

# Má progressão ponderal num lactente como primeira manifestação de imunodeficiência primária

*Failure to thrive as the first manifestation of primary immunodeficiency in an infant*

Data de receção / Received in: 31/07/2008

Data de aceitação / Accepted for publication in: 17/12/2008

Rev Port Imunoalergologia 2009; 17 (2): 175-181

Sónia Silva<sup>1</sup>, Ana Cordeiro<sup>1</sup>, Sónia Lemos<sup>1</sup>, Graça Rocha<sup>1</sup>, Emília Faria<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Serviço de Pediatria, Hospital Pediátrico de Coimbra / Paediatric Department, Hospital Pediátrico de Coimbra

<sup>2</sup> Serviço de Imunoalergologia, Hospitais da Universidade de Coimbra / Immunology Department, Hospitais da Universidade de Coimbra

## RESUMO

A imunodeficiência combinada grave (SCID) corresponde a um grupo de entidades diferentes que se caracterizam por vários defeitos moleculares com compromisso grave do número e função dos linfócitos T e/ou B e, ocasionalmente, das células *natural killer*. Os autores apresentam o caso de um lactente de 3 meses, internado por má progressão ponderal com um mês de evolução. Durante o internamento iniciou dejectões diarreicas e dificuldade respiratória. Pela hipótese de imunodeficiência, iniciou terapêutica antibiótica e antifúngica. O estudo das populações linfocitárias foi compatível com SCID T-B+NK-. Apesar do tratamento farmacológico e ventilação invasiva, faleceu após dois meses de internamento. O estudo genético confirmou tratar-se de um defeito da cadeia  $\gamma$  do receptor das interleucinas, ligado ao cromossoma X. A SCID é uma emergência pediátrica, habitualmente fatal nos dois primeiros anos de vida, sendo fundamental o diagnóstico precoce, o isolamento, a profilaxia de infecções oportunistas e o transplante de precursores hematopoiéticos.

**Palavras-chave:** Imunodeficiência, imunodeficiência combinada grave, lactente, má progressão ponderal.

## ABSTRACT

Severe combined immunodeficiency (SCID) is a rare congenital immunodeficiency characterised by several molecular defects that lead to severe compromise in the number and function of T- and/or B-cells and, occasionally, of natural killer cells. The authors present the case of a three-month-old infant admitted to hospital due to failure to thrive in the previous month. During the hospital stay he developed diarrhoea and respiratory distress. Immunodeficiency was suspected and antibiotic and antifungal therapy was initiated. The lymphocyte profile study was suggestive of SCID T-NK-B+. In spite of treatment and invasive ventilatory support he died 2 months later. Genetic study confirmed a gene mutation on the  $\gamma$  chain receptor that is common in various interleukins, linked to the X chromosome. Severe combined immunodeficiency is a paediatric emergency, usually fatal in the first two years of life, making early diagnosis critical. Isolation, prophylactic treatment for opportunistic infections and bone marrow transplantation is mandatory.

**Key-words:** Failure to thrive, infant, immunodeficiency, severe combined immunodeficiency.

## INTRODUÇÃO

As imunodeficiências caracterizam-se por defeitos no sistema imunitário, podendo ser primárias ou secundárias. Nas imunodeficiências primárias, mais raras, ocorrem defeitos genéticos<sup>1</sup> do sistema adaptativo (linfócitos T e B) e / ou do sistema inato (neutrófilos, complemento e células *natural killer*)<sup>2,3</sup>. Os defeitos genéticos podem ser expressos apenas nas células imunes ou em outros tecidos<sup>2</sup>.

A imunodeficiência combinada grave (SCID) corresponde a um grupo de entidades diferentes nos quais existem vários defeitos moleculares que originam compromisso grave do número e função dos linfócitos T e/ou B e, ocasionalmente, das células *natural killer*, estando assim comprometidas as imunidades humoral e celular<sup>1,3,4</sup>. Segundo dados da ESID (*European Society for Immune Deficiencies*), a SCID representa 8,86% das imunodeficiências primárias na Europa, do total de 7272 casos registados<sup>5</sup>. Em Portugal, de acordo com o Registo Português de Imunodeficiências Primárias de 2004, estima-se que este valor seja de 8%<sup>1</sup>. O início dos sintomas

## INTRODUCTION

Immunodeficiencies are characterised by immune system defects and may be either primary or secondary. Primary deficiencies are less common and are characterized by genetic defects<sup>1</sup> of the adaptive (T- and B-cells) and/or innate (neutrophils, complement and natural killer cells) immune systems<sup>2,3</sup>. Genetic defects may be expressed in the immune cells or in other tissues<sup>2</sup>.

Severe combined immunodeficiency (SCID) corresponds to a group of different entities comprising several molecular defects that lead to severe compromise of the number and function of T- and/or B-cells and, sometimes, of natural killer cells, thus compromising the humoral and cellular immune response<sup>1,3,4</sup>. According to ESID (*European Society for Immune Deficiencies*) data, SCID represents 8.86% of all primary immunodeficiencies in Europe, from a total of 7,272 registered cases<sup>5</sup>. In 2004, the rate in Portugal was 8% according to the Portuguese Registry of Primary Immunodeficiencies<sup>1</sup>.

The onset of symptoms generally occurs before six months of age, when there is a decrease in maternal trans-

ocorre geralmente antes dos 6 meses de idade, quando há diminuição dos anticorpos maternos transplacentários<sup>1,3-4,6</sup>. A apresentação clínica caracteriza-se pela existência de uma ou mais das seguintes manifestações: infecções respiratórias e/ou intestinais, recorrentes e de difícil resolução clínica, causadas por agentes oportunistas ou de baixa virulência; má progressão estato-ponderal, diarreia de difícil controlo e, em alguns casos, eczema crónico<sup>1,3,7</sup>. Pode surgir exantema eritematoso maculopapular que traduz doença de enxerto *versus* hospedeiro desencadeada pelos linfócitos T maternos existentes no lactente<sup>7</sup>. Habitualmente, estas crianças não apresentam amígdalas palatinas, os gânglios linfáticos estão pouco desenvolvidos e o timo não é visível na radiografia do tórax<sup>3-4,6</sup>. São agentes infecciosos habituais a *Candida albicans*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, outras bactérias gram positivas e negativas, vírus respiratórios ou da família dos herpes e o *Pneumocystis jiroveci*<sup>1,3,4</sup>.

## CASO CLÍNICO

Os autores apresentam o caso de um lactente do sexo masculino com 3 meses, fruto de uma segunda gravidez vigiada, sem intercorrências, que nasceu às 38 semanas de gestação com peso de nascimento de 3015 gramas e boa adaptação à vida extrauterina. Tinha o Plano Nacional de Vacinação cumprido, incluindo uma dose de vacina antipneumocócica conjugada. Era filho de pais jovens e não consanguíneos e o irmão de 3 anos era saudável. Foi observado no serviço de urgência por má progressão ponderal associada a recusa alimentar parcial com um mês de evolução. O peso encontrava-se no percentil 5 para a idade (aos 2 meses no percentil 25) e estatura no percentil 25. Estava sob aleitamento misto desde os 2,5 meses e apresentava na última semana rino-faringite ligeira. O irmão estava medicado para amigdalite. Ao exame objectivo, apresentava-se

placental antibodies<sup>1,3-4,6</sup>. Clinical presentation is characterised by one or more of the following: recurrent difficult-to-treat respiratory and/or intestinal infections caused by opportunistic agents or low grade viruses; failure to thrive; difficult-to-treat diarrhoea and sometimes chronic eczema<sup>1,3,7</sup>. Erythematous maculopapular exanthema has been seen, explained by graft-versus-host disease triggered by maternal T-cells in the infant<sup>7</sup>. Normally, these children do not have palatine tonsils, their lymph glands are underdeveloped and thymus is not visible in chest X-ray<sup>3-4,6</sup>. The usual infectious agents are *Candida albicans*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, other Gram positive and negative bacteria, respiratory viruses or of the herpes family and *Pneumocystis jiroveci*<sup>1,3,4</sup>.

## CASE REPORT

The authors present the case of a three-month-old male infant, born of a second and monitored pregnancy during which no adverse events occurred. The gestation period was 38 weeks, birth weight 3015 grams and there was good adaptation to extra-uterine life. The child complied with the National Vaccination Schedule, including one dose of conjugated anti-pneumococcal vaccine. He was born to young, non-consanguineous parents and had a healthy 3-year-old sibling. The child was seen in the Emergency Room service for failure to thrive associated to partial rejection of food with one-month evolution. The child's weight was in the fifth percentile for his age (in percentile 25 at 2 months) and his height was in percentile 25. He was breast- and bottle-fed from 2.5 months on and had presented mild rhinopharyngitis during the previous week. His brother was under medication for tonsillitis.

On physical examination he was sub-febrile, with mild peribuccal cyanosis, intermittent moaning, SpO<sub>2</sub> over 95% in environmental air and no other symptoms of respiratory distress or poor muscle mass. There were no signs of malnutrition or dehydration. He was admitted to establish a diagnosis, with hypogalactia, difficult feeding and urinary infection excluded. He started extensively hydrolyzed milk and anti-reflux

subfebril, com cianose peribucal ligeira, gemido intermitente,  $SpO_2$  superior a 95% em ar ambiente, sem outros sinais de dificuldade respiratória e massas musculares pobres, sem sinais de desnutrição ou desidratação. Foi internado para esclarecimento diagnóstico, tendo sido excluídos hipogalactia, conflito alimentar e infecção urinária. Iniciou leite extensamente hidrolisado e medidas antirrefluxo por suspeita de intolerância às proteínas do leite de vaca e de esofagite por refluxo gastroesofágico. Verificou-se agravamento da dificuldade respiratória e iniciou quadro de diarreia grave com muco, mantendo períodos de temperatura subfebril. No terceiro dia de internamento efectuou radiografia do tórax que mostrou infiltrado pulmonar alveolar difuso (Figura 1) e os exames laboratoriais revelaram hemoglobina de 9g/dL, leucócitos de  $7390 \times 10^9/L$ , neutrófilos de  $5300 \times 10^9/L$ , linfócitos de  $1500 \times 10^9/L$ , plaquetas de  $274\,000 \times 10^9/L$  e proteína C reactiva de 0,2 mg/dL. A ecografia cardíaca não mostrou alterações e a pesquisa de rotavírus e adenovírus nas fezes foi negativa. O do-seamento de imunoglobulinas mostrou défice de Ig A ( $<0,05$  g/L; N:0,044-0,84) e de Ig M (0,12 g/L; N:0,17-1,05) e valor normal de Ig G (1,9 g/L; N:1,7-10,69). No sétimo dia de internamento verifica-se novo agravamento do quadro (necessidade de oxigenoterapia suplementar por dificuldade respiratória moderada, vómitos, sinais de desidratação e distensão abdominal). Foi colocada a hipótese de imunodeficiência, pelo que iniciou fluconazol, ceftriaxone e cotrimoxazol. Apesar disso, dois dias depois, por insuficiência respiratória grave, iniciou ventilação de alta frequência. Foi conhecido o estudo das populações linfocitárias que revelou défice acentuado de linfócitos T CD4 ( $0,0 \times 10^9/L - 0,0\%$ ), CD3 ( $35 \times 10^9/L - 5\%$ ), CD8 ( $35 \times 10^9/L - 5\%$ ) e células *natural killer* ( $42 \times 10^9/L - 6\%$ ) com expansão relativa de linfócitos B ( $600 \times 10^9/L - 89\%$ ), sugestivo do diagnóstico de imunodeficiência combinada grave T-B+NK-. Iniciou terapêutica com imunoglobulina G humana polivalente na dose de 600mg/kg e foram tomadas as medidas para a reali-

measures for suspected cow's milk protein intolerance and esophagitis caused by gastro-oesophageal reflux. Worsened respiratory distress was seen and the patient started having severe mucous diarrhoea and maintained sub-febrile periods. Chest X-ray was performed on the third day of hospital admission and showed diffuse pulmonary alveolar infiltrate (Figure 1). Laboratory tests revealed haemoglobin 9g/dL, leucocytes  $7,390 \times 10^9/L$ , neutrophils  $5,300 \times 10^9/L$ , lymphocytes  $1,500 \times 10^9/L$ , platelets  $274,000 \times 10^9/L$  and C reactive protein 0.2 mg/dL. Cardiac echography did not show any alterations and tests for Rotavirus and Adenovirus in faeces were negative. Immunoglobulin levels showed deficit of Ig A ( $< 0.05$  g/L; N:0.044-0.84) and Ig M (0.12 g/L; N:0.17-1.05) with normal Ig G (1.9 g/L; N:1.7-10.69). The clinical picture worsened on the seventh day of admission requiring supplementary oxygen due to moderate respiratory difficulty, vomiting, signs of dehydration and abdominal distension. Immunodeficiency was suggested and treatment with fluconazole, ceftriaxone and cotrimoxazole was initiated. Despite this, two days later respiratory failure led to high frequency ventilation being started. Lymphocyte study showed marked deficit of T CD4-cells



**Figura 1.** Radiografia do tórax mostrando infiltrado pulmonar alveolar difuso  
**Figure 1.** Chest X-ray showing diffuse alveolar pulmonary infiltrate

zação de transplante de medula óssea. Durante o internamento isolaram-se no lavado broncoalveolar (LBA) *Pneumocystis jiroveci*, citomegalovírus e *Aspergillus fumigatus*. Efectuou terapêutica com metilprednisolona (14 dias), ganciclovir (21 dias), anfotericina B (10 dias), substituída por voriconazol por persistência do *Aspergillus fumigatus* no LBA, completando 21 dias de cotrimoxazol e 11 dias de ceftriaxone. Manteve antibioterapia de largo espectro (ceftazidime, teicoplanina e a associação piperacilina com tazobactam) e profilaxia com cotrimoxazol e ganciclovir. No 51.º dia de internamento surgiu exantema micropapular no tronco e membros associado a supuração da cicatriz da vacina com o bacilo Calmette-Guerin (BCG), pelo que foi colocada a hipótese de BCGite e disseminação do BCG. Iniciou rifampicina, isoniazida e claritromicina. Manteve-se sempre sob ventilação invasiva com parâmetros agressivos devida a síndrome de dificuldade respiratória aguda grave, o que protelou a sua transferência para o centro de transplante. Faleceu ao 57.º dia de internamento por paragem cardiorrespiratória.

Posteriormente, foram conhecidos a cultura positiva no LBA para *Mycobacterium complex* e o estudo molecular, realizado no Hospital Necker Enfants Malades, em Paris, confirmou o diagnóstico de imunodeficiência combinada grave ligada ao cromossoma X com mutação no gene  $\gamma C$  no exão 5:6691A com substituição do aminoácido R226H, que codifica a cadeia gama dos receptores de interleucinas (IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21).

A mãe foi orientada para a consulta de genética para aconselhamento genético.

## DISCUSSÃO

As SCIDs podem apresentar cinco fenótipos diferentes, de acordo com as linhas celulares afectadas: T-B-NK-, T-B+NK-, T-B-NK+, T-B+NK+ e T+B+NK+. A cada fenótipo pode corresponder mais do que um defeito molecu-

( $0.0 \times 10^9/L - 0.0\%$ ), CD3 ( $35 \times 10^9/L - 5\%$ ), CD8 ( $35 \times 10^9/L - 5\%$ ) and natural killer cells ( $42 \times 10^9/L - 6\%$ ) with relative expansion of B-cells ( $600 \times 10^9/L - 89\%$ ), suggesting a diagnosis of SCID-T-B+NK-. Human polyvalent immunoglobulin G treatment was started at 600mg/Kg and measures were taken for a bone marrow transplant. During the hospital stay, *Pneumocystis jiroveci*, Cytomegalovirus and *Aspergillus fumigatus* were isolated in the bronchoalveolar lavage (BAL). Patient was treated with methylprednisolone (14 days), ganciclovir (21 days), amphotericin B (10 days), replaced by voriconazole due to persistent *Aspergillus fumigatus* in the BAL, and 21 days of cotrimoxazole and 11 of ceftriaxone. Patient continued broad spectrum antibiotherapy (ceftazidim, teicoplanin and the association of piperacillin with tazobactam) and prophylactic cotrimoxazole and ganciclovir. On the 51<sup>st</sup> day of hospitalization, micropapular exanthema developed on the trunk and limbs associated to suppuration of the BCG (Bacillus Calmette-Guerin) vaccination scar, leading to the hypothesis of BCGitis and BCG dissemination. The patient began rifampicin, isoniazid and clarithromycin. He was maintained on aggressive invasive ventilation, due to severe acute respiratory distress syndrome, which delayed his transfer to the transplant centre. The patient died of cardiac arrest on the 57<sup>th</sup> day of hospital admission.

Subsequently, the BAL culture results were positive for *Mycobacterium complex* and the molecular study results from the Hospital Necker Enfants Malades in Paris confirmed the diagnosis of SCID, linked to the X chromosome with mutation on the  $\gamma C$  gene at the 5:6691A exon with substitution of the R226H amino acid, which codifies the gamma chain of IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 and IL-21 interleukin receptors.

The mother was referred to a genetics appointment for genetic counseling.

## DISCUSSION

Severe combined immunodeficiencies can present five different phenotypes, depending on the cell line affected: T-B-NK-, T-B+NK-, T-B-NK+, T-B+NK+ and T+B+NK+.



lar<sup>1,3,5,7</sup>. A SCID ligada ao X mais frequente (30-50% dos casos de SCID) é causada por defeito no gene que codifica a cadeia  $\gamma$  do receptor para a IL-2, a qual é comum aos receptores de IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21<sup>1,3,5,6</sup>. Tem uma prevalência de cerca de um em 50 000 a 100 000 nascimentos, atingindo crianças do sexo masculino, cuja mãe é portadora da mutação<sup>1,3-4,6</sup>. Estas crianças são saudáveis ao nascimento e na sua maioria não existe história familiar conhecida<sup>4</sup>. As vacinas do BCG ou com vírus vivo atenuado podem causar complicações graves, como infecção disseminada<sup>1,4</sup>. Laboratorialmente apresentam linfopenia ( $<2000 \times 10^9/L$ ), sobretudo à custa dos linfócitos T CD3 ( $<200 \times 10^9/L$ ), hipogamaglobulinemia (Ig A e Ig M) e Ig G com valores normais ao nascimento e diminuição progressiva até aos seis meses, com a perda das imunoglobulinas maternas<sup>4,5,6</sup>.

A SCID é uma emergência pediátrica, fatal no primeiro ano de vida<sup>1,3,4,7</sup>, pelo que é fundamental o diagnóstico precoce com o consequente isolamento, profilaxia de infecções oportunistas e transplante de medula óssea o mais rapidamente possível. Este pode ser de dador HLA idêntico, ou, na sua ausência, de HLA não idêntico ou transplante de células estaminais hematopoiéticas haploindênticas provenientes de bancos de medula óssea ou de células do cordão umbilical<sup>1,3-4,6</sup>. Nos EUA encontra-se em fase de implementação o rastreio da SCID no “teste do pezinho” através da pesquisa no ADN do gene do receptor dos linfócitos T (*T-cell receptor excision circle* – TREC), que se encontra ausente nas crianças doentes. Desta forma, é possível o início mais precoce do tratamento com melhoria do prognóstico<sup>8</sup>. O CD132 é a cadeia gama do receptor para a IL-2 e a sua expressão pode ser avaliada por citometria de fluxo após estimulação *in vitro* dos linfócitos B, podendo constituir igualmente um teste de rastreio rápido.

No caso apresentado, houve algum atraso na suspeição de imunodeficiência primária, talvez devido à clínica ser inicialmente muito fruste, apenas existindo má progressão ponderal, sem infecções associadas e sem antecedentes familiares de imunodeficiência primária. A ausência de timo na radiografia realizada no terceiro dia de internamento (Figura 1) e

Each phenotype can correspond to more than one molecular defect<sup>1,3,5,7</sup>. SCID is X-linked in 30-50% of SCID cases and in these cases it is frequently caused by a defect in the gene that codifies the  $\gamma$  chain of the IL-2 receptor, which is common in the IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 and IL-21 receptors<sup>1,3,5,6</sup>. It has a prevalence of around 1 in 50000 – 100000 births, affecting male children whose mother carries the mutation<sup>1,3-4,6</sup>. These children are healthy at birth and the majority has no known family history<sup>4</sup>. BCG vaccines or vaccines with attenuated live virus can cause serious complications, such as disseminated infections<sup>1,4</sup>. Laboratory tests reveal lymphopaenia ( $< 2,000 \times 10^9/L$ ), particularly at the cost of T CD3-cells ( $< 200 \times 10^9/L$ ), hypogammaglobulinaemia (IgA and IgM) and IgG with normal levels at birth and progressive decrease up to 6 months, with the loss of maternal immunoglobulins<sup>4,5,6</sup>.

Severe combined immunodeficiency is a paediatric emergency, fatal in the first year of life<sup>1,3,4,7</sup>, making early diagnosis crucial with consequent isolation, prophylactic treatment of opportunistic infections and bone marrow transplant as soon possible. Bone marrow could be donated from an identical HLA donor or, if not available, non-identical HLA or via transplant of haplo-identical haematopoietic stem cells from a bone marrow bank or umbilical cord cells<sup>1,3-4,6</sup>. The USA is currently implementing routine post-natal SCID screening with the Guthrie test, via DNA research into the T-cell receptor (T-cell receptor excision circle – TREC), which is absent in the diseased children. In this way, it is possible to initiate early treatment with improved prognosis<sup>8</sup>. CD132 is the gamma chain of the IL-2 receptor and its expression may be evaluated using flow cytometry following *in vitro* stimulation of B-cells, which can also be a quick screening test.

There was a delay in suspecting primary immunodeficiency in the case presented here, perhaps as a result of the initially puzzling clinical picture which revealed only failure to thrive with no associated infections and no family history of primary immunodeficiency. The absence of thymus in the X-ray taken on the 3<sup>rd</sup> day of hospital ad-

a linfopenia ( $1500 \times 10^9/L$ ) são sinais de alerta para a SCID que não foram valorizados. Verificou-se posteriormente um agravamento rápido do quadro clínico com necessidade de ventilação mecânica. Após ter sido colocada a hipótese de SCID, o lactente não apresentou critérios clínicos que permitissem a sua transferência para um centro especializado em transplante de medula óssea, terapêutica que deve ser equacionada mesmo antes do diagnóstico genético.

Os autores pretendem com a apresentação deste caso chamar a atenção para esta patologia e sua forma de apresentação. A SCID, apesar de rara, está certamente subdiagnosticada no nosso país, dado que o número de casos registado é inferior ao que seria previsível na população portuguesa. Num lactente com quadro de má progressão ponderal associado a linfopenia e ausência de timo na radiografia do tórax, o diagnóstico de SCID deve ser evocado de imediato<sup>4,7</sup>.

**Declaração de potenciais conflitos de interesse:** Nenhum declarado.

*Contacto/Correspondence to:*

Sónia Silva; Hospital Pediátrico de Coimbra – Av. Bissaya Barreto 3000-075 Coimbra;  
e-mail: silvasos@gmail.com / soniasilva@chc.min-saude.pt

mission (Figure 1) and the lymphopaenia ( $1,500 \times 10^9/L$ ) are red flags for SCID which were not taken into account. There was a subsequent rapid deterioration of the clinical picture with need for mechanical ventilation. When the SCID possibility was raised, the infant did not present clinical criteria for transfer to a specialised bone marrow transplant centre, treatment which must be considered even prior to genetic diagnosis.

In presenting this case, the authors wish to draw attention to this condition and its form of presentation. Severe combined immunodeficiency is rare but also certainly under-diagnosed in Portugal; the number of cases registered is lower than what would be expected in the national population. An infant with failure to thrive associated to lymphopaenia and thymic absence in the chest X-ray should immediately raise a diagnosis of SCID<sup>4,7</sup>.

**Potential conflicts of interest disclosure:** None declared.

## REFERÊNCIAS / REFERENCES

1. Santos M, Vasconcelos J, Neves E, Melo C. Imunodeficiências. In: Arosa F, Cardoso E, Pacheco F (Eds.). Fundamentos de Imunologia. 1.ª Edição. Lisboa: Lidel; 2007:211-35.
2. Geha RS, Notarangelo LD, Casanova J, Chapel H, Conley ME, Fischer A, et al. Primary immunodeficiency diseases: an update from the international union of immunological societies primary immunodeficiency diseases classification committee. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:776-94.
3. Sinha S, Schwartz RA. Severe Combined Immunodeficiency. [updated 2006 Aug 21]. Available from: <http://www.emedicine.com/ped/TOPI2083.HTM> 7.
4. Puck JM. X-linked severe combined immunodeficiency. In: Ochs H, Smith E, Puck J (Eds.). Primary immunodeficiency diseases. A molecular and genetic approach. Second edition. New York: Oxford University Press; 2006: 99-109.
5. XSCID – ESID diagnostic criteria for PID. [updated 2005]. Available from: <http://www.esid.org/downloads/XSCID.doc>
6. Vries E. Patient-centred screening for primary immunodeficiency: a multi-stage diagnostic protocol designed for non-immunologists. *Clin Exp Immunol* 2006;145:204-14.
7. Elder ME. T-cell immunodeficiencies. *Pediatr Clin North Am* 2000;47:1253-73.
8. Puck JM. Population-based newborn screening for severe combined immunodeficiency: steps toward implementation. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:760-8.