

**COLABORACIÓN ESPECIAL**

Recibido: 15 de septiembre de 2020

Aceptado: 14 de octubre de 2020

Publicado: 16 de diciembre de 2020

**EVALUACIÓN Y PERSPECTIVA DE 20 AÑOS DE CRIBADO NEONATAL EN GALICIA. RESULTADOS DEL PROGRAMA**

Paula Sánchez Pintos (1), José Ángel Cocho de Juan (1), M. Dolores Bóveda Fontán (1), Daisy E. Castiñeiras Ramos (1), Cristóbal Colón Mejeras (1), Agustín Javier Iglesias Rodríguez (1), María José de Castro López (1), José Ramón Alonso Fernández (1), José María Fraga Bermúdez (1) y María Luz Couce Pico (1)

(1) Unidad de Diagnóstico y Tratamiento de Enfermedades Metabólicas Congénitas. Servicio de Neonatología. Hospital Clínico Universitario. Santiago de Compostela. España.

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés.

**RESUMEN**

El Programa Gallego para la Detección Precoz de Enfermedades Endocrinas y Metabólicas se inició en 1978 y fue pionero en España en el cribado neonatal ampliado con la incorporación de la espectrometría de masas en julio de 2000. Como objetivo primario se criban veintiocho enfermedades, incluyendo las de la cartera básica del Servicio Nacional de Salud excepto la anemia de células falciformes, que está en fase de inclusión.

En sus veinte años de trayectoria se analizaron 404.616 recién nacidos (RN), identificando 547 casos afectados de las enfermedades incluidas, con una incidencia global de 1:739 RN vivos y de 1:1.237 RN de las enfermedades metabólicas congénitas (EMC) cribadas (1:1.580 RN excluyendo la hiperfenilalaninemia benigna-HPA), con una participación media del 99,35%, progresivamente creciente durante el período analizado. Entre las patologías cribadas destacan por su incidencia el hipotiroidismo congénito (1:2.211 RN), la cistinuria (1:4.129 RN) y la HPA (1:5.699 RN), seguida de fenilcetonuria y fibrosis quística (1:10.936 RN).

Se identificaron sesenta y seis casos de falsos positivos (diecisiete de los mismos en relación con patología materna) y cinco falsos negativos, siendo el VPP (valor predictivo positivo) y el VPN (valor predictivo negativo) global del programa del 89,2% y 99,99%, respectivamente, con una sensibilidad de 99,09% y una especificidad del 99,98%. La tasa de mortalidad de los pacientes con EMC diagnosticados fue del 1,52%, presentando once casos sintomatología previa al resultado del cribado (2%). El cociente intelectual de los pacientes con EMC y riesgo de afectación neurológica es normal en más del 95% de los casos.

**Palabras clave:** Cribado neonatal, Enfermedades metabólicas congénitas, Hipotiroidismo congénito, Fibrosis quística, Sensibilidad, Especificidad.

**ABSTRACT****Evaluation and perspective of 20 years of neonatal screening in Galicia. Program results**

Galician newborn screening program for early detection of endocrine and metabolic diseases began in 1978 and was a pioneer in expanded newborn screening in Spain with the incorporation of mass spectrometry in July 2000. As a primary objective, 28 diseases are screened, including those recommended SNS except sickle cell anemia which is in the inclusion phase.

In its 20-year history, 404,616 newborns (nb) have been analyzed, identifying 547 cases affected by the diseases included, with a global incidence of 1: 739 newborns and 1: 1.237 of the screened inborn errors of metabolism (IEM) (1:1.580 nb if excluding benign hyperphenylalaninemia-HPA), with an average participation of 99.35%, progressively higher during the analyzed period. Among the pathologies screened, congenital hypothyroidism (1:2.211 nb), cystinuria (1:4.129 nb) and HPA (1:5.699 nb), followed by phenylketonuria and cystic fibrosis (1:10,936 nb) stand out for their incidence.

Sixty-six cases of false positives were identified (seventeen of them in relation to maternal pathology) and five false negatives, being the overall PPV and NPV of the program respectively of 89.2% and 99.99%, with a sensitivity of 99.09% and a specificity of 99.98%. The mortality rate of diagnosed CME patients is 1.52%, with eleven cases presenting symptoms prior to the screening result (2%). The intelligence quotient of IEM patients at risk of neurological involvement is normal in more than 95% of cases.

**Key words:** Newborn screening, inborn errors of metabolism, Congenital hypothyroidism, Cystic fibrosis, Sensitivity, Specificity.

Correspondencia:

Paula Sánchez Pintos

Unidad de Diagnóstico y Tratamiento de Enfermedades Metabólicas Congénitas

Servicio de Neonatología

Hospital Clínico Universitario

Travesía da Choupana, s/n

15706 Santiago de Compostela, España

Paula.Sanchez.Pintos@sergas.es

Cita sugerida: Sánchez Pintos P, Cocho de Juan JA, Bóveda Fontán MD, Castiñeiras Ramos DE, Colón Mejeras C, Iglesias Rodríguez AJ, De Castro López MJ, Alonso Fernández JR, Fraga Bermúdez JM, Couce Pico ML. Evaluación y perspectiva de 20 años de cribado neonatal en Galicia. Resultados del programa. Rev Esp Salud Pública. 2020; 94: 16 de diciembre e202012161.

## INTRODUCCIÓN

Los errores innatos del metabolismo (EIM) son un grupo tanto genética como fenotípicamente complejo y heterogéneo, que incluye un número creciente de entidades y que actualmente suma más de 1.050 trastornos<sup>(1)</sup>. Se caracterizan por un defecto enzimático o de algún cofactor, transportador o receptor de membrana en una vía metabólica, condicionando un malfuncionamiento de la misma y/o la acumulación de uno o varios metabolitos. En la era genómica se sugiere que la definición de EIM debe incluir cualquier condición en la cual el deterioro de una vía bioquímica sea intrínseco a la fisiopatología de la enfermedad<sup>(1)</sup>.

Las enfermedades metabólicas congénitas (EMC) consideradas de forma individual son enfermedades raras o ultrararas pero, en su conjunto, son patologías frecuentes, habiéndose estimado una prevalencia global de 50,9 por cada 100.000 nacimientos<sup>(2)</sup> constituyendo una causa importante de morbimortalidad.

Los programas de cribado neonatal tienen como objetivo identificar precozmente en dicho período enfermedades metabólicas tratables, idealmente de forma presintomática, a fin de instaurar un tratamiento temprano que mejore el pronóstico y disminuya el riesgo de secuelas. Dicho programa, en su conjunto, es un sistema complejo y organizado que incluye los test bioquímicos de cribado y de confirmación, el diagnóstico, el tratamiento, el seguimiento clínico y la educación del paciente y de su familia, así como el diagnóstico y asesoramiento genético<sup>(3)</sup>, debiendo cumplir con estándares de calidad<sup>(4,5)</sup>.

La incorporación tecnológica a principios de la década de los 90 de la espectrometría de masas en tándem (MS/MS) al cribado neonatal supuso un avance revolucionario de la capacidad diagnóstica<sup>(6)</sup> al permitir el análisis

de múltiples metabolitos con una única muestra de sangre impregnada en papel. Esta técnica ha demostrado ser versátil, sensible, específica y con una relación de coste-efectividad favorable, y ha condicionado un impacto significativo en la Salud Pública. Su práctica generalizada, con una cobertura de prácticamente el 100% de los recién nacidos en nuestro país, pese a su carácter voluntario, ha significado uno de los grandes logros asistenciales en Pediatría<sup>(7)</sup>.

Pese a la extensión progresiva del cribado endocrino-metabólico neonatal a nivel mundial, existen pocas comunicaciones que detallen los resultados de cribado de los distintos programas nacionales en Europa<sup>(8,9,10,11)</sup>, correspondiéndose la mayoría de comunicaciones a programas de cribado provinciales o regionales<sup>(12,13,14,15,16)</sup>, ya que uno de los problemas que persiste en el cribado neonatal es la multiplicidad de programas de cribado vigentes en determinados países<sup>(17)</sup>, como ocurre en España<sup>(18)</sup>, siendo además, habitualmente, resultados correspondientes a programas de cribado de instauración más reciente.

El Programa Gallego para la Detección Precoz de Enfermedades Endocrinas y Metabólicas en Período Neonatal se inició en 1978, y fue pionero en España en el cribado neonatal ampliado con la incorporación de la espectrometría de masas en julio de 2000<sup>(19)</sup>. El propósito de este trabajo es detallar los resultados del programa gallego al cumplirse los 20 años de su instauración, actualizando los resultados comunicados en 2010<sup>(15,20)</sup>.

## SUJETOS Y MÉTODOS

**Sujetos.** La población objetivo del programa son todos los niños nacidos en Galicia, incluyendo aquellos nacidos en la misma aunque la madre no sea residente en nuestra comunidad autónoma.

## Método.

**Cribado neonatal.** El programa gallego criba las entidades recomendadas actualmente en España e incluidas en la cartera básica del Sistema Nacional de Salud, recogidas en la *Orden SSI/2065/2014* en el BOE de 31 de octubre de 2014: el hipotiroidismo congénito (HC); la fenilcetonuria (PKU)/hiperfenilalaninemia (HPA); la deficiencia de acil CoA deshidrogenasa de ácidos grasos de cadena media (MCADD); la deficiencia de 3-hidroxi acil CoA deshidrogenasa de ácidos grasos de cadena larga (LCHAD); la aciduria glutárica tipo I (GA 1); y la fibrosis quística (FQ), con excepción de la anemia de células falciformes, que está a punto de implementarse.

El programa incluye además como objetivo primario el cribado neonatal de las siguientes entidades, hasta completar un total de veintiocho enfermedades: tirosinemia tipo 1 (TYR I); enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (MSUD); citrulinemia tipo 1 (CIT); aciduria argininosuccínica (ASA); homocistinuria clásica (HCY); acidemia propiónica (PA); acidemias metilmalónicas; acidemia isovalérica (IVA); deficiencia de biotinidasa; deficiencia de 3-metilcrotonil-CoA carboxilasa (MCC); deficiencia de 3-OH-3-metilglutárica (HMG); hipermetioninemia; deficiencia de  $\beta$ -cetotiolasa (BKT); deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga (VLCAD); deficiencia de proteína trifuncional (TFP); deficiencia primaria de carnitina (CUD); deficiencia de carnitina palmitoiltransferasa 1 (CPT-1); deficiencia de carnitina palmitoiltransferasa 2 (CPT-2); deficiencia múltiple de acil-CoA deshidrogenasa (MADD); galactosemia por deficiencia de galactosa-1-P-uridil transferasa (GALT); galactosemia por deficiencia de galactoquinasa (GALK); y cistinuria.

En 1978 se inició el cribado de PKU, HPA, TYR I, GALT, GALK, MSUD, acidemias

metilmalónicas y cistinuria, con la incorporación del hipotiroidismo congénito en 1980, de la deficiencia de biotinidasa en 1987 y la ampliación al resto de enfermedades objetivo primario del programa en julio de 2000, con excepción del cribado de FQ, que se instauró en 2003.

El cribado en Galicia incluye la recogida de una muestra de sangre en papel y una muestra de orina al 2º-3º día de vida, con al menos 24 horas de ingesta láctea desde diciembre de 2002 (con anterioridad a esta fecha la recogida de muestras se realizaba entre el 5º-8º día de vida).

En recién nacidos (RN) pretérmino de edad gestacional inferior a 34 semanas, RN de peso inferior a 2.000 g, RN con patología neonatal grave y gemelos monocigóticos se recoge una segunda muestra a los quince días de vida<sup>(21)</sup>.

El perfil de acilcarnitinas, aminoácidos y hexosas monofosfato se determina mediante MS/MS (*Applied Biosystems Sciex API 2000*)<sup>(22,23)</sup> y la actividad de biotinidasa mediante método colorimétrico<sup>(24)</sup>. En las muestras de orina se determina la cistina mediante test de Brand y galactosa por sustancias reductoras y, ante un resultado positivo, permiten la confirmación diagnóstica sobre las muestras iniciales y realizar estudios adicionales mediante la cuantificación de acilcarnitinas, aminoácidos, ácidos orgánicos y acilglicinas en orina mediante MS/MS<sup>(25,26)</sup> y cromatografía en capa fina para galactosa<sup>(27)</sup>.

El cribado de FQ se realiza mediante determinación de la tripsina inmunorreactiva a través de DELFIA® y, ante resultado superior al punto de corte (mayor de 69 ng/mL), se confirma mediante estudio genético (panel de mutaciones más prevalentes) y test del sudor (considerándose diagnóstico si el cloro en sudor es mayor a 60 mmol/L; incierto si 30-59; normal si menor a 30 mmol/L).

Para el cribado de HC, el algoritmo de actuación ante TSH inicial superior al punto de corte (que oscila entre 7 y 10 mUI/L y se calcula diariamente en función de la recta de calibrado) consiste en solicitar una segunda muestra de sangre en papel y, si en ésta se confirma valor de TSH superior a dicho punto de corte, se remite para consulta urgente en un centro de seguimiento. Si el valor de TSH en la primera muestra es superior a 20 mUI/L ya se remite a consulta urgente<sup>(28)</sup>.

**Diagnóstico.** Los positivos de cribado son remitidos de forma urgente a las Unidades clínicas responsables: ante posible EMC, a la Unidad de Diagnóstico y Tratamiento de Enfermedades Metabólicas Congénitas del Hospital Clínico de Santiago de Compostela (Unidad de Referencia (C.S.U.R.) del Ministerio de Sanidad) y, ante posible HC o FQ, a las Unidades de Endocrinología o Neumología-Gastroenterología de los centros hospitalarios, respectivamente, para confirmación e inicio rápido de tratamiento.

## RESULTADOS

En Galicia, el Programa de Cribado Neonatal está ampliamente consolidado, alcanzando el 99,97% de participación en 2019 con 15.657 muestras analizadas (15.661 nacimientos). Entre julio de 2000 y diciembre de 2019 se analizaron en el Laboratorio de Metabolopatías del Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela 404.616 niños y 487.948 muestras). Como se ilustra en la **tabla 1**, la cobertura anual de pacientes cribados aumentó desde el 98% inicial prácticamente el 100% a partir de 2009.

La recomendación actual del Ministerio de Sanidad para el Programa de Cribado Neonatal del SNS<sup>(29)</sup> establece la edad de la toma de muestra del recién nacido entre las 24 y las 72 horas de vida. En el programa gallego, el percentil 50 de las muestras cumple las 72 horas

(tres días) y el percentil 95 está en cinco días. En 2020, ligado a la situación de pandemia por COVID-19, la toma de muestra se realizó, mayoritariamente, antes del alta hospitalaria, lo que redundará en un mejor cumplimiento de este objetivo.

Una etapa clave en el proceso de cribado es el transporte de las muestras desde el punto de extracción al laboratorio. El 50% de las muestras recibidas tardó 3,5 días y el percentil 95 de este intervalo está en diez días. En 2019 se recibieron un 4,04% de muestras no válidas para su análisis (632 muestras), debido principalmente a una mala impregnación de la muestra de sangre.

El tiempo transcurrido entre la recepción de las muestras en el laboratorio y la obtención del resultado varía según la patología a detectar. Sirvan como ejemplo los percentiles 95 de dichos tiempos de varias entidades en las primeras muestras válidas recibidas, referidos a días naturales: 1,4 días en HC y FQ; 3,4 días en galactosemias; 4,4 días en DBT, aminoacidopatías y trastornos de  $\beta$ -oxidación; y 6,4 días en acidemias orgánicas (incluyendo la determinación de ácidos orgánicos urinarios por MS/MS).

El objetivo principal de un Programa de Cribado Neonatal es llegar al diagnóstico confirmatorio e instaurar el tratamiento de los casos detectados lo más rápido posible y, en este sentido, excluyendo los diagnósticos de cistinuria y de FQ, los casos positivos confirmados durante el 2019 tenían, en su mayor parte, menos de diez días de vida a la detección (entre cuatro y dieciséis), excepto un caso de HC en un gran prematuro con patologías asociadas a su prematuridad y un caso de MCADD con primera muestra recibida no válida.

Durante este período se diagnosticaron 547 pacientes con enfermedades del objetivo primario del Programa (**tabla 2**): 183 casos de HC, treinta y siete de FQ y 327 casos de EMC;

Tabla 1  
Nº niños y muestras analizadas de cribado en el Programa Gallego de 2000-2019.

Variables	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	Total
Nº nacimientos	19.484	19.416	19.397	20.463	20.692	21.164	21.469	21.833	23.271	22.635	22.152	21.670	21.190	19.813	18.743	19.532	19.148	18.485	16.550	15.994	404.101
Nº niños analizados	19.067	19.037	19.070	20.150	20.420	20.982	21.135	22.143	23.016	22.928	22.620	22.096	21.341	19.956	19.980	19.756	19.452	18.625	16.848	15.994	404.616
Nº muestras	21.697	21.841	22.678	24.469	24.291	25.353	25.515	25.679	27.240	26.204	26.719	26.595	25.993	24.157	24.402	24.133	24.653	23.985	21.810	20.534	487.948
% cobertura RN/año	98%	98%	98%	98%	99%	99%	98%	100%	99%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	-

Nº: número; RN: recién nacidos.

Tabla 2

## Número de casos e incidencia de las enfermedades objetivo primario del Programa Gallego de cribado neonatal.

Patología	Nº casos	Incidencia (RN vivos)	Patología	Nº casos	Incidencia (RN vivos)
Hipotiroidismo congénito	183	1: 2.211	Deficiencia de biotinidasa	4	1: 101.154
Cistinuria	98	1: 4.129	LCHAD	4	1: 101.154
HPA	71	1: 5.699	Acidemia propiónica	3	1: 134.872
PKU	37	1: 10.936	TYR I	3	1: 134.872
FQ	37	1: 10.936	Citrulinemia	2	1: 202.308
MCADD	22	1: 18.392	Deficiencia primaria de carnitina	2	1: 202.308
Hipermetioninemia	14	1: 28.901	VLCAD	2	1: 202.308
Galactosemia por def. GALT	13	1: 31.124	HMG	2	1: 202.308
MSUD	10	1: 40.462	Aciduria argininosuccínica	2	1: 202.308
MCC	10	1: 40.462	Homocistinuria clásica	1	1: 404.616
Aciduria glutárica tipo I	7	1: 57.802	Aciduria isovalérica	1	1: 404.616
Galactosemia por def. GALK	6	1: 67.436	CPT-2	1	1: 404.616
Acidemia metilmalónica (MUT, CblA, CblB)	6	1: 67.436	Arginemia	1	1: 404.616
Acidemia metilmalónica con homocistinuria (CblC, CblD)	5	1: 80.923	Total	547	1: 739

CPT-2: deficiencia de carnitina palmitoiltransferasa 2; def: deficiencia; FQ: fibrosis quística; GALK: galactosemia por deficiencia de galactocinasas; GALT: galactosemia por deficiencia de galactosa-1-P-uridil transferasa; HPA: hiperfenilalaninemia benigna; HMG: deficiencia de 3-OH-3-metilglutaril-CoA liasa; MCADD: deficiencia de acil CoA deshidrogenasa de cadena media; MSUD: enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce; MCC: deficiencia de 3-metilcrotonil-CoA carboxilasa; LCHAD: deficiencia de 3-hidroxi acil CoA deshidrogenasa de ácidos grasos de cadena larga; PKU: fenilcetonuria; TYR I: tirosinemia tipo I; VLCAD: deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga.

98 casos de cistinuria; 108 hiperfenilalaninurias (setenta y una de HPA, treinta y siete de PKU); veintidós de MCADD; catorce de hipermetioninemia; trece de galactosemia por deficiencia de GALT; diez de MSUD; diez de MCC; siete de GA-1; seis de galactosemia por deficiencia de GALK; seis de acidemia metilmalónica (MUT, CblA y CblB); cinco de acidemia metilmalónica con homocistinuria (CblC y CblD); cuatro de LCHAD; cuatro de deficiencia de biotinidasa; tres de TYR I; tres de AP; dos de CIT; dos de VLCAD; dos de HMG; dos de ASA; dos de deficiencia primaria de carnitina; y un caso de las siguientes patologías: HCY, IVA, CPT-2 y ARG.

La incidencia de enfermedades cribadas en nuestro medio es de 1:739 RN vivos y de EMC de 1:1.237 RN (1:1.580 RN si se excluye la HPA). La incidencia de las diferentes patologías se detalla en la [tabla 2](#), destacando en nuestro medio el HC, con una incidencia de 1:2.211 RN, la cistinuria (1:4.129 RN) y la HPA (1:5.699 RN), seguido de PKU y FQ (1:10.936 RN vivos), respectivamente.

La positividad de cribado no confirmada en el estudio neonatal posterior se ha correspondido en diecisiete casos a patología en sus progenitores, habitualmente en formas subclínicas o paucisintomáticas: cuatro casos de posible deficiencia primaria neonatal de carnitina no confirmados en relación con deficiencia primaria materna; cuatro casos de posible MCC, correspondientes a MCC materna; y 9 casos de posible acidemia metilmalónica neonatal, secundarios a deficiencias maternas de vitamina B12.

En casos confirmados de cribado, éste ha permitido, además, dentro del estudio familiar posterior al diagnóstico, la identificación en sus ascendientes de tres casos de hipermetioninemia por déficit de metionina adenosiltransferasa I/III

(MAT I/III), todos asintomáticos, y nueve casos de cistinuria en uno de los dos progenitores y en un caso también en la abuela paterna, cinco de los cuales presentaban antecedentes de litiasis renal no estudiada o no filiada ([tabla 3](#)).

Pese a la precocidad del diagnóstico por cribado, siete casos presentaban ya sintomatología clínica al diagnóstico ([tabla 4](#)): un caso de citrulinemia tipo 1, tres casos de MSUD y tres casos de AP. Si bien dichos pacientes presentaban clínica, el resultado de cribado permitió su diagnóstico y atención más precoz, así como un tratamiento dirigido, conllevando un cambio en su pronóstico evolutivo. En este aspecto, es esencial el envío rápido de la muestra de cribado al Laboratorio de Metabolopatías a fin de garantizar un resultado precoz.

Hasta la fecha, de los 327 casos de ECM detectados por cribado y cuya atención se centralizó en nuestra Unidad, cinco casos fallecieron, cuatro de ellos ya fueron previamente comunicados por nuestro grupo<sup>(15)</sup>, correspondiéndose a tres acidurias orgánicas (formas graves de debut neonatal), fallecidos por cuadros infecciosos a los dos, cuatro y doce meses de vida, respectivamente, y un caso de MCADD asintomático, que falleció en contexto de infección respiratoria aguda por descompensación metabólica. En la segunda década del programa se produjo el fallecimiento de una niña afecta de AP a los ocho meses de vida por shock séptico. La tasa de letalidad por EMC en el período estudiado es del 1,52%.

La totalidad de pacientes afectados de trastornos de  $\beta$ -oxidación y acidurias orgánicas supervivientes, al igual que todos los casos de deficiencia de biotinidasa, MSUD, GA 1, TYR 1 y trastornos del ciclo de la urea, están asintomáticos, con excepción de dos casos de LCHAD con retinopatía pigmentaria y dos casos de CblC con pobre

**Tabla 3**  
**Casos de diagnóstico de EMC en los progenitores a raíz del diagnóstico por cribado neonatal de su/sus hijo/s.**

Patología familiar identificada tras el cribado		Nº casos	Casos sintomáticos
<b>Sin patología neonatal</b>	Deficiencia de carnitina primaria materna	4	-
	MCC materna	4	-
	Acidemia metilmalónica neonatal en relación con deficiencia de vitamina B12 materna	9	-
<b>Con patología neonatal</b>	Hipermetioninemia por déficit de MAT I/III	3	-
	Cistinuria	9 +1 (abuela)	4 con antecedente de litiasis

Nº: número; MAT I/III: metionina adenosiltransferasa; MCC: deficiencia de 3-metil-crotonil CoA carboxilasa.

**Tabla 4**  
**Casos con debut clínico previo al resultado del cribado neonatal.**

Caso	Patología	Edad a la detección por cribado (días)	Edad debut clínico (días)
1	Citrulinemia tipo 1	9	2
2	MSUD	5	4
3	MSUD	7	5
4	MSUD	8	4
5	AP	8	2
6	AP	7	3
7	AP	8	3

AP: acidemia propiónica; MSUD: enfermedad de jarabe de arce.

agudeza visual y nistagmo, pese a un buen control metabólico. El cociente intelectual de este grupo de pacientes es normal en el 95,7% de los casos (66/69), al igual que en todos los casos de PKU diagnosticados mediante cribado. Cinco de los pacientes con MSUD presentaron evolutivamente episodios de descompensación metabólica leve-moderada en contexto de cuadros infecciosos, todos con buena respuesta al régimen de emergencia instaurado precozmente, excepto un episodio de descompensación grave en uno de ellos, con edema cerebral e hipertensión endocraneal, que precisó hemofiltración en el contexto de una infección por adenovirus.

Como se detalla en la **tabla 5**, en el período 2000-2019 se confirmaron sesenta y seis falsos positivos, incluyendo en esta cuantificación los casos de posible acidemia metilmalónica debidos a deficiencia materna de vitamina B12 (nueve casos), y los casos de deficiencia primaria materna de carnitina (cuatro casos) y de MCC materna (cuatro casos), referidos previamente. En el mismo período se identificaron cinco casos de falsos negativos (**tabla 6**).

El valor predictivo positivo global del programa fue del 89,2% y el valor predictivo negativo del 99,99%, con una sensibilidad del 99,09% y una especificidad del 99,98%.

**Tabla 5**  
**Falsos positivos de cribado en el período 2000-2019.**

Patología	Nº casos
<b>Aciduria orgánica</b>	3
<b>Citrulinemia</b>	19
<b>CPT-1</b>	1
<b>Deficiencia de biotinidasa</b>	5
<b>Deficiencia primaria de carnitina</b>	4
<b>MCC</b>	6 (4 en relación con MCC materna no conocida previamente)
<b>Acidemia metilmalónica</b>	9 (9 debidas a deficiencia materna de vitamina B12)
<b>Elevación de C3</b>	1
<b>Elevación persistente de C4</b>	2
<b>Galactosemia</b>	8
<b>HPA</b>	3
<b>MCADD</b>	4
<b>VLCAD</b>	1

C3: propionilcarnitina; C4: butirilcarnitina; CPT-1: deficiencia de carnitina palmitoiltransferasa 1; GALT: galactosemia por deficiencia de galactosa-1-P-uridil transferasa; GALK: galactosemia por deficiencia de galactoquinasa; HPA: hiperfenilalaninemia benigna; MCADD: deficiencia de acil CoA deshidrogenasa de ácidos grasos de cadena media; MCC: deficiencia de 3-metilcrotonil-CoA carboxilasa; nº: número; VLCAD: deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga.

**Tabla 6**  
**Falsos negativos del Programa de cribado neonatal gallego (años 2000-2019).**

Nº casos	Patología	Marcador	Punto de corte en el momento del cribado
1	TYR 1	Tirosina: 162 uM	175 uM
1	GA 1	Glutarilcarnitina 0,13 uM	p99,9: 0,18 uM
1	MADD	C4: 0,17; C5: 0,09; C6: 0,08; C8: 0,07; C10: 0,07	C4: 0,67; C5: 0,81; C6: 0,18; C8: 0,19; C10: 0,31
1	HPA	Fenilalanina 141uM; Fenilalanina/Tirosina 1,6	Fenilalanina 150uM; Fenilalanina/tirosina 2,0
1	Cistinuria	Cistina en test de Brand normal en dos muestras (por ser gemelos monocigóticos)	-

GA 1: aciduria glutárica tipo 1; HPA: hiperfenilalaninemia benigna, MADD: deficiencia múltiple de acil CoA deshidrogenasa; TYR 1: tirosinemia tipo 1.

## DISCUSIÓN

El cribado neonatal ha demostrado ser una herramienta eficaz y eficiente<sup>(30,31,32,33,34)</sup> para mejorar el pronóstico y la calidad de vida de los pacientes afectados por las patologías objeto del mismo, constituyendo un avance clave en Salud Pública, cuya cobertura prácticamente universal en nuestro país, pese su carácter voluntario, ha significado uno de los grandes logros asistenciales pediátricos<sup>(7)</sup>.

El futuro próximo del cribado neonatal se encuentra actualmente en una encrucijada por el debate sobre la incorporación de nuevas enfermedades a los paneles de cribado<sup>(3,36,37,38,39,40)</sup> y la homogeneización de los mismos<sup>(41,42)</sup>, la posible incorporación de las técnicas ómicas al cribado<sup>(43,44,45)</sup>, así como el debate ético, legal y social sobre la incorporación de un cribado genético mediante secuenciación masiva del genoma<sup>(46,47,48,49)</sup>. Este último aspecto desafía el paradigma actual de cribado, al permitir identificar, además de condiciones tratables que representan un daño potencial grave e

inmediato, una mirada de otras entidades, incluyendo condiciones que afectarán o podrían afectar al paciente más adelante en su vida, sean tratables o no<sup>(47)</sup>. Igualmente, destacar la incertidumbre sobre la interpretación de las variantes genéticas de significado incierto, su elevado coste (pese a la reducción progresiva del mismo) y los tiempos de respuesta largos<sup>(50)</sup>.

El Programa Gallego de Cribado Neonatal, pionero en la incorporación de la tecnología de espectrometría de masas en tándem al cribado en nuestro país y uno de los primeros en Europa, ha permitido en estas dos décadas la identificación de 547 pacientes afectados de las patologías del panel primario, con una sensibilidad global superior a la objetivada al término de los primeros diez años del Programa (99,09% frente a 97,16%)<sup>(15)</sup> y la misma especificidad (99,98%).

La prevalencia de enfermedades metabólicas hereditarias del panel primario identificadas por cribado (1:1.237) es superior a las comunicadas en otros programas europeos (en Alemania

[1:2.920]<sup>(14)</sup>, Portugal [1:2.396]<sup>(8)</sup>, Dinamarca, Groenlandia y las Islas Feroe [1:4.942]<sup>(11)</sup> y a la de otras regiones españolas como Murcia (1:1.884)<sup>(16)</sup>. Esta diferencia, además de la variabilidad genética interpoblacional, puede obedecer a la inclusión de muestras de orina en el cribado que permiten la identificación adicional de patologías como la cistinuria o la galactosemia por deficiencia de GALK no detectadas en sangre.

Nuestra casuística pone de manifiesto que la patología objeto de cribado más frecuente en nuestra comunidad es el hipotiroidismo congénito (1:2.211 RN vivos), seguida de la cistinuria (1:4.129 RN vivos). La incidencia de HC en Galicia (1:2.211 RN) es comparable a otras series europeas<sup>(51,52)</sup>, aunque superior a la objetivada en Francia<sup>(53)</sup>, si bien en dicha comparación debe valorarse que en algunos programas de cribado se realiza la determinación conjunta de T4 y TSH<sup>(51)</sup>.

La incidencia media estimada en Europa de FQ es de 1/2.000-3.000 RN vivos, siendo la incidencia estimada en España de 1/3.500-3.660 RN<sup>(54,55)</sup>, claramente superior a la observada en nuestro medio (1:10.936 RN vivos), al igual que ocurre con la fenilcetonuria, que muestra en nuestro medio una incidencia inferior a países<sup>(56)</sup> y regiones de nuestro entorno (en Murcia, 1:14.319)<sup>(16)</sup>, pero superior a la documentada en Portugal (1:12.163)<sup>(8)</sup>. A diferencia de Portugal<sup>(8)</sup>, la incidencia de PKU en nuestro medio es superior a la de MCADD.

Uno de los aspectos más relevantes del Programa Gallego de Cribado, la incorporación de la muestra de orina, ha demostrado ser una herramienta eficaz como método diagnóstico de segundo nivel ante resultados en sangre seca potencialmente patológicos, minimizando el número de falsos positivos y ampliando la posibilidad de nuevos diagnósticos<sup>(57)</sup>. Un ejemplo de ello es la instauración en nuestro programa,

tras el diagnóstico de un caso de falso negativo de GA 1 bajo secretor, con glutarilcarnitina normal y ácido glutárico en sangre menor a 100 mmol/mol de creatinina, de la glutarilcarnitina en orina como marcador diagnóstico de GA 1<sup>(58)</sup>, habiéndose diagnosticado en este período siete casos, uno de ellos igualmente bajo secretor gracias a esta determinación. La incidencia de GA 1 global (1:57.802 RN vivos) es menor que la documentada previamente con los datos relativos a la primera década del Programa de cribado en Galicia<sup>(15)</sup>. En España, únicamente dos comunidades autónomas además de Galicia (Murcia y Extremadura) tienen instaurado el cribado en orina.

El programa de cribado ha permitido en nuestra comunidad la detección de noventa y ocho casos neonatales de cistinuria y diez casos familiares relacionados dentro del estudio familiar desarrollado, constituyendo la actual la mayor serie de cribado neonatal de cistinuria en Europa. El programa de cribado de cistinuria en nuestra comunidad establece la recogida de una nueva muestra de orina a partir de los ocho meses de vida, para la confirmación diagnóstica en los casos de excreción elevada de cistina en el cribado neonatal, a fin de descartar casos de cistinuria transitoria. La incidencia de cistinuria objetivada (1:4.129 RN) es inferior a la objetivada en zonas mediterráneas como la Comunidad Valenciana (1:1.887 RN)<sup>(59)</sup> y superior a la incidencia global mundial estimada, que se cifra en 1:7.000 RN<sup>(60)</sup>. Todos los pacientes con cistinuria diagnosticada por cribado permanecen asintomáticos, con excepción de un paciente de diecinueve años que ha presentado un episodio de cólico nefrítico en relación con litiasis, en tanto que en la enfermedad natural la mayoría de pacientes cistinúricos desarrollan cálculos en las dos primeras décadas de vida<sup>(61)</sup>.

Los cinco falsos negativos identificados de cribado se correspondieron con: un caso

de tirosinemia tipo 1 identificado por fallo hepático agudo a la edad de un mes; el caso de aciduria glutárica con baja excreción de glutarilcarnitina referido previamente y que debutó con una crisis de encefalopatía aguda a la edad de ocho meses (la determinación retrospectiva de glutarilcarnitina en orina en la muestra de cribado obtuvo un resultado de 18,2 mmol/mol de creatinina [percentil 99,9: 2,48 mmol/mol de creatinina]); un caso de MADD que debutó a la edad de trece días de vida con cardiomiopatía y acidosis metabólica; un caso de HPA diagnosticado a los seis años tras la identificación mediante cribado de su hermana; y un caso de cistinuria diagnosticado tras cribado de su hermano gemelo. En este paciente, el test de Brand en dos muestras de orina por tratarse de gemelos monocigóticos fue normal, objetivándose excreción elevada de cistina por MS/MS.

Como se ha puesto de manifiesto, el cribado neonatal marca una diferencia clave en el pronóstico de estas entidades, prueba del cual es la alta tasa de supervivencia libre de síntomas de nuestros pacientes y la baja tasa de letalidad, que en el caso de EMC (1,52%) es menor que la observada en la primera década del programa (2,9%)<sup>(15)</sup> y claramente inferior a la documentada en series de pacientes con acidurias orgánicas y trastornos de  $\beta$ -oxidación no diagnosticados por cribado (superior al 30%)<sup>(63,64)</sup>.

Como puntos clave de mejora en el proceso de cribado del programa en nuestra comunidad, destacar dos: la calidad de la muestra y el transporte al laboratorio. Serán necesarios talleres de formación dirigidos al personal que realiza la toma de muestra en los centros, así como un sistema ágil de transporte de las mismas al laboratorio. De este modo, se podrá reducir el número de muestras recibidas no válidas y la edad del recién nacido a la obtención del resultado y la instauración del tratamiento en aquellos casos confirmados.

Los programas de cribado neonatal constituyen uno de los mayores avances en Salud Pública de la medicina actual, mejorando la calidad de vida y el pronóstico de actualmente casi 400.000 niños en España. El análisis cuidadoso de los resultados de los diferentes programas de cribado proporciona información valiosa para optimizar las estrategias de cribado bioquímico en los próximos años y permite conocer la incidencia real en nuestro medio de las patologías cribadas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Ferreira CR, van Karnebeek CDM, Vockley J, Blau N. A proposed nosology of inborn errors of metabolism. *Genet Med.* 2019;21(1):102-106.
2. Waters D, Adeloye D, Woolham D, Wastnedge E, Patel S, Rudan I. Global birth prevalence and mortality from inborn errors of metabolism: a systematic analysis of the evidence. *J Global Health.* 2018;8(2):021102.
3. La Marca G. Mass spectrometry in clinical chemistry: the case of newborn screening. *J Pharm Biomed Anal.* 2014;101:174-82.
4. Paz Valiñas L, Atienza Merino G. Efectividad clínica del cribado neonatal de los errores congénitos del metabolismo mediante espectrometría de masas en tándem. Revisión sistemática. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo. Avaluat. N° 2006/07.
5. Queiro Verdes T, Cerdá Mota T, España Fernández S, coordinadoras. Información a padres sobre cribado neonatal de metabolopatías: evaluación de la situación actual y establecimiento de estándares de información basada en la evidencia. Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud del Ministerio de Sanidad y Política Social. Axencia de Avaluación de Tecnoloxías Sanitarias de Galicia; 2007. Informes de Evaluación de Tecnoloxías Sanitarias: avaluat. N°. 2007 / 04.
6. Millington DS, Kodo N, Norwood DL, Roe CR. Tandem mass spectrometry: a new method for acylcarnitine

profiling with potential for neonatal screening for inborn errors of metabolism. *J Inher Metab Dis.*1990;13:321-4.

7. Couce ML. Cincuenta años de cribado neonatal de enfermedades congénitas en España. *An Pediatr (Barc).* 2019;90(4):205-206.

8. Vilarinho L, Rocha H, Sousa C, Marcão A, Fonseca H, Bogas M, Osório RV. Four years of expanded newborn screening in Portugal with tandem mass spectrometry. *J Inher Metab Dis.* 2010;33 Suppl 3:S133-8.

9. Kasper DC, Ratschmann R, Metz TF, Mechtler TP, Möslinger D, Konstantopoulou V *et al.* The National Austrian Newborn Screening Program - Eight Years Experience With Mass Spectrometry. Past, Present, and Future Goals. *Wien Klin Wochenschr.* 2010;122(21-22):607-13.

10. Loukas YL, Soumelas GS, Dotsikas Y, Georgiou V, Molou E, Thodi G *et al.* Expanded newborn screening in Greece: 30 months of experience. *J Inher Metab Dis.* 2010;33(Suppl 3):S341-8.

11. Lund AM, Hougaard DM, Simonsen H, Andresen BS, Christensen M, Dunø M *et al.* Biochemical screening of 504,049 newborns in Denmark, the Faroe Islands and Greenland — Experience and development of a routine program for expanded newborn screening. *Mol Genet Metab.*2012;107:281-293.

12. Bodamer OA, Hoffmann GF, Lindner M. Expanded newborn screening in Europe 2007. *J Inher Metab Dis.*2007;30:439-444.

13. La Marca G, Malvagía S, Casetta B, Pasquini E, Donati MA, Zammarchi E. Progress in expanded newborn screening for metabolic conditions by LC-MS/MS in Tuscany: update on methods to reduce false tests. *J Inher Metab Dis.* 2008;31(Suppl 2):S395-404.

14. Lindner M, Gramer G, Haegel G, Fang-Hoffmann, Schwab KO, Tacke U *et al.* Efficacy and outcome of expanded newborn screening for metabolic diseases - Report of 10 years from South-West Germany. *Orphanet J Rare Dis.* 2011;6:44.

15. Couce ML, Castiñeiras DE, Baña A, Cocho JA, Iglesias AJ, Colon C, Alonso-Fernández JR, Fraga JM. Evaluation and Long-Term Follow-Up of Infants With Inborn Errors of Metabolism Identified in an Expanded Screening Programme. *Mol Genet Metab.*2011;104(4):470-5.

16. Juan-Fita MJ, Egea-Mellado JM, González-Gallego I, Moya-Quiles MR, Fernández-Sánchez A. Expanded Newborn Screening in the Region of Murcia, Spain. Three-years Experience. *Med Clin (Barc).*2012;139 (13):566-71.

17. Martínez-Morillo E, Prieto B, Álvarez Menéndez F. Challenges for Worldwide Harmonization of Newborn Screening Programs. *Clin Chem.*2016;62(5):689-98.

18. Castiñeiras DE, Couce ML, Marin JL, González-Lamuño D, Rocha H. Situación actual del cribado neonatal de enfermedades metabólicas en España y en el mundo. *An Pediatr (Barc).*2019;91(2):128.e1-e14.

19. Alonso-Fernández JR, Colón C. Newborn screening in Spain, with particular reference to Galicia: Echoes of Louis I. Woolf. *Mol Genet Metab.* 2010;101(2-3): 95-98.

20. Actualización del Programa gallego para la detección precoz de enfermedades endocrinas y metabólicas en período neonatal. Resultados 2010. Ed: Xunta de Galicia. Consellería de Sanidade. Dirección Xeral de Innovación e Xestión da Saúde Pública.

21. Cribado metabólico neonatal ¿cuándo y cómo? Cuidados desde el nacimiento Recomendaciones basadas en pruebas y buenas prácticas. Ministerio de Sanidad y Política Social, 2010. <https://www.msssi.gob.es/organizacion/sns/planCalidadSNS/pdf/equidad/cuidadosDesdeNacimiento.pdf>

22. Jensen UG, Brandt NJ, Cristensen E, Skoubye F, Norgrard-Pedersen B, Simonsen H. Neonatal screening for galactosemias by quantitative analysis of hexose monophosphates using tandem mass spectrometry. A retrospective study. *Clin Chem.*2001;47:1364-1372.

23. Chace DH, Kalas TA, Naylor EW. Use of tandem mass spectrometry for multianalyte screening of dried blood specimens from newborns. *Clin Chem.* 2003;49:1797-1817.

24. Heard GS, Secor McVoy JR, Wolf B. A screening method for biotinidase deficiency in newborns. *Clin Chem.* 1984;30:125–127.
25. Pitt JJ, Eggington M, Kahler SG. Comprehensive screening of urine samples for inborn errors of metabolism by electrospray tandem mass spectrometry. *Clin Chem.* 2002;48:1970–1980.
26. Rebollido M, Cocho JA, Castiñeiras DE, Boveda MD, Fraga JM. Aplicación de la Espectrometría de Masas en Tándem al análisis de aminoácidos, acilcarnitinas, acilglicinas y ácidos orgánicos en muestras de orina en papel. *Quím Clin.* 2006;25:64–74.
27. Alonso-Fernández JR, Bóveda MD, Parrado C, Peña J, Fraga JM. Continuous thin-layer chromatography of sugars of clinical interest in samples of urine impregnated on paper. *J Chromatogr.* 1981;217:357–366.
28. Rodríguez Sánchez A, Chueca Guindulain MJ, Alija Merillas M, Ares Segura S, Moreno Navarro JC, Rodríguez Arnao MD; en representación del Grupo de Trabajo de Tiroides de la Sociedad Española de Endocrinología Pediátrica (SEEP). Diagnosis and follow-up of patients with congenital hypothyroidism detected by neonatal screening. *An Pediatr (Barc).* 2019;90(4):250.e1-250.e8
29. Objetivos y requisitos de calidad del Programa de Cribado Neonatal de enfermedades endocrino-metabólicas del Sistema Nacional de Salud. <https://www.mschs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/Cribado/docs/ObjetivosCribadoNeonatal.pdf>
30. Valcárcel-Nazco C, Oliva Hernández C, Velasco González V, Cuéllar-Pompa L, Castilla I, Vallejo-Torres L, Serrano-Aguilar P. Coste-efectividad del cribado neonatal de la fibrosis quística en España. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud; 2012. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias.
31. Einöder Moreno M, Atienza Merino G. Efectividad clínica del cribado neonatal de errores congénitos del metabolismo mediante espectrometría de masas en tándem. Parte I: enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce, homocistinuria, acidemia glutárica tipo I, acidemia isovalérica y deficiencia de 3-hidroxi-acil-CoA deshidrogenasa de cadena larga. Santiago de Compostela: Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Galicia; 2013. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias.
32. Seoane Mato D, Cantero Muñoz P, Atienza Merino G. Efectividad clínica del cribado neonatal de errores congénitos del metabolismo mediante espectrometría de masas en tándem. Parte II: acidemia metilmalónica, acidemia propionica, tirosinemia tipo I.; Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías y Prestaciones del SNS. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Galicia; 2014. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias.
33. Cantero Muñoz P, Atienza Merino G. Efectividad clínica del cribado neonatal de errores congénitos del metabolismo mediante espectrometría de masas en tándem. Parte III: deficiencia primaria de carnitina (CUD), deficiencia de Acil-CoA deshidrogenasa de cadena corta (SCADD), deficiencia de Acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga (VLCADD). Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías y Prestaciones del SNS. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Galicia; 2015. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias.
34. Cantero Muñoz P, Paz Valiñas L, Atienza Merino G. Efectividad clínica del cribado neonatal de errores congénitos del metabolismo mediante espectrometría de masas en tándem. Parte IV: Aciduria 3-hidroxi-3-metilglutárica (HMG) y Deficiencia de  $\beta$ -cetotilasa (BKT). Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías y Prestaciones del SNS. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Galicia; 2015. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias.
35. Kemper AR, Brosco J, Comeau AM, Green NS, Grosse SD, Jones E, Kwon JM, Lam WK, Ojodu J, Prosser LA, Tanksley S. Newborn screening for X-linked adrenoleukodystrophy: evidence summary and advisory committee recommendation. *Genet Med.* 2017;19(1):121-126.

36. Bodamer OA, Scott CR, Giugliani R. Pompe Disease Newborn Screening Working Group. Newborn Screening for Pompe Disease. *Pediatrics*. 2017;140(Suppl 1):S4-S13.
37. Barbaro M, Ohlsson A, Borte S, Jonsson S, Zetterström RH, King J *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(1):51-60.
38. Saffari A, Kölker S, Hoffmann GF, Weiler M, Ziegler A. Novel challenges in spinal muscular atrophy - How to screen and whom to treat? *Ann Clin Transl Neurol*. 2018;13;6(1):197-205.
39. Parini R, Broomfield A, Cleary MA, De Meirleir L, Di Rocco M, Fathalla WM. International working group identifies need for newborn screening for mucopolysaccharidosis type I but states that existing hurdles must be overcome. *Acta Paediatr*. 2018;107(12):2059-2065.
40. Burlina AB, Polo G, Salviati L, Duro G, Zizzo C, Dardis A *et al*. Newborn screening for lysosomal storage disorders by tandem mass spectrometry in North East Italy. *J Inherit Metab Dis*. 2018;41(2):209-219.
41. Advisory Committee on Heritable Disorders in Newborns and Children - Recommended Uniform Screening Panel [consultado 9 April 2020]. Disponible en: <https://www.hrsa.gov/advisorycommittees/mchbadvisory/heritabledisorders/recommendedpanel/index.html>
42. Loeber JG, Burgard P, Cornel MC, Rigter T, Weinreich SS, Rupp K *et al*. Newborn screening programmes in Europe; arguments and efforts regarding harmonization. Part 1. From blood spot to screening result. *J Inherit Metab Dis*. 2012;35(4):603-11.
43. Coene KLM, Kluijtmans LAJ, van der Heeft E, Engelke UFH, de Boer S, Hoegen B *et al*. Next-generation Metabolic Screening: Targeted and Untargeted Metabolomics for the Diagnosis of Inborn Errors of Metabolism in Individual Patients. *J Inherit Metab Dis*. 2018;41(3):337-353
44. Mussap M, Zaffanello M, Fanos V. Metabolomics: a challenge for detecting and monitoring inborn errors of metabolism. *Ann Transl Med*. 2018;6(17):338.
45. Ismail IT, Showalter MR, Fiehn O. Inborn errors of metabolism in the era of untargeted metabolomics and lipidomics. *Metabolites*. 2019; 9(10).
46. Botkin JR. Ethical issues in pediatric genetic testing and screening. *Curr Opin Pediatr*. 2016;28(6):700-704.
47. Zacharias RL, Smith ME, King JS. The Legal Dimensions of Genomic Sequencing in Newborn Screening. *Hastings Cent Rep*. 2018;48 (Suppl 2):S39-S41.
48. Lantos JD. Ethical and Psychosocial Issues in Whole Genome Sequencing (WGS) for newborns. *Pediatrics*. 2019;143 (Suppl. 1):S1-S5.
49. Friedman JM, Cornel MC, Goldenberg AJ, Lister KJ, Sénécal K, Vears DF; Global Alliance for Genomics and Health Regulatory and Ethics Working Group Paediatric Task Team. Genomic newborn screening: public health policy considerations and recommendations. *BMC Med Genomics*. 2017;21;10(1):9.
50. Powell CM. What Genomic Sequencing can offer universal newborn screening programmes. *Hastings Cent Rep*. 2018;48 (Suppl2): S18-S19.
51. Verkerk P, van Trotsenburg ASP, Hoorweg-Nijman JJG, Oostdijk W, van Tijn DA, Marlies J, Kempers E, Erica L, van den Akker T, Loeber JG, Bert Elvers LH, Vulsm T. Neonatal Screening for Congenital Hypothyroidism: More Than 30 Years of Experience in the Netherlands. *Ned Tijdschr Geneesk*. 2014;158,A6564.
52. McGrath N, Hawkes CP, McDonnell CM, Cody D, O'Connell SM, Mayne PD *et al*. Incidence of Congenital Hypothyroidism Over 37 Years in Ireland. *Pediatrics*. 2018;142(4):e20181199.
53. Barry Y, Bonaldi C, Goulet V, Coutant R, Léger J, Paty AC *et al*. Increased incidence of congenital hypothyroidism

- in France from 1982 to 2012: a nationwide multicenter analysis. *Ann Epidemiol.* 2016;26:100e105.
54. The molecular genetic epidemiology of cystic fibrosis: report of a joint meeting of WHO/IECFTN/ICF(M)/A/ECFS. Geneva, Italy, 19 June 2002: Geneva: World Health Organization; 2004.
55. Asociación Española de Cribado Neonatal. Programas de cribado neonatal en España [Internet]: AECNE; 2008. Disponible en: <http://aecne.es/pdf/datos2008.pdf>
56. Antonozzi I, Dominici R, Andreoli M, Monaco F. Neonatal screening in Italy for congenital hypothyroidism and metabolic disorders: hyperphenylalaninemia, maple syrup urine disease and homocystinuria. *J Endocrinol Invest.* 1980;3(4):357-63.
57. Rebolledo-Fernandez MM, Castiñeiras DE, Bóveda MD, Couce ML, Cocho JA, Fraga JM. Development of electrospray ionization tandem mass spectrometry methods for the study of a high number of urine markers of inborn errors of metabolism. *R Rapid Commun Mass Spectrom.* 2012;26(18):2131-44.
58. Tortorelli S, Hahn SH, Cowan TM, Brewster TG, Rinaldo P, Matern D. The urinary excretion of glutarylcarnitine is an informative tool in the biochemical diagnosis of glutaric acidemia type I. *Mol Genet Metab.* 2005;84:137-143.
59. Cabello-Tomás ML, García-Gómez AM, Guillén-Domínguez ML. Pilot screening programme for cystinuria in the Valencian community. *Eur J Epidemiol.* 1999;15(7):681-4.
60. Biyani CS, Cartledge JJ. Cystinuria-diagnosis and management. *EAU-EBU Update Series* 2006;4(5):175-183.
61. Eggermann T, Venghaus A, Zerres K. Cystinuria: an inborn cause of urolithiasis. *Orphanet J Rare Dis.* 2012;7:19.
62. Hoffmann GF, Von Kries R, Klose D, Lindner M, Schulze A, Muntau AC *et al.* Frequencies of inherited organic acidurias and disorders of mitochondrial fatty acid transport and oxidation in Germany. *Eur J Pediatr.* 2004;163:76-80.
63. Grünert SC, Wendel U, Lindner M, Leichsenring M, Schwab KO, Vockley J *et al.* Clinical and neurocognitive outcome in symptomatic isovaleric acidemia. *Orphanet J Rare Dis.* 2012;7:9.