



# PROTOCOLO DE CRIBADO NEONATAL DE LA FENILCETONURIA



Grupo de trabajo de cribado neonatal.

Ponencia de cribado Poblacional

Septiembre-2021



GOBIERNO  
DE ESPAÑA

MINISTERIO  
DE SANIDAD

## Elaboración del documento:

### Grupo de trabajo de protocolos de cribado neonatal de la Ponencia de cribado poblacional de la Comisión de Salud Pública

#### Ministerio de Sanidad

Unidad de Programas de Cribado  
María Vicenta Labrador Cañadas  
Marta Navarro Gómez

#### Expertos externos

Elena Dulín Iñiguez  
Mercedes Espada Sáenz-Torre  
Isidro Vitoria Miñana

#### Comunidades y Ciudades Autónomas

##### Comunidad Autónoma de Andalucía

Raquel Yahyaoui Macías  
Amalia Suárez Ramos  
Carmen Delgado Pecellín

##### Comunidad Autónoma de Aragón

Yolanda González Irazábal

##### Principado de Asturias

Eva García Fernández

##### Comunidad Autónoma de Canarias

Carmen Rosa Rodríguez Fernández-Oliva

##### Comunidad Autónoma de Cantabria

Begoña Porras González

##### Comunidad Autónoma de Castilla-La Mancha

Rosa Arizmendi González

M<sup>a</sup> Ángeles Fuentes Guillén

##### Comunidad Autónoma de Castilla y León

María Teresa Jiménez López

Pedro Ángel Redondo Cardeña

Ana Muñoz Boyero

##### Comunidad Autónoma de Cataluña

Blanca Prats Viedma

Laia Asso Ministrál

José Luis Marín Soria

##### Región de Murcia

Inmaculada González Gallego

##### Comunidad Autónoma de Extremadura

Jesús María Remón Álvarez-Arenas

##### Comunidad Autónoma de Galicia

Silvia Suárez Luque

Ángel Gómez Amorín

##### Comunidad Autónoma de las Islas Baleares

María del Carme Medà Bolunya

##### Comunidad Autónoma de La Rioja

Yolanda Ruiz del Prado

Enrique Ramalle Gómara

##### Comunidad de Madrid

Sara Santos Sanz

María Dolores Lasheras Carbajo

##### Comunidad Foral de Navarra

Nieves Ascunce Elizaga

##### Comunidad Autónoma del País Vasco

Antonio Arraiza Armendáriz

Nerea Ferrero Saiz

##### Comunitat Valenciana

Dolores Salas Trejo

Araceli Málaga López

Pilar Marqués Coloma

José Ramón Llopis Esteve

##### Ministerio de Sanidad-INGESA

María Antonia Blanco Galán

## **Sociedades Científicas**

### **Asociación Española de errores congénitos del metabolismo**

María Luz Couce Pico

### **Sociedad Española de Epidemiología**

Raquel Zubizarreta Alberdi

### **Sociedad Española de Medicina de Laboratorio**

Daisy Castiñeiras Ramos

### **Revisión y aprobación del documento:**

Ponencia de cribado poblacional: 29-octubre-2021

Comisión de Salud Pública: 16-noviembre-2021

La información contenida en este documento deberá referenciarse en caso de utilización

### **Referencia sugerida:**

Grupo de trabajo de protocolos de cribado neonatal de la Ponencia de cribado poblacional. Protocolo de cribado neonatal de la fenilcetonuria. Ministerio de Sanidad, 2021.

Edita:

© MINISTERIO DE SANIDAD

CENTRO DE PUBLICACIONES

PASEO DEL PRADO, 18-20. 28014 Madrid

NIPO: 133-21-131-9

<https://cpage.mpr.gob.es/>

---

# ÍNDICE

---

<b>1. Introducción .....</b>	<b>6</b>
<b>2. Objetivo del cribado .....</b>	<b>8</b>
<b>3. Proceso de Cribado .....</b>	<b>8</b>
3.1. Prueba de cribado .....	8
3.2. Técnicas utilizadas para realizar la prueba de cribado.....	8
3.3. Percentil y/o valor analítico para considerar el resultado como positivo/negativo/requiere solicitud de nueva muestra .....	9
<b>4. Confirmación Diagnóstica .....</b>	<b>10</b>
4.1. Criterios para la definición de “caso” en fenilcetonuria .....	10
4.2. Unidades Clínicas de Seguimiento .....	10
4.3. Pruebas de confirmación diagnóstica de los positivos en el proceso de cribado y secuencia de priorización .....	12
<b>5. Tratamiento .....</b>	<b>15</b>
<b>6. Evaluación de resultados en salud .....</b>	<b>17</b>
Variable/s relevante/s en el seguimiento de los casos que se utilizan para evaluar los resultados en salud .....	18
<b>7. Portadores y otros “hallazgos incidentales” .....</b>	<b>19</b>
<b>Anexo I. Algoritmo de cribado neonatal de fenilcetonuria .....</b>	<b>20</b>
<b>Anexo II. Hiperfenilalaninemia-Fenilcetonuria. Puntos de corte en cribado neonatal.....</b>	<b>21</b>
<b>Bibliografía .....</b>	<b>23</b>

### Protocolo de cribado neonatal de la fenilcetonuria

Nombre de la enfermedad:

**Fenilcetonuria**

**Deficiencia de fenilalanina hidroxilasa**

Abreviatura: **PKU**

CIE-10: **E70.0**

**E70.1**

**Definición:** es el trastorno hereditario más frecuente del metabolismo de los aminoácidos. Se caracteriza por un incremento en la concentración sanguínea y tisular del aminoácido esencial fenilalanina (Phe) como resultado de la deficiencia del enzima fenilalanina hidroxilasa, que cataliza la conversión de Phe en tirosina (Tyr). Esta deficiencia presenta un patrón de herencia autosómico recesivo y está causada por variantes patogénicas en el gen *PAH* que codifica dicho enzima.

Prevalencia: **1:12.000**

**Objetivo:** detección, diagnóstico, tratamiento precoz y seguimiento de los recién nacidos con PKU para reducir el riesgo de trastornos neurológicos irreversibles.

**Síntomas clínicos:** se caracterizan por un deterioro intelectual progresivo, retraso global del desarrollo, deficiencias motoras, rasgos autistas y síntomas psiquiátricos entre otros.

**Prueba de cribado:** la estrategia de cribado consiste en la medición de la concentración de Phe y Tyr y cálculo del cociente Phe/Tyr en sangre impregnada en papel mediante espectrometría de masas en tándem (MS/MS).

Punto de corte: **P99,5-P99,95**

Diagnóstico:

- **cuantificación de Phe y Tyr en plasma o suero**
- **cuantificación de pterinas en orina o sangre seca**
- **determinación de la actividad del enzima DHPR en eritrocitos o sangre seca**
- **estudio genético (secuenciación del gen *PAH*)**

**Aunque las hiperfenilalaninemias no son objeto de este cribado, se considera un hallazgo incidental de cuya detección, diagnóstico y tratamiento precoz puede beneficiarse el RN.**

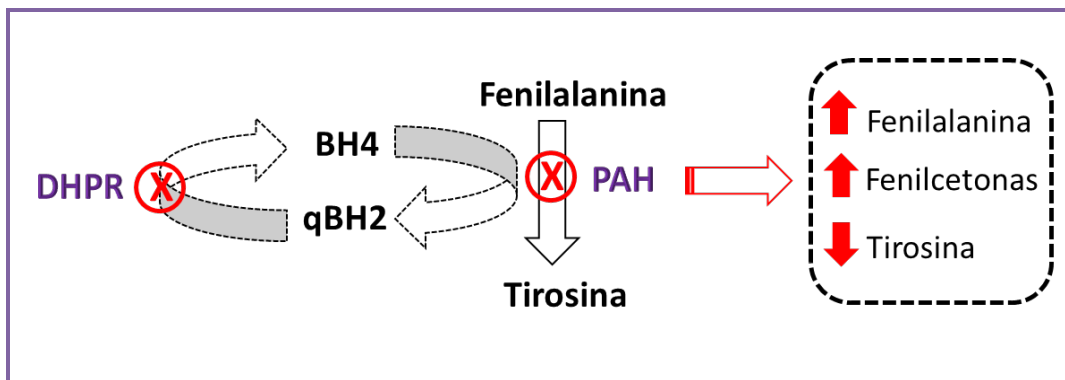
**Tratamiento:** el tratamiento dietético, con dietas restringidas en Phe, es el más habitual y eficaz. Algunos pacientes responden bien al tratamiento con tetrahidrobiopterina (BH4), especialmente pacientes con defectos leves.

**Seguimiento:** el seguimiento de los pacientes se lleva a cabo de forma individualizada según su evolución clínica. En líneas generales se recomienda evaluaciones periódicas de aspectos nutricionales, clínicos, psicológicos y sociales.

## 1. Introducción

Las hiperfenilalaninemias (HPA) se consideran el trastorno hereditario más frecuente del metabolismo de los aminoácidos. Se caracterizan por un incremento en la concentración sanguínea y tisular del aminoácido esencial fenilalanina (Phe) ( $\geq 120 \mu\text{mol/L}$ ) como resultado de la alteración de alguna de las reacciones enzimáticas necesarias para su hidroxilación a tirosina (Tyr) (Figura 1) (1-3).

La causa más común de esas alteraciones se debe a las mutaciones en el gen que codifica la enzima hepática fenilalanina hidroxilasa (PAH) y solo el 2% de las HPA se producen por alteraciones en la síntesis o reciclaje del cofactor tetrahidrobiopterina (BH4) (4,5). Recientemente se ha descrito la deficiencia de la cochaperona DNAJC12, específica de la PAH y de las demás hidroxilasas de aminoácidos aromáticos, como posible causa de HPA (6-8).



**Figura 1: Hidroxilación de la fenilalanina**

PAH: fenilalanina hidroxilasa hepática; DHPH: dihidrobiopterina reductasa; BH4: tetrahidrobiopterina; qBH2: q-dihidrobiopterina.

Las HPA causadas por deficiencia de PAH son un grupo de enfermedades metabólicas con un amplio espectro de fenotipos metabólicos (9). Su clasificación se basa en la concentración de Phe al diagnóstico y en la tolerancia a la Phe de la dieta para conseguir concentraciones de Phe en el intervalo recomendado. Se incluyen desde formas benignas (HPA benigna) a formas más graves como la fenilcetonuria (PKU). Las formas benignas con concentraciones de Phe inferiores a  $360 \mu\text{mol/L}$ , se producen por mutaciones leves del gen *PAH* dando lugar a una actividad residual enzimática del 10-35%. Las PKU, a su vez, pueden clasificarse en PKU leve, moderada o clásica, siendo la PKU clásica la que presenta concentraciones más elevadas de Phe en sangre ( $> 1200 \mu\text{mol/L}$ ) y una actividad enzimática (PAH) residual inferior al 5% por lo que requiere un tratamiento y control más estricto (10,11) (tabla 2).

Siguiendo las recomendaciones de la Guía Europea de la PKU (12), los pacientes con PKU actualmente se clasifican en dos grandes grupos:

- PKU que no requieren tratamiento (concentraciones de Phe al diagnóstico < 360  $\mu\text{mol/L}$ ).
- PKU que requieren tratamiento dietético, farmacológico o ambos (concentraciones de Phe al diagnóstico > 360  $\mu\text{mol/L}$ ).

La prevalencia de PKU en Europa se ha estimado en 1:10.000 recién nacidos vivos, aunque presenta variaciones geográficas significativas (2). En España, en línea con estas estimaciones, se ha calculado una prevalencia entre 1:12.000 (13) y 1:14.000 (14) si bien es reseñable el mayor porcentaje de HPA benignas y PKU leves con respecto a otras poblaciones del norte de Europa (15).

La Phe puede atravesar la barrera hematoencefálica por lo que altas concentraciones de este aminoácido producen neurotoxicidad. Este hecho condiciona la clínica que se caracteriza por un deterioro intelectual progresivo, epilepsia, retraso global del desarrollo, deficiencias motoras, rasgos autistas y síntomas psiquiátricos entre otros (2,5).

En cuanto a su tratamiento, el objetivo final será el mantenimiento de la concentración sanguínea de Phe dentro del intervalo de referencia establecido para evitar el daño neurológico irreversible (5). Aunque actualmente existen varias opciones terapéuticas, el tratamiento dietético sigue siendo el único tratamiento disponible para la mayoría de pacientes.

El cribado de PKU se oferta a todos los recién nacidos (RN) en España como parte del Programa de cribado neonatal de enfermedades endocrino-metabólicas del Sistema Nacional de Salud (SNS).

El documento *“Objetivos y requisitos de calidad del Programa de cribado neonatal del SNS”* recoge como objetivo de calidad del programa garantizar que los casos confirmados inicien el tratamiento con la mayor celeridad posible (antes de los 15 días de vida del RN) y siempre antes de que se manifieste clínicamente la enfermedad (16).

Con este documento se pretende definir un marco dentro del SNS que permita abordar en todas las comunidades autónomas (CC. AA.), de manera homogénea y de acuerdo a criterios de calidad, el proceso de cribado de PKU tal como establece la *Orden SSI/2065/2014, de 31 de octubre, por la que se modifican los anexos I, II y III del Real Decreto 1030/2006, de 15 de*

septiembre, por el que se establece la cartera de servicios comunes del Sistema Nacional de Salud y el procedimiento para su actualización.

## 2. Objetivo del cribado

---

El objetivo del cribado neonatal de PKU es la detección, diagnóstico y tratamiento precoz y el seguimiento de los RN con esta patología para evitar las lesiones y las discapacidades asociadas a la enfermedad.

## 3. Proceso de Cribado

---

### 3.1. Prueba de cribado

**La estrategia de cribado consiste en la medición de la concentración de Phe y Tyr así como del cálculo del cociente Phe/Tyr, en una muestra de sangre seca impregnada en papel absorbente mediante espectrometría de masas en tándem.**

#### Observaciones:

- Se recomienda consultar el documento *“Requisitos y recomendaciones para el desarrollo del Programa de cribado neonatal de enfermedades endocrino-metabólicas en el SNS”* en el que se establecen una serie de requisitos y recomendaciones para el correcto y homogéneo desarrollo de todas las etapas del Programa (17).

### 3.2. Técnicas utilizadas para realizar la prueba de cribado

Históricamente, para llevar a cabo el cribado de PKU se han empleado equipos y metodologías analíticas diferentes, todas ellas válidas para la medición de las concentraciones de Phe en muestras de sangre en papel absorbente:

- Cromatografía en capa fina
- Fluorimetría
- Espectrofotometría
- Cromatografía de intercambio iónico
- Espectrometría de masas en tándem (MS/MS)



La fluorimetría y espectrofotometría, que inicialmente se emplearon para el análisis de Phe en el cribado de PKU, no cuantificaban Tyr por lo que se considera una limitación importante para la detección de la enfermedad.

**Actualmente, todas las CC. AA. utilizan la espectrometría de masas en tándem (MS/MS) para el cribado de PKU** en base a las ventajas que presenta (18):

- Su capacidad de cuantificar simultáneamente distintos aminoácidos, acilcarnitinas y carnitina libre con una alta sensibilidad y especificidad, en un tiempo reducido y con un pequeño volumen de muestra.
- La medición simultánea de Phe y Tyr permite disponer de inmediato del cociente Phe/Tyr.

### 3.3. Percentil y/o valor analítico para considerar el resultado como positivo/negativo/requiere solicitud de nueva muestra

#### Recomendaciones:

- Cada laboratorio debe revisar regularmente su punto de corte. Se recomienda establecer el **P99,5-P99,95** como límite de decisión para Phe y para el cociente Phe/Tyr.
- Las muestras con determinaciones de Phe y del cociente Phe/Tyr inferiores al punto de corte establecido serán consideradas negativas siempre que el RN haya iniciado la alimentación antes de la realización de la prueba de cribado.
- Cuando se produce un resultado alterado, superior al punto de corte establecido para Phe y Phe/Tyr, se ha de repetir el ensayo sobre la misma muestra. Con el resultado obtenido se toma la decisión de solicitar una nueva muestra o remitir al RN directamente a la Unidad Clínica de Seguimiento si cumple con criterios de actuación inmediata.
- Cuando la concentración de Phe se encuentra por debajo del punto de corte y el cociente Phe/Tyr es superior al punto de corte establecido, se comprobará si al neonato se le está administrando nutrición parenteral. En caso afirmativo, se tomará una nueva muestra a las 48-72 h tras la retirada de la nutrición parenteral. Si no se le ha administrado nutrición parenteral se le repetirá el ensayo sobre la misma muestra.
- Si es necesario solicitar una segunda muestra se procederá en el mismo día de la toma de decisión y se realizará la misma determinación con los mismos equipos.

- Se considera un resultado positivo de la prueba de cribado cuando el resultado obtenido en la primera y en la segunda muestra, si se solicitó esta última, presenta una concentración igual o superior a los límites de decisión establecidos para las muestras consideradas normales.
- Pueden darse resultados falsos positivos en RN prematuros (inmadurez hepática), trastornos asociados con una disfunción hepática, transfundidos o con nutrición parenteral (19,20). La medición del cociente Phe/Tyr permite reducir el número de resultados falsos positivos.
- Pueden darse resultados falsos negativos en RN que no hayan iniciado la alimentación antes de la realización de la prueba de cribado (ej. dieta absoluta) o que presenten dificultades de alimentación (ej. vómitos) (21).

## 4. Confirmación Diagnóstica

---

### 4.1. Criterios para la definición de “caso” en fenilcetonuria<sup>1</sup>

Se define “caso” como aquel RN con elevadas concentraciones de Phe en sangre ( $\geq 360$   $\mu\text{mol/L}$ ) y con el cociente Phe/Tyr alterado. El diagnóstico definitivo a través de un estudio genético confirmará o no las variantes patogénicas en el gen *PAH* y permitirá determinar la gravedad y la urgencia de instaurar el tratamiento más idóneo.

Aquellos RN con concentraciones de Phe en sangre  $\geq 120$   $\mu\text{mol/L}$  en los que se confirme variantes patogénicas en los genes *PTS*, *GCH1*, *QDPR*, *PCBD* o *DNAJC12* pueden beneficiarse del cribado.

### 4.2. Unidades Clínicas de Seguimiento

La confirmación diagnóstica, instauración del tratamiento y seguimiento deben realizarse desde la Unidad Clínica de Seguimiento.

La Unidad Clínica de Seguimiento debe cumplir una serie de objetivos y para ello debe contar con una serie de requisitos mínimos:

---

<sup>1</sup> Aunque las hiperfenilalaninemias no son objeto de este cribado, se considera un hallazgo incidental de cuya detección, diagnóstico y tratamiento precoz puede beneficiarse el RN.

**Tabla 1. Objetivos y requisitos de las Unidades Clínicas de Seguimiento de enfermedades metabólicas**

**Objetivos:**

1. Confirmar el diagnóstico de las enfermedades metabólicas mediante la historia clínica, exploración y datos analíticos (bioquímicos, genéticos) o de imagen si procede
2. Iniciar el tratamiento urgente para estabilizar al paciente
3. Lograr el mejor desarrollo neurológico, psicomotor y estatura-ponderal en función de la enfermedad y características del paciente
4. Diagnosticar otras alteraciones congénitas que pudieran asociarse
5. Informar y tranquilizar a la familia
6. Mantener una información bidireccional con el laboratorio de cribado neonatal para poder evaluar los resultados y eficacia del Programa
7. Establecer una relación directa y desde el primer momento con el Pediatra habitual del niño, para poder realizar un tratamiento integral y conjunto del mismo

**Requisitos:**

1. Equipo multidisciplinar:
  - Especialistas en pediatría y endocrinología con experiencia en esta patología
  - Especialistas con experiencia en nutrición y dietética
  - Personal de enfermería
  - Coordinación con otros especialistas
2. Confirmación diagnóstica. Coordinación con Laboratorio clínico (genética, bioquímica...):
  - Estudios bioquímicos basales y dinámicos relacionados con errores congénitos del metabolismo
  - Estudios enzimáticos
  - Estudios genéticos
3. Radiología:
  - Estudios de imagen: radiológicos y neuro-radiológicos
4. Nutrición y Dietética:
  - Instauración, seguimiento y monitorización del tratamiento dietético
  - Educación del paciente y su familia
  - Calibración de encuesta dietética
5. Genética y asesoramiento genético a la familia:
  - Diagnóstico prenatal y consejo genético
6. Neuropsicología para evaluaciones periódicas
  - Valoraciones neurocognitivas
  - Apoyo a la familia
7. Hospitalización, Neonatología, cuidados intensivos neonatales y pediátricos
8. Relación con información bidireccional con el pediatra de atención primaria
9. Trabajo coordinado con el resto de unidades del programa para evaluar y mejorar los resultados y eficacia del mismo y con los servicios y unidades que intervienen en la atención al paciente: pediatría, neonatología, medicina interna, nutrición/dietética, laboratorio clínico, psicología, farmacia, radiología, neurología, medicina intensiva, anestesia y cirugía.

**Tabla 1. Objetivos y requisitos de las Unidades Clínicas de Seguimiento de enfermedades metabólicas**

10. Estrategias terapéuticas y de seguimiento:
- Protocolos de seguimiento específicos para cada grupo de enfermedades
  - Protocolos de emergencia en descompensaciones metabólicas
  - Estrategia de transición a la edad adulta
  - Seguimiento de dietas especiales
11. Continuidad asistencial:
- Atención continuada a través de consultas, teléfono o vía e-mail.
  - Atención urgente en pacientes ingresados
  - Continuidad asistencial desde el período neonatal a la edad adulta.
  - Contar con protocolos de transición de la edad pediátrica a la edad adulta.
12. Comunicación directa personal con el laboratorio de cribado neonatal para evaluar resultados y eficacia del programa
13. Relación periódica con la Dirección General de Salud Pública u organismo responsable de la coordinación del programa.
14. Reuniones interdisciplinarias para evaluar y mejorar los resultados del programa

#### 4.3. Pruebas de confirmación diagnóstica de los positivos en el proceso de cribado y secuencia de priorización

##### **Pruebas de confirmación diagnóstica:**

Las pruebas de confirmación diagnóstica deben realizarse de manera inmediata, tras la obtención de un resultado positivo en el proceso de cribado, idealmente en los primeros 10 días de vida (1,4,11).

##### **-Diagnóstico inicial:**

- **Determinación en plasma de Phe y Tyr.**

##### **-Diagnóstico diferencial:**

- **Pterinas en orina o sangre seca**
- **Actividad de la dihidropteridina reductasa (DHPR) en eritrocitos o sangre seca**

##### **-Diagnóstico definitivo:**

- **Estudio genético**

##### **-Prueba de respuesta terapéutica a BH4 (adicional):**

- **Sobrecarga oral de BH4**

##### **-Otras pruebas de diagnóstico:**

- **Determinación de ácidos orgánicos en orina**

El diagnóstico se realizará mediante la **determinación en plasma o suero de Phe y Tyr** por cromatografía líquida de intercambio iónico, HPLC y, más recientemente, por espectrometría de masas en tándem. Una concentración de Phe superior al punto de corte establecido por el laboratorio de diagnóstico, una concentración normal o disminuida de Tyr y una relación Phe/Tyr elevada confirman el diagnóstico de HPA.

A continuación, se realizará un diagnóstico diferencial y definitivo para valorar las alteraciones que dan lugar al incremento de la Phe (4,22,23):

- **Determinación de la actividad de la DHPR en eritrocitos o sangre seca.** Niveles bajos en la actividad de la DHPR indican un defecto de la regeneración de dicho cofactor.
- **Cuantificación de pterinas en orina.** La medición de los incrementos o deficiencias de pterinas en orina (neopterina, biopterinas, primapterina) se considera una prueba de diagnóstico diferencial de diferentes deficiencias enzimáticas que condicionan un defecto en la síntesis del cofactor BH4 y que pueden dar lugar a una HPA. La cuantificación de pterinas también puede ser realizada en sangre seca.
- **Sobrecarga con BH4 oral:** administración oral de BH4 (20 mg/kg/peso) y medición repetida de la concentración de Phe en sangre durante 24-48 h. Una reducción del 30 al 50% de la concentración de Phe en sangre se considerará una respuesta positiva. La prueba de sobrecarga de BH4 puede realizarse en el periodo neonatal si los niveles de Phe son  $>360\mu\text{mol/L}$ .
- **Estudio genético:** actualmente hay recogidas más de 1200 variantes en el gen *PAH* en las bases de datos. Esto permite tener un mayor conocimiento entre la relación genotipo-fenotipo y su posible respuesta al tratamiento con BH4.

En el caso de que la sospecha diagnóstica apunte a una deficiencia de PAH, el estudio genético se realizará mediante la secuenciación completa del gen *PAH* por técnicas Sanger o NGS. En caso de no detectar las dos variantes patogénicas en el paciente, se procederá al estudio mediante MLPA para detectar la presencia de grandes deleciones o duplicaciones.

Si no se identifican dos variantes patogénicas en el gen *PAH*, se realizará mediante NGS estudio de los otros genes responsables *PTS*, *GCH1*, *QDPR*, *PCBD* y *DNAJC12*.

- La cuantificación de ácidos orgánicos (fenilpirúvico y derivados) se puede realizar como parte del diagnóstico bioquímico de la deficiencia de PAH.

**Valores analíticos para considerar el resultado como positivo.**

Actualmente no existe consenso a la hora de establecer una clasificación. A continuación, se presenta una de las más aceptadas entre los expertos:

**Tabla 2: Clasificación de las hiperfenilalaninemias según la concentración de fenilalanina en el momento del diagnóstico (10,11,24)**

Tipo	Actividad residual de la enzima PAH	Concentración plasmática de Phe antes del tratamiento	Tolerancia a Phe de la dieta	Tratamiento
<b>HPA benigna</b>	10-35%	120-360 $\mu\text{mol/L}$ (2-6 mg/dL)	> 600 mg/día	No
<b>PKU leve</b>	< 10%	360-900 $\mu\text{mol/L}$ (6-15 mg/dL)	400-600 mg/día	Sí
<b>PKU moderada</b>	< 10%	900-1200 $\mu\text{mol/L}$ (15-20 mg/dL)	350-400 mg/día	Sí
<b>PKU clásica</b>	< 5%	> 1200 $\mu\text{mol/L}$ (> 20 mg/dL)	< 350 mg/día	Sí

Aunque conceptualmente se utilicen este tipo de clasificaciones, en la práctica se acepta la consideración de PKU en aquellos pacientes que requieren dieta y HPA benigna en aquellos casos que no la precisan. El conocimiento de las variantes patogénicas aportará una valiosa ayuda para la correcta clasificación en cada caso (10).

**Observaciones:**

- La prueba de confirmación diagnóstica requiere la recogida de muestras biológicas en pacientes que lleven una alimentación sin restricción proteica en los días previos y sin ningún otro tratamiento. Las muestras biológicas que han de recogerse incluyen plasma o suero para la cuantificación de aminoácidos, sangre impregnada en papel para la medición de la actividad de DHPR y orina (protegida de la luz) o sangre seca para cuantificación de pterinas (4).
- En el diagnóstico bioquímico de los defectos del cofactor BH4 se realiza una determinación de neurotransmisores en líquido cefalorraquídeo ya que se altera la síntesis de neurotransmisores dopaminérgicos y serotoninérgicos (22).
- Como hallazgos incidentales del cribado de PKU se pueden detectar HPA benignas con niveles de Phe alterados (120-360  $\mu\text{mol/L}$ ). Estos casos se derivarán a la Unidad Clínica de Seguimiento para diagnóstico diferencial y seguimiento.

- Se pueden detectar HPA transitorias secundarias a una inmadurez hepática, prematuridad, patología renal y hepática o por medicamentos en la que no se observa niveles anormales de Tyr. En otras ocasiones el incremento de Phe se acompaña de una hipertirosinemia e hipermetioninemia ocasionado por una alta ingesta proteica, prematuridad o por otras patologías como la tirosinemia, galactosemia o por patologías hepáticas (4,22).

## 5. Tratamiento

El **tratamiento dietético** se considera el manejo de la PKU más habitual y eficaz. Las restricciones de Phe en la dieta limitan el consumo de aquellos alimentos con proteínas naturales de alto y medio valor biológico como son las carnes, pescados, huevos, cereales, lácteos, legumbres o frutos secos.

El Anexo VII, apartado 7.B, del *Real Decreto 1030/2006, de 15 de septiembre, por el que se establece la Cartera de servicios comunes del Sistema Nacional de Salud y el procedimiento para su actualización* (modificado por la *Orden SPI/573/2011, de 11 de marzo*) contempla la prestación con productos dietéticos para los trastornos del metabolismo de los aminoácidos en la cartera de servicios comunes.

**Tabla 3: Fórmulas exentas o limitadas en Phe**

Tipo de producto	Descripción del tipo de producto	Subtipo	Descripción del subtipo de producto
<b>AEAA</b>	Fórmula de aminoácidos exentas de fenilalanina.	AEAA1	Fórmulas exentas de Phe que contienen solo aminoácidos.
		AEAA2	Fórmulas exentas de Phe que, además de aminoácidos, llevan otros macro o micronutrientes. Para lactantes.
		AEAA3	Fórmulas exentas de Phe que, además de aminoácidos, llevan otros macro o micronutrientes. En envases monodosis. Para niños y adultos.
		AEAA4	Fórmulas exentas de Phe que, además de aminoácidos, llevan otros macro o micronutrientes. En envases no monodosis. Para niños y adultos.

**Tabla 3: Fórmulas exentas o limitadas en Phe**

<b>AEAF</b>	Fórmulas de aminoácidos y proteínas o macropéptidos limitadas en fenilalanina.	AEAF1	Fórmulas limitadas en Phe que contienen solo aminoácidos y proteínas o macropéptidos.
		AEAF2	Fórmulas limitadas en Phe que, además de aminoácidos y proteínas o macropéptidos, llevan otros macro o micronutrientes. Para lactantes.
		AEAF3	Fórmulas limitadas en Phe que, además de aminoácidos y proteínas o macropéptidos, llevan otros macro o micronutrientes. En envases monodosis. Para niños y adultos.
		AEAF4	Fórmulas limitadas en Phe que, además de aminoácidos y proteínas o macropéptidos, llevan otros macro o micronutrientes. En envases no monodosis. Para niños y adultos.

Fuente: Guía descriptiva de la prestación en productos dietéticos del SNS (25); Orden SCB/1242/2018, de 19 de noviembre, por la que se modifican los anexos I, II y III del Real Decreto 1205/2010, de 24 de septiembre, por el que se fijan las bases para la inclusión de los alimentos dietéticos para usos médicos especiales en la prestación con productos dietéticos del Sistema Nacional de Salud y para el establecimiento de sus importes máximos de financiación.

Algunos pacientes responden bien al **tratamiento con BH4** ya que es capaz de estimular la actividad de la PAH en el 20% de los pacientes y especialmente en los pacientes con defectos leves (1,2). Dependiendo de la tolerancia a la Phe que muestre el paciente tratado con BH4, podrá aumentar su ingesta proteica y complementarla con fórmulas libres de Phe o llegar a normalizar por completo su dieta.

El medicamento utilizado en Europa es el dihidrocloruro de sapropterina, derivado de BH4.

**El tratamiento dietético con dietas restringidas en Phe y fórmulas exentas en Phe es la opción terapéutica más habitual y eficaz. Algunos pacientes responden bien al tratamiento con BH4, especialmente pacientes con defectos leves.**

**Observaciones:**

- Es importante destacar que el tratamiento dietético ha de mantenerse de por vida, salvo excepciones, ya que existen patologías neurofisiológicas y neuropsicológicas en la edad adulta, especialmente en pacientes con mal control metabólico. La adecuada adhesión al tratamiento dietético es especialmente importante en el período



preconcepcional así como durante el embarazo (las altas concentraciones de Phe materna pueden derivar en una fenilcetonuria materna o embriopatía fenilcetonúrica caracterizada por cardiopatías congénitas, microcefalia, retraso mental y bajo peso al nacer en el neonato) (1,26).

- Una fuente importante de Phe son los alimentos procesados y bebidas que contienen aspartamo como edulcorante.
- La Phe es un aminoácido esencial y su aporte es necesario para el crecimiento y desarrollo normal del niño. Por ello, se ha de considerar que, tras unos días a base de una fórmula exenta de Phe, este aminoácido sea introducido en la dieta en cantidades limitadas para mantener las concentraciones plasmáticas dentro de un intervalo seguro, pero en suficiente cantidad como para garantizar el desarrollo y crecimiento normal del niño. Las fuentes de Phe necesarias serán obtenidas de la lactancia materna o de una leche de fórmula (10).
- La leche materna tiene un contenido en Phe relativamente bajo por lo que puede ofertarse parcialmente y suplementarse con fórmulas especiales libres en Phe (27). Es fundamental hacer un seguimiento frecuente de la concentración plasmática de Phe que deben mantenerse entre 120-360  $\mu\text{mol/L}$ , ajustando las tomas de leche materna o la cantidad de fórmula especial administrada. El seguimiento de la concentración de Phe puede realizarse también a partir de la muestra de sangre seca, facilitando así su toma en el neonato y su transporte.
- El tratamiento tiene como objetivo final el mantenimiento de los valores sanguíneos de Phe dentro de los límites de concentración segura para evitar el daño neurológico irreversible. Según las directrices europeas los pacientes tratados deben mantener las concentraciones de Phe en (3):
  - 120-360  $\mu\text{mol/L}$ : en tratados hasta los 12 años de edad.
  - 120-600  $\mu\text{mol/L}$ : en tratados de  $\geq 12$  años
  - 120-360  $\mu\text{mol/L}$ : en embarazadas tratadas

## 6. Evaluación de resultados en salud

---

El programa debe evitar, en primera instancia, el daño neurológico irreversible en los casos positivos confirmados. En este sentido, se ha descrito un importante impacto de la detección y tratamiento precoz tanto en el cociente intelectual del niño como en la reducción de complicaciones neurológicas y conductuales (28).

**Variable/s relevante/s en el seguimiento de los casos que se utilizan para evaluar los resultados en salud**

El tratamiento y seguimiento de los pacientes se lleva a cabo de forma individualizada según su evolución clínica (4). Se recomienda mantener las concentraciones de Phe en los límites establecidos por edad mediante tratamiento dietético y/o farmacológico.

**El seguimiento nutricional, clínico y bioquímico es necesario, independientemente del tratamiento. Se recomienda evaluaciones periódicas de aspectos nutricionales, clínicos, psicológicos y sociales (4,5).**

El **seguimiento nutricional** debe asegurar que la dieta se adecúa a las necesidades calóricas del individuo, así como a su aporte óptimo de macro y micronutrientes. Es necesario garantizar no solo su correcto crecimiento y desarrollo sino evitar posibles desequilibrios o deficiencias que den lugar a otras patologías, siempre sin perder de vista el ajuste de la concentración de Phe y de Tyr dentro del intervalo de normalidad (4). Por otra parte, aunque adolescentes y adultos relajen su cumplimiento dietético, siempre que no exista enfermedad intercurrente o posibilidad de embarazo, numerosos estudios muestran la necesidad de seguir una restricción dietética de por vida para evitar cualquier regresión neurológica (28).

El mayor riesgo de hiperactividad, déficit de atención, deficiencias en funciones ejecutivas o problemas de motricidad fina en niños, así como la mayor frecuencia de problemas de memoria y emocionales como depresión y ansiedad en adultos hacen necesaria la realización de un **seguimiento neurológico y psicológico** (4). Es recomendable realizar valoraciones periódicas de calidad de vida en salud de estos pacientes mediante escalas validadas.

Se recomienda una revisión nutricional periódica en pacientes con dieta restringida en Phe. Además, en la revisión se recomienda incluir un examen clínico que incluya parámetros antropométricos y bioquímicos con medidas de aminoácidos plasmáticos, homocisteína plasmática, hemoglobina, ferritina y volumen corpuscular medio. Se puede considerar el análisis de micronutrientes y hormonas (3) y valoración de osteopenia a partir de la adolescencia.

Antes y durante el embarazo se debe hacer un seguimiento especial de la concentración (29) sanguínea de Phe para mantenerlas dentro del intervalo aceptado (120-360  $\mu\text{mol/L}$ ) y evitar la patología fetal (3).

## 7. Portadores y otros “hallazgos incidentales”

---

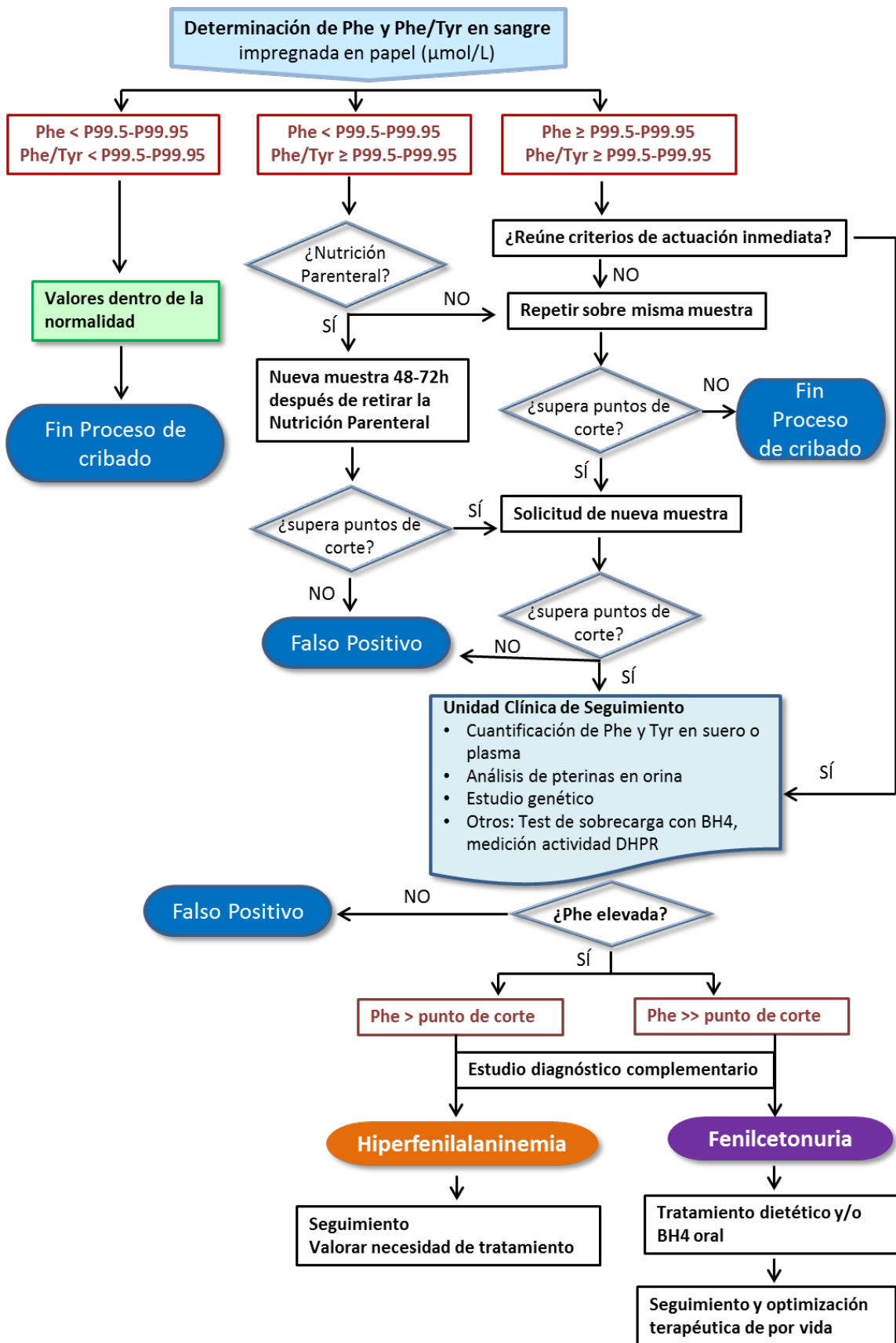
La detección de portadores u otras anomalías no contempladas en el programa de cribado neonatal en algunos casos puede representar un beneficio, que permite el consejo genético a los padres, y/o tratamiento clínico de la patología detectada, pero también puede suponer un efecto adverso del cribado (29,30).

Las familias de los niños con la patología o alteración genética detectada en el proceso de cribado serán asesoradas por los expertos de la Unidad de Seguimiento que corresponda, asegurando así el tratamiento o consejo genético adecuado.

Las HPA benignas detectadas con niveles de Phe alterados (concentraciones superiores al punto de corte y hasta 360  $\mu\text{mol/L}$ ) que se enviarán a la Unidad Clínica de Seguimiento para diagnóstico diferencial y seguimiento. La presencia de variantes patogénicas en el gen *PAH* que confieren una alta actividad residual de las enzimas codificadas condiciona que el catabolismo de la Phe esté próximo a la normalidad impidiendo así la neurotoxicidad por niveles excesivos de Phe.

En este caso se derivará al paciente para su seguimiento (control de concentraciones de Phe en sangre).

Anexo I. Algoritmo de cribado neonatal de fenilcetonuria



## Anexo II. Hiperfenilalaninemia-Fenilcetonuria. Puntos de corte en cribado neonatal

---

Los casos de HPA benigna, causada por mutaciones leves del gen *PAH* y que presentan concentraciones en plasma de Phe entre 120-360  $\mu\text{mol/L}$ , requieren de un diagnóstico diferencial y de un seguimiento (31). Debido a la actividad enzimática residual (10-35%) estos casos presentan a la detección concentraciones de Phe superiores a la normalidad (> punto de corte) pero inferiores a las concentraciones que habitualmente presentan los casos de PKU.

La elevada frecuencia de mutaciones leves podría explicar en cierta medida la prevalencia relativamente más elevada de HPA así como los fenotipos leves de PKU en España, si esta es comparada con el norte de Europa (15).

A este respecto, se ha de destacar la controversia actualmente existente con respecto a las concentraciones de Phe a partir de las cuales se considera que hay riesgo de daño neurológico. Algunos grupos utilizan como punto de corte concentraciones de Phe en sangre de 600  $\mu\text{mol/L}$  por encima de los cuales los pacientes requieren un tratamiento. Sin embargo, algunas publicaciones han descrito alteraciones cognitivas como la dificultad de aprendizaje o la hiperactividad en pacientes con valores inferiores a dicho punto de corte (32). Aunque actualmente se tiende a mantener los niveles próximos a la normalidad (< 120  $\mu\text{mol/L}$ ) se considera aceptable mantener los niveles entre 120-360  $\mu\text{mol/L}$  para permitir así cierta relajación terapéutica. No obstante, se precisará una adecuada monitorización para valorar la posible aparición de alteraciones neurológicas menores o para evitar el síndrome de PKU materna (3,22,33,34).

Según las directrices europeas se deben considerar las siguientes concentraciones de Phe en sangre en el diagnóstico y tratamiento:

**Tabla 4: Directrices europeas para el diagnóstico y tratamiento de pacientes con PKU (3)**

Concentraciones elevadas de Phe en sangre en pacientes aún **no tratados**

- Entre el valor discriminante - < 360  $\mu\text{mol/L}$ : generalmente no requieren tratamiento dietético
- > 360  $\mu\text{mol/L}$ : requieren tratamiento
  - 360-600  $\mu\text{mol/L}$ : deben ser tratados hasta los 12 años de edad
  - >600  $\mu\text{mol/L}$ : deben ser tratados durante toda la vida
- Las mujeres no tratadas con concentraciones de Phe < 360  $\mu\text{mol/L}$  no requieren tratamiento para disminuir la Phe sanguínea antes o durante el embarazo pero sí un seguimiento especial.

En pacientes **tratados** las concentraciones de Phe deben mantenerse en:

- 120-360  $\mu\text{mol/L}$ : en tratados hasta los 12 años de edad
- 120-600  $\mu\text{mol/L}$ : en tratados de  $\geq 12$  años
- 120-360  $\mu\text{mol/L}$ : en embarazadas tratadas

Dado que la evidencia sugiere que las concentraciones elevadas de Phe en sangre hasta los 12 años de edad afectan negativamente al cociente intelectual del niño las recomendaciones para las concentraciones aceptables de Phe en sangre serán específicas de la edad.

Una revisión sistemática y meta-análisis publicado recientemente pone en relieve la alta heterogeneidad de la enfermedad a nivel mundial debido posiblemente, a factores como los matrimonios consanguíneos, las diferencias genéticas, las pruebas diagnósticas, los puntos de corte utilizados, así como el rendimiento y tamaño de muestra de los estudios consultados para su realización (35).

En este sentido, la revisión de la literatura indica que no existe un consenso sobre la definición de HPA leve o benigna ya que existen pocos estudios sobre la función cognitiva de los pacientes con niveles ligeramente elevados de Phe. Los estudios existentes muestran resultados contradictorios y difíciles de comparar debido a la alta variabilidad de los criterios de selección como la edad o el nivel de Phe considerado como punto de corte (33).

Por otro lado, la literatura proporciona información limitada sobre el seguimiento a largo plazo de las concentraciones de Phe tras el diagnóstico y más particularmente en cuanto a la frecuencia de los controles (31).

Teniendo en cuenta todos estos aspectos parece evidente que los puntos de corte establecidos en los programas de cribado de PKU en diferentes países variarán considerablemente. A nivel europeo, se han encontrado ligeras diferencias en el punto de corte utilizado no solo entre los diferentes países sino entre los diferentes laboratorios de cribado de un mismo país:

Tabla 5: Niveles de Phe en sangre considerados como puntos de corte en las pruebas de cribado de países europeos	
País	Punto de corte en prueba de cribado de PKU
Portugal	> 150 $\mu\text{mol/L}$ (36)
Reino Unido	$\geq 240$ $\mu\text{mol/L}$ ( $\geq 200$ $\mu\text{mol/L}$ en primera medición, $\geq 240$ $\mu\text{mol/L}$ en repetición por duplicado) (20)
Bruselas	82,6-128,7 $\mu\text{mol/L}$ (datos de tres laboratorios de cribado) (37)
Francia	> 180 $\mu\text{mol/L}$ (38)
Alemania	150 $\mu\text{mol/L}$ (35,39)
Italia	79,2-120 $\mu\text{mol/L}$ (40)
España	80,98-151,5 $\mu\text{mol/L}$
Países sudeste de Europa	120-180 $\mu\text{mol/L}$ (41)

## Bibliografía

---

1. Van Spronsen FJ. Phenylketonuria: a 21st century perspective. *Nat Rev Endocrinol.* 2010;6(9):509-14.
2. Blau N, van Spronsen FJ, Levy HL. Phenylketonuria. *The Lancet.* 2010;376(9750):1417-27.
3. Spronsen FJ van, Wegberg AM van, Ahring K, Bélanger-Quintana A, Blau N, Bosch AM, *et al.* Key European guidelines for the diagnosis and management of patients with phenylketonuria. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2017;5(9):743-56.
4. Bélanger-Quintana A., Campistol J, Stanescu S, Gassió R, Castro M, Arrieta F, Martínez-Pardo M. Protocolo de diagnóstico, tratamiento y seguimiento de las hiperfenilalaninemias. En: *Protocolos de diagnóstico y tratamiento de los errores congénitos del metabolismo. 2ª.* Madrid: Ergon. 2018; 67-84.
5. Belmont-Martínez L, Fernández-Lainez C, Ibarra-González I, Guillén-López S, Monroy-Santoyo S, Vela-Amieva M. Evaluación bioquímica de la fenilcetonuria (PKU): del diagnóstico al tratamiento. *Acta Pediátrica México.* 2012;33(6):296-300.
6. Blau N, Martinez A, Hoffmann GF, Thöny B. DNAJC12 deficiency: A new strategy in the diagnosis of hyperphenylalaninemias. *Mol Genet Metab.* 2018;123(1):1-5.
7. Gallego D, Leal F, Gámez A, Castro M, Navarrete R, Sanchez-Lijarcio O, *et al.* Pathogenic variants of DNAJC12 and evaluation of the encoded cochaperone as a genetic modifier of hyperphenylalaninemia. *Hum Mutat.* 2020;41(7):1329-38.
8. Anikster Y, Haack TB, Vilboux T, Pode-Shakked B, Thöny B, Shen N, *et al.* Biallelic Mutations in DNAJC12 Cause Hyperphenylalaninemia, Dystonia, and Intellectual Disability. *Am J Hum Genet.* 2017;100(2):257-66.
9. Campistol J, Lambruschini N, Castejón E, Gutiérrez A, Fusté E, Gassió R, *et al.* Hiperfenilalaninemia. En diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias. 4ª Edición. Madrid: Ergon. 2014; 455-477.
10. Ruiz Pons M. Hiperfenilalaninemias. Fenilcetonuria. En: *Tratamiento nutricional de los errores innatos del metabolismo. 2ª Edición.* Madrid: Drug Farma. 2007; 116-139.
11. Bodamer OA. Overview of phenylketonuria. UpToDate [Internet]. 2020. Disponible en: <https://www.uptodate.com/contents/overview-of-phenylketonuria>
12. Van Wegberg AMJ, MacDonald A, Ahring K, Bélanger-Quintana A, Blau N, Bosch AM, *et al.* The complete European guidelines on phenylketonuria: diagnosis and treatment. *Orphanet J Rare Dis* [Internet]. 2017 [citado 22 de abril de 2020];12. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5639803/>
13. Grupo de trabajo del Sistema de Información del Programa de Cribado Neonatal del SNS. Programa de Cribado Neonatal del Sistema Nacional de Salud. Informe de Evaluación. Año 2018. Ministerio de Sanidad, 2020.
14. Marín JL, González de Aledo JM, Argudo A, López RM, Pajares S, Ribes A, *et al.* Inicio, evolución y situación actual de los Programas de Cribado Neonatal en España. *Rev Esp Salud Pública.* 2021;95(1):e1-29.
15. Desviat L, Pérez B, Gámez A, Sánchez A, García M, Martínez-Pardo M, *et al.* Genetic and phenotypic aspects of phenylalanine hydroxylase deficiency in Spain: molecular survey by regions. *Eur J Hum Genet.* 1999;7(3):386-92.
16. Grupo de trabajo de la Comisión de Salud Pública para el desarrollo del Sistema de Información sobre Cribado Neonatal. Objetivos y requisitos de calidad del Programa de Cribado Neonatal de enfermedades endocrino-metabólicas del Sistema Nacional de Salud. 2020;(2):1-18.
17. Grupo de trabajo de cribado neonatal. Requisitos y recomendaciones para el desarrollo del programa de cribado neonatal de enfermedades endocrino-metabólicas en el SNS. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social, 2019.

18. Chace DH, Hannon WH. Technological Journey From Colorimetric to Tandem Mass Spectrometric Measurements in the Diagnostic Investigation for Phenylketonuria. 2016;4:1-11.
19. UK Newborn Screening Programme Centre. A Laboratory Guide to Newborn Screening in the UK for phenylketonuria. 2011.
20. Public Health England. NHS Newborn Blood Spot Screening Programme. A laboratory guide to newborn blood spot screening for inherited metabolic diseases. NHS Screening Programmes. 2017.
21. Rasner M, Vomero A, Varacchi C, Peluffo G, Giachetto G, Kanopa V. Fenilcetonuria: Descripción de un caso clínico. Arch Pediatría Urug. 2014;85(1):28-33.
22. Martínez-Pardo M, Marchante C, Dalmau J, Pérez M, Bellón J. Protocolo de diagnóstico, tratamiento y seguimiento de las hiperfenilalaninemias. Esp Pediatr Suppl. 1998;114:3-8.
23. Vockley J, Andersson HC, Antshel KM, Braverman NE, Burton BK, Frazier DM, *et al.* Phenylalanine hydroxylase deficiency: diagnosis and management guideline. Genet Med. 2014;16(2):188-200.
24. Güttler F. Hyperphenylalaninemia: diagnosis and classification of the various types of phenylalanine hydroxylase deficiency in childhood. Acta Paediatr Scand Suppl. 1980;280:1-80.
25. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Guía descriptiva para la Prestación con Productos Dietéticos del SNS [Internet]. 2015 [citado 6 de abril de 2020]. Disponible en: <https://www.msbs.gob.es/profesionales/prestacionesSanitarias/publicaciones/GuiaDieteticos.htm>
26. MacDonald A, Van Wegberg AMJ, Ahring K, Beblo S, Bélanger-Quintana A, Burlina A, *et al.* PKU dietary handbook to accompany PKU guidelines. 15. 2020;171.
27. Zhang Z, Adelman AS, Rai D, Boettcher J, Lönnerdal B. Amino Acid Profiles in Term and Preterm Human Milk through Lactation: A Systematic Review. Nutrients. 2013;5(12):4800-21.
28. Campistol J, González MJ, Gutiérrez AP, Vilaseca MA. Tratamiento y control de los pacientes con fenilcetonuria: resultados del Grupo Colaborativo de Unidades de Seguimiento en España. Med Clínica. 2012;138(5):185-91.
29. Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica. Boletín Oficial del Estado, 159, de 4 de julio de 2007, 28826 a 28848. Disponible en: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2007-12945>
30. Ponencia de Cribado Poblacional de la Comisión de Salud Pública. Documento marco sobre cribado poblacional. Ministerio de Sanidad y Política Social. 2010;35.
31. Viall S, Ayyub O, Raspberry M, Lyons K, Ah Mew N. "Mild" hyperphenylalaninemia? A case series of seven treated patients following newborn screening. Mol Genet Metab. 2017;122(4):153-55.
32. Avances en el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de pacientes con deficiencia de fenilalanina hidroxilasa [Internet]. [citado 24 de abril de 2020]. Disponible en: <https://repositorio.uam.es/handle/10486/1371>
33. Campistol J, Gassió R, Artuch R, Vilaseca MA. Neurocognitive function in mild hyperphenylalaninemia. Dev Med Child Neurol. 2011;53(5):405-8.
34. Hanley WB. Non-PKU mild hyperphenylalaninemia (MHP)-The dilemma. Mol Genet Metab. 2011;104(1):23-6.
35. Shoraka HR, Haghdoost AA, Baneshi MR, Bagherinezhad Z, Zolala F. Global prevalence of classic phenylketonuria based on Neonatal Screening Program Data: systematic review and meta-analysis. Clin Exp Pediatr. 2020;63(2):34-43.
36. Vilarinho L, Rocha H, Sousa C, Marcão A, Fonseca H, Bogas M, *et al.* Four years of expanded newborn screening in Portugal with tandem mass spectrometry. J Inherit Metab Dis. 2010;33(S3):133-38.
37. Comité de pilotage du dépistage des anomalies congénitales. Guide pour le programme de dépistage néonatal des anomalies métaboliques en FWB. 2013.



38. Filière Maladies rares G2M. Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS). Nom de la maladie rare: Phénylcétonurie [Internet]. 2018. Disponible en: [https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2018-06/phenylcetonurie\\_-\\_pnds.pdf](https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2018-06/phenylcetonurie_-_pnds.pdf)
39. 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.
40. Società italiana per lo Studio delle malattie Metaboliche Ereditarie e lo Screening neonatale (SIMMESN). 27<sup>a</sup> Conferenza nazionale sui Programmi di Screening Neonatale in Italia [Internet]. 2018. Disponible en: <https://www.simmesn.it/it/>
41. Zerjav Tansek M, Groselj U, Angelkova N, Anton D, Baric I, Djordjevic M, *et al.* Phenylketonuria screening and management in southeastern Europe. Survey results from 11 countries. *Orphanet J Rare Dis* [Internet]. 2015 [citado 22 de abril de 2020];10. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4451731/>