso e IFN- γ subcutáneo, observándose franca mejoría clínica. En los niños con infección diseminada por microorganismos intracelulares de baja virulencia como especies de micobacterias incluidas en la vacuna BCG, debe descartarse inmunodeficiencia primaria o secundaria subyacente.

PALABRAS CLAVE: MSMD, inmunodeficiencia, BCG, tuberculosis, micobacterias

INTRODUCCIÓN

La vacuna del Bacilo Calmette-Guérin (BCG) deriva de bacilos vivos atenuados de *Mycobacterium bovis* y fue desarrollada en 1920¹, desde entonces ha demostrado protección contra formas diseminadas de tuberculosis y actualmente tiene cobertura mundial aproximada del 85%.² En México, está recomendada su administración al nacimiento como parte del esquema Nacional de Vacunación³; sin embargo, la presencia de algunas alteraciones primarias o secundarias en la inmunidad predisponen a que estas micobacterias de baja virulencia puedan replicarse en el huésped y traducirse en enfermedad. Por lo tanto, la integridad del sistema inmune innato del huésped y la virulencia de la micobacteria son dos componentes clave que determinan el pronóstico de una infección por micobacterias.⁴ En el sitio de la infección los macrófagos activados, linfocitos T CD4+ y neutrófilos se acumulan para formar granulomas⁵, los cuales funcionan como nicho en el que los bacilos interactúan con éstas células para prevenir diseminación de la infección.⁶ Las citocinas liberadas en este proceso desempeñan un papel determinante: la interleucina 12 (IL-12), producida por macrófagos en respuesta al reconocimiento de la micobacteria, promueve la diferenciación y ulterior producción de interferón- γ (IFN- γ) por los linfocitos, lo cual amplifica las funciones microbicidas de los macrófagos y la eliminación del bacilo⁷. Dichas citocinas, sus receptores y factores de transcripción correspondientes constituyen el denominado eje IFN- γ /IL-12/IL-23 (Fig.1).

Las condiciones que favorecen la susceptibilidad a infecciones por micobacterias de baja virulencia son la infección por HIV y las inmunodeficiencias primarias, entre las cuales, sobresalen la CGD, la SCID y el MSMD.

En 1951, Momouni *et al* describieron la infección por BCG en 25 niños y propusieron por primera vez que una susceptibilidad genética del individuo predispone a padecer dicha infección⁸. En 1995, Levin M *et al* describen 6 casos familiares con infección diseminada por BCG y producción disminuida de IFN- γ *in vitro*⁹ y en 1996, Casanova *et al* describen la primera mutación en el gen que codifica para el receptor de IFN- γ . Siendo el primer defecto genético que explicaba la susceptibilidad a padecer infección diseminada por micobacterias.¹⁰ Posteriormente, Ottenhoff TH *et al*, (1998) describen una mutación en el gen que codifica para el receptor de IL-12 en un paciente con infección por micobacterias y salmonella.¹¹ Desde entonces, se han descrito mutaciones en otros genes involucrados en el funcionamiento del sistema inmune y que explican una mayor susceptibilidad a infección por micobacterias, denominándose como el Síndrome de Susceptibilidad Mendeliana a Micobacterias (MSMD). En la Tabla A se mencionan algunos de los genes afectados.

Presentamos el caso de un paciente con tuberculosis diseminada secundaria a MSMD.

INFORME DE CASO

Lactante femenino de 8 meses de edad, de madre primigesta y sin antecedente de consanguinidad. Se aplicó vacuna BCG al nacimiento sin reacción secundaria aparente. Combe negado. A los 3 meses de vida inicia con neumonía adquirida en la comunidad, eventos recurrentes de diarrea y detención del crecimiento, requiriendo manejo intrahospitalario. En una primera hospitalización se encontró con leucocitosis (53,000 células/mm³), neutrofilia (45,000 células/mm³) y plaquetosis (688,000 plaquetas/mm³). Fue referida a Hospital Pediátrico de tercer nivel para abordaje,

progresó con fiebre de alto grado de predominio vespertino, hemiparesia derecha, empuñamiento cortical de pulgares, fijación de la mirada sin seguimiento visual, crisis convulsivas generalizadas tónico-clónicas y desnutrición crónica agudizada de intensidad moderada. A la exploración física, con adenopatías cervicales bilaterales, de aproximadamente 1 cm de diámetro, fondo de ojo izquierdo con tuberculoma en retina, hepatoesplenomegalia y hemiparesia derecha. En un primer abordaje se descartó infección congénita del complejo TORCH y VIH. Los resultados de cultivos en sangre, orina, y médula ósea fueron negativos. Presencia de enzimas hepáticas elevadas y ultrasonido hepático con microcalcificaciones. Se realizó biopsia de hígado a cielo abierto, reportándose hepatitis crónica granulomatosa. El citoquímico de LCR mostró hiperproteínorraquia e hipoglucoorraquia y la angiotomografía cerebral de fase simple con calcificaciones cortico-subcorticales frontales y en ganglios basales. TAC abdominal con crecimiento ganglionar peritoneal múltiple y líquido libre en ambas correderas parieto-cólicas. La biopsia de ganglio cervical reportó linfadenitis crónica granulomatosa y en el medio de Lowenstein Jensen mostró desarrollo rápido menor a 10 días de micobacterias resistentes a Pirazinamida, donde la prueba de reacción de cadena de la polimerasa (PCR) para *Mycobacterium tuberculosis* fue negativa.

Los niveles séricos de inmunoglobulinas y complemento fueron normales. La citometría de flujo para subpoblaciones linfocitarias (CD3+, CD4+ CD8+, CD19+, CD56+) no tuvo alteraciones, con lo que se descartó SCID y las pruebas de reducción de nitroazul de tetrazolio y oxidación de 1,2,3 dihidrorodamina fueron normales, se descartó CGD.

Ante un paciente con antecedente de un evento previo de neumonía, cuadros diarreícos de repetición y falla de medro, sin evidencia epidemiológica de contacto con enfermos tuberculosos, pero con datos clínicos, radiológicos, patológicos y microbiológicos sugestivos de tuberculosis diseminada por otras micobacterias diferentes a *M. tuberculosis* (Tabla B), al cual se le descartaron otras inmunodeficiencias, se consideró como posibilidad diagnóstica MSMD.

Para esto se valoró la respuesta funcional *in vitro* del eje IFN- γ /IL-12/IL-23 en sangre periférica (Figura 2), el cual demostró una franca disminución en la producción de IFN- γ por los monocitos de la paciente ante el estímulo con BCG e IL-12, comparado contra 3 controles sanos. La infección diseminada de micobacterias junto a la falta de producción de IFN- γ nos orientó a sospechar una afectación en el receptor de IL-12 o de IL-12.

Se inició, además del tratamiento antituberculoso con pirazinamida, isoniacida, rifampicina, etambutol, así como IFN- γ por vía subcutánea, con excelente evolución con recuperación de peso y mejoría del estado general. No ha manifestado susceptibilidad a otro tipo de infecciones.

DISCUSION

Presentamos el caso de paciente pediátrico con antecedente de aplicación de vacuna BCG, cuadro clínico sugestivo de infección diseminada por micobacterias, un cultivo positivo para micobacterium resistente a pirazinamida, falta de producción de IFN- γ *in vitro* y respuesta adecuada al tratamiento con antituberculoso e IFN- γ exógeno.

Las reacciones adversas, locales o sistémicas, a la vacuna BCG son poco frecuentes a nivel mundial y se han reportado en 0.10 a 2 casos por 1 millón de niños vacunados.¹² Debido a que las formas sistémicas o diseminadas se han asociado a

inmunodeficiencias, aquellos pacientes que las presenten deben ser abordados para descartar las mismas (Figura 3). Los pacientes con CGD pueden debutar con infección por micobacterias y posteriormente presentar susceptibilidad a infecciones por hongos o bacterias. Bustamante *et al* reportan una serie de 72 casos con CGD e infección por micobacterias, además de co-infección por otros agentes.¹³ En el caso en estudio la paciente debutó con gastroenteritis y neumonía, que pudo ser parte del cuadro de la infección diseminada por micobacterias, lo cual ha sido demostrado previamente en pacientes con CGD^{14,15}. Sin embargo, se realizaron dos pruebas que descartaron dicho diagnóstico (oxidación de 1,2,3-DHR y reducción de nitroazul de tetrazolio¹⁶).

La SCID predispone a padecer infecciones por agentes microbianos intracelulares como las micobacterias, bacterias y virus, pero en la paciente se descartó ésta entidad mediante una citometría de flujo con conteo de sub-poblaciones linfocitarias normales. Finalmente, consideramos MSMD, en esta entidad los pacientes tienen susceptibilidad a padecer infecciones por micobacterias de baja virulencia y especies extraintestinales de salmonella de forma grave y recurrente debido a que alguna de las proteínas que participan en el eje IFN- γ /IL-12/IL-23 están alteradas (FIGURA 1). En la paciente evaluamos *in vitro* la respuesta de monocitos a estímulos externos, tales como BCG, IL-12 e IFN- γ y se detectó una producción disminuida de IFN- γ , lo cual, de forma indirecta, nos refleja un defecto en el receptor de IL-12 o en la subunidad p40 de IL-12. El diagnóstico definitivo se realiza con la detección de la mutación en el gen blanco, estudio que actualmente en curso para la paciente, sin embargo, consume tiempo y recursos. Por lo que la decisión de iniciar tratamiento antituberculoso e IFN- γ , puede sustentarse una vez demostrada la adecuada respuesta a la administración *in vitro* de IFN- γ .

En México en el 2010, se reportaron los primeros casos de MSMD, asociados específicamente a defectos en IL-12R β 1, que clínicamente presentaron infección diseminada por micobacterias, Klebsiella y especies extraintestinales de salmonella.¹⁷

El MSMD se caracteriza por mutaciones en diversos genes, con cambios estructurales del DNA e incluyen delección, inserción de pares de bases o una combinación de ambas, las cuales tienen diferentes impactos en la secuencia de pares de bases, resultando en producción de codones prematuros de terminación ó alteraciones en el marco de lectura y finalmente, en proteínas alteradas.⁴ La mutación del gen *IL12BR1* que codifica para la cadena β 1 del receptor, es la causa más frecuente (40%) de todos los casos reportados con defecto del eje IFN- γ /IL-12/IL-23.¹⁸ La segunda mutación en frecuencia es la del gen *IFNGR1* y resulta en ausencia o disminución de la expresión del receptor de IFN- γ , por lo que los macrófagos son incapaces de montar una respuesta bactericida eficaz.¹⁹ Otras mutaciones descritas hasta el momento son en el gen *IFNGR2*, condicionando la expresión anormal de la proteína y deficiencia parcial de IFN γ R2 con fenotipo atenuado y adecuada respuesta a la administración de IFN- γ .²⁰ Las mutaciones en el transductor de señal y activador de transcripción 1 (STAT1) reportan fenotipos similares a la deficiencia parcial de IFN γ R.²¹ Para cada gen se han descrito hasta 80 mutaciones y continuamente se reportan nuevas alteraciones, que se traducen en pérdida total o parcial de la función de las proteínas implicadas y espectros clínicos muy variables. Dependiendo del gen afectado dichas alteraciones pueden o no beneficiarse de la administración de IFN- γ .²²

Como ya se ha mencionado, la característica central del MSMD es infección por micobacterias poco virulentas y la edad de presentación varía según el gen afectado, el tipo de mutación y si la persona recibió vacuna BCG en edad temprana.

Generalmente, los pacientes se presentan con fiebre crónica, hepatoesplenomegalia, linfadenopatías y anemia, sin aislamiento de microorganismos en los cultivos para bacterias extracelulares, como en el caso presentado. En la tabla C presentamos algunas características clínicas que orientan a un MSMD.⁴

El diagnóstico *in vitro* se basa en medición de expresión de proteínas por ELISA, estudios funcionales y análisis de DNA, es importante realizar el estudio molecular, para ofrecer a los familiares un pronóstico adecuado y consejo genético, ya que los desórdenes mencionados tienen patrones de herencia dominantes y recesivos. El tratamiento se normará dependiendo de la mutación, el patrón clínico de la enfermedad y el microorganismo involucrado.

Derivado de lo anterior, sugerimos que los defectos del eje IFN- γ /IL-12/IL-23 se debe considerar como diagnóstico diferencial en los pacientes con infecciones graves por microorganismos intracelulares, sobretodo cuando éstos se consideran de baja virulencia; sin embargo, sólo en un bajo porcentaje se ha sospechado inmunodeficiencia primaria como causa subyacente, por lo que ante un niño con infección grave, recidivante, poco frecuente, el médico debe considerar una inmunodeficiencia primaria e iniciar abordaje para la misma, con el objetivo de ofrecer un diagnóstico preciso, tratamiento adecuado y la disminución en la morbilidad y secuelas.

Tabla A. Mutaciones asociadas a defectos del eje IFN- γ /IL-12/IL-23 ¹

GEN	FUNCIÓN	TIPO DE HERENCIA
-----	---------	------------------

¹ Adaptada de: Newport MJ, Holland SM, Casanova JL, et al. Inherited Disorders of the Interleukin.12/23-interferon Gamma Axis. En: Smith, Puck. Primary Immunodeficiency Diseases. A molecular and celular Approach. 2nd Ed. Oxford, 2010.

		DESCRITO
<i>IFNGR1</i> *	Codifica para cadena 1 del receptor de IFN- γ	AR AD
<i>IFNGR2</i> *	Codifica para la cadena 2 accesoria del receptor del IFN γ y participa en la señalización intracelular vía STAT-1	AR
<i>IL12B</i> ⁺	Codifica para la subunidad p40 compartida por IL-2 e IL-23	AR
<i>IL12RB1</i> ^{+°}	Codifica para la cadena β 1 compartida por los receptores IL-12 e IL-23	AR
<i>STAT1</i> *	Codifica para el transductor de señal y activador de transcripción 1	AR
<i>NEMO</i>	Codifica el modulador esencial NF- κ B. Produce señalización deficiente en la activación por vía CD40-CD40L [°]	Ligado a X

*Los defectos en estos genes están asociados con respuestas celulares alteradas a INF- γ

+Los defectos en estos genes se asocian por alteración de IL-12/IL-23 dependientes de la producción de IFN-gama

[°]La respuesta a IFN- γ puede variar

° Defectos descritos en población mexicana

Tabla B. Datos que apoyan el diagnóstico de tuberculosis diseminada en la paciente.

ANTECEDENTES
Administración de vacuna BCG al nacimiento
SÍNTOMAS GENERALES
Fiebre de alto grado de predominio vespertino Adenopatías cervicales
SISTEMA NERVIOSO
Crisis convulsivas tónico clónico generalizadas Líquido cefalorraquídeo con hiperproteinorraquia e hipogluorraquia Fondo de ojo izquierdo con tuberculoma en retina Tomografía con microcalcificaciones Angiotomografía con contraste con reforzamiento difuso
ABDOMEN
Hepatomegalia Crecimiento ganglionar peritoneal múltiple Elevación de enzimas hepáticas Ultrasonido mostrando microcalcificaciones hepáticas
BIOPSIAS
Hepática: Hepatitis crónica granulomatosa Ganglionar: Linfadenitis crónica granulomatosa
CULTIVOS
Ganglio cervical: Micobacterias de crecimiento rápido, con PCR negativa para <i>Mycobacterium tuberculosis</i>

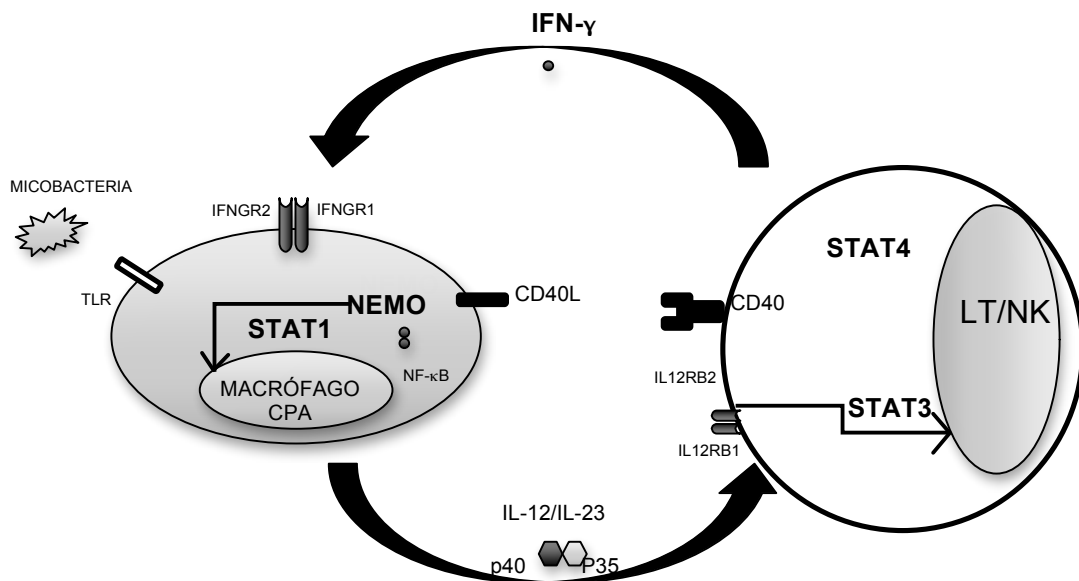
Tabla C. Características sugestivas de MSMD

ANTECEDENTES Consanguinidad

Familiares con presentación clínica similar Aplicación de vacuna BCG
PRESENTACIÓN CLÍNICA Infección diseminada por micobacterias de baja virulencia Infección recurrente por micobacterias Infección por BCG Infección diseminada por especies extra-intestinales de salmonella

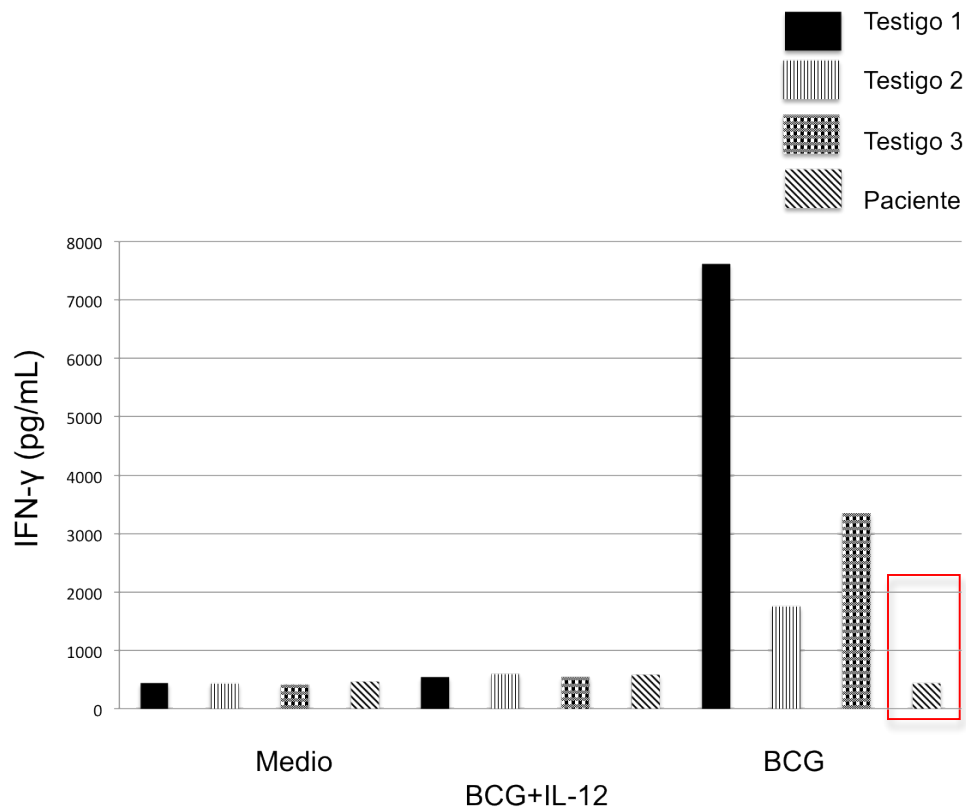
FIGURA 1. Eje IFN- γ /IL-12/IL-23²

² Adaptada de: Newport MJ, Holland SM, Casanova JL, et al. Inherited Disorders of the Interleukin.12/23-interferon Gamma Axis. En: Smith, Puck. Primary Immunodeficiency Diseases. A molecular and celular Approach. 2nd Ed. Oxford, 2010.



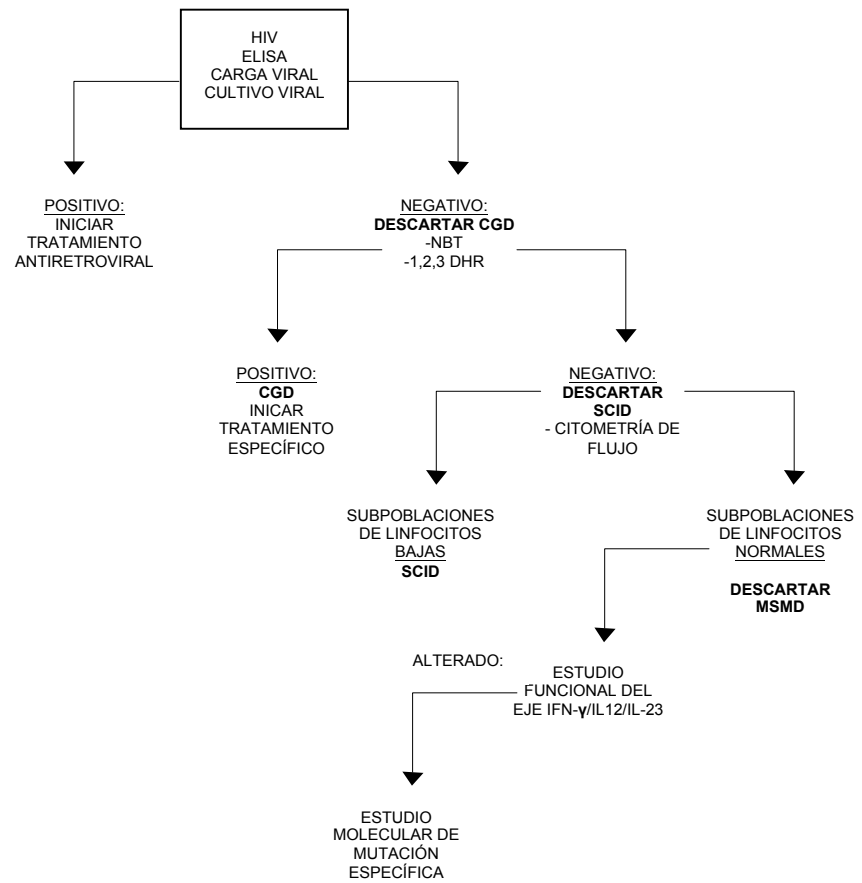
La micobacteria es reconocida en el macrófago o célula presentadora de antígeno a través de Receptores Tipo Toll, lo que induce la producción de IL-12, la cual esta formada por dos subunidades (p 40 y p 35), ésta se une a su receptor en los linfocitos T o célula NK, el cual está formado por dos subunidades IL-12Rβ1 e IL-12Rβ2, esto induce cambios a nivel de DNA a través de STAT-3 y STAT-4 que originan producción aumentada de IFN-γ, el cual se une a su receptor en el linfocito T o célula NK, éste esta conformado por dos cadenas, que a través de STAT-1 induce más producción de IL-12. Otra vía de activación es a través de CD40 y CD40L, la cual es por en modulador esencial del NF-κB. Este sistema de interacciones intercelulares constituyen el eje IFN- γ/IL-12/IL-23.

FIGURA 2. Histograma del estudio funcional del eje IFN- γ/IL-12/IL-23 en el paciente



La sangre total de la paciente se incubó a 37°C durante 48 horas en 3 condiciones diferentes, con medio RPM1, BCG y BCG con IL-12. Posterior a la incubación se midió por ELISA la producción de IFN- γ en el sobrenadante (linfocitos)²³. Se observó en el paciente producción mínima de IFN- γ en comparación a 3 controles sanos no relacionados.

FIGURA 3. Algoritmo sugerido de abordaje para paciente con infección diseminada por micobacterias y sospecha de inmunodeficiencia.



HIV: Virus de inmunodeficiencia humana; CGD: Enfermedad Granulomatosa crónica; NBT: Nitroazul de tetrazolio; 1,2,3 DHR: 1,2,3 Dihidrorodamina; SCID: Inmunodeficiencia Combinada Grave; MSMD: Susceptibilidad Mendeliana a Micobacterias

REFERENCIAS

- ¹ Soumya S, Banu R. Pediatric Tuberculosis: Global Overview and Challenges. *Clin Infect Dis* 2010;50:S184–S194.
- ² Trunz BB, Fine P, Dye C. Effect of BCG vaccination on childhood tuberculous meningitis and miliary tuberculosis worldwide: a meta-analysis and assessment of cost-effectiveness. *Lancet* 2006;367:1173–1180.
- ³ Manual de vacunación 2008-2009. Consejo Nacional de Vacunación. México.
- ⁴ Hui-Qi Q, Fisher-Hoch SP, McCormickl JB. Molecular immunity to mycobacteria: knowledge from the mutation and phenotype spectrum analysis of Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases. *Int J Infect Dis* 2011;15:e305–e313
- ⁵ Davis JM, Ramakrishnan L. The role of the granuloma in expansion and dissemination of early tuberculous infection. *Cell*;2009:37–49.
- ⁶ Chan J, Lin PL. Macrophages and control of granulomatous inflammation in tuberculosis. *Mucosal Immunol* 2011;4:271-278.
- ⁷ Cooper AM, Khader SA. The role of cytokines in the initiation, expansion, and control of cellular immunity to tuberculosis. *Immunol Rev* 2008;226:191–204.
- ⁸ Mimouni J. Our experiences in three years of BCG vaccination at the center of the O.P.H.S. at Constantine; study of observed cases (25 cases of complications from BCG vaccination). *Alger Med* 1951;55: 1138–1147.
- ⁹ Levin M, Newport MJ, Kalabalikis P, et al. Familial disseminated atypical mycobacterial infection in childhood: a human mycobacterial susceptibility gene? *Lancet* 1995; 345:79-83.
- ¹⁰ Jouanguy E, Altare F, Casanova JL, et al. Interferon-g receptor deficiency in an infant with fatal bacille Calmette-Guerin infection. *N Engl J Med* 1996.; 335:1956-1961.
- ¹¹ Casanova JL, Ottenhoff TH , Altare F, et al. Severe mycobacterial and Salmonella infections in interleukin-12 receptor-deficient patients. *Science* 1998; 280:1435-1438
- ¹² Deeks SL, Clark M, Scheifele DW, et al. Serious Adverse Events Associated with Bacille Calmette-Guerin Vaccine in Canada. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24: 538-541.
- ¹³ Bustamante J, Guzide A, Guillaume V. BCG-osis and tuberculosis in a child with chronic granulomatous disease. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116: 426-430.
- ¹⁴ Pietropaolo-Cienfuegos DR, Labra-Zamora MG, Dies-Suárez P, and Cabrera-Muñoz ML. Infant with intestinal subocclusion syndrome associated with chronic granulomatous disease. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2011; 68 (4): 285-295
- ¹⁵ Marciano BE, Rosenzweig SD, Kleiner DE, Anderson VL, et al. Gastrointestinal involvement in chronic granulomatous disease. *Pediatrics* 2004; 114: 462-468

-
- ¹⁶ Oliveira JB, Fleisher TA. Laboratory evaluation of primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125: 297-305
- ¹⁷ Pedraza S, Lezana JL, Samarina A, et al. Clinical Disease Caused by Klebsiella in 2 Unrelated Patients With Interleukin 12 Receptor 1 Deficiency. *Pediatrics* 2010;126:971-976
- ¹⁸ Hoeve MA, Verreck FA, Ottenhoff TH, et al. IL-12 receptor deficiency revisited: IL-23-mediated signaling is also impaired in human genetic IL-12 receptor beta1 deficiency. *Eur J Immunol* 2003; 33:3393–7
- ¹⁹ Newport MJ, Huxley CM, Huston S, et al. A mutation in the interferon-gamma-receptor gene and susceptibility to mycobacterial infection. *N Engl J Med* 1996;335:1941–1949.
- ²⁰ Rosenzweig SD, Dorman SE, Uzel G, et al. A novel mutation in IFN-gamma receptor 2 with dominant negative activity: biological consequences of homozygous and heterozygous states. *J Immunol* 2004;173:4000–4008.
- ²¹ Chappier A, Boisson-Dupuis S, Jouanguy E, et al. Novel STAT1 alleles in otherwise healthy patients with mycobacterial disease. *PLoS Genetic* 2006;18:2-8
- ²² Beaucoudrey L, Samarina A, Bustamante J, et al. Revisiting Human IL-12RA1 Deficiency A Survey of 141 Patients From 30 Countries. *Medicine* 2010;89: 381-402
- ²³ Feinberg J, Fieschi C, Casanova JL. Bacillus Calmette Guerin triggers the IL-12/IFNgamma axis by an IRAK-4 and NEMO –dependent non-cognate interaction between monocytes, NK, and T lymphocytes. *Eur J Immunol* 2004;34:3276-3284