

Adelantándose al daño: el tamiz neonatal

Dr. Antonio Velázquez-Arellano, Dra. Marcela Vela-Amieva

Unidad de Genética de la Nutrición, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México-Instituto Nacional de Pediatría, Dirección General de Salud Reproductiva, Secretaría de Salud, México, D. F., México.

Resumen

El tamiz neonatal (TN) es un programa de Salud Pública que ocupa uno de los primeros lugares dentro de las estrategias preventivas prioritarias mundiales. Se inició en 1963, y consiste en obtener unas gotas de sangre del recién nacido, depositarlas y secarlas en un papel filtro (tarjeta de Guthrie) para analizarlas, midiendo metabolitos que sirven como “indicadores bioquímicos” de enfermedades específicas. Las técnicas para la medición de metabolitos han evolucionado, desde la sencilla prueba de inhibición bacteriana para la fenilalanina hasta la compleja espectrometría de masas en *tandem*, que puede rastrear simultáneamente múltiples metabolitos. Sin embargo, aun cuando las nuevas tecnologías son muy poderosas, en términos de sensibilidad y especificidad, el Programa de TN va más allá de una serie de pruebas bioquímicas, debe ser un “sistema integral” que incluya un control de calidad estricto de las fases pre y postanalíticas, que vigile desde la punción del recién nacido hasta el tratamiento y neurodesarrollo de los casos positivos. El propósito fundamental del TN es contribuir a mejorar la calidad de vida de los niños y evitar la discapacidad secundaria a defectos al nacimiento.

Palabras clave. Tamiz neonatal; prevención; errores inatos del metabolismo; defectos al nacimiento.

Solicitud de sobretiros: Dr. Antonio Velázquez Arellano, Unidad de Genética de la Nutrición, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM-Instituto Nacional de Pediatría, Av. del Imán # 1, 4º Piso, Col. Insurgentes Cuicuilco, C. P. 04530, México, D. F., México.

Fecha de recepción: 30-08-2002.

Fecha de aprobación: 14-11-2002.

El tamiz neonatal (TN) es un estudio con fines preventivos, que debe practicarse a todos los recién nacidos. Su objetivo es descubrir y tratar oportunamente enfermedades graves e irreversibles que no se pueden detectar al nacimiento, ni siquiera con una revisión médica muy cuidadosa. El TN se ha convertido, después de las vacunas, en la práctica pediátrica de mayor utilidad preventiva en todo el mundo,¹ y ha tenido una evolución verdaderamente vertiginosa, por lo que es importante que todo pediatra que procure estar actualizado tenga conocimiento sobre el mismo.²

Durante la primera mitad del siglo veinte la atención sanitaria básicamente se centró en la lucha contra las enfermedades infecciosas. Fue hasta la segunda mitad del siglo cuando se le dio prioridad a la atención materno infantil. Por otro lado, el establecimiento de programas de diagnóstico presintomático masivo (i.e. detección del cáncer cervicouterino, de diabetes mellitus, etc.) ha constituido uno de los mayores retos de los sistemas de salud pública, y el TN es uno de los ejemplos

exitosos de este tipo de estrategias preventivas.^{3,4} El TN lo inició Guthrie⁵ de la Universidad de Búfalo, Estados Unidos, quien desarrolló en 1963 el primer programa de detección presintomática de la fenilcetonuria -enfermedad que no produce manifestaciones clínicas en el recién nacido pero que, conforme pasa el tiempo, produce graves secuelas neurológicas- y fue el primero en establecer la recolección masiva de muestras de sangre de recién nacidos utilizando tarjetas de papel "filtro" absorbente, la llamada tarjeta de Guthrie (Fig. 1). Es éste el procedimiento estándar en todo el mundo para dicho objetivo.^{2,6} Su inmenso beneficio deriva de la posibilidad de examinar prácticamente todas las moléculas presentes en la sangre a su vez procedentes de los tejidos y órganos del cuerpo desde pequeños aminoácidos hasta el propio genoma residente en el DNA, ya que la recolección en papel elimina el componente acuoso de la sangre, responsable de la degradación de los compuestos. En esta clarividencia de Guthrie residió la magnitud de su contribución a la medicina y a las

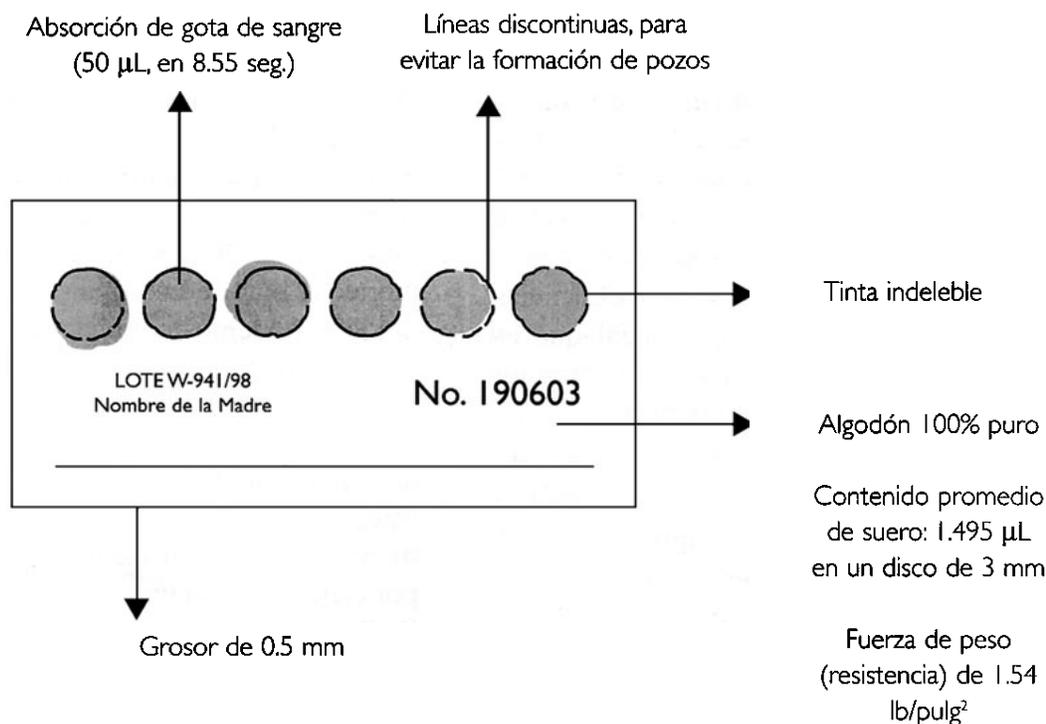


Figura 1. Características de la tarjeta de Guthrie o papel filtro para el tamiz neonatal.

ciencias biomédicas, que rebasa con mucho el ámbito del TN. Además de concebir un método de enorme efectividad y bajísimo costo para el manejo de las muestras de sangre, Guthrie inventó también una prueba, igualmente sencilla y efectiva, para la detección de afectados con esta enfermedad: la “prueba de inhibición bacteriana”, que consiste en el desarrollo de colonias bacterianas alrededor del disco de papel con la sangre de un enfermo, que no se observa en las de los sanos, por haber agregado al cultivo un inhibidor específico. Después se desarrollaron variantes de esta prueba lo que extendió el TN a otras enfermedades metabólicas hereditarias, como la de orina de jarabe de arce (“maple”), la homocistinuria y la galactosemia.

Un nuevo desarrollo que revolucionó el TN, en la década de los setenta, fue la aplicación de técnicas de inmunoensayo para determinar hormonas tiroideas en la misma muestra colectada en las tarjetas de Guthrie. Midiendo al principio la hormona tiroidea (tiroxina, T4) y, después, la tirotropina (hormona estimulante de la tiroides, TSH), se logró estandarizar el TN para el hipotiroidismo congénito, enfermedad mucho más frecuente y fácil de tratar que las anteriores.⁷ Con ello, el TN se convirtió en una de las herramientas más poderosas de prevención de daño en la infancia. Como resultado del TN, la fenilcetonuria, en la mayor parte de Estados Unidos y de Europa, es una enfermedad “histórica”, ya que los niños que la padecen son detectados y, gracias al tratamiento oportuno nunca presentan ni los síntomas clínicos, ni sus graves consecuencias. Desafortunadamente en México, al igual que en otros países emergentes, el tamiz para fenilcetonuria es apenas una realidad para unos cuantos.

Durante la última década, Millington y col.,⁸ Chase y col.,⁹ y Naylor¹⁰ -este último discípulo y heredero intelectual de Guthrie- aplicaron al TN nuevas tecnologías que aumentaron sustancialmente la gama de enfermedades que se pueden descubrir y tratar con oportunidad desde la etapa neonatal. Estos y otros avances han configurado el llamado “TN ampliado”, que hasta ahora abarca cerca de 40 enfermedades (Cuadro 1).¹¹ Dentro

de estas tecnologías se encuentran métodos inmunoenzimáticos, fluorométricos, enzimológicos, cromatográficos y espectrometría de masas en tandem.¹² El TN ampliado se inicia, al igual que el básico, con la recolección de la muestra de sangre del recién nacido en la tarjeta de Guthrie (Fig. 2). El momento “ideal” para realizar la punción del talón y la recolección de la muestra para el TN, es entre el tercer y quinto días de vida extrauterina.

Dentro de las nuevas herramientas tecnológicas para el TN, es especialmente poderosa la espectrometría de masas en tandem cuyo concepto, en teoría, es muy simple: consiste en “pesar” moléculas individuales, de diferentes metabolitos, lo que permite generar un perfil metabólico característico, mediante el cual se puede distinguir con gran especificidad el metabolismo normal del anormal y realizar cuantificaciones de moléculas con alta sensibilidad. Se dice que es “en tandem” debido a que se realiza mediante dos espectrómetros de masas vinculados entre sí, funcionando el primero de ellos como “separador” de iones, y el segundo como identificador de moléculas. El espectro o perfil obtenido permite reconocer enfermedades específicas. A manera de ejemplo, podemos decir que si tuviéramos una colección de monedas de diversos países, por ejemplo de Estados Unidos, México, Alemania, todas ellas mezcladas, después de introducirlas al instrumento, el primer espectrómetro separaría las monedas, y el segundo las identificaría y nos diría exactamente cuántas monedas hay de cada país. Mediante esta metodología, podemos conocer el perfil de carnitinas, de acilcarnitinas y de aminoácidos de cualquier muestra de sangre depositada en la tarjeta de papel filtro, ¡todo esto en un lapso de apenas 20 segundos! Por otro lado, dichos perfiles se interpretan integralmente tomando en cuenta no solo cada elemento en forma aislada, sino todas en conjunto; por ejemplo, si en un perfil se observa elevación de fenilalanina y la disminución de tirosina, sabemos que este cociente alterado es característico de la fenilcetonuria clásica, o bien la elevación de metionina y de homocisteína es propia de la homocistinuria.¹³

Cuadro 1. Principales enfermedades que se pueden detectar a través del tamiz neonatal y sus respectivos indicadores bioquímicos

Enfermedad	Indicador(es) bioquímico(s)
Hipotiroidismo congénito	Hormona estimulante de la tiroides (TSH), tiroxina (T ₄)
Hiperplasia suprarrenal congénita	17-hidroxiprogesterona
Fenilcetonuria	Fenilalanina Cociente fenilalanina / tirosina
Enfermedad de orina de jarabe de arce o "maple"	Leucina, isoleucina y valina
Tirosinemia	Tirosina
Homocistinuria	Metionina, homocisteína
Citrulinemia	Citrulina
Defectos del ciclo de la urea	Ornitina
Argininemia	Arginina
Galactosemia	Galactosa, actividad de galactosa uridiltransferasa
Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (anemia hemolítica)	Actividad de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
Acidemias orgánicas (metilmalónica, propiónica, isovalérica, glutárica y otras)	Acil carnitinas específicas
Trastornos de oxidación de ácidos grasos	Acil carnitinas específicas
Fibrosis quística	Tripsinógeno inmunorreactivo
Inmunodeficiencia combinada severa	Actividad de adenosina deaminasa
Deficiencia de biotinidasa	Actividad de biotinidasa
Diabetes tipo I	Autoanticuerpos contra insulina, autoanticuerpos IA-2, autoanticuerpos contra las células de los islotes, contra la descarboxilasa glutámica ácida, HLA-DR HLA-DQB1
Trastornos de glicosilación (síndrome CDG)	Isoformas de transferrina deficientes de carbohidratos
Neuroblastoma	Catecolaminas
Hemoglobinopatías	HbA2, HbF
Trastornos lisosomales	Glicosaminoglicanos, glicoesfingolípidos, cuantificación enzimática específica
Toxoplasmosis congénita	Anticuerpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i>
Infección congénita por citomegalovirus	Anticuerpos anti-CMV, presencia de DNA viral
Infección congénita por HIV	Anticuerpos anti-HIV, DNA viral

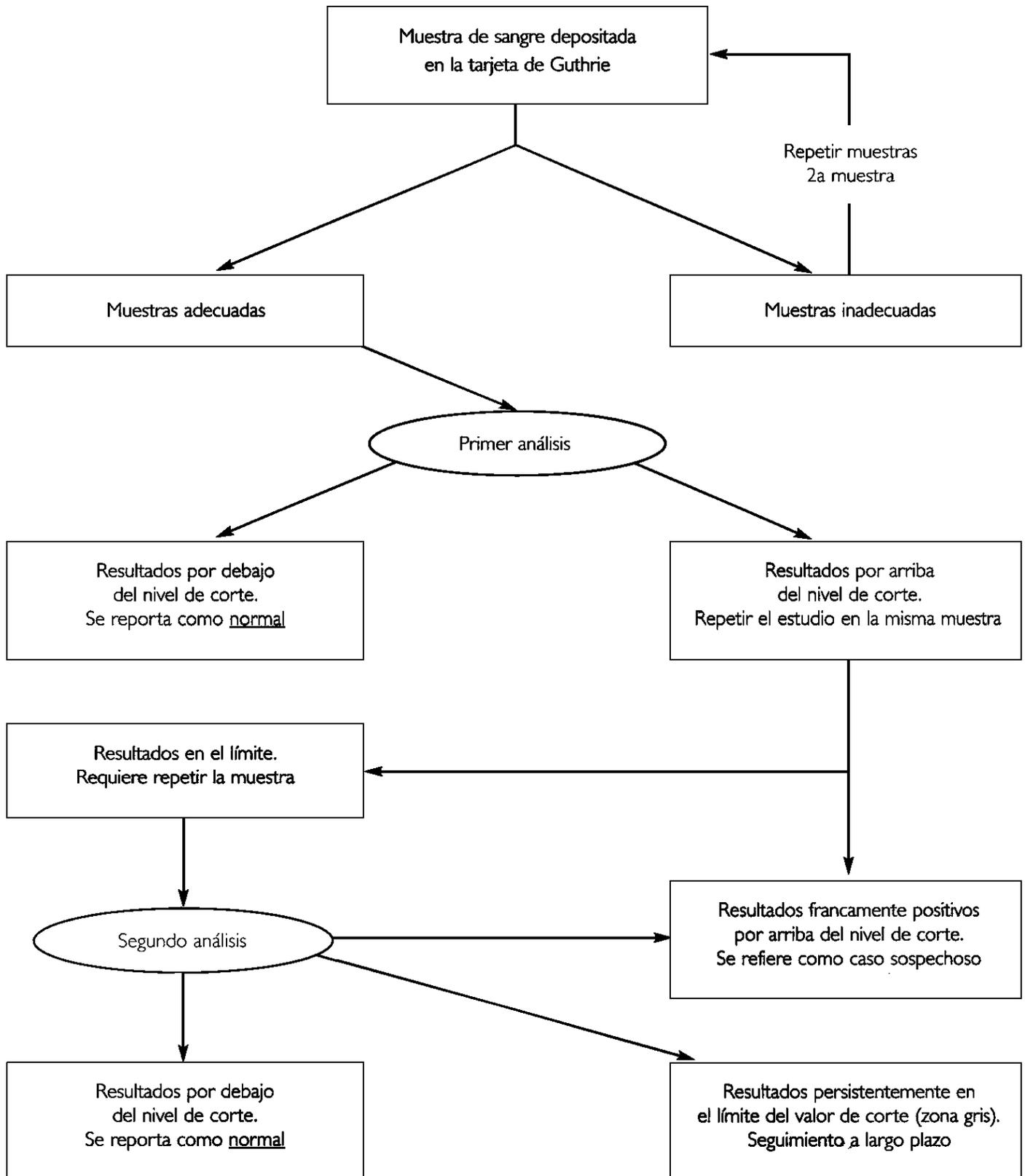


Figura 2. Diagrama general del proceso del tamiz neonatal.

Los defectos al nacimiento de tipo metabólico son un problema de salud pública, pues contribuyen en forma sustancial a la morbilidad y mortalidad infantiles, por lo cual identificarlos en el período neonatal constituye un ahorro importante, ya que permite tomar medidas para evitar la discapacidad y en ocasiones el fallecimiento de los niños, con todas sus consecuencias socioeconómicas.¹⁴

En la actualidad, el TN ocupa el octavo lugar dentro de los 50 programas preventivos prioritarios de la *United States Preventive Services Task Force*.^{1,15}

Con el desciframiento del genoma humano, conforme nos adentremos en el presente siglo, seguramente el TN se ampliará aún más, consolidándose como una de las estrategias más importantes para la atención infantil integral. Esta expansión del tamiz se convertirá en un verdadero reto, dado que permitirá la detección de toda la gama de la patología humana (incluyendo enfermedades del adulto, algunas para las que no se cuenta con medidas preventivas y, también para predisposiciones).

Cuando haya evidencia de que la detección y la intervención temprana resultan en beneficios para el sujeto descubierto, los sistemas de tamiz para dicho trastornos se deben agregar a los sistemas ya existentes, lo que resulta en mayor accesibilidad y en su menor costo.^{4,16}

Las comunidades médica, científica y tecnológica continúan explorando pruebas potenciales de tamiz para ser incluidas en los programas existentes. Determinar cuáles pruebas son las apropiadas para la ampliación de un programa de TN puede ser una cuestión que genere controversia. Usualmente se han usado los criterios de Wilson y Jungner¹⁷ para la inclusión de pruebas de tamiz, sólo si el trastorno constituye un problema importante de salud pública, si existe una prueba de medición económica, con alto nivel de detección y pocos falsos positivos, y si existen intervenciones efectivas de tratamiento y prevención de las complicaciones asociadas (Cuadro 2). Estos criterios sin embargo, están actualmente sometidos a intensa controversia.¹⁸

A pesar de su asombrosa evolución, las pruebas bioquímicas en sí son sólo un elemento del complejo sistema del TN. Se debe motivar y educar al per-

sonal del equipo de salud y a las familias sobre la utilidad de este programa, asegurarse de que existe un seguimiento real de los casos positivos y de los sospechosos no localizados, y hacer referencias adecuadas a centros metabólicos especializados. El desempeño del sistema de tamiz debe ser constantemente monitorizado a través de indicadores específicos, para que sea verdaderamente un servicio útil. Todos los países deben contar con un nivel de calidad básico para la realización del tamiz y mantener y optimizar dicho control de calidad en forma permanente, para vigilar que todos los recién nacidos sean eficientemente tamizados.¹⁹⁻²¹ Con un mecanismo para tomar las decisiones basados en las evidencias, con el suficiente apoyo federal y estatal, el tamiz de alta calidad podrá llegar a cada recién nacido en nuestro país.

Estado actual en la Secretaría de Salud

En México, el TN se inició en 1973, como un programa de investigación del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, con la participación de la entonces Dirección General de Atención Materno Infantil y Planificación Familiar de la Secretaría de Salubridad y Asistencia.²² Dados los buenos resultados obtenidos mediante el proyecto inicial de investigación y que el estudio costo/beneficio demostró que por cada recién nacido detectado y tratado a tiempo existe un ahorro sustancial de \$13 000 dólares,²³ se hizo obligatorio a nivel nacional para hipotiroidismo congénito, primero como Norma Técnica en septiembre de 1988,²⁴ y posteriormente como Norma Oficial Mexicana.²⁵

En el año 2001 la cobertura del tamiz para hipotiroidismo congénito para los recién nacidos en unidades de la SSA fue de 98.2%, y de los que tuvieron un resultado positivo en el tamiz inicial, 85% fueron localizados, iniciándose el tratamiento específico en aquellos en los que se confirmó el diagnóstico.

En el momento presente sabemos que la frecuencia de hipotiroidismo congénito en la Secretaría de Salud, es de 1 en 2 629 recién nacidos,²⁶ y

Cuadro 2. Criterios de Wilson y Jungner 1968, para la detección temprana de las enfermedades (programas de tamiz)¹⁷

1. La condición a buscar debe ser un problema de salud importante
2. Debe existir un tratamiento aceptado para la enfermedad
3. Deben existir facilidades para el diagnóstico y el tratamiento
4. Debe tener un estadio sintomático temprano reconocible
5. Debe existir una prueba adecuada para detectar la enfermedad
6. La prueba debe ser aceptada por la población tamizada
7. La historia natural de la condición, incluyendo el desarrollo del estado latente a la enfermedad declarada, debe ser conocida
8. Debe existir consenso sobre el tratamiento de la enfermedad
9. El costo del hallazgo de los casos debe estar económicamente balanceado con relación a los gastos del cuidado médico integral
10. El hallazgo de los casos debe ser un proceso continuo

el proyecto piloto de fenilcetonuria señala una incidencia de 1:16 000. El TN de la Secretaría de Salud es un trabajo de equipo en el que intervienen muchos profesionales, entre los que destacan enfermeras, químicos, trabajadores sociales, nutriólogos, médicos y otros paramédicos, los cuales participan y contribuyen a hacerlo real y exitoso, a pesar de los obstáculos (Fig. 3).²⁷

En la actualidad, las más de 600 000 muestras anuales de recién nacidos que se toman en la Secretaría de Salud son procesadas en uno de los diez laboratorios regionales de tamiz distribuidos a lo largo del país (Sonora, Nuevo León, Tamaulipas, Coahuila, Veracruz, Michoacán, Tabasco, Hidalgo, Yucatán y Distrito Federal). Algunos de estos laboratorios realizan además del tamiz para hipotiroidismo congénito, la detección de otras enfermedades. En el Estado de Nuevo León se realiza el tamiz ampliado para 40 padecimientos

metabólicos hereditarios, mediante la moderna tecnología de espectrometría de masas en tandem, siendo el primer programa del país que aplica el tamiz ampliado a todos los recién nacidos en unidades de la Secretaría de Salud.²⁸ En el Laboratorio Estatal de Salud Pública de Veracruz se está implementando el tamiz para fenilcetonuria, jarabe de arce e hiperplasia suprarrenal congénita, además del tamiz de hipotiroidismo congénito.

Todos los laboratorios de tamiz de la Secretaría de Salud participan en el Sistema de Control de Calidad que coordina el Laboratorio Central ubicado en el Instituto Nacional de Pediatría, mismo que consiste en el envío trimestral de muestras para su procesamiento y evaluación periódica, brindando también asesoría técnica integral.²⁹

Hoy, la Secretaría de Salud ya cuenta con varios centros con la tecnología y la infraestructura para realizar la detección de fenilcetonuria y otros errores innatos del metabolismo que causan retardo mental

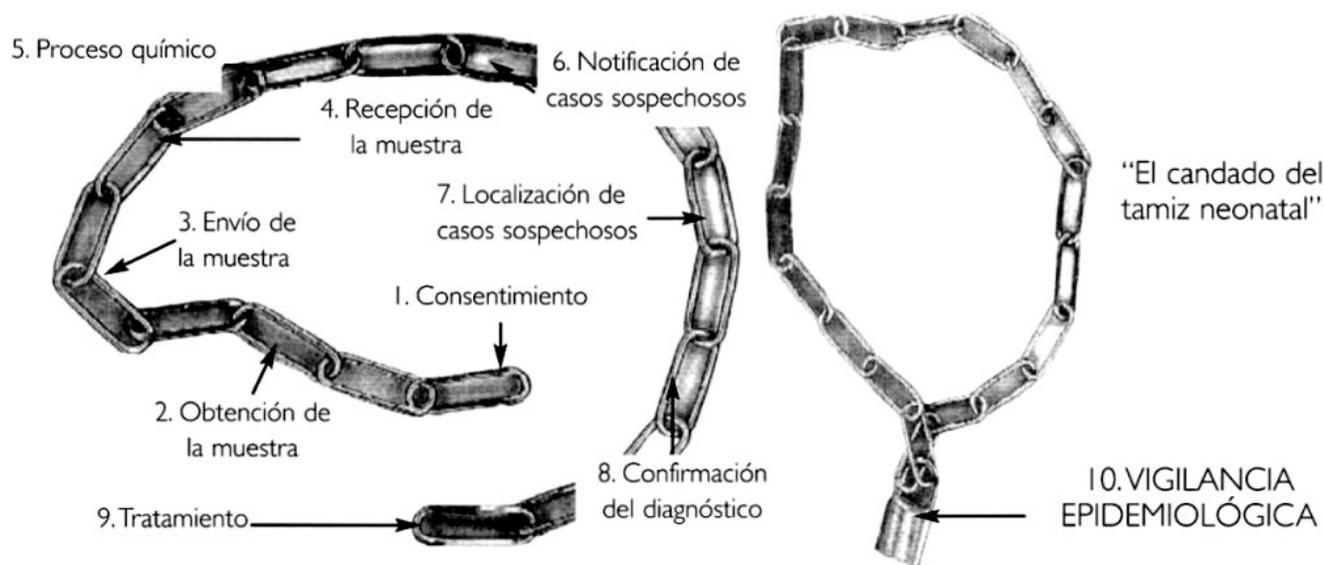


Figura 3. El tamiz neonatal es una cadena de acciones, en la que cada eslabón es importante, siendo la vigilancia epidemiológica el punto de mayor trascendencia. La cadena debe iniciar con la obtención, verbal o escrita, del consentimiento de los padres para la obtención de la muestra.

irreversible, así como de toxoplasmosis congénita, padecimiento que ocasiona con frecuencia deficiencia visual; además, los Programas de TN de todos los Estados del país están recibiendo impulso gracias a la

nueva visión del Programa Arranque Parejo en la Vida, uno de cuyos propósitos es contribuir a mejorar la calidad de vida de los niños y evitar la discapacidad secundaria a los defectos al nacimiento.³⁰

NEONATAL SCREENING PROGRAM: A STEP AHEAD OF DAMAGE

Neonatal screening (NS) as a public health program occupies one of the first places among high-priority global preventive strategies. NS started in 1963 with the following approach: a few blood drops were obtained from a newborn, deposited and dried on filter paper (Guthrie's card), and metabolites that serve as "biochemical indicators" of specific disease were measured. The techniques for measurement of such metabolites have evolved, from a simple bacterial inhibition test for phenylalanine, to complex tandem-mass spectrometry for the simultaneous quantification of multiple metabolites. However, albeit the high sensitivity and specificity of the new technologies, the NS Program goes beyond mere biochemistry tests, requiring an "integral system" that includes a strict quality control of the pre and postanalytic phases, from the blood spot to treatment and neurological surveillance of affected children. The fundamental purpose of the NS is to contribute to improve life quality of children with metabolic inherited diseases and to prevent disabilities secondary to these defects.

Key words. Neonatal screening; prevention; metabolism, inborn errors; inherited metabolic diseases.

Referencias

1. Leutwyler K. The price of prevention. *Scient Am* 1995; April: 98-103.
2. Committee on genetics. American Academy of Pediatrics: Issues in newborn screening. *Pediatrics* 1992; 59: 345-8.
3. Cunningham GC. Phenylketonuria and other inherited metabolic defects. En: Wald N, Leck I, editores. *Antenatal and neonatal screening*. 2nd ed. Oxford, England: Oxford University Press; 2000. p. 353-60.
4. Cunningham GC. The science and politics of screening newborns. *N Engl J Med* 2002; 346: 1084-5.
5. Guthrie R, Susi A. A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. *Pediatrics* 1963; 32: 338-43.
6. Toublanc JE. Guidelines for neonatal screening programs for congenital hypothyroidism. *Acta Paediatr* 1999; 88 Supl 432: 13-4.
7. Dussault JH. The anecdotal history of screening for congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4332-4.
8. Millington DS, Kodo N, Norwood, Roe CR. Tandem mass spectrometry: a new method for acylcarnitine profiling with potential for neonatal screening for inborn errors of metabolism. *J Inher Metab Dis* 1990; 13: 321-4.
9. Chase D, Hillman SL, Millington DS, Kahler SG, Roe CR, Naylor EW. Rapid diagnosis of maple syrup urine disease in blood spots from newborns by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1995; 41: 62-8.
10. Naylor EW. New technologies in newborn screening. *Yale J Biol Med* 1991; 64: 21-4.
11. Velázquez A. El nuevo tamiz neonatal: una revolución en la Pediatría Preventiva. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1998; 55: 311-2.
12. Chace DH. Tandem mass spectrometry: theory and practice in the newborn screening laboratory. Third Meeting of the International Society for Neonatal Screening. Boston; 1996. p. 48.
13. Sweetman L. Newborn screening by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1996; 42: 345-6.
14. Cairns J, Shackley P. Sometimes sensitive, seldom specific: a review of the economics of screening. *Health Econ* 1993; 2: 43-53.
15. US Preventive Services Task Force. Guide to clinical preventive services: an assessment of the effectiveness of 169 interventions. Baltimore: Williams and Wilkins; 1989.
16. Dhondt JL, Farriaux JP, Saily JC, Lebrun T. Economic evaluation of cost-benefit ratio of neonatal screening procedure for phenylketonuria and hypothyroidism. *J Inher Metab Dis* 1991; 14: 633-9.
17. Wilson MMC, Jungner R. principles and practices of screening for disease. Public health papers. No. 34. Geneva: World Health Organization; 1968.
18. Committee for the Study of Inborn Errors of Metabolism, National Research Council. Genetic screening programs, principles and research. Washington, D.C.: National Academy of Science; 1995. Serving the family from birth to the medical home: newborn screening: a blueprint for the future - a call for a national agenda on state newborn screening programs. *Pediatrics* 2000; 106: 389-422.
19. Pollitt RJ, Green A, McCabe CJ. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: cost, yield and outcome. *Health Technol Assess* 1997; 1: 3-19.
20. Slazyk WE, Hannon WH. Quality assurance in the newborn screening laboratory. En: Therrell BL Jr, editor. *Laboratory methods in neonatal screening*. Washington (DC): American Public Health Association; 1993. p. 23-46.
21. Hannon WH, Slazyk WE. Quality control of newborn screening for inborn metabolic errors. En: *Advances in neonatal screening*. Proc 6th International Neonatal Screening Symposium. New York: Elsevier Science Publishers; 1987.
22. Velázquez A, Villarreal ML, Galindo ML. Newborn genetic screening: The Mexican program. En: Armendares S, Lisker R, Ebling FJG, Henderson IW, editores. *Human genetics*. Amsterdam: Excerpta Medica; 1977. p. 214-24.
23. Carrasco C, Ruiz-de Chávez S, Rodríguez-Budelli M, Velázquez A. Cost-benefit analysis of the Mexican neonatal screening program for inborn errors of metabolism. En: Therrell BLJ, editor. *Advances in neonatal screening*. Amsterdam: Excerpta Medica; 1987. p. 447-8.
24. Norma Técnica 321 Para la prevención del retraso mental producido por hipotiroidismo congénito. *Diario Oficial de la Federación*. Tomo CDXX No. 14; 22 de septiembre de 1988. p. 88-90.
25. Norma Oficial Mexicana-007-SSA2-1993. Atención a la mujer durante el embarazo, parto y puerperio y del recién nacido, criterios y procedimientos para la prestación del servicio. *Diario Oficial de la Federación* Tomo CDXCVI No.5. México, D. F. viernes 6 de enero de 1995.
26. Vela M, Gamboa S, Aguirre BE. Tamiz neonatal del hipotiroidismo congénito en México. Frecuencia en los últimos diez años. *Acta Pediatr Mex* 2000; 21: 99-103.
27. Vela M, Gamboa S, Loera-Luna A, Aguirre B, Pérez-Palacios G, Velázquez A. Neonatal screening for congenital hypothyroidism in Mexico: experience, obstacles, and strategies. *J Med Screen* 1999; 6: 77-9.
28. Villarreal JZ, Martínez-de Villarreal L, Tinoco BR, Torres MR, López R. Programa Tamiz Neonatal, Detección de Errores Innatos del Metabolismo. Secretaría de Salud, Gobierno del Estado de Nuevo León. México; 2001.
29. González CR, Pérez ME, Ortiz J. A External Quality Control Program for the Neonatal Screening Laboratories in Mexico. 5th Meeting of the International Society for Neonatal Screening. Genova, Italy, June; 2002. p. 99-131.
30. Programa de Acción "Arranque Parejo en la Vida" Plan Nacional de Salud 2000-2006.