

Screening neonatal

*Gema Matilde Calderón López, Francisco Jiménez Parrilla,
Antonio Losada Martínez.*

Servicio de Neonatología. H. Infantil. Virgen del Rocío de Sevilla

INTRODUCCIÓN

El cribado se puede definir como la aplicación de procedimientos de selección a poblaciones de individuos aparentemente “sanos” con objeto de identificar, en la fase de latencia, a aquellos que pueden estar enfermos o que presentan un riesgo incrementado de padecer una determinada enfermedad porque presentan un factor de riesgo. Se trata de separar aquellos individuos que pueden estar enfermos o en riesgo de padecer una determinada enfermedad de aquellos que no lo están. Hay que resaltar que los métodos de cribado no son procedimientos diagnósticos. Son pruebas capaces de descartar a un alto porcentaje de la población estudiada, de manera que el número de falsos negativos por una baja sensibilidad y de falsos positivos por escasa especificidad, sean mínimos. En los individuos que se obtenga un resultado positivo se realizarán procedimientos diagnósticos posteriores para confirmar la enfermedad y, en su caso, recibir tratamiento.

Los programas de cribado neonatal se consideran una actividad esencial dentro de las actuaciones en materia preventiva en Salud Pública. Entre 1-2 de cada mil recién nacidos, aparentemente sanos, padecen trastornos del metabolismo que, de no tratarse adecuadamente, alguno de ellos puede ser causa de incapacidad.

El núcleo básico de estos programas lo constituyen aquellas enfermedades endocrino-

metabólicas en las que una detección y tratamiento precoz evita el daño neurológico, reduce la morbimortalidad y disminuye las posibles discapacidades asociadas a dichas enfermedades. Son muchas las técnicas usadas para la medición de metabolitos en sangre impregnada en papel absorbente, a destacar el enzimoimmunoanálisis (ELISA), inmunofluorescencia, métodos cromatográficos, técnica de ADN y la espectrometría de masas en tándem, esta última aplicada en la detección de enfermedades metabólicas en pacientes sintomáticos.

CRIBADO NEONATAL CLÁSICO O NO SELECTIVO

Lo podemos definir como el proceso de detección de una enfermedad a través de una prueba que pueda ser aplicada de forma rápida y precoz para identificar a recién nacidos aparentemente sanos y que por la naturaleza de la enfermedad sufrirían posteriormente consecuencias irreversibles, especialmente en los procesos que afectan al SNC.

Se deben cumplir dos objetivos fundamentales:

- La detección precoz neonatal debe dar cobertura al 100% de los recién nacidos vivos en el área de población de cada centro de detección neonatal.
- El tratamiento de los casos detectados como positivos debe iniciarse antes del primer mes de vida.

Tabla I. Criterios que debe satisfacer una enfermedad para ser incluida en un programa de detección precoz neonatal financiado por el Sistema Público de Salud. "Committee on Screening for Inborn Errors of Metabolism, Genetic Screening : Programmes, Principles and Research (1975). National Academy of Sciences, Washington DC."

1. La enfermedad cursa con morbilidad mental o física severa y/o mortalidad si no se diagnostica en el periodo neonatal.
2. La búsqueda clínica mediante un simple examen físico no es efectiva y no identifica la enfermedad en este periodo.
3. Existe un tratamiento efectivo disponible.
4. El tratamiento precoz mejora significativamente el pronóstico.
5. La enfermedad tiene una incidencia relativamente elevada: > 1 por 10.000-15.000 recién nacidos.
6. Existe un test analítico de cribado, rápido, sencillo, fiable y de bajo coste.

Para que una enfermedad sea incluida en un programa de detección precoz en el Sistema Público de Salud, debe cumplir unos criterios (Tabla I) establecidos por el "Committee on Screening for Inborn Errors of Metabolism, Genetic Screening : Programmes, Principles and Research. National Academy of Sciences, Washington DC." en 1975, que mantienen su vigencia en la actualidad. El cumplimiento de estos criterios es la causa de que muy pocas enfermedades metabólicas, sean susceptibles de formar parte de un programa de detección sistemática neonatal. De las enfermedades incluidas en los distintos programas de cribado las dos únicas para la que hay un consenso total respecto a su inclusión en los programas de cribado son la fenilcetonuria y el hipotiroidismo congénito (Tabla II).

En España, según los datos actualizados a diciembre de 2006, presentados por la Asociación Española de Cribado Neonatal, de los 21 centros de cribado existentes en España todos llevan a cabo la detección de hipotiroidismo congénito e hiperfenilalaninemia, 5 centros realizan el cribado de la

hiperplasia suprarrenal congénita, 1 centro realiza la detección del déficit de biotinidasa, 6 centros realizan la detección de fibrosis quística y un centro usa la tecnología de espectrometría de masas en tandem aplicada al cribado neonatal.

OBTENCIÓN DE LA MUESTRA.

La muestra se obtiene habitualmente una muestra de sangre capilar obtenida mediante punción del talón del recién nacido impregnando un papel absorbente con un volumen estandarizado. El momento óptimo de la obtención de la muestra es controvertido. Anteriormente se carecía de métodos de cribado con la calidad necesaria para poder analizar de forma fiable pequeñas cantidades del metabolito diana. Para la detección de la fenilcetonuria se requería que transcurriera un tiempo suficiente de aporte proteico para alcanzar unos niveles de fenilalanina suficientes para ser detectados. En la actualidad, existen métodos que permiten detectar niveles de fenilalanina bajos (< 2.5 mg/dl) permitiendo realizar la detección de

Tabla II. Relación de las enfermedades incluidas en algunos programas de cribado neonatal europeos

- Hiperfenilalaninemias
- Hipotiroidismo congénito
- Galactosemia
- Hiperplasia suprarrenal congénita
- Hemoglobinopatías
- Deficiencia de biotinidasa
- Enfermedad de jarabe de arce
- Homocistinuria
- Fibrosis quística
- Defectos de la beta-oxidación de ácidos grasos de cadena media
- Tirosinemia

fenilcetonuria a partir de las 48 h de vida sin que el aporte proteico sea una condicionante a la hora de obtener la muestra. El cribado endocrino-metabólico neonatal debe aspirar a garantizar una cobertura del 100 %, lo que sólo puede conseguirse si la extracción se realiza antes del alta de la maternidad. Por ello la Comisión de Errores Metabólicos congénitos de la Sociedad de Bioquímica Clínica y Patología Molecular recomienda que, como norma general, la extracción de sangre del talón debe realizarse tan pronto como sea posible a partir de las 48h de vida recomendando dos estrategias alternativas según los diversos condicionantes geográficos y de infraestructura de cada comunidad autónoma para garantizar la cobertura al 100% de los recién nacidos de su área:

– Extracción única. A partir de las 48 h de vida del recién nacido, con alimen-

tación proteica instaurada, ya sea por vía enteral o parenteral, obteniéndose una sola muestra para la detección de hipotiroidismo, fenilcetonuria e hiperplasia suprarrenal congénita.

– Extracción doble. La primera extracción a partir de las 48 h de vida, antes del alta hospitalaria, para detección de hipotiroidismo e hiperplasia suprarrenal congénita y la segunda a partir del quinto día de vida para la detección de fenilcetonuria.

DETECCIÓN DEL HIPOTIROIDISMO.

El hipotiroidismo congénito se define como la situación resultante de una disminución congénita de la actividad biológica tisular de las hormonas tiroideas, bien por producción deficiente, ya sea a nivel hipotálamo - hipofisario (hipotiroidismo central), o a nivel tiroideo (hipotiroidismo primario), o bien por resistencia a su acción o alteración de su transporte en los tejidos diana (hipotiroidismo periférico). El hipotiroidismo congénito tiene una importancia extraordinaria en el niño por su potencial repercusión sobre su desarrollo intelectual, dado que las hormonas tiroideas son imprescindibles para el desarrollo cerebral durante las etapas prenatal y postnatal. El hipotiroidismo congénito es la causa de retraso mental prevenible más frecuente. Desde que se iniciaron los programas de detección precoz los objetivos prioritarios han sido: alcanzar la cobertura total, instaurar el tratamiento lo antes posible y obtener el menor número de falsos negativos. La frecuencia de la enfermedad 1/3500 RN vivos justifica la existencia de un programa de cribado neonatal; enfermedad que diagnosticada precozmente y puesto el tratamiento dentro del primer mes de

vida, han mostrado coeficientes de inteligencia dentro de los límites de la normalidad, sin presentar problemas de aprendizaje y crecimiento satisfactorio .

El cribado sistemático neonatal se basa en la determinación del nivel de TSH en sangre obtenida del talón de los recién nacidos y depositada en cartulinas de papel de filtro. El nivel de TSH, por definición está siempre elevado en el hipotiroidismo primario. El estudio de confirmación de los casos positivos o dudosos se realiza mediante la medida de los niveles séricos de T4 libre que habitualmente está descendido pero que en algunos casos puede ser normal, y de TSH que está elevado. Ambas determinaciones confirman el diagnóstico de hipotiroidismo. La ecografía y gammagrafía tiroidea, medida de la concentración sérica de tiroglobulina, determinación del título de anticuerpos antitiroideos y yoduria esclarecen la etiología.

El objetivo principal de los programas de cribado neonatal es evitar el retraso mental. Actualmente se persigue, además, que los niños afectados de hipotiroidismo congénito lleguen a alcanzar su potencial intelectual, es decir que tengan un CI no solo normal sino igual al de los niños sanos, evitar o paliar secuelas neuropsicológicas, de forma que la escolaridad sea normal, la cualificación profesional sea adecuada y en definitiva que consigan una óptima integración social. Los años transcurridos desde la puesta en marcha de los programas han permitido conocer en los pacientes detectados en la primera década los resultados a largo plazo del cociente intelectual y de los factores implicados. El conocimiento de todos estos hechos ha ido obligando a adoptar diversas medidas de optimización de los programas. Dichas medidas se han basado en dos puntos: a) la ampliación del espectro del hipoti-

roidismo ha aconsejado bajar el nivel de corte de TSH para detectar casos menos expresivos; y b) la comprobación de que la pérdida de puntos de CI no es lineal, sino que se pierden varios puntos por semana durante las primeras semanas, ha inducido a acortar la edad de comienzo del tratamiento y a administrar dosis iniciales de L-tiroxina más elevadas con objeto de normalizar más rápidamente los niveles séricos de T4.

Estas medidas han dado lugar a la concepción actual del programa de cribado neonatal, que considera, que la detección del hipotiroidismo congénito no debe ser solo precoz sino urgente, y que la administración inicial de L-tiroxina no debe ser ya a dosis sustitutivas sino a dosis altas terapéuticas de 10-15 mcg/kg/día. En el programa de cribado neonatal que se lleva a cabo en el Hospital Universitario Miguel Servet desde el año 1979, y de acuerdo con los protocolos elaborados por el grupo de trabajo de tiroides de la Sociedad Española de Endocrinología Pediátrica de la AEP constituido en el año 1985, las medidas de optimización más importantes, cronológicamente, han sido: a) incrementar la dosis inicial de L-tiroxina de 8-10 mcg/kg/día a 10-15 mcg/kg/día (año 1990); y b) adelantar la obtención de las muestras de sangre de los recién nacidos en los propios centros maternos, antes de irse de alta las madres y bajar el nivel de corte de TSH de 25 a 20 mcU/mL.

El protocolo de seguimiento bioquímico de los casos dudosos es el siguiente: a los neonatos cuyas cifras de TSH se encuentran entre 10 y 20 U/ml se les repite la determinación de la muestra obtenida a partir del 5 día de vida para fenilcetonuria. Si este segundo valor de TSH continúa siendo superior a 10 U/ml, se mide en suero TSH, tiroxina libre (T4L), tiroglobulina (Tg), peroxidasa tiroi-

dea (TPO), y anticuerpo antirreceptor de TSH, para confirmar el diagnóstico. Estas mismas determinaciones se repiten en su madre. Cuando las cifras son superiores a 20 U/ml, se procede a la confirmación directamente. (Gráfico 1)

Desde 1995 en los recién nacidos prematuros, se recomienda una segunda toma en papel a los 14 días de vida y en los muy prematuros (menores de 27 semanas), al alta hospitalaria. Asimismo, en la actualidad se acepta que la función tiroidea pueda estar compensada entre los dos gemelos, resultando un falso negativo en el caso de ser uno de ellos hipotiroideo congénito. De los datos que se presentan se deduce la necesidad de repetir la prueba a los 14 días en todos los nacimientos gemelares.

DETECCIÓN DE FENILCETONURIA

La fenilcetonuria es el más frecuente de los trastornos metabólicos hereditarios que resulta en una alteración de la fenilalanina hidroxilasa, encargada de convertir la fenilalanina a tirosina en el hígado conjuntamente con su cofactor la tetrahidropterina (BH4) también utilizada por otros sistemas enzimáticos. La eliminación de fenilpirúvico por orina, puesta de manifiesto por su efecto reductor capaz de pasar las disoluciones de las sales férricas (marrón) a ferrosas (verde), fue la prueba que permitió en 1934 definir la enfermedad en niños afectados de retraso mental no filiado hasta entonces. El déficit de esta enzima da lugar a un acúmulo patológico de fenilalanina que da lugar a alteraciones estructurales del sistema nervioso central, con interferencia en el proceso de maduración cerebral, en la migración de los neuroblastos y en la estratificación del córtex condicionando la

aparición de un retraso psicomotor y un deterioro intelectual severos e irreversibles en poco tiempo. Estos trastornos pueden prevenirse si se instaura una dieta pobre en fenilalanina. Pero este tratamiento dietético ha de iniciarse en los primeros días de vida y antes de que aparezcan los síntomas clínicos. Los programas de screening en el recién nacido y el tratamiento dietético ha modificado drásticamente su pronóstico. Su herencia es de tipo autosómica recesiva y su frecuencia oscila entre 1/4000-40.000 nacidos vivos. El gen responsable de la enfermedad se ha localizado en el cromosoma 12 (12q24.1).

Diferentes estudios han servido de base a las diferentes guías de tratamiento donde se especifican las concentraciones óptimas de fenilalanina en cada edad;

En los programas de cribado la detección se lleva a cabo por medición de fenilalanina mediante técnicas de:

Fluorimetría.

Cromatografía en capa fina.

Enzimáticas.

Los niveles máximos de fenilalanina en sangre quedan de la siguiente forma:

Menores de 5 años: 360mcMol/L = 6mg/dl.

5-10 años: 480 mcMol/L = 8 mg/dl.

Más de 10 años: 700mcMol/L = 11.7mg/dl.

El punto de corte está establecido en >2 mg/dl.

En ocasiones estos resultados de expresan como mg/dl, es útil saber que 60mcMol/L equivalen a 1mg/dl.

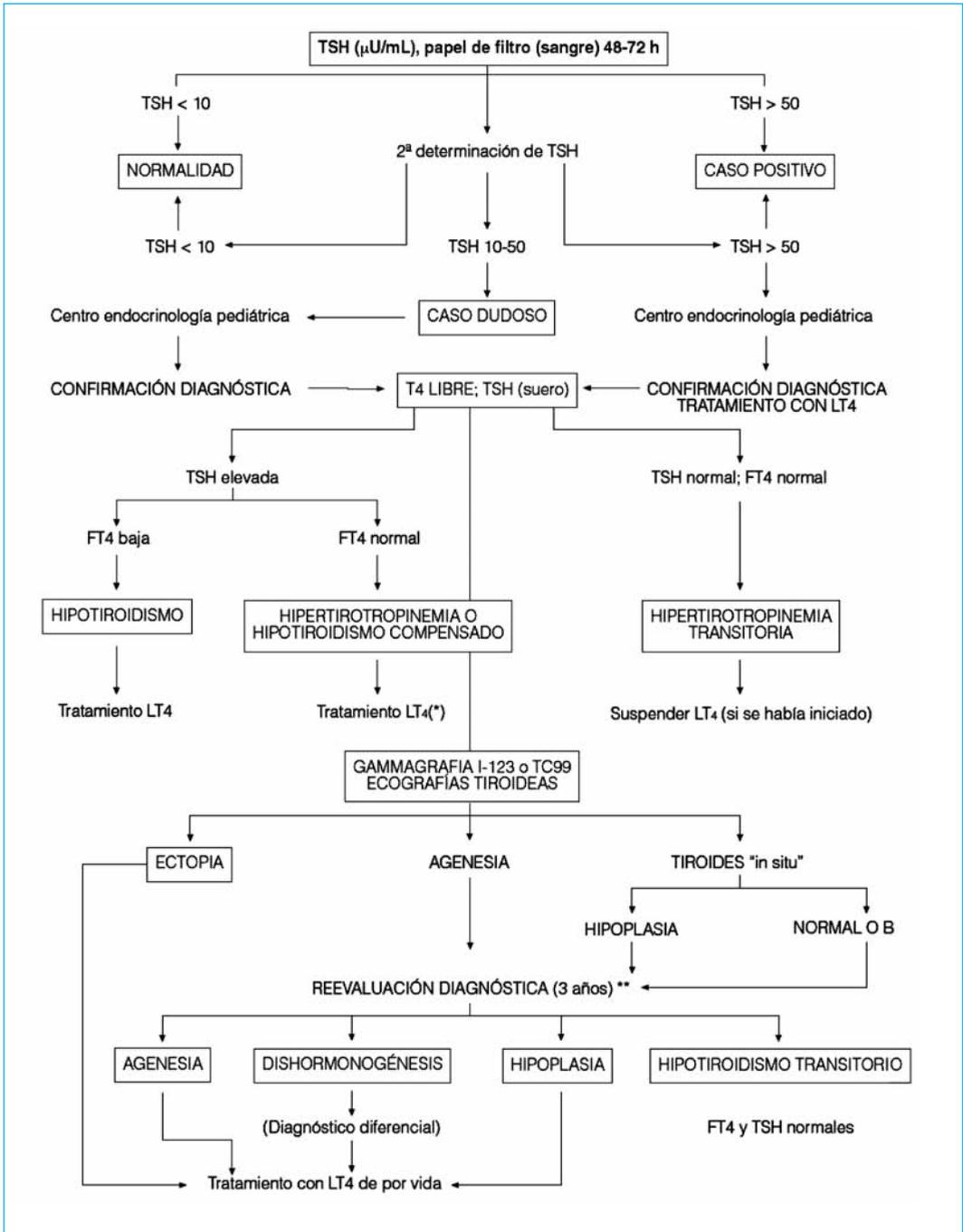


Figura 1. Iniciar tratamiento en todas las disgenesias y en los tiroides “in situ” si la FT₄ < p10 y/o TSH tras TRH > 35 U/mL. Mismo estudio que para la confirmación diagnóstica

SCREENING DE LA FIBROSIS QUÍSTICA.

La fibrosis quística es una enfermedad autonómica recesiva cuya prevalencia varía de 1/2.000 a 1/ 4.000 nacidos vivos. Clínicamente se caracteriza por una anomalía exocrina generalizada con una anormal viscosidad de las secreciones que ven de esta forma dificultada su eliminación acumulándose en los conductos excretores llevando a una obstrucción pulmonar crónica, infecciones y alteraciones digestivas. Está producida por una mutación del gen que codifica la proteína reguladora de la conductancia transmembrana (CFTR) ubicado en el brazo largo del cromosoma. Se conocen más de 700 mutaciones para el gen de la CFTR. La más frecuente es la delta F508 que en España representa un 50% de todas las mutaciones. Se estima que una de cada 25 personas es portadora de la enfermedad.

La tripsina se encuentra elevada en edades tempranas de la enfermedad debido a la obstrucción de los conductos pancreáticos exocrinos y estas cifras se mantienen altas al cabo de los 28 días de vida en los pacientes afectados de la enfermedad. La determinación se realiza mediante el análisis en sangre seca. La detección puede realizarse mediante técnicas de radioinmunoensayo (RIA), inmunofluorescencia a tiempo retardado (DELFLIA) o enzimoimmunoensayo (ELISA). Dependiendo del método utilizado los valores obtenidos pueden tener diferentes interpretaciones en cuanto a las cifras de normalidad. Con el DELFLIA se consideran normal la concentración por debajo de 60 ng/ml.

Los resultados falsos positivos de esta determinación pueden ser debidos a la raza o el estado de portador. En cuanto a los falsos negativos se ven influenciados por la edad

de realización de la prueba y por la presencia de íleo meconial.

Como método de screening es un método sensible pero con insuficiente especificidad, por lo que se ha adoptado de forma más generalizada un protocolo en dos etapas para reducir el número de falsos positivos y mejorar el valor predictivo positivo.

No existe un consenso acerca de la estrategia a utilizar y como consecuencia se observa una elevada variabilidad entre los diferentes programas de cribado.

Entre las estrategias de cribado llevadas a cabo se encuentran una determinación inicial de TIR seguido de análisis de ADN para las mutaciones más frecuentes o una determinación inicial de TIR seguida de una segunda determinación de TIR a los 20-30 días si la primera ha sido elevada y posterior análisis de ADN sólo a los que siguen dando un resultado positivo.

El papel del cribado neonatal permanece controvertido en el momento actual y hay pocos países que los hayan establecido de modo generalizado. Hay estudios observacionales que defienden su utilidad al describir menos hospitalizaciones, menor morbilidad y mejor estado nutricional en los dos primeros años de vida en los pacientes diagnosticados por cribado neonatal, además de posibilitar consejo genético a las familias del paciente afectado, evitar la angustia que supone la falta de diagnóstico en un niño con manifestaciones clínicas y soslayar la realización de investigaciones innecesarias. (Gráfico 2)

Hay sólo dos estudios randomizados controlados comparando los resultados a largo plazo en niños diagnosticados por cribado neonatal o por su sintomatología clínica en ellos se comprueba que aunque la detec-

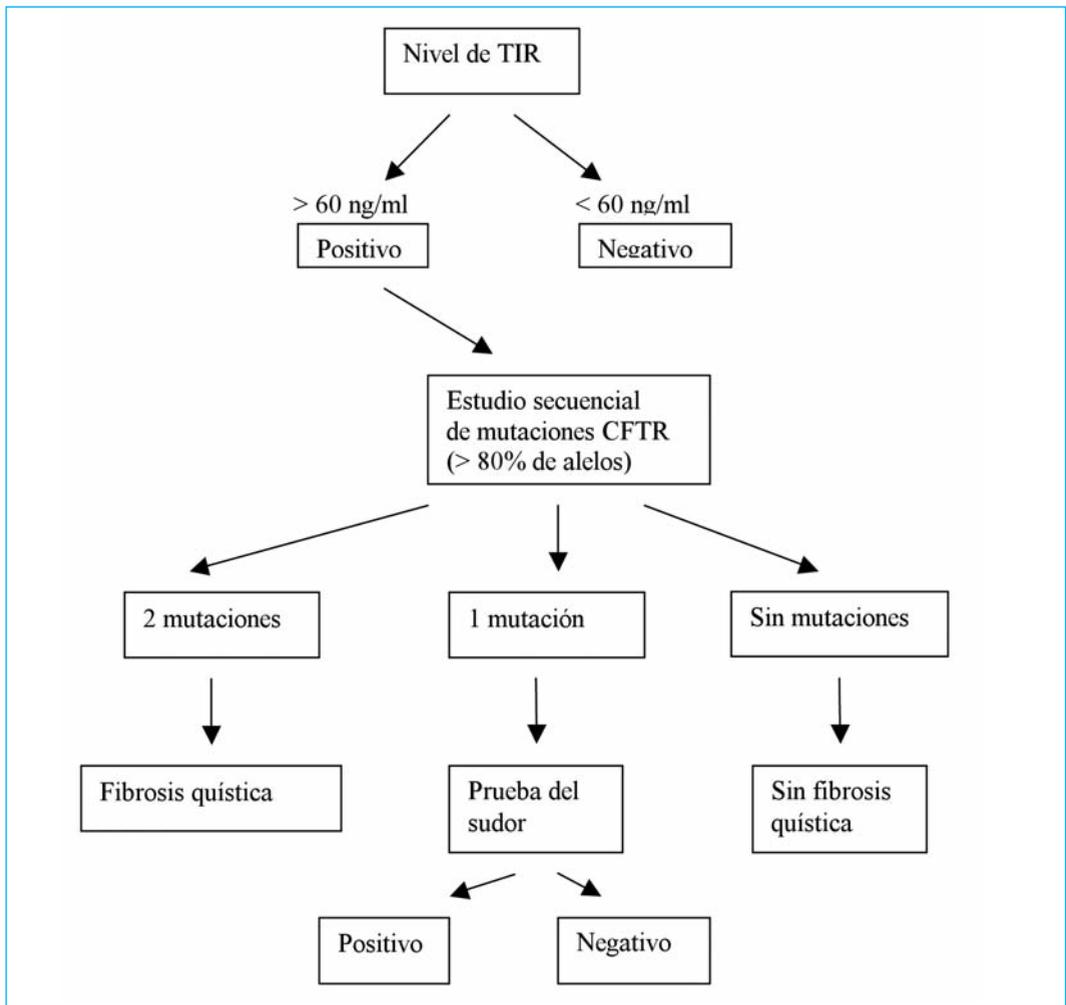


Figura 2.

ción neonatal de FQ ofrece una oportunidad potencial de mejorar el pronóstico respiratorio, parece que son la existencia de insuficiencia pancreática y las infecciones respiratorias los factores que marcan dicho pronóstico, y que el diagnóstico precoz per se no asegura que sea mejor

SCREENING DE LA HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA.

La prevalencia en España es de alrededor de 1/15000. Es debida generalmente a la ausencia o disminución del enzima 21 hidroxilasa que da lugar a un bloqueo en la síntesis de cortisol con aumento secundario de la síntesis

sis de andrógenos y virilización del feto. Se produce asimismo con mucha frecuencia un cuadro de pérdida salina hacia las dos semanas de vida. El tratamiento con hidrocortisona estabiliza el problema y permite un crecimiento normal. En algunos casos se precisa añadir mineralcorticoides.

La determinación de 17-hidroxiprogesterona (17-OHP) presenta una buena sensibilidad para el diagnóstico de la enfermedad.

La detección se realiza mediante la determinación de 17-OHP en sangre seca, obtenida mediante punción del talón usando técnicas de inmunofluorescencia a tiempo retardado (DELFA) . Se debe recoger a partir de las 48 horas de vida para que tenga el máximo beneficio ya que, antes se pueden producir muchos falsos positivos.

El punto de corte está establecido en > 30 nmol/l (10 ng/ml). Si los valores se encuentran entre 30-60 nmol/l (10-20 ng/mL), se debe repetir la muestra del talón o valorar extracción venosa para confirmar. Cuando los valores sean superiores a 60 nmol/l (20 ng/mL) , el paciente deberá ser remitido a un centro hospitalario de manera urgente para confirmar el resultado mediante extracción sanguínea y determinación sérica de 17-OHP. Los pretérmino tienen niveles aumentados de 17-OHP, por lo que se debe relacionar el valor de 17 OHP con la edad gestacional.

APLICACIÓN DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASA EN TANDEM AL SCREENING NEONATAL

En los últimos años algunas Comunidades han incorporado la espectrometría de masas en tandem automatizada como método de cribado metabólico neonatal. La Espectro-

metría de Masa en *Tandem* (EMT) es un procedimiento por el cual se pueden identificar en forma temprana, una gran cantidad de enfermedades metabólicas, simultáneamente, que ponen en riesgo la calidad de vida futura del recién nacido. Mediante esta técnica es posible realizar un “perfil metabólico” en la misma gota de sangre desecada, a partir del cual se descartan al menos 32 de los EIM, muchos de los cuales son adecuadamente tratables. El análisis de determinados metabolitos (acil-carnitinas) en la sangre desecada y más aún la posibilidad de estudiar el perfil de ácidos orgánicos en la orina del recién nacido permite detectar mediante la tecnología basada en el *tandem* masas, varios trastornos del metabolismo de los aminoácidos, ácidos orgánicos y ácidos grasos de forma simultánea. Uno de estos son los aminoácidos, valores elevados de aminoácidos específicos pueden indicar la presencia de diferentes aminoacidopatías o trastornos en el ciclo de la urea. El otro grupo lo forman las acilcarnitinas, que son parte del metabolismo de los ácidos grasos y otros ácidos orgánicos. Altas concentraciones de acilcarnitinas pueden indicar alguno de más de 20 desórdenes congénitos. Dentro de estas patologías se encuentran los defectos de beta oxidación de ácidos grasos que en conjunto tienen una incidencia de 1:9.000 recién nacidos. Estas enfermedades son consideradas catastróficas si no son detectadas en el período neonatal, ya que el ayuno prolongado ocasiona la muerte en 25 a 30% de estos pacientes, y el tratamiento consiste en mantener una alimentación frecuente evitando el ayuno prolongado y lo que es de muy bajo costo.

Estos programas de cribado metabólico ampliado obligan a un cambio tecnológico de las Unidades de Bioquímica y suponen un acercamiento o traslación de conocimientos o aplicaciones básicas y especialidades a la práctica asistencial habitual. Asimismo, los

programas de cribado metabólico ampliado favorecen el desarrollo de otros programas de cribado de enfermedades genéticas que pueden suponer un beneficio indirecto difícil de valorar derivados del consejo genético. Debemos tenerse en cuenta que, en la

actualidad, si bien la EMT permite la incorporación de nuevas enfermedades congénitas al screening neonatal, se trata de una prueba complementaria que de ninguna manera sustituye a las pruebas clásicas en uso en la actualidad.

Tabla III. Enfermedades con investigación mediante Screening por EMT

1. Aminoacidopatías

- Fenilcetonuria
- Hiperfenilalaninemias
- Hiperornitinemia
- Hipermetioninemias
- Tirosinemias
- Citrulinemia
- Leucinosis
- Acidemia Argininosuccínica
- Hiperlglicinemia

2. Acidurias Orgánicas

- Deficiencia de 3-Hidroxi-3-Metilglutaril-CoA Liase (HMG)
- Acidemia Glutarica Tipo I (AG 1)
- Deficiencia Isobutil-CoA dehidrogenasa
- Acidemia Isovalérica (AIV)
- Deficiencia 2-Metilbutiril-CoA Dehidrogenasa
- Deficiencia 3-Metilcrotonil-CoA Carboxilasa
- Deficiencia 3-Metilglutaconil-CoA Hidratasa
- Acidemia Metilmalónica (AMM)
- Deficiencia Metilmalonil-CoA Mutasa
- Defectos de Síntesis de algunas Adenosilcobalaminas
- Deficiencia Materna de Vitamina B12
- Deficiencia Mitocondrial de Acetoacetyl-CoA Tiolasa
- Acidemia Propiónica (AP): Presentación neonatal
- Deficiencia Múltiple de CoA carboxilasas

3.- Trastornos en la Betaoxidación de Ácidos Grasos

- Deficiencia Carnitina/Acilocarnitina Translocasa
- Deficiencia 3-Hidroxi-Acil-CoA Dehidrogenasa de ácidos Grasos de cadena larga (LCHAD)
- Deficiencia de Acil-CoA Dehidrogenasa de ácidos Grasos de cadena mediana (MCAD)
- Deficiencia Múltiple de Acil-CoA Dehidrogenasa (MADD o Acidemia Glutárica-Tipo II)
- Deficiencia Neonatal de Carnitina Palmitoil Transferasa -Tipo II (CPT-II)
- Deficiencia de Acil-CoA Dehidrogenasa de ácidos Grasos de cadena corta (SCAD)
- Deficiencia de Acil-CoA Hidroxi Dehidrogenasa de ácidos Grasos de cadena corta (SCHAD)
- Deficiencia de Acil-CoA dehidrogenasa de Ácidos Grasos de cadena muy larga (VLCAD)
- Deficiencia de Proteína Trifuncional (Deficiencia TFP)

BIBLIOGRAFÍA

1. Salleras L, Domínguez A, Fores MD. Los métodos de medicina clínica preventiva (y III). Cribados. *Med Clin (Barc)* 1994;102(Suppl 1):S26-34.
2. Programas de Cribado Neonatal en España. I Congreso Nacional de la Asociación Española de Cribado Neonatal (AECNE) y XIII Reunión de los Centros de Cribado Neonatal
3. Espada M, Dulín E. Comisión errores metabólicos (SEQC). Procedimiento para la obtención y recogida de especímenes de sangre sobre papel de filtro en los programas de detección precoz neonatal de errores congénitos del metabolismo. *Química Clínica* 2001; 20: 81-88
4. Mayayo E, Santisteban P, Vicens Calvet E. Patología tiroidea fetal y neonatal. Argente Oliver J, Carrascosa Lezcano A, Graña Bouthelie R, Rodríguez, Hierro F, eds. *Tratado de Endocrinología Pediátrica y de la Adolescencia*. Barcelona: Doyma; 2000. p. 647-700.
5. Phillips III JA. Genetics of growth retardation. *J Pediatr Endocrinol Metab* ; 17 (suppl 3): 385-99.
6. Mayayo E, Santisteban P, Labarta JI, Ferrández A. Hipotiroidismo congénito. En: Pombo M, ed. *Tratado de Endocrinología Pediátrica*. 3ª edición. Madrid: McGraw-Hill Interamericana de España, S.A.U.; 2002. p. 532-56.
7. Kempers MJE, van der Sluijs L, Nijhuis-van der Sanden MWG, Koistra L, Wiedijk BM, Faber I, et al. Intellectual and motor development of young adults with congenital hypothyroidism diagnosed by neonatal screening. *J Clin Endocrinol Metab* 2006: 418-24.
8. Van Tijn DA, De Vijlder JJM, Verbeeten B, Verkerk PH, Vulsma T. Neonatal detection of congenital hypothyroidism of central origin. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 3350-9.
9. Robert Rapaport, MD Thyroid function in the very low birth weight newborn: Rescreen or reevaluate? *J Pediatr* 2002;140:287-9.
10. J. H. Walter et al. How practical are recommendations for dietary control in phenylketonuria? *Lancet* 360 (9326): 55-57, 2002.
11. Murray J, Cuckle H, Taylor G, Littlewood J, Hewison J. Screening for cystic fibrosis. *Health Technol Assess* 1999;3(8):i-iv, 1-104.
12. Tellería Orriols JJ, Alonso Ramos MJ, Garrote Adrados JA, Fernández Carvajal I, Blanco Quirós A. Cribado neonatal para fibrosis quística. *An Esp Pediatr* 2002;57(1):60-5