

Tamizaje neonatal por espectrometría de masas en tándem: actualización

Derbis Campos Hernández¹

Forma de citar: Campos Hernández D. Tamizaje neonatal por espectrometría de masas en tándem: actualización. Rev Panam Salud Publica. 2010;27(4):309–18.

SINOPSIS

La espectrometría de masas en tándem (MS/MS) ha posibilitado la expansión de los programas de tamizaje neonatal en diferentes países. Esta tecnología permite el diagnóstico múltiple y rápido de diversos errores innatos del metabolismo. Sin embargo, su aplicación en distintos programas en el ámbito mundial es actualmente muy heterogénea. Existen diferentes criterios para determinar si se incluye una enfermedad específica en esos programas, en algunos casos con un enfoque más restrictivo que en otros, de acuerdo con los principios tradicionales de tamizaje enunciados por Wilson y Jungner, los que habrán de ser reevaluados a la luz de esta nueva tecnología. En este trabajo se presenta una actualización sobre el uso de la MS/MS en diferentes regiones del mundo en relación con las enfermedades tamizadas y con los criterios de inclusión de nuevos problemas de salud en los programas de tamizaje neonatal.

Palabras clave: tamizaje neonatal; espectrometría de masas en tándem; errores innatos del metabolismo.

¹ Centro Nacional de Genética Médica. Campus del Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas (ICBP) Victoria de Girón. Calle 146 No. 3102, Playa. La Habana 16, C.P.: 1600. Cuba. La correspondencia deberá enviarse a Derbis Campos Hernández. Correo electrónico: derbisch@cngen.sld.cu

Los errores innatos del metabolismo (EIM) comprenden más de 200 afecciones monogénicas producidas por la deficiencia de una enzima funcional, un transportador de membrana o una proteína o cofactor específico. El bloqueo de la ruta metabólica provoca la acumulación de los sustratos sin degradar o la deficiencia de los productos finales, anomalías que originan distintos mecanismos fisiopatológicos. Los EIM de los aminoácidos, los ácidos grasos y los ácidos orgánicos se manifiestan en los primeros años de vida mediante signos clínicos comunes, tales como letargia, falta de apetito, vómitos, taquipnea (producto de acidosis metabólica), convulsiones, trastornos del neurodesarrollo, entre otros, y pueden evolucionar hacia un cuadro clínico caracterizado por daño multisistémico grave, estupor, coma y un desenlace generalmente mortal (1).

La incidencia individual de estas enfermedades es variable, por ejemplo 1:15 000 para la fenilcetonuria (PKU) y la deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (MCAD) (2); 1:75 000 para las acidemias propiónicas y metilmalónicas; 1:100 000 para la deficiencia de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA liasa; y 1:200 000 para la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (3). Sin embargo, la incidencia conjunta de los EIM es significativa en la población infantil, 1:2 000 a 1:5 000, y por ende constituye un importante problema de salud (4). Su diagnóstico temprano mediante programas de tamizaje neonatal ofrece la posibilidad de modificar favorablemente el curso de la enfermedad detectada y eventualmente prevenir las enfermedades de ese origen y reducir su mortalidad.

Los inicios del tamizaje neonatal se remontan a la década de 1960, cuando Guthrie y Susi establecieron un método simple, rápido y confiable para diagnosticar la PKU en muestras de sangre seca sobre papel de filtro (5). Durante las tres décadas siguientes el número de EIM que se agregó a estos programas de tamizaje fue muy reducido. La principal limitación tecnológica era que cada enfermedad tamizada necesitaba de un análisis independiente y de una porción diferente de la muestra de sangre seca del neonato (6). El panorama cambió de manera radical con la introducción de la espectrometría de masas en tándem (EM, o MS/MS, por su sigla en inglés), y hoy se la utiliza ampliamente en los países que disponen de la infraestructura necesaria para sostener este tipo de programas.

La MS/MS es una técnica de separación e identificación múltiple de analitos basada en el patrón específico de fragmentación iónica que produce cada compuesto bajo determinadas condiciones de análisis, y en la separación-detección de cada especie iónica según su relación masa/carga. Resulta así posible separar, detectar y cuantificar en un mismo ensayo, sin

necesidad de un sistema cromatográfico adicional y a partir de un único disco de sangre seca sobre papel de filtro, los aminoácidos y acilcarnitinas que se usan como biomarcadores de diferentes EIM. El análisis es muy rápido y solo requiere una limitada preparación de la muestra (7). Ello permite reemplazar el enfoque tradicional de tamizaje, esto es, la utilización de una muestra por cada ensayo para detectar un biomarcador de una sola enfermedad, por la realización de un análisis simultáneo que captura varios biomarcadores por enfermedad, y así diagnosticar al mismo tiempo más de 40 afecciones en la misma muestra (8). La incorporación del desarrollo y aplicación de esta nueva técnica a los criterios clásicos de tamizaje se ha concretado en nuevas propuestas formuladas en distintos países por grupos de expertos o comisiones gubernamentales.

REEVALUACIÓN DE LOS CRITERIOS TRADICIONALES DE TAMIZAJE NEONATAL

Los criterios tradicionalmente seguidos para incluir una enfermedad en los programas de tamizaje neonatal se basaban en los principios formulados por Wilson y Jungner en 1968 (9). En la actualidad, el empleo de la MS/MS para la detección neonatal de múltiples EIM ha obligado a reevaluar algunos criterios, en particular los relacionados con las características de cada enfermedad, con la disponibilidad de tratamiento y con la relación costo/beneficio del proceso de tamizaje.

En cuanto a las características de la enfermedad a incluir en el tamizaje, un enfoque clásico plantea que ella debe constituir un problema de salud importante, y esto se ha interpretado como un criterio de exclusión para afecciones poco frecuentes. La MS/MS permite el diagnóstico simultáneo de distintas enfermedades en un mismo análisis, sin exigir pruebas adicionales. Esto posibilita que aun cuando la incidencia de cada enfermedad sea baja, la frecuencia acumulativa *del conjunto* de los EIM detectables mediante la MS/MS sí representa un problema de salud neonatal significativo (10).

Los criterios clásicos relacionados con el tratamiento y seguimiento de los pacientes identificados establecían la existencia de un tratamiento efectivo durante la etapa asintomática de la enfermedad. Su aplicación ha hecho prevalecer el principio del beneficio directo al recién nacido para la inclusión de una enfermedad en un programa de tamizaje neonatal. Sin embargo, la disponibilidad de un tratamiento capaz de detener o atenuar la progresión de la enfermedad como único beneficio puede relegar a un segundo plano la dimensión familiar y social inherente a todo tamizaje neonatal (11). El National Research Council (12) defendió esta posición en 1975 y planteó que el tamizaje neonatal es apropiado cuando hay certeza de que puede proporcionar un beneficio público sustancial. Esto incluye al neonato y a su familia, y facilita la obtención de un mejor conocimiento sobre la enfermedad, a la vez que permite reducir el tiempo de diag-

nóstico definitivo y, por lo tanto, los costos para el sistema de salud. ¿Son estos beneficios satisfactorios, aunque no se traduzcan en una mejoría directa para el neonato diagnosticado? Esto no parece contradictorio, siempre que el proceso de tamizaje por sí mismo no provoque daño adicional al niño.

Como se ha mencionado, el tamizaje por MS/MS le ahorra al recién nacido las extracciones múltiples, pues a partir de un único disco de sangre seca sobre papel de filtro se obtiene la información necesaria para detectar tanto los EIM tratables como los que no responden favorablemente a un tratamiento activo. Un diagnóstico correcto en el neonato posibilita en todos los casos una intervención terapéutica planificada, si no curativa al menos paliativa. Además, los padres aprecian el beneficio de un diagnóstico temprano, aunque no exista tratamiento efectivo, pues así pueden conocer la causa precisa de las eventuales complicaciones clínicas (13). Se facilita de tal modo el manejo del paciente en el seno de la familia y la preparación de ésta para afrontar la evolución de la enfermedad; además, los padres podrán disponer de información genética para sus futuras decisiones reproductivas (14). Un ejemplo en este sentido es el tamizaje activo de la distrofia muscular de Duchenne en la región británica de Gales, mucho antes de que hubiera alguna estrategia terapéutica en desarrollo (15, 16).

En cuanto a la relación costo-beneficio del proceso de tamizaje, la disponibilidad de la MS/MS como técnica de diagnóstico múltiple facilita la inclusión de mayor número de enfermedades sin prácticamente incremento alguno en los costos por cada diagnóstico individual adicional, siempre y cuando sean aceptables la sensibilidad y la especificidad clínica para cada uno de estos diagnósticos (17).

De todos modos, antes de introducir un nuevo tamizaje neonatal es importante evaluar el beneficio de un diagnóstico temprano, comparado con un diagnóstico clínico posterior, así como los posibles efectos indeseados del tamizaje, y verificar el sentido que reviste este procedimiento diagnóstico para cada enfermedad (18–20). La forma más idónea de decidirlo sería mediante estudios aleatorios controlados, aunque existe el impedimento de que, para la gran mayoría de los EIM, ese tipo de comprobación resulte casi imposible de realizar debido a la baja frecuencia de las enfermedades en cuestión (21). Con el objetivo de extender los programas de tamizaje neonatal por MS/MS, antes de su incorporación en diferentes regiones y países se han realizado grandes estudios piloto que permitieron determinar la eficacia clínica del diagnóstico para cada enfermedad (22–26).

En 2004 se inició uno de los mayores estudios piloto sobre este tema, para el tamizaje neonatal de la MCAD. Durante dos años se analizó la mitad de los nacimientos en el Reino Unido (700 000 neonatos), y la otra mitad se consideró como grupo de control (27). Los resultados demostraron la eficacia de esta metodología para la identificación presintomática de los pacientes y para la reducción significativa de la morbilidad y la mortalidad (28).

SITUACIÓN INTERNACIONAL

En la actualidad, las enfermedades incluidas en los programas de tamizaje neonatal que se detectan por MS/MS varían considerablemente de un país a otro (cuadro 1). Incluso en países como los Estados Unidos de América y el Canadá no hay uniformidad de criterios entre los distintos estados o provincias. Puesto que sus poblaciones comparten por lo general un fondo genético común, y sus sistemas de salud son similares, la variabilidad mencionada solo puede explicarse por divergencias de enfoque sobre la estimación de los riesgos y beneficios. Otra diferencia importante entre los programas estriba en que el diagnóstico de cada enfermedad puede estar definido bien como una obligación por la normativa nacional o regional, bien como derecho universal pero no de cumplimiento obligatorio, bien como opción para determinadas poblaciones en riesgo, o bien a pedido de los padres del neonato.

Estados Unidos y Canadá

En los Estados Unidos, los trabajos de Millington y de Chace, que demuestran la eficacia de la MS/MS en el tamizaje neonatal de los EIM, sirvieron de base para una rápida implementación de programas piloto en varios estados. A partir de estos estudios, los programas neonatales de Carolina del Norte en 1997, y de los estados que constituyen la región de Nueva Inglaterra en 1999, incorporaron esta metodología para la detección de diversos defectos en el metabolismo de los aminoácidos y los ácidos orgánicos, incluidos los grasos (29, 30); su implementación se extendió luego a la mayor parte de los estados de la Unión. Al no existir una política nacional centralizada, cada estado decide el elenco de enfermedades que han de incluirse en los programas de tamizaje neonatal por MS/MS.

Por iniciativa del Gobierno federal, el Colegio Estadounidense de Genética Médica (ACMG) elaboró y recomendó la adopción de un elenco único de tamizaje para lograr homogeneidad entre los distintos programas estatales (31). En un primer momento, se solicitó a un amplio grupo de profesionales de la salud, y a otros especialistas, información sobre las características clínicas, el diagnóstico, el tratamiento y el manejo de más de 80 EIM, así como sobre las características analíticas de la prueba de tamizaje. Posteriormente, un grupo de reconocidos expertos evaluó en profundidad la información recopilada mediante una revisión sistemática de la bibliografía.

Como recomendación principal se estableció un elenco básico de 29 enfermedades, consideradas objetivos primarios, además de 25 enfermedades adicionales u objetivos secundarios (31). Las enfermedades consideradas como objetivo primario han de cumplir las condiciones siguientes:

1. Deben poder detectarse en forma asintomática entre las primeras 24 y 48 horas después del nacimiento.

2. Deben poder identificarse mediante una prueba adecuada de sensibilidad y especificidad.
3. Deben existir datos probatorios suficientes sobre los beneficios de su detección temprana para poder aplicar un tratamiento efectivo.

En la categoría de objetivos secundarios se incluyen las enfermedades que pueden detectarse colateralmente, como parte del diagnóstico diferencial de una enfermedad del elenco o lista principal, y que son significativas desde el punto de vista clínico, aunque es posible que aún no exista un tratamiento efectivo. En la práctica, la distinción entre ambos grupos es imprecisa, ya que se recomienda el tamizaje obligatorio para todas las enfermedades de la lista básica de objetivos primarios, así como un informe obligatorio sobre las consideradas como objetivos secundarios, y sobre otros resultados anormales que puedan estar relacionados con otras afecciones clínicamente importantes.

Este grupo de expertos recomendó como método de detección para 20 de los objetivos primarios y para 22 de los secundarios el empleo de perfiles amplios de MS/MS, en lugar de un barrido de reacción múltiple específico, por la índole no restrictiva de este tipo de tamizaje (31).

Hasta mayo de 2009, todos los estados de la Unión, a excepción de Pensilvania, habían implementado el tamizaje por MS/MS del elenco de los EIM recomendados como objetivos primarios, aunque en cuatro estados se excluyó la detección de la tirosinemia tipo I. En todos estos casos, el tamizaje es de cumplimiento obligatorio por ley. En cuanto al tamizaje en procura de objetivos secundarios, sigue subsistiendo gran diversidad entre los estados tanto acerca de las enfermedades incluidas como sobre la obligatoriedad del examen (32). Sin embargo, muchos estados optaron por incorporar en su respectivo elenco básico la detección de EIM no recomendados por el ACMG. Por ejemplo, el síndrome de hiperamonemia-hiperornitinemia-homocitrulinemia se detecta en once estados, la hiperglicinemia no cetósica en seis, y la 5-oxoprolinuria en cinco.

En Puerto Rico y en las Islas Vírgenes, que dependen administrativamente de los Estados Unidos, la implementación del tamizaje por MS/MS se encuentra en sus etapas iniciales (33).

Al igual que en los Estados Unidos, en el Canadá el tamizaje neonatal es independiente en cada provincia o territorio, pero la variabilidad en relación con los EIM a detectar es mucho mayor. Además, las organizaciones de profesionales de la salud no han emitido ningún informe ni pronunciamiento acerca de un criterio nacional común al respecto, aunque recientemente algunas organizaciones no gubernamentales han promovido la discusión de este tema (34). Desde fines de 2006 hasta el presente ha habido un gran avance en el desarrollo del tamizaje neonatal. Hasta julio de 2008, todas las provincias y territorios canadienses realizaban el tamizaje por MS/MS de PKU; sin embargo, para el resto de los EIM sigue habiendo una amplísima heterogeneidad (35). La provincia de

CUADRO 1. Enfermedades incluidas en los programas de tamizaje neonatal por espectrometría de masas en tándem en diferentes regiones geográficas

Error innato del metabolismo (nombre común o enzima deficiente)	Europa										América			Medio Oriente			Australia-Oceanía			
	Alemania	Austria	Bélgica	Dinamarca	Gran Bretaña	Italia (Toscana)	Holanda	Polonia	Portugal	Suiza	Canadá ^a	Costa Rica	Estados Unidos ^b	Israel	Saudita	Arabia	Catar	Australia	Nueva Zelanda	Taiwán
Arginemia												S								
Aciduria arginosuccínica												P								
Citruinemia tipo I												P								
Citruinemia tipo II												S								
Enfermedad de orina con olor a jarabe de arce												P								
Homocistinuria												P								
Hipermetioninemia												S								
Fenilcetonuria/ hiperfenilalaninemia																				
Tirosinemia tipo I												P								
Tirosinemia tipo II/III												P								
Acidemia malónica												S								
Acidemia propiónica												P								
Acidemia metilmalónica												P/S ^c								
Acidemia isovalérica												P								
2-metilbutiril-coa deshidrogenasa												S								
3-hidroxi-3-metilglutaril-coa liasa												P								
3-metilcrotonil-coa carboxilasa												P								
Aciduria 3-metil glutacónica												S								
2-metil-3-hidroxi-butiril-coa deshidrogenasa												S								
β-Ceto tiolasa												P								
Coa carboxilasa múltiple												P								
Acidemia glutárica tipo I												P								
Isobutiril-coa deshidrogenasa												P								
Acil-coa deshidrogenasa de cadena corta												S								
Acil-coa deshidrogenasa de cadena media												S								
Acil-coa deshidrogenasa de cadena muy larga												P								
Acidemia glutárica tipo II												P								
Carnitina palmitoil transferasa I												S								
Carnitina palmitoil transferasa II												S								
Translocasa de carnitina/ acilcarnitina												S								
Transportador plasmático de carnitina												P								
3-hidroxi-acil-coa deshidrogenasa de cadena larga ^d												P								
Referencias	37	e	37	48	40	58	39	37	37	35	82	32	45	81	76	68	66	70		

^a Solo se presentan las enfermedades tamizadas en más del 50% del territorio nacional.

^b (P) Enfermedades catalogadas como objetivos primarios por el ACMG; (S) enfermedades consideradas "secundarias" tamizadas en más del 50% del territorio de los Estados Unidos.

^c Incluye como objetivos primarios las acidemias metilmalónicas causadas solamente por la deficiencia de metilmaloni-CoA mutasa y la deficiencia de su cofactor adenosicobalamina tipo A y B. Las enfermedades causadas por las deficiencias combinadas de los cofactores adenosicobalamina y metilcobalamina tipo C y D se consideran como objetivos secundarios.

^d Incluye la deficiencia de la proteína mitocondrial trifuncional.

^e Comunicación personal, Dr. Olat Bodamer (Division of Biochemical and Pediatric Genetics, University Children's Hospital Vienna), Viena, Austria; 14 de noviembre de 2009.

Ontario incluye todas las enfermedades recomendadas en el elenco básico de la ACMG, al igual que Saskatchewan, que además incorpora 21 de las catalogadas como objetivos secundarios. No obstante, Manitoba solo añade a la detección de PKU, la de la aciduria glutárica I. En la provincia de Saskatchewan solo es de cumplimiento obligatorio para los padres del neonato el tamizaje para la PKU (35).

Europa

El tamizaje neonatal para hipotiroidismo congénito constituye un requisito obligatorio en los programas de cribado de todos los estados miembros de la Unión Europea, y la PKU es el EIM más representado en estos programas (36), aunque en años recientes se ha verificado un creciente interés por ampliar la lista de tamizaje para incluir muchas otras enfermedades. En tal sentido, alrededor de una decena de países ya han introducido la MS/MS en sus programas neonatales, mientras que otros, como Bulgaria, Noruega, la República Checa y Rumania, están realizando estudios piloto previos a su incorporación (37–41).

Los primeros estudios piloto relacionados con esta tecnología se iniciaron en Alemania en 1998 (42, 43). Allí se aplicó un enfoque no restrictivo, incluida la detección de EIM potencialmente tratables, así como otros bajo investigación. A partir de esos resultados, en 2002 la Comisión Interdisciplinaria de Tamizaje de la Sociedad Alemana de Pediatría se pronunció a favor de extender a todo el país la utilización de la MS/MS (44). Recomendó la detección de 10 enfermedades cuyo diagnóstico se consideró suficientemente seguro, basándose en una documentada baja tasa de reanálisis y una favorable relación riesgo-beneficio. También recomendó la obtención de más pruebas científicas antes de decidir la inclusión de otras seis enfermedades: hipertirosinemias I y II, citrulinemia, acidemias metilmalónica y propiónica, así como la deficiencia de 3-metilcrotonil-CoA carboxilasa. Esta última resultó la acidemia orgánica más frecuente (8 casos confirmados en 500 000 individuos) detectada por el programa piloto de la región alemana de Baviera; pero se decidió no incluirla por considerársela un trastorno benigno, pues solo una pequeña proporción de los afectados desarrollan hipoglucemia con peligro de vida en situaciones de estrés (44). Otras enfermedades relativamente importantes como la homocistinuria, la aciduria argininosuccínica, la deficiencia en el transportador de carnitina y la deficiencia múltiple de acil-CoA deshidrogenasa no fueron incluidas en este informe. Actualmente, casi la totalidad de los estados alemanes mantienen en su elenco de tamizaje las 10 enfermedades recomendadas, pero Hessen ha incorporado un número mayor de enfermedades a similitud de las incluidas en el elenco básico de los Estados Unidos de América (45).

En general, el proceso de tamizaje no constituye en Alemania una obligación legal sino una recomendación a los padres del recién nacido, quienes deben dar su consentimiento informado. Las muestras, una

vez analizadas, se destruyen al cabo de tres meses, a diferencia de lo que sucede en Austria, donde se conservan al menos durante 15 años (46). La política adoptada en Alemania limita el análisis por MS/MS a solo transiciones iónicas específicas, mediante una función de barrido de reacción múltiple, para la detección de los principales biomarcadores de las enfermedades propuestas; se evita, entonces, la detección colateral de muchos otros EIM, desaprovechándose en gran medida el potencial de esta técnica. En caso de que por razones prácticas no se pueda obviar la cuantificación de analitos que constituyan a su vez marcadores para otros EIM, dichos resultados tendrán que destruirse inmediatamente, y la información proveniente de ellos no podrá usarse para obtener un diagnóstico incidental (46). Esto supone importantes implicaciones prácticas y éticas. El tamizaje para las deficiencias de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media y muy larga permitirá detectar casos ocasionales de deficiencia múltiple de acil-CoA deshidrogenasa cuyas variantes menos graves pueden responder al tratamiento. La deficiencia del transportador de carnitina, trastorno perfectamente tratable, se puede detectar al tamizar la deficiencia de carnitina palmitoil transferasa I (47). Contar con esta información e ignorar un posible diagnóstico resulta sumamente difícil.

Otros países manejan esta información incidental de manera diferente. Durante el proyecto piloto danés, el completo uso de toda la información disponible permitió la detección de tres niños con EIM no incluidos formalmente en el proyecto (48). En Holanda esta información se retiene para su uso en caso de que se desarrollen manifestaciones clínicas (38).

Mientras que Austria y Dinamarca destacan por una mayor incorporación de diferentes EIM en sus programas de tamizaje mediante MS/MS, el Reino Unido y Suiza abogan por un enfoque más restrictivo. En 2003, el Comité Nacional de Tamizaje del Reino Unido estableció nuevos criterios (49) que si bien se basan en los principios enunciados por Wilson y Jungner, se desarrollaron tomando en cuenta diversos trabajos internacionales, así como los informes sobre tamizaje neonatal y aplicación de la MS/MS realizados por su Programa de Evaluación de Tecnología de la Salud (18, 50). Según esos criterios, se requiere la obtención de pruebas de alta calidad y datos numéricos que permitan evaluar la viabilidad, eficacia y pertinencia de la probable inclusión de cada enfermedad en los programas de tamizaje (51, 52). Sin embargo, la baja frecuencia y la heterogeneidad clínica y genotípica de la mayoría de los EIM hacen poco probable la obtención de estos datos dentro de un periodo razonable. De acuerdo con estos criterios, en Inglaterra e Irlanda del Norte solo se tamizan en la actualidad la PKU y la MCAD, mientras que para 2011 se ha planificado la introducción del tamizaje de MCAD en Escocia. Al igual que en Alemania, el análisis por MS/MS se realiza mediante una función de barrido de reacción múltiple, aunque específica para la cuantificación del aminoácido fenilalanina y de la octanoilcarnitina, solo para la detección de PKU y MCAD, respectivamente (40).

En Suiza, aunque también se consideran solamente estos marcadores durante el tamizaje rutinario, existe la posibilidad de obtener información para el aminoácido tirosina, la hexanoilcarnitina y la deconoilcarnitina, en caso de posible resultado positivo, para aumentar la especificidad y la sensibilidad del diagnóstico final (53–55).

En España, las comunidades autónomas determinan en forma independiente las enfermedades y los procedimientos de tamizaje para sus respectivos programas, y entre ellas se observan diferencias no solo tecnológicas sino también financieras y de gestión sanitaria. El único EIM que se detecta en todas las comunidades es la PKU (56). A partir de 2001 se comenzó a usar la MS/MS en Galicia para identificar alrededor de 30 EIM (57). En 2007 esta técnica se extendió a Murcia, con el cribaje de 15 enfermedades, y al País Vasco, aunque en este último solo se aplica a la detección de PKU y de MCAD. En 2008 Andalucía y Extremadura también comenzaron a utilizar la MS/MS (56).

En Italia, la expansión de los programas de tamizaje por MS/MS se ha introducido mediante estudios piloto en seis de las 20 regiones del país; Toscana es la única región que actualmente tamiza en forma rutinaria para detectar al menos 41 enfermedades. A diferencia del resto de los programas que se han ejecutado en otros países, la búsqueda se realiza mediante sistemas de cromatografía líquida acoplados a la MS/MS (58). Dado el interés de otras regiones por introducir esta metodología, la Sociedad Italiana de Tamizaje Neonatal y la Sociedad Italiana para el Estudio de los Errores Innatos del Metabolismo han desarrollado una guía para la implementación y manejo de la expansión del tamizaje neonatal a fin de homogeneizar los diferentes programas regionales (41). Recientemente, grupos de expertos de España, Holanda y Noruega también han dado a conocer recomendaciones tendientes a lograr consenso sobre las enfermedades incluidas en sus respectivos programas de tamizaje (59–61). Cabe destacar que mientras que en Holanda se consideró como criterio fundamental para su inclusión la existencia de un tratamiento efectivo, en los otros países se adoptó un enfoque menos restrictivo y se consideró además la existencia de tratamientos paliativos, así como el beneficio indirecto para la familia. Aun así, las enfermedades recomendadas en estos estudios varían ampliamente de un país a otro.

Finlandia representa un caso peculiar. La PKU es extremadamente poco frecuente y solo se realiza el tamizaje de hipotiroidismo congénito a partir de sangre de cordón, por lo tanto, la carencia de la infraestructura necesaria y de un sistema centralizado para la recolección de las muestras de sangre seca sobre papel de filtro incrementaría mucho los costos de la introducción de la MS/MS (62).

Otras regiones

En Australia, los estudios iniciales realizados por Carpenter, Wilcken y Wiley sobre el empleo de la MS/MS para el diagnóstico múltiple de diferentes

EIM constituyeron, desde 1998, la base para la incorporación de esta técnica al programa de tamizaje neonatal del estado de Nueva Gales del Sur, que se extendió en años sucesivos al resto del país (63–65).

En la región de Asia y el Pacífico cabe destacar también el programa de tamizaje neonatal de Nueva Zelanda, que se expandió desde diciembre de 2006 para incluir esta tecnología (66). La política adoptada en este país y Australia la desarrollan conjuntamente la Sociedad de Genética Humana y el Colegio Real de Medicina de Australasia (67), que recomiendan, entre otras cosas, realizar el tamizaje cuando se cumplen las siguientes condiciones:

1. Existe un beneficio para el individuo a partir de un diagnóstico temprano. Incluso cuando el beneficio directo es para la familia, también se considera que favorece al niño.
2. El beneficio guarda relación razonable con los costos financieros y de otra índole.
3. Se dispone de pruebas confiables para el diagnóstico.
4. Funciona un sistema satisfactorio que permite realizar el diagnóstico, asesoramiento, tratamiento y seguimiento de los pacientes identificados.

En cuanto a los errores del metabolismo de los aminoácidos, ácidos orgánicos y ácidos grasos que se diagnostiquen por MS/MS, se recomienda la detección simultánea y no restrictiva de 33 enfermedades. Aunque existen diferencias entre cada estado de Australia y también con el programa nacional único de Nueva Zelanda, con respecto a las enfermedades finalmente detectadas se observa mayor homogeneidad que en América del Norte y en Europa. Entre las que se tamizan en forma diferencial están las deficiencias de isobutiril-CoA deshidrogenasa, acil-CoA deshidrogenasa de cadena corta, hidroxil-acil-CoA deshidrogenasa de cadena corta y de argininemia (68). La política de tamizaje en ambos países de Australasia establece la participación voluntaria, y mediante consentimiento informado de los padres, así como el debido uso, retención y conservación de las muestras.

Otros países de esa región que han incorporado recientemente la MS/MS en sus programas neonatales son Singapur y Taiwán, mientras que en China, Corea del Sur, India, Japón, Malasia y Tailandia se halla en diferentes etapas de implementación (69, 70).

Medio Oriente y África del Norte constituyen una región particularmente importante para el tamizaje de los EIM. Su población se caracteriza por un alto nivel de endogamia, con una tasa de consanguinidad entre 25% y 70% (71), y los EIM son causa significativa de muerte neonatal e infantil, así como de retraso mental (72).

Solamente en unos pocos países se han implementado programas de tamizaje nacional, y su cobertura aún es escasa. En cuanto a la expansión de estos programas mediante la MS/MS, solo Arabia Saudita, Israel, Líbano y Qatar la han introducido en forma rutinaria en sus programas neonatales, mientras que en Egipto aún se encuentra en la fase de estudio piloto (73, 45). Cabe destacar el caso de Arabia Saudita, uno

de los primeros países del mundo en implementar, entre 1995 y 1998, un estudio piloto de tamizaje neonatal basado en la MS/MS, a partir de los importantes aportes realizados por el investigador residente M. S. Rashed (74, 75). En el Líbano y el Estado de Qatar el uso de esta tecnología ha sido posible gracias a la cooperación entre instituciones nacionales e importantes laboratorios de Alemania, en los cuales se procesaron las muestras durante las primeras etapas de los estudios piloto (76, 77).

En ambos países la selección de las enfermedades se basó inicialmente en el programa neonatal alemán; luego, tomando en cuenta la probable incidencia de estas enfermedades en la región, se incluyeron hasta 24 EIM. De hecho, después de analizar 25 214 muestras en un periodo de 31 meses, se estimó una incidencia combinada de 1:1 327 (76), superior a la de 1:3 390 obtenida durante el estudio piloto de Baviera (166 000 muestras durante tres años), y a la de 1:6 500 notificada por el estudio piloto de California, Estados Unidos (353 894 muestras durante 18 meses) (78, 79). Arabia Saudita también notificó una alta incidencia de EIM, 1:1 381 (27 624 muestras durante tres años), pero incluyó menos enfermedades en su programa de tamizaje por MS/MS (80, 81).

En América Latina, Chile, Costa Rica, Cuba y Uruguay cuentan con programas de tamizaje neonatal bien desarrollados, supervisados por las autoridades de salud de los gobiernos respectivos. Con una cobertura superior al 98%, se ocupan tanto del diagnóstico como del tratamiento y seguimiento de los casos detectados. Únicamente Costa Rica ha incorporado la detección por MS/MS para el diagnóstico de aminoacidopatías, acidurias orgánicas y defectos de la oxidación de los ácidos grasos (82), mientras que en Chile se están realizando estudios piloto de esas mismas anomalías (83). En México, específicamente en el estado de Nuevo León, también se está llevando a cabo un estudio piloto para evaluar la expansión del programa estatal de tamizaje por MS/MS (84).

CONCLUSIONES

Sin duda, la utilización de la MS/MS ha representado un impulso muy positivo para el desarrollo del tamizaje neonatal, que se traduce en un beneficio directo a la salud infantil. Para diferentes enfermedades como la PKU, la MCAD y la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce existen tratamientos farmacológicos y dietéticos, así como cambios en el estilo de vida que permiten evitar el desequilibrio metabólico. El diagnóstico asintomático neonatal de esos pacientes por MS/MS evitaría la aparición de manifestaciones clínicas graves, muchas veces irreversibles, de rápida progresión y eventualmente fatales; contribuiría así a una reducción importante de la morbilidad y la mortalidad. Resultados preliminares indican que los niños objeto del tamizaje podrían experimentar menos problemas de salud y desarrollo, y desempeñarse mejor en distintos aspectos de la vida diaria que los niños diagnosticados solo clínicamente (4).

La introducción de la MS/MS en los programas de tamizaje neonatal ha permitido asimismo obtener datos más precisos acerca de la incidencia de diversas enfermedades, al posibilitar la observación de un mayor número de EIM en comparación con el período anterior a su utilización (64). También ha hecho posible la ampliación del conocimiento biomédico sobre distintas enfermedades, en lo que se refiere a su heterogeneidad genética y fenotípica, cuando luego de un resultado positivo por tamizaje en los hijos se descubren deficiencias metabólicas en progenitores que no habían presentado manifestaciones clínicas (85–87).

La utilización de esta tecnología múltiple no solo permite la detección simultánea de muchos EIM sino también el diagnóstico de enfermedades, tales como los defectos en la oxidación de los ácidos grasos, cuya detección anteriormente requería técnicas complejas. Además, ha permitido aumentar la sensibilidad en el diagnóstico, por ejemplo de la PKU, en relación con los métodos tradicionales (88).

Sin embargo, la expansión de los programas de tamizaje neonatal por MS/MS representa un reto, ya que aún no existe consenso sobre qué enfermedades deben incluirse. Se origina así una gran heterogeneidad entre los distintos programas neonatales aplicados actualmente en el mundo. En este sentido, es necesario unificar criterios teniendo en cuenta los diferentes parámetros de desempeño analítico y clínico para la detección de cada enfermedad, así como los beneficios de un diagnóstico temprano (89). La inclusión de otros EIM en estos programas estará muy vinculada al desarrollo de tratamientos efectivos para enfermedades que aún no lo tienen, así como a la posibilidad de realizar su detección mediante MS/MS. Recientes investigaciones indican que el próximo grupo a considerar sería el de las enfermedades de almacenamiento lisosomal. De hecho, la enfermedad de Krabbe es parte del programa de tamizaje neonatal del estado de Nueva York (90, 32).

La complejidad de la tecnología MS/MS y la multiplicidad de sus aplicaciones prácticas plantean la necesidad de formar equipos multidisciplinarios que cuenten con el apoyo conjunto tanto de especialistas analíticos como de clínicos y administrativos, para realizar un análisis objetivo amplio e integral que explote las ventajas de la MS/MS en el campo del tamizaje neonatal.

SYNOPSIS

Neonatal screening by tandem mass spectrometry: an update

Tandem mass spectrometry (MS/MS) has made it possible to expand neonatal screening programs in different countries. This technology permits multiple and rapid diagnosis of diverse inborn errors of metabolism. However, its use in different programs around the world currently varies

widely. There are different criteria for determining whether to include a specific disease in such programs, with some cases employing a more restrictive approach than others, based on the traditional screening principles enunciated by Wilson and Jungner, which will have to be reevaluated in light of this new technology. This article presents an update on the use of MS/MS in different regions of the world

in terms of the diseases screened for, and the criteria for including new health problems in neonatal screening programs.

Key words: neonatal screening; tandem mass spectrometry; metabolism, inborn errors.

REFERENCIAS

1. Scriver CR. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 8.^a ed. New York: McGraw-Hill; 2001.
2. Raghuvier TS, Garg U, Graf WD. Inborn errors of metabolism in infancy and early childhood: An update. *Am Fam Physician*. 2006;73(11):1981-90.
3. Garg U, Dasouki M. Expanded newborn screening of inherited metabolic disorders by tandem mass spectrometry: Clinical and laboratory aspects. *Clin Biochem*. 2006;39(4):315-32.
4. Bariç I, Fumiç K, Hoffmann GF. Inborn errors of metabolism at the turn of the millennium. *Croat Med J*. 2001;42(4):379-83.
5. Guthrie R, Susi A. A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. *Pediatrics*. 1963;32:338-43.
6. Pämpols T. Neonatal screening. *Turk J Pediatr*. 2003;45(2):87-94.
7. Chace DH, Kalas TA, Naylor EW. Use of tandem mass spectrometry for multi-analyte screening of dried blood specimens from newborns. *Clin Chem*. 2003;49(11):1797-817.
8. Sweetman L. Newborn screening by tandem mass spectrometry: gaining experience. *Clin Chem*. 2001;47(11):1937-8.
9. Wilson JM, Jungner YG. Principles and practice of mass screening for disease. *Bol Oficina Sanit Panam*. 1968;65(4):281-393.
10. Alexander D, van Dycke PC. A vision of the future of newborn screening. *Pediatrics*. 2006;117(5):S350-4.
11. Pollitt RJ. Principles and performance: assessing the evidence. *Acta Paediatr Suppl*. 1999;88(432):110-4.
12. Committee for the Study of Inborn Errors of Metabolism, Division of Medical Sciences, Assembly of Life Sciences, National Research Council. *Genetic Screening: Programs, principles, and research*. Washington, D.C: National Academy of Sciences; 1975.
13. Waisbren SE, Albers S, Amato S, Ampola M, Brewster TG, Demmer L, et al. Effect of expanded newborn screening for biochemical genetic disorders on child outcomes and parental stress. *JAMA*. 2003;290(19):2564-72.
14. Wilcken B. Ethical issues in newborn screening and the impact of new technologies. *Eur J Pediatr*. 2003;162 Suppl 1:S62-6.
15. Parsons EP, Clarke AJ, Hood K, Lycett E, Bradley DM. Newborn screening for Duchenne muscular dystrophy: a psychosocial study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2002;86(2):F91-5.
16. Parsons EP, Bradley DM, Clarke AJ. Newborn screening for Duchenne muscular dystrophy. *Arch Dis Child*. 2003;88(1):91-2.
17. Schulze A, Lindner M, Kohlmüller D, Olgemöller K, Mayatepek E, Hoffmann GF. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome, and implications. *Pediatrics*. 2003;111(6 Pt 1):1399-406.
18. Pollitt RJ, Green A, McCabe CJ, Booth A, Cooper NJ, Leonard JV. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: cost, yield and outcome. *Health Technol Assess*. 1997;1(7):i-iv, 1-202.
19. Liebl B, Nennstiel-Ratzel U, Roscher A, von Kries R. Data required for the evaluation of newborn screening programmes. *Eur J Pediatr*. 2003;162 Suppl 1:S57-61.
20. Tran K, Banerjee S, Li H, Noorani HZ, Mensinkai S, Dooley K. Clinical efficacy and cost-effectiveness of newborn screening for medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency using tandem mass spectrometry. *Clin Biochem*. 2007;40(3-4):235-41.
21. Wilcken B. Rare diseases and the assessment of intervention: what sorts of clinical trials can we use? *J Inherit Metab Dis*. 2001;24(2):291-8.
22. Wilcken B, Haas M, Joy P, Wiley V, Chaplin M, Black C, et al. Outcome of neonatal screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: a cohort study. *Lancet*. 2007;369(9555):37-42.
23. Nennstiel-Ratzel U, Arenz S, Maier EM, Knerr I, Baumkötter J, Röschinger W, et al. Reduced incidence of severe metabolic crisis or death in children with medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency homozygous for c.985A>G identified by neonatal screening. *Mol Genet Metab*. 2005;85(2):157-9.
24. Lindner M, Ho S, Fang-Hoffmann J, Hoffman GF, Köler S. Neonatal screening for glutaric aciduria type 1: Strategies to proceed. *J Inherit Metab Dis*. 2006;29(2-3):378-82.
25. Simon E, Fingerhut R, Baumkötter J, Konstantopoulou V, Ratschmann R, Wendel U. Maple syrup urine disease: favourable effect of early diagnosis by newborn screening on the neonatal course of the disease. *J Inherit Metab Dis*. 2006;29(4):532-7.
26. Haas M, Chaplin M, Joy P, Wiley V, Black C, Wilcken B. Healthcare use and costs of medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in Australia: screening versus no screening. *J Pediatr*. 2007;151(2):121-6.
27. Goddard P. Newborn screening for medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (MCADD) in the UK. *J Fam Health Care*. 2004;14(4):90-2.
28. Oerton J, Downing M, Andresen BS, Champion M, Cleany M, Chakrapani A. Predictive value, clinical status and genotype of medium-chain acyl CoA dehydrogenase deficiency (MCADD) ascertained by screening at one week of age using electrospray tandem mass spectrometry of underivatized blood spots: findings from a UK multicentre trial. *J Inherit Metab Dis*. 2005;28 Suppl 1:9.
29. Zytovicz TH, Johnson D, Rojas D, Fitzgerald E. Testing newborn specimens by tandem mass spectrometry: the first 16 months experience in the New England Program. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2001;50(RR03):23-34.
30. Frazier DM, Millington DS, McCandless SE, Koerber DD, Weavil SD, Chaing SH, et al. The tandem mass spectrometry newborn screening experience in North Carolina: 1997-2005. *J Inherit Metab Dis*. 2006;29(1):76-85.
31. American College of Medical Genetics Newborn Screening Expert Group. Newborn screening: toward a uniform screening panel and system. *Pediatrics*. 2006;117(5 Pt 2):S296-307.
32. National Newborn Screening Status Report [base de datos en Internet]. Austin (TX): National Newborn Screening and Genetics Resource Center [actualizado el 7 de julio de 2009]. Hallado en: <http://genes-r-us.uthscsa.edu/nbsdisorders.pdf>. Acceso el 14 de agosto de 2009.
33. Morales A, Wierenga A, Cuthbert C, Sacharow S, Jayakar P, Velazquez D, et al. Expanded newborn screening in Puerto Rico and the US Virgin Islands: education and barriers assessment. *Genet Med*. 2009;11(3):169-75.
34. Therrell BL, Adams J. Newborn screening in North America. *J Inherit Metab Dis*. 2007;30(4):447-65.

35. Canada Status Report [base de datos en Internet]. Canadian Organization for Rare Disorders. National Newborn Screening and Genetics Resource Center [actualizado el 9 de julio de 2008]. Hallado en: http://genes-r-us.uthscsa.edu/CA_nbsdisorders.pdf. Acceso el 14 de agosto de 2009.
36. Holland WW, Stewart S, Masseria C. Policy brief: screening in Europe [Internet]. Geneva: World Health Organization, European Observatory on Health Systems and Policies; 2006. Hallado en: <http://www.euro.who.int/Document/E88698.pdf>. Acceso el 5 mayo de 2009.
37. Bodamer OA, Hoffmann GF, Lindner M. Expanded newborn screening in Europe 2007. *J Inherit Metab Dis.* 2007;30(4):439-44.
38. Bolhuis PA, Page-Christiaens GCML. Het advies "Neonatale screening" van de Gezondheidsraad. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2005;149(51):2857-60.
39. Elvers B, Bouva M, Caren L, Loeber JG. Expanded neonatal screening program in The Netherlands: results and some pitfalls. *Czecho-Slovak Pediatrics.* 2009;64(4):205.
40. UK Screening Portal. Programmes. Newborn blood spot screening across the UK [Sitio en Internet]. UK National Screening Committee; 2009. Hallado en: <http://www.screening.nhs.uk/blood-spot-compare>. Acceso el 24 de marzo de 2009.
41. Antonozzi I, Burlina A, Caruso U, Cerone R, Corbetta C, Giordano G, et al. Linee guida italiane per lo screening neonatale esteso e per la conferma diagnostica 2008 [monografía en Internet]. Società Italiana Studio Malattie Metaboliche Ereditarie. Società Italiana Screenings Neonatali; mayo 2008. Hallado en: <http://www.sismme.it/it/documents/GLEXPNS2008.pdf>. Acceso el 16 de febrero de 2009.
42. Roscher A, Liebl B, Fingerhut R, Olgemöller B. Prospective study of MS-MS newborn screening in Bavaria, Germany: interim results. *J Inherit Metab Dis.* 2000;23 Suppl 1:4.
43. Harms E, Roscher A, Grütters A, Heinrich U, Genzel-Boroviczeny O, Rossi R, et al. Neue Screening-Richtlinien: richtlinien zur Organisation und Durchführung des Neugeborenen Screenings auf angeborene Stoffwechselstörungen und Endokrinopathien in Deutschland. *Monatsschr Kinderheilkd.* 2002;150(11):1424-40.
44. Röschinger W, Olgemöller B, Fingerhut R, Liebl B, Roscher AA. Advances in analytical mass spectrometry to improve screening for inherited metabolic diseases. *Eur J Pediatr.* 2003;162 Suppl 1: S67-76.
45. Pellegrino ED, Bloom FE, Carson BS, Dresser RS, Eberstadt NN, Elshain JB, et al. The changing moral focus of newborn screening: an ethical analysis by the President's Council on Bioethics [monografía en Internet]. Washington, D.C.: The President's Council on Bioethics; December 2008. Appendix, Newborn screening: an international survey. Hallado en: <http://www.bioethics.gov/reports/newborn-screening/index.html>. Acceso el 14 de mayo de 2009.
46. Bekanntmachung des Bundesministerium für Gesundheit und Soziale Sicherung: [1343 A] Bekanntmachung Beschluss des Gemeinsamen Bundesausschusses über eine Änderung eines der Richtlinien der Ärzte und Krankenkassen des Bundesausschusses über die Früherkennung von Krankheiten bei Kindern bis zur Vollendung des 6. Lebensjahres (Kinder-Richtlinien) zur Einführung des erweiterten Neugeborenen-Screenings Vom 21. Lebensjahres (Kinder-Richtlinien) zur Einführung des erweiterten Neugeborenen-Screenings Vom 21. Dezember 2004. *BAnz.* 2005 Mar 31;No. 60(S. 4833).
47. Chace DH, Kalas TA, Naylor EW. Use of Tandem Mass Spectrometry for Multianalyte Screening of Dried Blood Specimens from Newborns. *Clin Chem.* 2003;49(11):1797-817.
48. Lund AM. Neonatal metabolic screening in Denmark. 101. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kinder und Jugendmedizin [monografía en Internet]. Bremen; 2005. Hallado en: <http://www.mh-hannover.de/tagungen/abs/dgkj2005/web/pdf/k058.pdf>. Acceso el 12 de febrero de 2009.
49. UK Screening Portal. UK National Screening Committee. Policy Review Process. Programme appraisal criteria. Criteria for appraising the viability, effectiveness and appropriateness of a screening programme [Sitio en Internet]. UK National Screening Committee; 2009. Hallado en: <http://www.screening.nhs.uk/criteria>. Acceso el 24 de marzo de 2009.
50. Seymour CA, Thomason MJ, Chalmers RA, Addison GM, Bain MD, Cockburn F, et al. Newborn screening for inborn errors of metabolism: a systematic review. *Health Technol Assess.* 1997;1(11):i-iv,1-95.
51. Downing M, Pollitt RJ. Newborn screening in the UK - past, present and future. *Ann Clin Biochem.* 2008;45(Pt 1):11-7.
52. Pandor A, Eastham J, Beverley C, Chilcott J, Paisley S. Clinical effectiveness and cost-effectiveness of neonatal screening for inborn errors of metabolism using tandem mass spectrometry: a systematic review. *Health Technol Assess.* 2004;8(12):iii,1-121.
53. Chace DH, Millington DS, Terada N, Kahler SG, Roe CR, Hofman LF. Rapid diagnosis of phenylketonuria by quantitative analysis for phenylalanine and tyrosine in neonatal blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chem.* 1993;39(1):66-71.
54. Chace DH, Hillman SL, Van Hove JLK, Naylor EW. Rapid diagnosis of MCAD deficiency: quantitative analysis of octanoylcarnitine and other acylcarnitines in newborn blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chem.* 1997;43(11):2106-13.
55. Pollitt RJ. Introducing new screens: why are we all doing different things? *J Inherit Metab Dis.* 2007;30(4):423-9.
56. 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 [monografía en Internet]. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo. Avalia-t. No. 2006/07. Hallado en: <http://aunets.isciii.es/ficherosproductos/110/Informe%20tandem.pdf>. Acceso el 6 de enero de 2010.
57. Xunta de Galicia. Consellería de Sanidade. Dirección Xeral de Saúde Pública e Planificación. Actualización do Programa galego para a detección precoz de enfermidades endócrinas e metabólicas en período neonatal. Resultados 1995-2008 [monografía en Internet]. Santiago de Compostela, Galicia: Xunta de Galicia; 2008. Hallado en: http://www.galiciasaude.es/Mostrar-Contidos_N3_T01.aspx?IdPaxina=62455. Acceso el 6 de enero de 2010.
58. La Marca G, Malvagia 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 Inherit Metab Dis* [publicación periódica en línea], 2008, Oct 27 [citada el 19 de diciembre de 2008]. Informe breve No. 127 [10 p.]. Hallado en: <http://www.springerlink.com/whalecom0/content/c148110814371300/fulltext.pdf>.
59. Health Council of the Netherlands. Neonatal Screening [monografía en Internet]. The Hague: Health Council of the Netherlands; 22 de agosto de 2005. Publication no. 2005/11E. Hallado en: <http://www.gezondheidsraad.nl/sites/default/files/05/11E.pdf>. Acceso el 16 de mayo de 2009.
60. Marín Soria JL, Aldamiz-Echevarria L, Castiñeiras Ramos DE, Dalmau Serra J, Fernández Sánchez A, González Lamuño D, et al. Programas de cribado neonatal en España: actualización y propuestas de futuro [monografía en Internet]. Asociación Española para el Estudio de Errores Congénitos del Metabolismo; Asociación Española de Pediatría, Sección de Errores Innatos del Metabolismo; Sociedad Española de Química Clínica y Patología Molecular, Comisión de Diagnóstico Perinatal. 31 de mayo de 2009. Hallado en: <http://www.ae3com.org/noticias/programas-cribado-neonatal.pdf>. Acceso el 16 de febrero de 2009.
61. Klingenberg C, Pettersen RD, Markestad T, Martinussen M, Rogne S, Frydenberg K, et al. Expanded newborn screening in Norway: advisory report from a national working group. *Czecho-Slovak Pediatrics.* 2009;64(4):204.
62. Autti-Rämö I, Mäkelä M, Sintonen H, Koskinen H, Laajalahti L, Halila R, et al. Expanding screening for rare metabolic disease in the newborn: an analysis of costs, effect and ethical consequences of

- decision-making in Finland. *Acta Paediatr.* 2005;94(8):1126–36.
63. Carpenter KH, Wilcken B. Neonatal diagnosis of long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency and implications for newborn screening by tandem mass spectrometry. *J Inherit Metab Dis.* 1999;22(7):840–1.
 64. Wilcken B, Wiley V, Carpenter K. Two years of routine newborn screening by tandem mass spectrometry (MSMS) in New South Wales, Australia. *J Inherit Metab Dis.* 2000;23 Suppl 1:4.
 65. Wiley V, Carpenter K, Wilcken B. Newborn screening with tandem mass spectrometry: 12 months' experience in NSW Australia. *Acta Paediatr Suppl.* 1999;88(432):48–51.
 66. National Screening Unit. Screening Programmes. Newborn Metabolic Screening Programme. What are we screening for? [Sitio en Internet]. National Screening Unit, New Zealand's Ministry of Health; 2009. Hallado en: <http://www.nsu.govt.nz/Current-NSU-Programmes/914.asp>. Acceso el 16 de mayo de 2009.
 67. HGSA-RACP Newborn Screening Policy 2004 [monografía en Internet]. HGSA-RACP Newborn Screening Joint Subcommittee; 18 de marzo de 2004. Hallado en: http://www.hgsa.com.au/images/UserFiles/Attachments/hgsa_policystatementnewbornscreening_020418.03.pdf. Acceso el 24 de marzo de 2009.
 68. Wilcken B, Wiley V. Newborn screening. *Pathology.* 2008;40(2):104–15.
 69. Padilla CD, Therrell BL. Newborn screening in the Asia Pacific region. *J Inherit Metab Dis.* 2007;30(4):490–506.
 70. Newborn screening program detects congenital metabolic disorders [Sitio en Internet]. Taiwan (R.O.C): Bureau of Health Promotion, Department of Health; 13 de diciembre de 2006. Hallado en: <http://www.bhp.doh.gov.tw/BHPNET/English/ClassShow.aspx?No=200803250014>. Acceso el 25 de abril de 2009.
 71. Teebi A, El-Shanti H. Consanguinity: implications for practice, research, and policy. *Lancet.* 2006;367(9515):970–1.
 72. Al-Odaib AN, Abu-Amero KK, Ozand PT, Al-Hellani AM. A new era of preventive genetic programs in the Arabian Peninsula. *Saudi Med J.* 2003;24(11):1168–75.
 73. Saadallah AA, Rashed MS. Newborn screening: experiences in the Middle East and North Africa. *J Inherit Metab Dis.* 2007;30(4):482–9.
 74. Rashed MS, Ozand PT, Bucknall MP, Little D. Diagnosis of inborn errors of metabolism from blood spots by acylcarnitines and amino acids profiling using automated electrospray tandem mass spectrometry. *Pediatr Res.* 1995;38(3):324–31.
 75. Rashed MS, Rahbeeni Z, Ozand PT. Applications of electrospray tandem mass spectrometry to neonatal screening. *Semin Perinatol.* 1999;23(2):183–93.
 76. Lindner M, Abdoh G, Fang-Hoffmann J, Shabeck N, Al-Sayrafi M, Al-Janahi M, et al. Implementation of extended neonatal screening and metabolic unit in the state of Qatar: Developing and optimizing strategies in cooperation with the Neonatal Screening Center in Heidelberg. *J Inherit Metab Dis.* 2007;30(4):522–9.
 77. Khneisser I, Adib SM, Megarbane A, Lukacs Z. Internacional cooperation in the expansion of a newborn screening programme in Lebanon: a possible model for other programmes. *J Inherit Metab Dis* [publicación periódica en línea]. 2008, Nov 21 [citada el 19 de diciembre de 2008]; Informe breve No. 5: [6 p.]. Hallado en: <http://www.springerlink.com/whalecom0/content/27764t758j713811/fulltext.pdf>.
 78. Roscher A, Liebl B, Fingerhut R, Olgemoller B. Prospective study of MS-MS newborn screening in Bavaria, Germany. Interim results. *J Inherit Metab Dis.* 2000;23 Suppl 1:4.
 79. Feuchtbaum L, Loret F, Faulkner L, Sherwin J, Currier R, Bhandal A, et al. California's experience implementing a pilot newborn supplemental screening program using tandem mass spectrometry. *Pediatrics.* 2006;117(5):S261–9.
 80. Rashed MS. Clinical applications of tandem mass spectrometry: ten years of diagnosis and screening for inherited metabolic diseases. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 2001;758(1):27–48.
 81. Genetic counselling and preventative screening programs in the Kingdom of Saudi Arabia: present and future [monografía en Internet]. Riyadh (Saudi Arabia): Department of Medical Genetics, King Faisal Specialist Hospital and Research Centre; mayo de 2008. Hallado en: <http://www.kfshrc.edu.sa/Abstract%20Book%20-%202028%20Apr%202008.pdf>. Acceso el 25 de agosto de 2009.
 82. Borrajo GJC. Newborn screening in Latin America at the beginning of the 21st century. *J Inherit Metab Dis.* 2007;30(4):466–81.
 83. Hosiasson SS. Screening auditivo y metabólico del recién nacido. *Rev. Med. Clin. Condes.* 2008;19:271–7.
 84. Torres-Sepúlveda MR, Martínez-de Villarreal LE, Esmer C, et al. Tamiz metabólico neonatal por espectrometría de masas en tándem: dos años de experiencia en Nuevo León, México. *Salud Publica Mex.* 2008;50(3):200–6.
 85. Wilcken B. The consequences of extended newborn screening programmes: Do we know who needs treatment? *J Inherit Metab Dis.* 2008;31(2):173–7.
 86. Walter JH, Patterson A, Till J, Besley GT, Fleming G, Henderson MJ. Bloodspot acylcarnitine and amino acid analysis in cord blood samples; efficacy and reference data from a large cohort study. *J Inherit Metab Dis.* 2009;32(1):95–101.
 87. Crombez EA, Cederbaum SD, Spector E, Chan E, Salazar D, Neidich J, et al. Maternal glutaric acidemia, type I identified by newborn screening. *Mol Genet Metab.* 2008;94(1):132–4.
 88. Chace DH, Millington DS, Hillman SL. The role of tandem mass spectrometry in reducing the number of false positive and false negative results in the diagnosis of metabolic disease from dried blood spots. En: Pass K, Levy H, eds. *Early hospital discharge: impact on newborn screening.* Atlanta, Georgia: Emory University School of Medicine; 1995. Pp. 272–83.
 89. Pollitt RJ. International perspectives on newborn screening. *J Inherit Metab Dis.* 2006;29(2–3):390–6.
 90. Li Y, Brockmann K, Turecek F, Scott CR, Gelb MH. Tandem mass spectrometry for the direct assay of enzymes in dried blood spots: application to newborn screening for Krabbe disease. *Clin Chem.* 2004;50(3):638–40.

Manuscrito recibido el 16 de octubre de 2009. Aceptado para publicación, tras revisión, el 20 de enero de 2010.