

Epidemiología de la fenilcetonuria obtenida mediante tamiz neonatal

Epidemiology of phenylketonuria obtained through neonatal screening

Marcela Vela-Amieva,¹ Isabel Ibarra-González,² Luz del Alba Herrera-Pérez, Guillermo Caamal-Parra,³ Leticia Belmont-Martínez,¹ Erika Paola García-Flores⁴

Resumen

INTRODUCCIÓN: La hiperfenilalaninemia, cuya forma más grave es la fenilcetonuria, es un error innato del metabolismo de la fenilalanina y es el trastorno de aminoácidos más frecuente en el mundo. Cuando no se trata tempranamente causa discapacidad intelectual permanente. En México, la detección oportuna de esta enfermedad se incorporó al programa de tamiz neonatal de la Secretaría de Salud en 2011.

OBJETIVO: Reportar la prevalencia al nacimiento de la hiperfenilalaninemia-fenilcetonuria en México.

MATERIAL Y MÉTODOS: Estudio retrospectivo y prospectivo, efectuado del 1 de enero de 2017 al 31 de mayo de 2018 en muestras del talón de recién nacidos vivos en unidades de la Secretaría de Salud de México. Se cuantificó la fenilalanina en sangre seca mediante ensayo inmunofluorométrico. Se consideró con hiperfenilalaninemia-fenilcetonuria a todo recién nacido con muestras confirmatorias de concentraciones elevadas de fenilalanina en sangre, tirosina baja y cociente fenilalanina-tirosina mayor de 2. Se analizaron los casos sospechosos, casos confirmados y la proporción de casos no localizados. El análisis estadístico se realizó con el programa *Comprehensive R Archive Network*.

RESULTADOS: Resultaron adecuadas para la cuantificación 1,267,122 (99.4%) muestras de recién nacidos vivos, y de éstas 793 resultaron sospechosas y se confirmaron 46 casos de la enfermedad. La hiperfenilalaninemia-fenilcetonuria coexistió en 21 estados del país.

CONCLUSIÓN: La tasa de prevalencia al nacimiento de hiperfenilalaninemia-fenilcetonuria en México fue de 3.6 casos por cada 100,000 recién nacidos vivos, lo que equivale a un enfermo por cada 27,546 recién nacidos tamizados.

PALABRAS CLAVE: Fenilcetonuria; tamiz neonatal; hiperfenilalaninemia; prevalencia; fenilcetonuria; errores innatos del metabolismo.

Abstract

INTRODUCTION: Hyperphenylalaninemia, whose most serious form is phenylketonuria (PKU) is an inborn error of phenylalanine (Phe) metabolism. If untreated, results in profound and irreversible mental disability. In Mexico, early detection of this disease was incorporated into the newborn screening program (NBS) of the Ministry of Health in 2011.

OBJECTIVE: To present for first time the birth prevalence of hyperphenylalaninemia (HPA) and phenylketonuria (PKU) obtained through newborn screening in Mexico.

MATERIAL AND METHODS: From January 1st, 2017 to May 31, 2018, a total of 1,273,727 samples were taken from the heel of newborns (NB) attended by the Ministry of Health of Mexico. Phe was quantified in dry blood by immunofluorometric assay. All the NB with positive screening and whose confirmatory tests showed elevated levels of PHE in blood, low tyrosine (Tyr) and PHE/Tyr ratio >2 , were considered as confirmed cases of the disease. The number of HPA/PKU positive screening cases, confirmed cases,

¹Laboratorio de Errores Innatos del Metabolismo y Tamiz, Instituto Nacional de Pediatría, Secretaría de Salud, México.

² Unidad de Genética de la Nutrición, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, México.

³ TamizMas Screening Center de Quínicos Maldonado, Mérida, Yucatán.

⁴ Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva, Secretaría de Salud, México.

Correspondencia

Erika Paola García Flores
erika.garcia@salud.gob.mx

Este artículo debe citarse como

Vela-Amieva M, Ibarra-González I, Herrera Pérez LA, Caamal Parra G, Belmont Martínez L, García Flores EP. Epidemiología de la fenilcetonuria obtenida mediante tamiz neonatal. Acta Pediatr Mex. 2018;SI(39):25S-34S.

false positives as well as the proportion of non-localized cases were analyzed. The statistical analysis was carried out through the free access program Comprehensive R Archive Network.

RESULTS: A total of 1,267,122 (99.4%) samples were adequate for Phe quantification from them, 793 were above the cut-off value and were notified as positive screening test. 46 HPA/PKU cases were confirmed. The disease was present in 21 Mexican states.

CONCLUSIONS: HPA/PKU birth prevalence rate in México was 3.6 cases per 100,000 newborns, which is equivalent to 1 case in each 27,546 screened NB.

KEYWORDS: Phenylketonuria; newborn screening; hyperphenylalaninemia, prevalence; PKU; inborn errors of metabolism.

INTRODUCCIÓN

La hiperfenilalaninemia, cuya forma clínica más severa es la fenilcetonuria es un error innato del metabolismo de la fenilalanina, que se hereda de forma autosómica recesiva y que tiene profundas consecuencias individuales y sociales cuando no recibe tratamiento oportuno. La hiperfenilalaninemia-fenilcetonuria se origina por una deficiencia de la enzima fenilalanina hidroxilasa (PAH;612349), misma que está codificada en el brazo largo del cromosoma 12 y que cataliza la hidroxilación de la fenilalanina a tirosina.¹ La fenilcetonuria es una enfermedad heterogénea, cuya severidad clínica varía dependiendo del grado de deficiencia enzimática, por lo que existe todo un espectro bioquímico que va desde la hiperfenilalaninemia benigna, moderada hasta la fenilcetonuria clásica (**Cuadro 1**).^{2,3} La fenilcetonuria no tratada antes del mes de vida produce una grave encefalopatía que genera discapacidad intelectual y motora permanentes.^{1,4} Los pacientes con fenilcetonuria que no reciben tratamiento pueden cursar con epilepsia, síndrome de West, rasgos físicos característicos tales como ojos, piel y cabellos claros, olor corporal especial descrito como “mohoso o ratón mojado” y eccema. También pueden tener signos piramidales, temblor, parkinsonismo, deterioro

global y otros síntomas neuropsiquiátricos como: trastornos del comportamiento y autismo.^{5,6}

La fenilcetonuria tiene importancia histórica puesto que fue la primera enfermedad neuropsiquiátrica cuya patogenia tuvo una explicación bioquímica,^{7,8} fue la primera enfermedad genética que tuvo un tratamiento nutricional específico^{9,10} y, también, generó el desarrollo del tamiz neonatal.¹¹ El tratamiento para esta enfermedad es ampliamente conocido y existen consensos nacionales e internacionales.^{12,13,14}

El tamiz neonatal para hiperfenilalaninemia-fenilcetonuria en los países industrializados se ha llevado a cabo en forma ininterrumpida desde

Cuadro 1. Clasificación de las hiperfenilalaninemias según la concentración de fenilalanina al momento del diagnóstico y antes de iniciar tratamiento (Belmont-Martínez y cols, 2012)

Clasificación	Concentración de Phe en sangre	
	mg/dL	μmol/L
Hiperfenilalaninemia benigna	2-6	120-360
Hiperfenilalaninemia clínicamente significativa	>6-10	>360-600
PKU Moderada	>10-16.6	>600-1,000
PKU Clásica	>16.6	>1,000

hace más de 50 años, y las ventajas de la detección temprana de la fenilcetonuria han quedado demostradas ampliamente en términos médicos y económicos y en la actualidad el tamiz neonatal es una de las acciones preventivas con repercusión favorable en la salud pública;¹⁵⁻¹⁸ sin embargo, en los países menos favorecidos, el tamiz neonatal para esta enfermedad se ha ido incorporando de manera gradual.^{19,20}

En la Secretaría de Salud de México, la detección de fenilcetonuria se incorporó al Programa Nacional de Tamiz Neonatal en 2011, y en la actualidad es una acción obligatoria para todos los centros que brindan atención obstétrica y al recién nacido.^{21,22,23}

Gracias a los programas de tamiz neonatal, la frecuencia de la fenilcetonuria se estima en un caso por cada 10,000 recién nacidos vivos; sin embargo, tiene notables diferencias étnicas; las poblaciones europeas, especialmente Irlanda y Escocia, son las de mayor prevalencia, 1 en 4,500 y 1 en 5,300 recién nacidos vivos, respectivamente; por el contrario, los finlandeses y japoneses son los que tienen menor ocurrencia de esta enfermedad: 1 en 200,000 y 1 en 125,000 recién nacidos vivos, respectivamente.² En México, la frecuencia de la fenilcetonuria ha sido poco estudiada, por lo que el objetivo de esta investigación fue reportar la prevalencia al nacimiento de la hiperfenilalaninemia-fenilcetonuria en México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio retrospectivo y prospectivo, efectuado del 1 de enero de 2017 al 31 de mayo del 2018, en sangre del talón de recién nacidos vivos en unidades de la Secretaría de Salud de México. Las muestras de sangre de los recién nacidos para el tamiz neonatal se tomaron con el consentimiento verbal informado de los padres, previa explicación de sus ventajas debido a que es una

acción obligatoria establecida en el Artículo 6, Fracción II de la Ley General de Salud y en las Normas Oficiales Mexicanas NOM-034-SSA2-2013, Para la prevención y control de los defectos al nacimiento y NOM-007-SSA2-2016, Para la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio, y de la persona recién nacida.^{21,22,23} La información demográfica se trató de manera anónima, con respeto a la privacidad y confidencialidad de los casos. Las muestras de sangre se obtuvieron mediante punción del talón con lanceta tipo mini-bisturí (incisión de 1.5 mm de profundidad por 2.0 mm de largo) y se recolectaron en papel filtro especial (tarjeta de Guthrie). Después de la recolección, los especímenes se enviaron por mensajería al laboratorio procesador adjudicado por el Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva (CNEGSR), organismo rector en la materia. La calidad de cada muestra se evaluó visualmente (mínimo de 4 gotas de sangre, una gota de sangre por cada círculo, ausencia de material contaminante en el papel filtro, entre otras) por personal adiestrado y catalogada como adecuada para el procesamiento. La perforación de las muestras se realizó mediante equipos automatizados *Panthera-puncher-9®*, con los que se obtuvo un círculo estandarizado de 3.2 mm para proceder al análisis bioquímico. La cuantificación de la fenilalanina en sangre se efectuó mediante ensayo enzimático automatizado con el uso de estuches comerciales y equipos automatizados *Genetic Screening Processor®* (GSP®) de PerkinElmer®. El valor de corte inicialmente utilizado fue de 120 μ mol/L y después de las primeras 5,000 determinaciones de fenilalanina en sangre de los recién nacidos, se revisó y ajustó. En todas las muestras con concentración de fenilalanina por arriba del valor de corte, se repitió la determinación en otro círculo de la misma muestra y las que resultaron con valores persistentemente elevados se notificaron inmediatamente a través del sistema electrónico computarizado SYSDQM® desarrollado especialmente para el programa de tamiz

neonatal. Se consideró como caso confirmado de hiperfenilalaninemia-fenilcetonuria a todo recién nacido vivo con pruebas confirmatorias con concentraciones elevadas de fenilalanina en sangre, tirosina baja y cociente fenilalanina/tirosina mayor de 2, determinadas mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) o espectrometría de masas en tandem.

Los datos demográficos se obtuvieron de la ficha de identificación de cada recién nacido vivo y se consignaron en el sistema informático SYSDQM®. La tasa de prevalencia al nacimiento se calculó dividiendo el número de casos confirmados observados entre el número de recién nacidos vivos tamizados. Por último, se calculó por entidad federativa la tasa de falla (no localizados/total de tamizados x 100,000 recién nacidos tamizados).

El análisis estadístico se efectuó mediante el programa de acceso libre *Comprehensive R Archive Network* (<https://cran.r-project.org>).

RESULTADOS

Se tomaron 1,273,727 muestras de recién nacidos vivos, de las que 1,267,122 (99.4%) resultaron adecuadas para el análisis bioquímico. En relación con el sexo de los recién nacidos tamizados, 618,601 muestras correspondieron a niñas (48.82%), 643,296 a niños (50.77%) y en 5,225 casos, el sexo no se especificó o fue ambiguo (0.42%). El peso promedio general de los recién nacidos vivos tamizados fue de 3,084 g (mínimo 620-máximo 6,240 g); el peso promedio en niñas fue de 3,022 g y en niños 3,106 g. Se documentaron 68,382 (5.40%) recién nacidos vivos prematuros (menos de 37 semanas de gestación).

Se tomaron 990,630 (78.18%) muestras entre el tercero y quinto día de vida extrauterina, 28,170 (2.22%) fueron de recién nacidos con menos de

3 días de vida y 237,266 (18.72%) entre los 6 y los 28 días de vida extrauterina y 11,056 (0.87%) muestras rebasaron el periodo neonatal.

La distribución de las concentraciones de fenilalanina en sangre en papel filtro y los valores de corte correspondientes a las primeras 5,000 muestras y al 1,267,122 muestras procesadas fueron 120.57 µmol/L y 128.53 µmol/L, respectivamente Figura 1 (**A** y **B**). En 793 muestras, las concentraciones sanguíneas de fenilalanina estuvieron por arriba del valor de corte por lo que se consideraron sospechosas; de inmediato se procedió a su notificación y localización. Se confirmaron 46 casos de hiperfenilalaninemia-fenilcetonuria (1 de cada 27,546 recién nacidos vivos tamizados) y en 527 casos las pruebas confirmatorias fueron normales, por lo que se clasificaron como falsos positivos (0.041%); 220/793 (27.74%) recién nacidos no pudieron ser confirmados, 31 de ellos por haber fallecido, 4 porque se fueron a otra institución para recibir atención médica, 3 familias migraron a otro país, 3 familias no aceptaron la realización de estudios confirmatorios en sus hijos, una familia dio domicilio falso y 178 recién nacidos no fueron localizados por los servicios estatales de salud reproductiva.

La cantidad de recién nacidos vivos tamizados, de sospechosos, confirmados, no localizados, las prevalencias al nacimiento de la enfermedad y la tasa de falla nacional y por entidad federativa se reportan en el **Cuadro 2**. En la **Figura 2** se muestra el mapa con las tasas de prevalencia al nacimiento de hiperfenilalaninemia-fenilcetonuria encontradas en México y en la **Figura 3** (**A** y **B**) se muestra una gráfica de los estados con tasa de prevalencia de hiperfenilalaninemia-fenilcetonuria mayor a la nacional (3.6 casos por cada 100,000 recién nacidos vivos) y la tasa de falla en los estados de la República en los que no se confirmó ningún caso de la enfermedad.

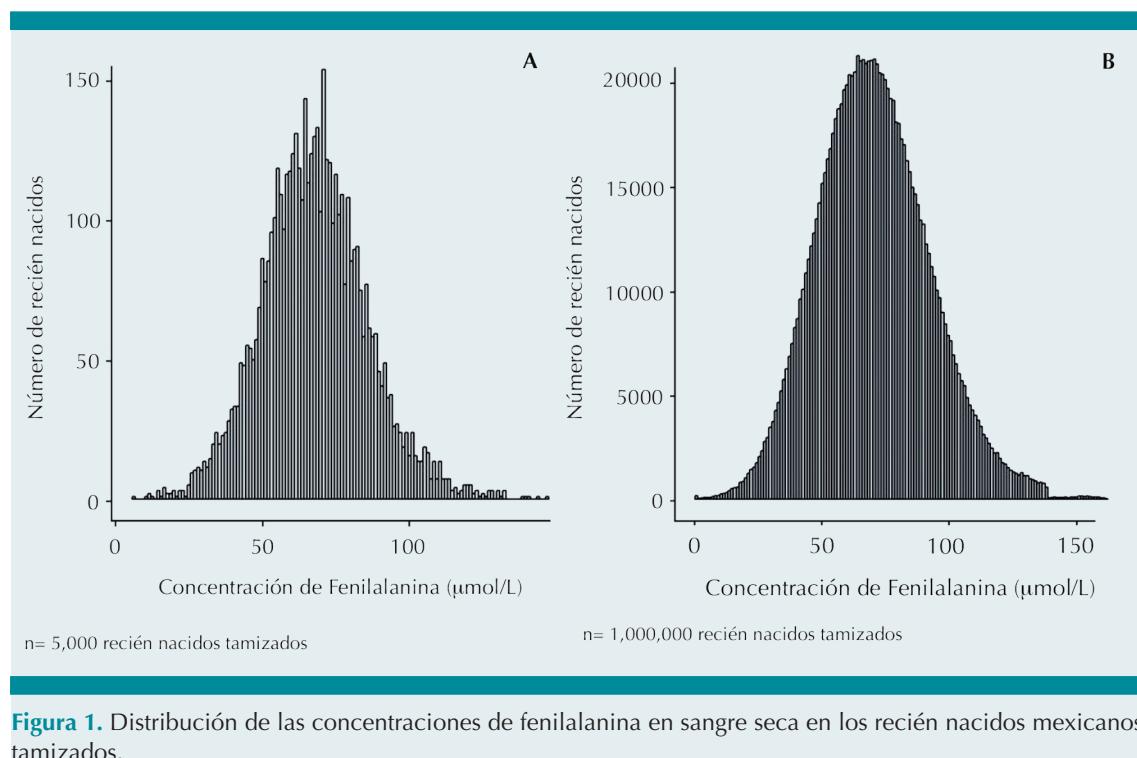


Figura 1. Distribución de las concentraciones de fenilalanina en sangre seca en los recién nacidos mexicanos tamizados.

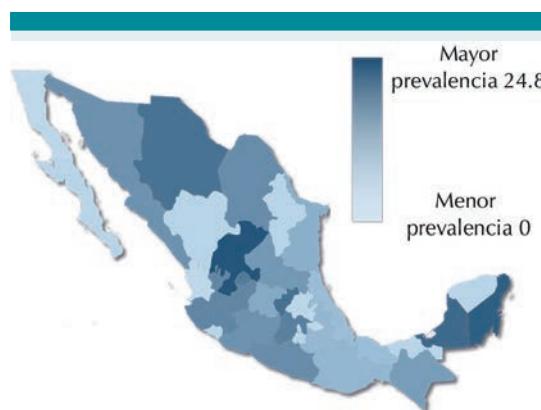


Figura 2. Tasa de prevalencia al nacimiento de hiperfenilalaninemia-fenilcetonuria en México. La tasa nacional fue 3.6 casos por cada 100,000 recién nacidos vivos tamizados.

DISCUSIÓN

En esta investigación se reporta, por primera vez, la prevalencia de la hiperfenilalaninemia-fenil-

cetonuria en una población de más de un millón de recién nacidos vivos de la Secretaría de Salud, con representación de todas las entidades de la República. La prevalencia promedio nacional fue de 3.6 casos por cada 100,000 recién nacidos vivos tamizados (1:27,546 recién nacidos vivos) (**Cuadro 2, Figura 2**). Esta frecuencia es menor que la descrita por Borrajo en países latinoamericanos, como Chile (1:15,132 recién nacidos vivos), Brasil (1:12,473-1:23,645 recién nacidos vivos) y Argentina (1:26,250 recién nacidos vivos), pero mayor a la encontrada en Costa Rica (1:49,176 recién nacidos vivos) y Cuba (1:52,590 recién nacidos vivos).²⁰

Investigaciones previas de la fenilcetonuria en México reportan mayor prevalencia de casos de esta enfermedad en el Bajío (Aguascalientes, Jalisco, Guanajuato y Querétaro) debida a un efecto de fundador del gen *PAH*.^{24,25} en este estudio la entidad con mayor prevalencia fue

Cuadro 2. Cantidad de recién nacidos tamizados, casos sospechosos, confirmados, falsos positivos y tasas de prevalencia al nacimiento y de falla de localización del Tamiz Neonatal del CNEGYSR de la Secretaría de Salud, México (continúa en la siguiente página)

Entidad	Muestras adecuadas	Muestras sospechosas	Casos	Falsos positivos	No localizados	Prevalencia estimada al nacimiento (1:RN)	Tasa estimada por 100,000 RN	Tasa de falla por 100,000 RN
Aguascalientes	16,878	15	1	13	1	16,878	5.9	5.9
Baja California Norte	24,290	4	0	2	2	0	0	8.2
Baja California Sur	6,245	3	0	3	0	0	0	0
Campeche	11,646	21	1	17	3	11,646	8.6	25.8
Chiapas	22,465	34	0	24	10	0	0	44.5
Chihuahua	7,647	13	0	6	7	0	0	91.5
Ciudad de México	59,204	24	2	18	4	29,602	3.4	6.8
Coahuila	25,593	19	2	14	3	12,797	7.8	11.7
Colima	42,694	7	0	5	2	0	0	4.7
Durango	20,583	33	1	26	6	20,583	4.9	29.2
Estado de México	100,935	138	3	90	45	33,645	3.0	44.6
Guanajuato	61,212	53	3	40	10	20,404	4.9	16.3
Guerrero	39,385	16	0	14	2	0	0	5.1
Hidalgo	77,051	19	4	8	7	19,263	5.2	9.1
Jalisco	150,558	37	8	24	5	18,820	5.3	3.3
Michoacán	64,114	54	3	32	19	21,371	4.7	29.6
Morelos	22,727	8	0	8	0	0	0	0
Nayarit	9,940	3	0	3	0	0	0	0
Nuevo León	31,928	13	1	10	2	31,928	3.1	6.3
Oaxaca	47,848	39	1	20	18	47,848	2.1	37.6
Puebla	95,773	36	2	21	13	47,887	2.1	13.6
Querétaro	23,951	11	2	9	0	11,976	8.4	0
Quintana Roo	19,772	56	2	40	14	9,886	10.1	70.8
San Luis Potosí	28,644	5	1	4	0	28,644	3.5	0

Cuadro 2. Cantidad de recién nacidos tamizados, casos sospechosos, confirmados, falsos positivos y tasas de prevalencia al nacimiento y de falla de localización del Tamiz Neonatal del CNEGYSR de la Secretaría de Salud, México (continuación)

Entidad	Muestras adecuadas	Muestras sospechosas	Casos	Falsos positivos	No localizados	Prevalencia estimada al nacimiento (1:RN)	Tasa estimada por 100,000 RN	Tasa de falla por 100,000 RN
Sinaloa	26,908	7	1	5	1	26,908	3.7	3.7
Sonora	21,273	6	1	5	0	21,273	4.7	0
Tabasco	31,235	38	0	17	21	0	0	67.2
Tamaulipas	35,484	5	1	3	1	35,484	2.8	2.8
Tlaxcala	19,506	8	0	2	6	0	0	30.8
Veracruz	78,739	24	1	15	8	78,739	1.3	10.2
Yucatán	22,715	6	0	6	0	0	0	0
Zacatecas	20,179	38	5	23	10	4,036	24.8	49.6
Total	1,267,122	793	46	527	220	27,546	3.6	17.4

Zacatecas (24.78 por 100,000 recién nacidos vivos) que comparte frontera con los Altos de Jalisco (**Figura 2**), lo que podría sugerir que también existe en esa zona el efecto de fundador.²⁵ Si bien nuestros resultados muestran que la hipofenilalaninemia-fenilcetonuria está distribuida prácticamente en todas las zonas geográficas del país, llama poderosamente la atención que en algunos estados del sureste (Quintana Roo y Campeche), se encontraron tasas elevadas de la enfermedad (10.1 y 8.6 por 100,000 recién nacidos vivos, respectivamente); sin embargo, el número de tamizados en ambas entidades aún es pequeño (31,613 recién nacidos vivos), por lo que quizás este número cambie cuando se tamicen más niños. (**Figura 3A**)

En los 11 estados de la República en los que no se encontraron casos de la enfermedad (**Figura 2**) la tasa de falla de localización fue alta, incluso de 91.5 por 100,000 recién nacidos vivos, por lo que es posible que entre los niños no localizados existan casos verdaderos que no pudieron confirmarse. Los estados de Yucatán, Morelos, Baja California Sur y Nayarit son la excepción porque la tasa de falla fue de cero (**Figura 3B, Cuadro 2**).

Los resultados de esta investigación son diferentes al trabajo publicado por González Guerrero y colaboradores quienes, en una población de 4,348,721 recién nacidos vivos mexicanos, derechohabientes del IMSS, encontraron una prevalencia al nacimiento de 0.99 por cada 100,000 recién nacidos vivos (1:101,133 recién nacidos vivos),²⁶ es decir, 3.6 veces menor a la aquí reportada (3.6 por cada 100,000 recién nacidos vivos, 1:27,546 recién nacidos vivos). Esta notable diferencia amerita analizarse en estudios posteriores, puesto que puede tener explicaciones preanalíticas, analíticas y post-analíticas.

Esta investigación reporta por primera vez la distribución de las concentraciones de fenilalanina en sangre depositada en papel filtro en un

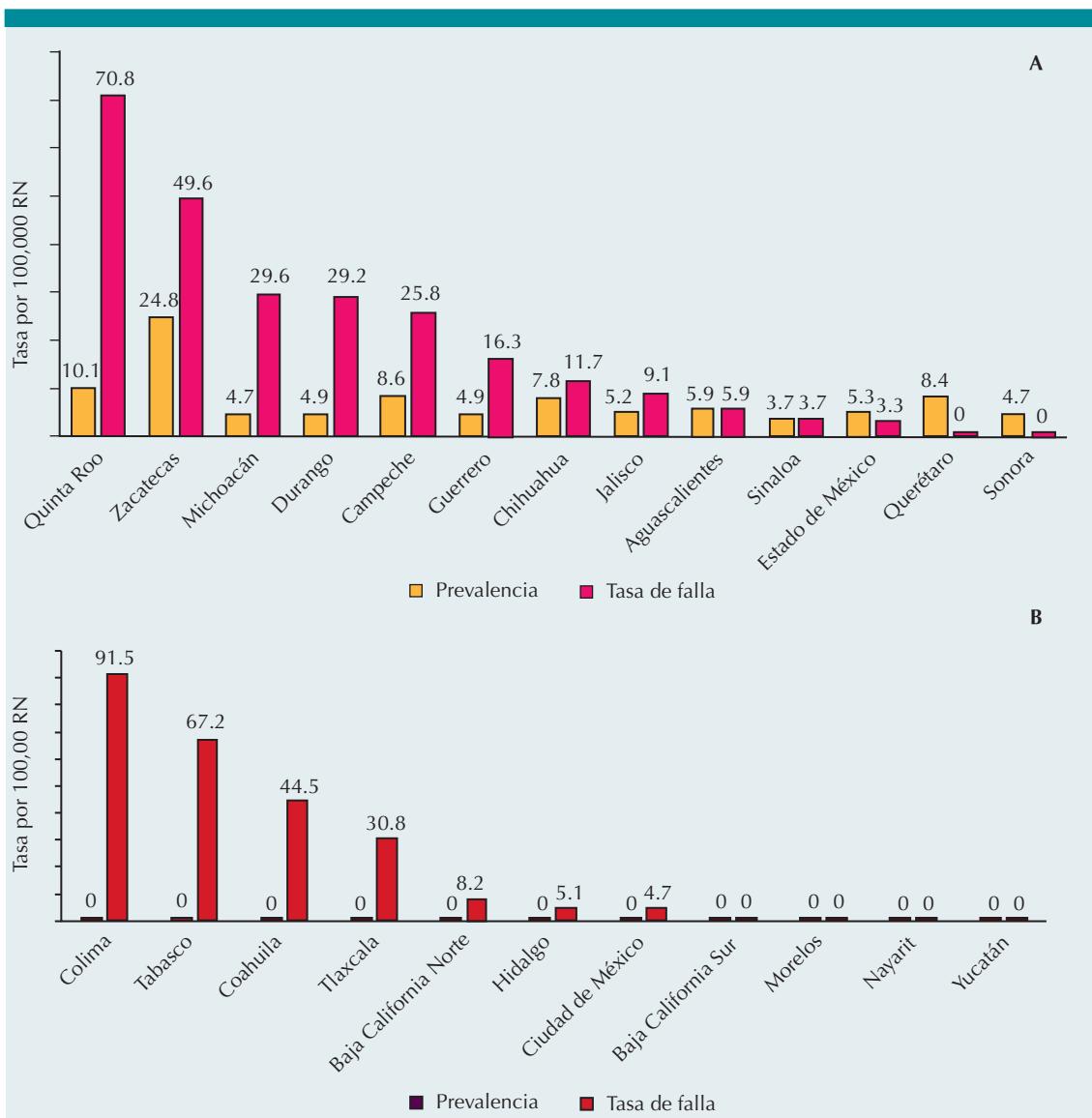


Figura 3. A) Entidades federativas con tasa de prevalencia de hiperfenilalaninemia-fenilcetonuria por arriba de la tasa de prevalencia promedio nacional (3.37 por 100,000 recién nacidos). **B)** Tasa de falla en los estados que no confirmaron ningún caso de la enfermedad.

gran número de recién nacidos vivos de México (**Figuras 1 A y B**). La concentración promedio de fenilalanina en sangre de los recién nacidos mexicanos es de 66.87 $\mu\text{mol/L}$, y el valor de corte óptimo en esta población fue de 128.53 $\mu\text{mol/L}$, similar al de otros programas de tamiz.²⁷

Una fortaleza del método analítico utilizado en esta investigación para cuantificar la fenilalanina, es que el número de falsos positivos fue aceptable (0.041%), similar al reportado por otros programas con amplia experiencia en el tamiz neonatal para fenilcetonuria, puesto que

es sabido que un número elevado de resultados falsos positivos tienen repercusión económica, médica y, sobre todo, familiar.^{28,29}

Una de las limitaciones de este estudio fue la elevada tasa de falla de localización de casos sospechosos (17.4 por 100,000 recién nacidos vivos), por lo que hay que establecer estrategias que la disminuyan: capacitación permanente de los profesionales de la salud encargados de los programas estatales de tamiz neonatal, incremento de recursos humanos que intervienen en esos programas, optimización y profesionalización de los servicios de localización y la difusión de la importancia del tamiz neonatal en la población, entre otros. Los resultados de este estudio permiten dimensionar la cantidad de pacientes con esta enfermedad en México (1:27,546 recién nacidos vivos) y con ello contribuir a establecer las acciones necesarias para brindar una adecuada atención médica a las personas con hiperfenilalaninemia-fenilcetonuria que logre prevenir sus graves secuelas, que conducen a discapacidad intelectual permanente.

CONCLUSIÓN

En 1,273,727 recién nacidos vivos mexicanos la tasa de prevalencia al nacimiento de hiperfenilalaninemia-fenilcetonuria fue de 3.6 casos por cada 100,000 recién nacidos vivos, lo que equivale a un recién nacido enfermo por cada 27,546 tamizados.

REFERENCIAS

1. Blau N, Van Spronsen F, Levy H. Phenylketonuria. *The Lancet*, 2010; 376(9750):1417-1427.
2. Scriver C.R. Hyperphenylalaninemia: phenylalanine hydroxylase deficiency. En *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 8^a Edición, Scriver C, Beaudet AL, Sly W, Valle D, eds. MacGrawHill, NY, USA, 2001; Vol. 2, pp. 1667-1724.
3. Belmont-Martínez L, Fernández-Lainéz C, Ibarra-González I, Guillén-López S, Monroy-Santoyo S, Vela-Amieva M. Evaluación bioquímica de la fenilcetonuria (PKU): del diagnóstico al tratamiento. *Acta Pediatr Mex* 2012; 33(6):296-300.
4. de Groot MJ, Hoeksma M, Blau N, Reijngoud DJ, van Spronsen FJ. Pathogenesis of cognitive dysfunction in phenylketonuria: review of hypotheses. *Mol Genet Metab*. 2010; 99 Suppl 1:S86-9.
5. van Spronsen FJ. Phenylketonuria: a 21st century perspective. *Nat Rev Endocrinol*. 2010; 6(9):509-14.
6. Khemir S, Soumeyya H, Azzouz H, Siala H, Ferchichi M, Guedria A, et al. Autism in Phenylketonuria Patients: from clinical presentation to molecular defects. *J. Child Neurology* 2016 31(7):843-849.
7. Fölling A. 1934. Über Ausscheidung von Phenylbrenztraubensaure in den Harn als Stoffwechselanomalie in Verbindung mit Imbezillität. *HoppeSeylers Z Physiol Chem* 277:169-176.
8. Fölling I. The discovery of phenylketonuria. *Acta Paediatr Suppl*. 1994; 407:4-10.
9. Bickel H, Gerrard J, Hickmans EM. The influence of phenylalanine intake on phenylketonuria. *Lancet* 1953;265(6790):812-3
10. Woolf LI, Griffiths R, Moncrieff A. Treatment of phenylketonuria with a diet low in phenylalanine. *Br Med J*. 1955; 1(4905):57-64.
11. Guthrie R, Susi A. A Simple Phenylalanine Method for Detecting Phenylketonuria in Large Populations of Newborn Infants. *Pediatrics*. 1963; 32:338-43.
12. Tamiz Neonatal. Detección, Diagnóstico, Tratamiento y Seguimiento de los Errores Innatos del Metabolismo. Lineamiento Técnico, Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva, Secretaría de Salud, México 2010. 96 pp.
13. Singh RH, Cunningham AC, Mofidi S, Douglas TD, Frazier DM, Hook DG, et al. Updated, web-based nutrition management guideline for PKU: An evidence and consensus based approach *Mol Genet Metab*. 2016; 118(2):72-83.
14. 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*. 2017; 12(1):162.
15. Grosse S.D., Rogowski W.H., Ross L.F., Cornel M.C., Dondorp W.J., Khoury M.J. Population screening for genetic disorders in the 21st century: Evidence, economics, and ethics. *Public Health Genomics*. 2010; 13(2):106-115.
16. Grosse SD. Showing Value in Newborn Screening: Challenges in Quantifying the Effectiveness and Cost-Effectiveness of Early Detection of Phenylketonuria and Cystic Fibrosis. *Healthcare (Basel)*. 2015; 3(4):1133-57.
17. Brosco JP, Grosse SD, Ross LF. Universal state newborn screening programs can reduce health disparities. *JAMA Pediatr*. 2015; 169(1):7-8.
18. CDC. Ten great public health achievements. United States 2001-2010. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2011; 60:619-23.
19. Borrajo GJ. Newborn screening in Latin America at the beginning of the 21st century. *J Inher Metab Dis*. 2007; 30(4):466-81.

20. Borrajo GJC. Panorama epidemiológico de la fenilcetonuria (PKU) en Latinoamérica. *Acta Pediatr Mex* 2012; 33(6):279-287.
21. Secretaría de Salud, Diario Oficial de la Federación. Ley General de Salud, Artículo 61, Fracción II, reforma del 25/01/2013.
22. Norma Oficial Mexicana NOM-034-SSA2-2013, Para la prevención y control de los defectos al nacimiento. Diario Oficial de la Federación, 24/06/2014, México.
23. Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA2-2016, Para la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio, y de la persona recién nacida. Diario Oficial de la Federación, 01/04/2016, México.
24. Velázquez A, Bilbao G, González-Trujillo JL, Hernández D, Pérez-Andrade ME, Vela M, et al. Apparent higher frequency of phenylketonuria in the Mexican state of Jalisco. *Hum Genet*. 1996; 97(1):99-102.
25. Vela-Amieva M, Abreu-González M, González-del Ángel A, Ibarra-González I, Fernández-Láinez C, Barrientos-Ríos R, et al. Phenylalanine hydroxylase deficiency in Mexico: genotype-phenotype correlations, BH4 responsiveness and evidence of a founder effect. *Clin Genet*. 2015; 88(1):62-7.
26. González Guerrero J, Delgado González E, Burciaga Torres M, Mendiola Ramírez K, Ferrer Arreola L. Phenylketonuria Newborn Screening Experience in Mexico Epidemiological Overview. *JIEMS Special Supplement*, 2015: 53.
27. Zaffanello M, Zamboni G, Maffei C, Tatò L. Neonatal birth parameters of positive newborns at PKU screening as predictors of false-positive and positive results at recall-testing. *J Med Screen*. 2003; 10(4):181-3.
28. Hewlett J, Waisbren SE. A review of the psychosocial effects of false-positive results on parents and current communication practices in newborn screening. *J Inher Metab Dis*. 2006; 29(5):677-82.
29. Known C, Farrell PM. The magnitude and challenge of false-positive newborn screening results. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2000;154(7):714-18