



DOCUMENTO DIVULGATIVO

**PROTOCOLO DE CRIBADO NEONATAL DE:
HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA.**

Mayo 2023

Consejo Asesor de Cribado Neonatal de Enfermedades Congénitas de la CAPV

CONSEJO ASESOR DE CRIBADO NEONATAL DE ENFERMEDADES CONGÉNITAS

Presidenta: D^a Itziar Larizgoitia Jauregui

Secretaria: D^a Ana Audicana Uriarte

Vocales:

Los Coordinadores del Programa de Cribado Neonatal

D^a. Ana Aguirre Unceta-Barrenechea
D^a. Maria Estévez Domingo
D.^a Idoia Martínez Fernández de Pinedo.
D^a. Aitziber Pérez Fernández.

En representación de la Sociedad Vasco-Navarra de Pediatría

D. Ignacio Díez López.

En representación de la Sociedad Vasca de Ginecología y Obstetricia

D.^a Mercedes Fraca Padilla.

En representación de la Dirección de Asistencia Sanitaria de Osakidetza

D. Enrique Peiro Callizo.
D.^a Adelina Pérez Alonso.

En representación de la Dirección de Salud Pública y Adicciones del Departamento de Salud

D. Jose Antonio Municio Martín
D.^a Nerea Ferrero Sáiz
D^a Mercedes Espada Sáez-Torre
D.^a M^a Jesús Lázaro-Carrasco de la Fuente

Asesoramiento y revisión:

D.^a Gema Grau Bolado (Hospital Universitario de Cruces)

D.^a María Unceta Suarez (Hospital Universitario de Cruces)

A. INTRODUCCIÓN

B. CONSIDERACIONES GENERALES DEL CRIBADO DE HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA:

C. PROCEDIMIENTO DEL CRIBADO NEONATAL DEL CRIBADO DE HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA

- 1. Protocolo acordado en la CAPV.**
- 2. Laboratorio.**
- 3. Descripción de los procesos y actividades: estrategia, recursos humanos y coordinación.**

D. SEGUIMIENTO DE CASOS POSITIVOS

A. INTRODUCCIÓN

El **Programa de Cribado Neonatal** es uno de los programas preventivo-asistenciales esenciales de Salud Pública. El objetivo principal es la prevención de discapacidades asociadas a **enfermedades congénitas** mediante su identificación precoz y la intervención sanitaria correspondiente para evitar el daño neurológico y reducir la morbi-mortalidad y las posibles discapacidades asociadas a dichas enfermedades.

El **Departamento de Sanidad** aplica, con **carácter universal**, desde el año 1982 en los hospitales públicos y clínicas privadas este programa a los más de catorce mil bebés que nacen en Euskadi cada año. Se basa en la extracción de una muestra de sangre a las 48 horas de vida (*“la prueba del talón”*) y el análisis posterior en el Laboratorio de Salud Pública para el cribado de 11 enfermedades: el hipotiroidismo congénito con una incidencia de 1 caso por cada 3.526 nacimientos en la CAPV, la Fenilcetonuria-PKU (1/14.967), la Deficiencia de Acil CoA deshidrogenada de cadena media, introducida en el 2007 en el Programa (1/18.992), la fibrosis quística introducida en el Programa en el 2010 (1/7.863), la Enfermedad de Celulas Falciformes introducida en el Programa en Mayo de 2011 (1/3.838), Homocistinuria (1/68.152), Acidemia Isovalérica (1/45.434), Acidemia Glutárica tipo I (1/136.303), la Deficiencia de Acil CoA deshidrogenasa de cadena larga(1/136.303) y la Enfermedad de la Orina con olor a Jarabe de Arce introducidas en el año 2014 en el Programa, así como la deficiencia de Biotinidasa introducida en el Programa en 2019 con una incidencia de 1/15.020.

El Consejo Asesor de Cribado Neonatal , en su reunión de 21 de Febrero de 2022 aprobó para su inclusión la **Hiperplasia Suprarrenal Congénita en el Programa de Cribado Neonatal de enfermedades congénitas de la CAPV**, estableciéndose un cronograma de actividades dirigidas a poder elaborar un Programa de Cribado Neonatal de la Hiperplasia Suprarrenal Congénita, así como a garantizar el correcto seguimiento de los que presenten la enfermedad, incluyendo, las Unidades Clínicas de Osakidetza.

En la Ponencia de Cribado Poblacional del Ministerio de Sanidad 18/10/2021 se aprobó por unanimidad la incorporación del cribado para la Hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) a la Cartera de Servicios Comunes del Sistema Nacional de Salud.

B. CONSIDERACIONES GENERALES DEL CRIBADO DE LA HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA

LA ENFERMEDAD

El término Hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) engloba a un grupo de enfermedades autosómicas recesivas que comportan un trastorno en la esteroidogénesis suprarrenal y que son debidas a deficiencias en cualquiera de las enzimas que intervienen en el paso de colesterol a cortisol. El déficit de cortisol consecuentemente incrementa la producción de hormona adrenocorticotropa (ACTH) mediante un mecanismo de retroalimentación negativa y, secundariamente, una hiperestimulación de la corteza suprarrenal, aumentando el tamaño de las glándulas suprarrenales y provocando la elevación de los esteroides previos al bloqueo enzimático.

La síntesis de hormonas secretadas por las glándulas suprarrenales puede verse afectada en diferentes grados, dando lugar a un grupo heterogéneo de cuadros clínicos que pueden manifestarse en el periodo neonatal, durante la infancia o incluso en la edad adulta.

El déficit enzimático más frecuente en la HSC es el de la enzima 21- α -hidroxilasa (90-95% casos). La afectación de este enzima determina insuficiencia adrenal e hiperandrogenismo al verse afectada la síntesis de cortisol (se bloquea el paso de 17-hidroxiprogesterona a 11-desoxicortisol) y de aldosterona (se bloquea el paso de progesterona a 11-desoxicosterona) lo que a su vez determina un acúmulo de los metabolitos previos a este paso enzimático.

El gen responsable del déficit de 21- α -hidroxilasa es el CYP21A2 localizado en el brazo corto del cromosoma 6p21.3. Todas las formas clínicas están asociadas con variaciones en este gen existiendo una clara correlación genotipo-fenotipo en la mayor parte de los casos. Los enfermos son frecuentemente heterocigotos compuestos o dobles heterocigotos, las situaciones de homocigosis son muy raras dándose sólo en el caso de mutaciones muy frecuentes o de existir consanguinidad.

La HSC por déficit de 21- α -hidroxilasa clínicamente se manifiesta como un continuo dependiente del grado de afectación enzimático pero clásicamente se clasifica en dos tipos:

- **FORMAS CLÁSICAS**
 - Forma clásica con pérdida salina (75%)
 - Forma clásica virilizante simple

- **FORMAS NO CLÁSICAS O TARDÍAS**
 - Sintomática
 - Críptica

El diagnóstico hormonal de esta enfermedad viene determinado por la elevación de la 17-hidroxiprogesterona (17-OHP) al ser esta hormona precursora en el paso de síntesis bloqueado. El cribado neonatal de la HSC está dirigido a la detección de las formas clásicas de la enfermedad y se basa en la determinación de 17-OHP en sangre total en papel de filtro.

PREVALENCIA

La incidencia general de las formas clásicas es de aproximadamente 1:15.000 y de las formas no clásicas 1:1000.

MORTALIDAD Y MORBILIDAD

Las formas clásicas representan las formas más graves. La forma con pérdida salina debuta en el periodo neonatal siendo potencialmente letal si no se instaura un tratamiento precoz adecuado. En ambas formas clásicas el exceso de andrógenos prenatal determina en las niñas 46;XX grados variables de virilización que pueden inducir una asignación errónea de sexo al nacer. En el caso de recién nacidos 46;XY con formas virilizantes simples el hiperandrogenismo puede pasar desapercibido determinando pseudopubertades precoces con afectación importante en el pronóstico de crecimiento.

Las formas no clásicas representan las formas moderadas-leves, con grados variables de exceso de andrógenos y con frecuencia asintomáticas. Se manifiestan durante la infancia tardía, adolescencia o edad adulta mediante la aparición de signos de androgenización.

TRATAMIENTO

El tratamiento se basa en la sustitución de glucocorticoides mediante la administración de hidrocortisona por vía oral para sustituir la función esteroidea y suprimir el exceso de secreción de hormona adrenocorticotropa (ACTH), reduciendo así el exceso de andrógenos de origen adrenal. En el caso de pacientes con pérdida salina, se requiere además la administración de mineralocorticoide (9- α -fluorhidrocortisona o fludrocortisona) y aporte ajustado de sal.

Las dosis de corticoides deben ser cuidadosamente evaluadas y adecuadas a cada paciente para evitar minimizar o evitar complicaciones a largo plazo asociadas a sobretratamiento (síndrome de Cushing iatrogénico) o infratratamiento (androgenización excesiva con deterioro de la talla y alteraciones del desarrollo puberal y de la fertilidad tanto en niños como en niñas).

El tratamiento quirúrgico corrector en la niña virilizada es parte fundamental del tratamiento. De sus resultados anatómicos dependerá en gran parte que esa niña pueda tener un esquema corporal, actividad sexual y fertilidad normal.

CRITERIOS DIAGNÓSTICOS

El periodo de latencia de la HSC clásica es breve, por lo que requiere un tiempo de respuesta rápido, especialmente en las formas perdedoras de sal que pueden producir la muerte del neonato en las primeras semanas de vida. La sospecha diagnóstica se realiza en base al examen clínico y a los hallazgos de laboratorio que muestran niveles elevados de 17-OHP.

El cribado se basa en la cuantificación del nivel de 17-OHP por fluoroinmunoensayo a tiempo retardado en muestra de sangre impregnada en papel obtenida al nacer. Esta prueba se realiza en el marco de programas de cribado neonatal en múltiples países incluyendo muchos estados de Estados Unidos, Nueva Zelanda, Japón, Israel, Suecia, Suiza, Francia, Austria y Holanda. En España el cribado neonatal de la HSC ya se realiza en las Comunidades de Aragón, Castilla y León, Castilla-La Mancha, Extremadura, Madrid y la Rioja.

Un aspecto de especial importancia es el momento de la toma de muestra, la cual ha de ser a partir de las 48 horas, ya que el nivel de 17-OHP normalmente se encuentra elevado al nacer y disminuye rápidamente en los primeros días de vida, mientras que en los recién nacidos afectados los niveles se mantienen altos o incluso pueden aumentar.

Situaciones como prematuridad, bajo peso al nacer, enfermedades concurrentes o el estrés se pueden detectar valores elevados de 17-OHP por este motivo es necesario incorporar en la estrategia de cribado puntos de corte ajustados a las semanas de gestación al nacimiento. Un valor de 17-OHP por encima del punto de corte para la edad gestacional es considerado positivo y requiere seguimiento para su confirmación diagnóstica.

El seguimiento de los pacientes detectados se llevará a cabo en la Unidad de Seguimiento de Endocrinología Pediátrica de cada área base

C. PROCEDIMIENTO DEL CRIBADO NEONATAL DE LA HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA

1. Protocolo acordado en la CAPV y diagnóstico final.

Protocolo de Cribado Neonatal de la Hiperplasia Suprarrenal Congénita en la CAPV

Las muestras de sangre en papel de filtro se obtienen a las 48 h de vida para los recién nacidos con peso ≥ 1.500 gramos y edad gestacional ≥ 33 semanas. La detección de la Hiperplasia Suprarrenal Congénita no requiere una extracción de sangre adicional. Para realizar el diagnóstico de las muestras se empleará la técnica de fluoroinmunoensayo a tiempo retardado capaz de cuantificar el aumento de 17-OH Progesterona en sangre impregnada en papel en los recién nacidos.

Para aquellas muestras que presenten un valores superior al punto de corte establecido p99,95 para la edad gestacional, se solicitarán dos segundas muestras, ambas en papel de filtro, una se enviará al Laboratorio de Salud Pública para su determinación por la misma técnica y otra al Servicio de Bioquímica (Área de Metabolismo) del Hospital Universitario de Cruces (HUC) para la realización de la técnica confirmatoria por espectrometría de masas por medición de 17-OH Progesterona y segundos marcadores dentro de la estrategia de cribado. Una vez confirmados los resultados se comunicarán por la secretaria de la Unidad Central del Laboratorio de Salud Pública a los diferentes centros hospitalarios de procedencia por teléfono y por correo electrónico para que procedan a su confirmación diagnóstica. Los resultados de las muestras se vuelcan de manera automática en la aplicación de recién nacidos de la CAPV.

En el caso de los neonatos con una edad gestacional < 33 semanas y/o peso < 1.500 g se realizará una primera extracción a los 5-7 días de vida realizándose las determinaciones de las patologías incluídas en el Programa, y una segunda extracción (independientemente de los resultados de la primera determinación) a los 14 –16 días de vida para las determinaciones de TSH, T4 y 17-OH Progesterona. Ambas muestras serán remitidas al Laboratorio de Salud Pública considerándose un resultado positivo a aquel cuyo valor sea superior al p99,95 en este grupo en la segunda muestra. Confirmado un resultado positivo en el cribado se seguirá de forma URGENTE la misma estrategia de confirmación utilizada para el grupo de recién nacidos con peso ≥ 1.500 gramos y edad gestacional ≥ 33 semanas.

El tratamiento con dexametasona, hidrocortisona o prednisona de la madre o el recién nacido podría producir falsos negativos hasta un periodo de dos semanas tras la toma del medicamento, por lo que se deberá indicar cualquier incidencia a este respecto.

Los recién nacidos prematuros o con bajo peso al nacer y las muestras tomadas con menos de 1 día de edad son factores muy importantes para la obtención de falsos positivos.

El diagnóstico final corresponde a los centros de seguimiento.

2. Laboratorio: estrategia propuesta, aparataje y reactivos, controles externos de calidad

La Unidad de Química Clínica del Laboratorio de Salud Pública es la Unidad Central y la responsable de los análisis del programa de cribado neonatal.

Estrategia propuesta:

Determinación de 17-OHP en muestra inicial de bebés recién nacidos con 48 horas de vida. Consideramos positivas las muestras con valores de 17-OHP superiores al P99,95 según edad gestacional diferenciándose tres grupos:

- <33 semanas: p99,95 ponderado
- 33 – 37 semanas: p99,95 correspondiente al grupo de mayor edad gestacional.
- >37 semanas: p99,95

Aparataje:

Para la determinación de 17 α -OH-progesterona (17-OHP) se empleará el equipo utilizado habitualmente AutoDELFIA para otros cribados, con kit de reactivos 17 α -OH-Progesterona.

Es un equipo de Perkin Elmer, suministrador también de los software informáticos

Los reactivos 17 α -OH-progesterone Kit son específicos y exclusivos para la realización de los análisis de 17-OHP en muestras neonatales recogidas sobre papel de filtro y suministrados por Perkin Elmer Life Sciences.

Controles externos del Laboratorio de Salud Pública:

El laboratorio para garantizar la comparabilidad de resultados entre laboratorios que realizan las mismas determinaciones participa en tres Programas Externos de Evaluación de la Calidad para el marcador de esta enfermedad: "Infant Screening Quality Assurance Program". Centers for Disease Control, (CDC) Atlanta. USA. Evaluación semestral con tres niveles de concentración para procesar en cinco series analíticas diferentes, en "Infant Screening Performance Evaluation Program". Center for Disease Control (CDC) Atlanta. USA. Evaluación Trimestral con cinco niveles de concentración por envío y en Referenzinstitut für Bioanalytik. Evaluación trimestral con dos niveles de concentración por envío.

Todas las técnicas de La Unidad de Química Clínica están acreditadas bajo la norma UNE EN ISO 15189 "Laboratorios Clínicos: Requisitos particulares relativos a la calidad y la competencia" por la Entidad Nacional de Acreditación (ENAC) que realiza auditorías de seguimiento anualmente. Se solicitará la acreditación para la Hiperplasia Suprarrenal Congénita en la próxima auditoría.

3. Descripción de los procesos y actividades: estrategia, recursos humanos y coordinación.

- A. Extracción de la muestra** de sangre del bebé a ser posible en presencia de la madre y tomando pecho. Se realizará a partir de las 48 horas cumplidas de vida del bebé, antes del alta hospitalaria, para los casos de peso ≥ 1.500 g y de gestación ≥ 33 semanas, en todas las maternidades públicas y privadas. En el caso de bebés con una edad gestacional <33 semanas o peso <1.500 g se realizará una primera extracción a los 5-7 días de vida realizándose las determinaciones de las patologías incluidas en el Programa, y una segunda extracción (independientemente de los resultados de la primera determinación) a los 14 – 16 días de vida para las determinaciones de TSH, T4 Y 17-OH Progesterona. La extracción la realiza el personal de enfermería de las maternidades.

B. Remisión de las muestras a las Secretarías de las Áreas-Base, donde se introducen los datos de los bebés y sus madres en la aplicación informática. Los datos del bebé, de la madre y posteriormente los resultados de las analíticas realizadas se introducen en una aplicación informática específica. Dicho fichero informático, propiedad del Departamento de Sanidad (**Registro de Recién Nacidos de la CAPV**), está oficialmente declarado en el BOPV y garantiza la confidencialidad de los datos contenidos en él y el uso exclusivo de los mismos para los fines del programa. Este proceso se realiza el mismo día en que se extrae la muestra de sangre en los hospitales públicos. En el caso de las maternidades privadas, éstas envían las muestras de sangre junto a los datos del bebé y su madre al hospital de referencia, para que los datos sean introducidos allí.

C. Remisión de las muestras desde las Secretarías de las Áreas-Base al Laboratorio de Salud Pública Unidad de Química Clínica, así como también simultáneamente al Área de Metabolismo del Servicio de Bioquímica del HUC en los casos de haber obtenido previamente un resultado positivo. El personal técnico y administrativo del Laboratorio de Salud Pública realiza un chequeo diario de las muestras recibidas en papel de filtro con los datos introducidos en la aplicación informática.

D. El personal técnico del Laboratorio de Salud Pública analiza las muestras y emite los resultados, que son validados por el/la jefe/a de la Unidad .

E. Casos positivos Las muestras con resultados superiores a los límites de decisión se catalogarán como "positivas".

F. Pauta ante los casos positivos

El HUC informa al laboratorio de Salud Pública del resultado confirmatorio mediante envío por correo del informe analítico. El Laboratorio de Salud Pública es el responsable de informar del resultado final.

La secretaria de la Unidad Central del Laboratorio de Salud Pública informa a la secretaria del área base del resultado del estudio por correo electrónico y telefónicamente. Este coordinador/a actúa de la siguiente manera, según el resultado de la prueba:

- El coordinador/a informa del resultado y refiere a la familia a la Unidad de Seguimiento de su hospital. También informa por correo electrónico y por teléfono al jefe de dicha Unidad de Seguimiento de la remisión del caso y deja constancia de dicha remisión en la aplicación informática del programa.

G. La Unidad de Seguimiento de Endocrinología Pediátrica de cada Área Base de la CAPV, asume la responsabilidad del seguimiento del caso detectado y realiza las pruebas de confirmación de los casos positivos en el Laboratorio del Hospital correspondiente, o se derivan a otros centros según disponibilidad de técnicas de medida. Con los resultados establece el diagnóstico definitivo.

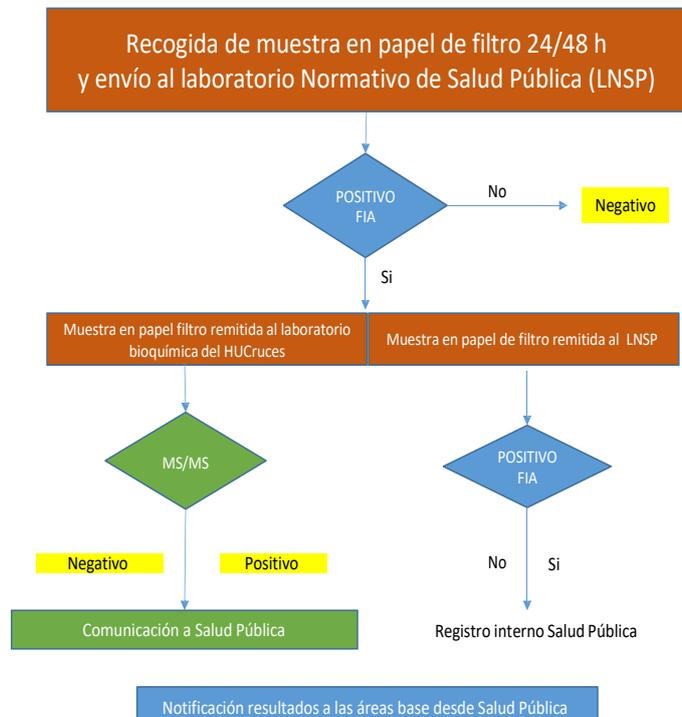
H. El Responsable de la Unidad de Seguimiento notificará en todos los casos el resultado final, los datos de los estudios realizados y el diagnóstico definitivo al coordinador/a del área base. Este/a introduce en la aplicación informática dicha información con constancia clara del diagnóstico definitivo y la fecha del mismo.

- I. **El seguimiento y tratamiento** del caso se realiza por la Unidad de Seguimiento en coordinación con el/la pediatra de cabecera.

PROTOCOLO DE CRIBADO NEONATAL DE LA HSC EN LA CAPV

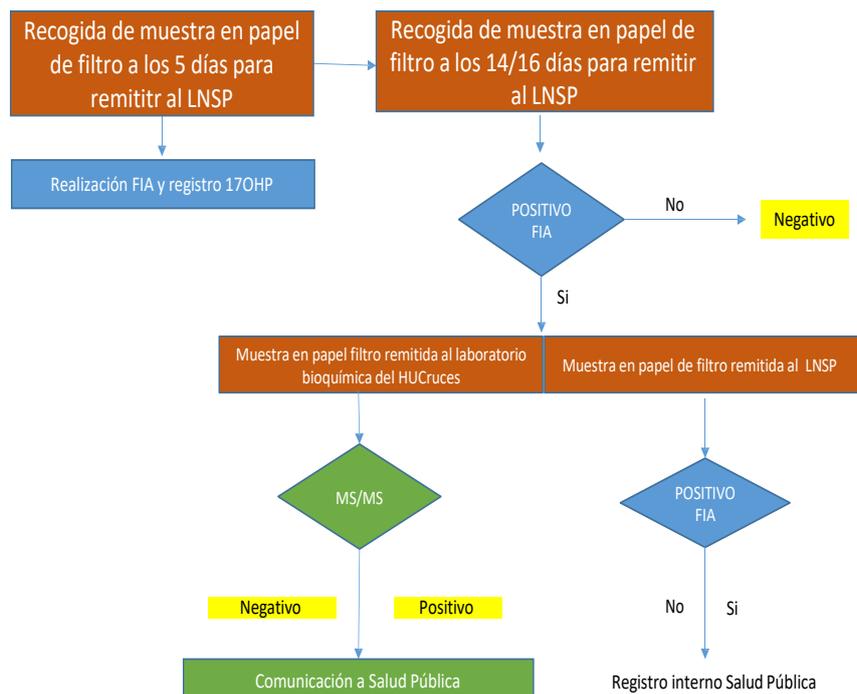
**RECIÉN NACIDOS \geq 33s
y peso \geq 1.500g**

Centros
Salud Pública
HU Cruces



**RECIÉN NACIDOS $<$ 33s
y/o peso $<$ 1.500g**

Centros
Salud Pública
HU Cruces



D.- SEGUIMIENTO DE CASOS POSITIVOS

Participación de los Hospitales en el Cribado Neonatal de la Hiperplasia Suprarrenal Congénita. Unidades de Seguimiento

- Tras la confirmación del caso positivo por el Área de Metabolismo del Servicio de Bioquímica del Hospital de Cruces, se establecerá el seguimiento posterior por la Unidad de Seguimiento de Endocrinología Pediátrica de cada Área Base. Se seguirán las guías basadas en la evidencia vigentes en ese momento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Paz-Valiás L, Varela-Lema L, Atienza Merino G. Cribado neonatal de la hiperplasia suprarrenal congénita. Revisión sistemática, Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías y Prestaciones del Sistema Nacional de Salud. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Galicia; 2014. Informes de evaluación de tecnologías sanitarias. Disponible en: https://www.sergas.es/docs/Avalia-t/avalia_t201305CribadoHiperplasia.pdf
2. Cantero Muñoz P, Paz Valiñas L. Efectividad clínica del cribado neonatal de la Hiperplasia Suprarrenal Congénita Clásica por déficit de 21-OH. Actualización y análisis del estudio piloto. Madrid: Ministerio de Sanidad. Santiago de Compostela. Agencia Gallega para la Gestión del Conocimiento en Salud (ACIS), Unidad de Asesoramiento Científico-técnico; Avalia-t; 2021. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias. Disponible en: https://www.sergas.es/docs/Avalia-t/avalia_t201305CribadoHiperplasia.pdf
3. Castilla I, Vallejo-Torres L, Rica-Echevarría I, Rodríguez-Sánchez A, Dulín-Íñiguez E, Espada M, Rausell D, Valcárcel-Nazco C, Cuéllar-Pompa L, Serrano-Aguilar P. Coste-efectividad del cribado neonatal de la hiperplasia suprarrenal congénita. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud; 2013. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias. Disponible en: https://www3.gobiernodecanarias.org/sanidad/scs/content/8a194cda-f3ed-11e4-aa6f-cfd8d9a72f8/SESCS%202013_C%20N%20H.Suprarrenal.pdf
4. Olgemoller B, Rosher AA, Liebl B, Fingerhut R. (2003) Screening for congenital adrenal hyperplasia: adjustment of 17-hydroxyprogesterone cut-off values to both age and birth weight markedly improves the predictive value. J Clin Endocrinol Metab. 88 (12), 5790-5794
5. Newborn Screening Act Sheets and Confirmatory Algorithms. 06.09.2007 American College of Medical Genetics
6. Van der Kamp HJ, Oudshoorn CGM, Elvers BH, VAN Baarle M, Otten BJ, Wit JM, ET AL. Cutoff levels of 17-alpha-hydroxyprogesterone in neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia should be based on gestational age rather than on birth weight. J Clin Endocrinol Metab. 2005;90(7):3904-7.
7. Congenital Adrenal Hyperplasia. Current insights in Pathophysiology, Diagnostics, and Management. HeidiL.Claahsen-van der Grinten et al. Endocrine Reviews 2022, Vol 43. Nº 1, 91-159. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33961029/>

8. Congenital Adrenal Hyperplasia Due to Steroid 21-Hydroxylase Deficiency: An Endocrine Society-Clinical Practice Guideline. Pyllis W Speise et al. J Clin Endocrinol Metab 2018 Nov; 103(11): 4043-4088. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30272171/>
9. Hiperplasia suprarrenal congénita. José Ignacio Labarta et al. Protoc diagn ter perinatol. 2019;1:141-56. <https://www.aeped.es/documentos/protocolos-ndocrinologia>
10. Congenital Adrenal Hyperplasia Due to 21-Hydroxylase Deficiency. Deborah P. Merke and Ricrad J. Auchus. N Engl J Med 2020;383:1248-61. https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1909786?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed
11. Twenty Years of Neonatal Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia In North-Eastern Italy: Role of Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry as a Second-Tier Test. Paolo Cavarzere et al. Horm Res Paediatr 2022;95:255-263. <https://doi.org/10.1159/000524170>
12. Neonatal Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia in Denmark: 10 years of Experience. Marie Lind-Holst et al. Horm Res Paediatr 2022;95:35-42. <https://doi.org/10.1159/000522230>
13. Second-Tier Testing for 21-Hydroxylase Deficiency in the Netherlands: A Newborn Screening Pilot Study. Kevin Stroek et al. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2021, Vol. 106, N°11, e4487-e4496. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgab464>
14. The High Relevance of 21-Deoxycortisol, (Androstenedione+17 α -Hydroxyprogesterone)/Cortisol, and 11-Deoxycortisol/17 α -Hydroxyprogesterone for Newborn Screening of 21-Hydroxylase Deficiency. Kazuhiro Watanabe et al. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2022, 107, 3341-3352. <https://doi.org/10.1210/clinem/dqac521>