

Diagnóstico bioquímico de acidurias orgánicas en Cuba: periodo 2008-2013

Biochemical diagnosis of organic acidurias in Cuba: 2008-2013 period

Diagnóstico bioquímico das acidúrias orgânicas em Cuba: periodo 2008-2013

► Ivette Camayd Viera^{1a}, Lauro Nuevas Paz^{2a}, Alina Concepción Alvarez^{3a}

¹ Master en Ciencias.

² Doctor en Ciencias Farmacéuticas.

³ Licenciada en Bioquímica.

^a Centro Nacional de Genética Médica. Calle 146 No. 3102, Cubanacán, Playa. La Habana 16, C.P.: 11300. Cuba.

Resumen

Las acidurias orgánicas son las enfermedades metabólicas hereditarias más frecuentes en pacientes pediátricos con estado crítico de enfermedad. Este trabajo describe la experiencia cubana en el diagnóstico de estas enfermedades. Desde julio de 2008 hasta diciembre de 2013 se procesaron las orinas de pacientes cubanos con sospecha de aciduria orgánica. El perfil de ácidos orgánicos se obtuvo por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas. Se analizaron muestras de orinas de 488 pacientes cubanos provenientes de todo el país. Del total de muestras procesadas, 29 mostraron niveles elevados de ácido láctico, pero no se realizó el diagnóstico confirmatorio de acidurias lácticas primarias en estos casos. Otras acidurias frecuentes entre los casos analizados fueron: acidurias metilmalónicas (5), deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (3), alcaptonuria (3) y aciduria propiónica (3). Los hallazgos clínicos más frecuentes en los pacientes diagnosticados fueron la acidosis metabólica y los signos neurológicos. Los resultados muestran la importancia del análisis del perfil de ácidos orgánicos en niños con estado de gravedad; el diagnóstico acertado de estas enfermedades es decisivo para definir el tratamiento más efectivo y ofrecer a sus familias asesoramiento genético y la posibilidad de diagnóstico prenatal.

Palabras clave: acidurias/acidemias orgánicas * ácidos orgánicos * errores innatos del metabolismo * cromatografía gaseosa * espectrometría de masas

Summary

Organic acidurias are the most frequent hereditary metabolic disorders in severely ill pediatric patients. In this work, the Cuban experience in the diagnosis of organic acidurias is reported. From July 2008 to December 2013, urine samples were collected from Cuban patients with clinical suspicion of inherited metabolic diseases. The analysis of urinary organic acid profile was performed by gas chromatography coupled to mass spectrometry. Urine samples from 488 Cuban patients from all over the country were processed. Out of the total number, 29 cases showed increased levels of lactic acid; however the

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

confirmatory diagnosis of primary lactic acidurias was not carried out. Other frequent disorders among analyzed cases were methylmalonic acidurias (5), medium chain acyl-CoA deshydrogenase deficiency (3), alcaptonuria (3) and propionic aciduria (2). Metabolic acidosis and neurological symptoms were the most common clinical findings among diagnosed children. The results show the importance of organic acidurias testing in severely ill patients, since the accurate diagnosis of these diseases is crucial to define the most effective treatment for affected patients and it makes it possible to provide patients and their families with the possibility of proper genetic counseling and prenatal testing.

Keywords: *organic aciduria/acidemia * organic acids * inborn errors of metabolism * gas chromatography* mass spectrometry*

Resumo

As acidúrias orgânicas são as doenças metabólicas hereditárias mais frequentes nos pacientes pediátricos severamente doentes. Este trabalho descreve a experiência cubana no diagnóstico dessas doenças. Entre julho de 2008 e dezembro de 2013 a urina de pacientes cubanos suspeitos de apresentar acidúrias orgânicas foi analisada. O perfil de ácidos orgânicos foi obtido por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Foram analisadas amostras de urina de 488 pacientes cubanos provenientes de todo o país. Das amostras processadas, 29 apresentaram níveis elevados de ácido láctico, mas não foi realizado o diagnóstico confirmatório de acidúrias lácticas primárias nesses casos. Outras acidúrias frequentes entre os casos investigados foram: acidúrias metilmalônicas (5), deficiência de acil-CoA desidrogenase de cadeia média (3), alcaptonúria (3) e acidúria propiônica (3). Os achados clínicos mais frequentes nos pacientes diagnosticados foram a acidose metabólica e as manifestações neurológicas. Esses resultados mostram a importância da análise do perfil de ácidos orgânicos em crianças em estado grave; o diagnóstico correto destas doenças é decisivo para definir o tratamento mais efetivo e oferecer aos familiares assessoria genética e a possibilidade de diagnóstico pré-natal.

Palavras-chave: *acidúrias/acidemias orgânicas * ácidos orgânicos * erros inatos do metabolismo * cromatografia gasosa * espectrometria de massas*

Introducción

Los ácidos orgánicos son compuestos carboxílicos de bajo peso molecular (<300 Da) intermediarios o productos finales en el metabolismo de los aminoácidos, lípidos, hidratos de carbono o aminas biogénicas. Estos compuestos permiten el diagnóstico de más de 20 errores innatos del metabolismo (EIM), en los cuales se acumula uno o más ácidos orgánicos en los tejidos, que finalmente se desechan en la orina (1). El perfil de estos compuestos en orina generalmente se obtiene por cromatografía gaseosa acoplada a la espectrometría de masas (CG/EM), y constituye una de las herramientas más importantes en los laboratorios de genética bioquímica.

Dentro de los trastornos que se diagnostican mediante el análisis de ácidos orgánicos se distinguen tres grupos principales, tanto desde el punto de vista metabólico como por su impacto en los programas de tamiz neonatal: las aminoacidopatías, las acidurias orgánicas (AO) y los defectos de la β -oxidación de los ácidos grasos (2-4). Colectivamente, la incidencia de estas enfermedades se estima en 1/15000 nacidos vivos (5), mientras que la prevalencia en conjunto varía desde 1/2 200 habitantes en Holanda (6) hasta 1/740 en Arabia Saudita. Según los resultados de los programas masivos de pesquisa neonatal, las enfermedades más frecuentes

son la deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de ácidos grasos de cadena media, la acidemia metilmalónica y la acidemia propiónica (7). Otras enfermedades frecuentes que alteran el perfil de ácidos orgánicos son los trastornos del metabolismo energético, donde se incluyen las enfermedades mitocondriales y las enfermedades monogénicas que producen acidosis láctica; además, es posible diagnosticar EIM menos frecuentes como son las hiperoxalurias, la enfermedad de Cannavan, la aciduria L-2-hidroxiglutarica, la D-2-hidroxiglutarica y la aciduria 4-hidroxibutirica.

Las aminoacidopatías incluyen deficiencias enzimáticas en las rutas de degradación de los aminoácidos que tienen lugar a nivel citosólico, aunque algunas enfermedades que implican enzimas mitocondriales se clasifican como aminoacidurias ya que no requieren metabolitos activados por el CoA. Los hallazgos clínicos de estas enfermedades son consecuencia de la acumulación de intermediarios tóxicos que dañan órganos específicos. Dentro de las aminoacidopatías, la fenilcetonuria, las tirosinemias, la alcaptonuria y la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce producen alteraciones específicas en el perfil de ácidos orgánicos (8).

Las acidurias orgánicas (AO) "clásicas" se definen desde el punto de vista bioquímico como deficiencias enzimáticas en el metabolismo mitocondrial de ácidos

carboxílicos activados por el CoA. Los rasgos clínicos aparecen no solo por la acumulación de intermediarios tóxicos, sino por las alteraciones en el metabolismo energético mitocondrial y en la homeostasis de carnitina. Los hallazgos clínicos en estas enfermedades abarcan varios sistemas de órganos con predominio del sistema nervioso central; los aspectos más característicos son el retraso del desarrollo, retraso mental, convulsiones, letargia, coma, hipotonía, vómitos, rechazo al alimento, hepatomegalia, dificultades respiratorias y disfunción cardíaca. Los datos de laboratorio incluyen acidosis metabólica con aumento de la brecha iónica, hipoglicemia, cetosis, hiperamonemia y pancitopenia (9). En muchos casos los pacientes debutan con síntomas severos. La elevada heterogeneidad clínica de las AO, junto a su baja frecuencia, provocan que estas enfermedades no se diagnostiquen en muchos individuos afectados, donde se atribuye la causa de la enfermedad o la muerte a sepsis, inmunodeficiencias, síndrome de muerte súbita del recién nacido, u otra causa más común (10).

El tratamiento de las aminoacidemias y las AOs se basa en evitar o eliminar la acumulación de sustancias tóxicas, que se logra con la restricción dietética, la inhibición del catabolismo producto del ayuno prolongado y con un tratamiento rápido de las infecciones, para impedir cualquier tipo de estrés metabólico. Con frecuencia se acude a la eliminación de metabolitos tóxicos por hemodiálisis o diálisis peritoneal, y la administración de L-carnitina. Además, es importante aplicar otras medidas generales como la corrección del pH sérico, la ventilación mecánica asistida y la hidratación. Definir con rapidez el diagnóstico permite iniciar el tratamiento disponible y evitar consecuencias que van desde una discapacidad severa hasta la muerte (11).

Algunos defectos de la β -oxidación de los ácidos grasos producen alteraciones en el perfil de los ácidos orgánicos. La entidad más frecuente dentro de este grupo es la deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media, con una presentación clínica que incluye hipoglicemia hipocetósica, letargia, convulsiones y coma, desencadenados por cualquier tipo de estrés catabólico. Además, puede ocurrir hepatomegalia con disfunción hepática aguda, que cursa con transaminasas, amonio y lactato elevados, así como encefalopatía aguda y muerte inexplicada. El primer episodio suele ocurrir en los dos primeros años de vida, aunque los pacientes pueden debutar incluso en edades adultas. El tratamiento de estas enfermedades consiste en la aplicación de medidas dietéticas preventivas y la administración de glucosa intravenosa y de L-carnitina en situaciones de estrés (12-14).

En Cuba, el análisis de ácidos orgánicos en orina se introdujo en 2008 para el diagnóstico de EIM en pacientes sintomáticos. Este trabajo describe los resultados obtenidos durante el periodo 2008-2013.

Materiales y Métodos

PACIENTES

El perfil de ácidos orgánicos se obtuvo a solicitud del especialista y en aquellos pacientes cuyo motivo de indicación refirió, sin causa definida, alguno de los signos y síntomas siguientes: encefalopatía, disfunción neurológica (por convulsiones, coma, hipotonía, ataxia, retraso del desarrollo psicomotor), crisis de apnea o hiperapnea, hepatopatía, anemia, acidosis metabólica, hipoglicemia, acidemia láctica, cetonuria, hiperamonemia, atrofia u otros hallazgos en estudios de neuroimagen que sugiriesen una enfermedad metabólica, consanguinidad, historia de muertes inexplicables en la infancia y otros miembros afectados con un cuadro clínico similar dentro de una misma familia. Se procesaron muestras de todo el país y en todos los casos se pidió consentimiento de sus tutores legales para la recolección y análisis de las muestras.

MUESTRAS

Se utilizaron las muestras de orina de la primera micción de la mañana, con ayuno superior a 6 horas; en algunos casos se colectó orina después de una crisis, si el especialista describía una enfermedad intermitente y el primer perfil resultaba no informativo para un EIM. Se colectaron de 2 a 10 mL de orina que se transportaron en frío y sin preservantes.

REACTIVOS

El acetato de etilo, ácido clorhídrico, cloruro de hidroxilamina, cloruro de sodio, hidróxido de sodio, sulfato de sodio anhidro, ureasa, y el N-metil-N(trimetilsilil) trifluoroacetamida fueron suministrados por Merck (Alemania).

MÉTODOS

Para preparar las muestras de orina se empleó una modificación del método experimental descrito por Duez *et al.* para el análisis cuantitativo de ácidos orgánicos en orina (15). En un tubo de ensayo se añadió la cantidad de orina equivalente a 0,25 mg de creatinina y se trató con 60 U de ureasa durante 30 min a temperatura ambiente. La muestra se alcalinizó con hidróxido de sodio (8 N) hasta pH 14 y se oximó con cloruro de hidroxilamina (40%). Posteriormente se acidificó con ácido clorhídrico (6 N) hasta pH 1 y se saturó con 1 g de cloruro de sodio. Luego se realizaron dos extracciones líquido/líquido con 6 mL de acetato de etilo. La fase orgánica se recuperó y secó en sulfato de sodio anhidro y se evaporó a 50 °C en atmósfera de nitrógeno. Una vez secas las muestras, se derivatizó con 2,2,2-trifluoro-N-metil-N-trifluoroacetamida durante 20 min a 60 °C y se inyectó 1 μ L en el CG/EM con una relación de *split* 1/10.

CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA EL
ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES Y
ESPECTROMETRÍA DE MASAS

El procesamiento analítico para el análisis de ácidos orgánicos se efectuó en un CG/EM (QP-2010S, Shimadzu, Kioto, Japón) con una columna capilar SLB-5ms de 30 m de longitud, diámetro interno 0,25 mm, espesor de película de 0,25 μm , con helio como gas portador. Las condiciones de adquisición del equipo fueron: temperatura del inyector de 250 °C, temperatura de la interface de 280 °C y temperatura del horno de 80 °C hasta 300 °C, con una rampa de temperatura de 7 °C por min. Todos los compuestos se identificaron por su espectro de masas y su tiempo de retención.

Resultados

En el periodo de julio de 2008 a diciembre de 2013 se analizaron muestras de 488 pacientes de todas las provincias del país; de ellos, 46 (9,4 %) mostraron perfiles alterados de ácidos orgánicos. La alteración más frecuente fue la elevación del lactato en orina (29 casos detectados); sin embargo, no se realizaron estudios enzimáticos o moleculares confirmatorios en ninguno de los casos con acidosis láctica.

La alcaptonuria fue la aminoaciduria más observada, con tres casos detectados (dos de ellos hermanos); además, se diagnosticó un caso con la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce. Las acidurias orgánicas más frecuentes fueron la aciduria metilmalónica y la aciduria propiónica, con cinco y tres casos, respectivamente. Dentro de los defectos de la β -oxidación de los ácidos grasos, la deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media fue la enfermedad más común, con tres casos diagnosticados.

Todos los pacientes diagnosticados con AOs tenían menos de un año de vida (edad media de tres meses) y estaban en unidades de cuidados intensivos. En estos casos, los principales síntomas fueron los neurológicos (convulsiones y coma) acidosis metabólica, hipoglicemia, hepatopatía y disfunción respiratoria. Un paciente con aciduria metilmalónica y el paciente con deficiencia de holocarboxilasa sintetasa tenían antecedentes de un hermano fallecido, con un cuadro clínico similar pero sin diagnosticar.

Los casos con defectos de la β -oxidación de los ácidos grasos tenían entre tres meses y seis años de edad al diagnosticarse. Los cuatro casos con deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media referían cuadros de hipoglicemia sin cetosis y crisis de letargia, que en todos los casos podían conducir al paciente a un estado de coma. Uno de los casos refirió hepatomegalia. El paciente con aciduria glutárica tipo II se diagnosticó a los seis años de edad y también refirió crisis de letargia. En todos los casos se analizaron muestras durante el periodo de descompensación.

Discusión y Conclusiones

Los EIM son trastornos complejos y su diagnóstico constituye un reto, en especial en países que no cuentan con programas masivos de pesquisa neonatal y en los que hay pocos centros de referencia. La aplicación de la CG/EM permitió identificar 8 trastornos diferentes en los pacientes analizados. Los 45 perfiles alterados en estos pacientes representan del 9,2% del total de casos analizados, comparable a los que han obtenido otros autores que diagnostican estas enfermedades por CG/EM en pacientes sintomáticos (16) (17). Sin embargo, otros grupos refieren una positividad más elevada y estiman incidencias superiores de las acidurias orgánicas, atribuible a los altos niveles de endogamia en la región (18) (19). Cabe destacar que los trabajos consultados suman casos diagnosticados con deficiencia de biotinidasa y fenilcetonuria a los pacientes detectados con AO y aminoacidurias. Aunque el laboratorio analiza los marcadores de estas enfermedades en orina, el programa de pesquisa neonatal detecta ambos trastornos en Cuba y hasta la fecha no se ha diagnosticado ningún paciente por CG/EM fuera del programa.

La falta de estudios confirmatorios enzimáticos o moleculares constituye una limitación importante, fundamentalmente en el caso de las acidemias lácticas primarias, donde resulta difícil definir la causa bioquímica y molecular, incluso en pacientes que mantuvieron una acidemia láctica persistente y un estado crítico de enfermedad (20). En Cuba en particular, varios pacientes mostraron niveles elevados de ácido láctico en más de dos determinaciones; por tanto, estos resultados alertan sobre la necesidad de buscar alternativas para el diagnóstico confirmatorio de las acidurias lácticas primarias.

Como se puede observar en los resultados (Tabla I) las AOs que se diagnosticaron con mayor frecuencia fueron trastornos del metabolismo del propionato (aciduria metilmalónica y acidemia propiónica). Estas AOs son las más frecuentes, tanto en programas masivos de pesquisa como en grupos que realizan pesquisaje selectivo (5) (21-23).

Solo se detectaron tres casos de deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media, cuando en otras regiones se estima una prevalencia de 1/10 000 (7). Otros trabajos en pacientes sintomáticos, en países donde no se pesquisa la enfermedad, también han detectado pocos casos (16) (24) (25). Estos resultados pueden ser consecuencia de: (a) los ácidos orgánicos dicarboxílicos marcadores de la enfermedad solo se acumulan durante los episodios de descompensación metabólica, así como por la baja sensibilidad del método en la detección de marcadores más específicos (suberilglicina y hexanoilglicina); (b) no se sospecha la enfermedad en pacientes con muerte súbita (c) los perfiles de acilglicinas y acilcarnitinas por espectrometría de masas en *tandem*, métodos de elección para cuantificar estos compuestos, no están disponibles en el laboratorio y (d) la prevalencia de estos

Tabla 1: Acidurias orgánicas detectadas en el Laboratorio de Genética Bioquímica del Centro Nacional de Genética Médica. julio 2008 – diciembre 2013.

Enfermedad	Compuestos identificados por CG/EM	Casos identificados
Aciduria láctica	Ácido láctico, ácido pirúvico	29
Aciduria metilmalónica	Ácido metilmalónico, ácido metilcítrico	5
Aciduria propiónica	Ácido 3-hidroxipropiónico, ácido metilcítrico, propionilglicina	3
Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media	Ácido adípico, ácido subérico, ácido sebácico, hexanoilglicina, suberilglicina	3
Alcaptonuria	Ácido homogentísico	3
Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce	Ácido 2-cetoisocaproico, ácido 2-ceto-3-metilvalérico, ácido 2-ceto-isovalérico, ácido 2-hidroxiisovalérico, ácido 2-hidroxiisocaproico, ácido 2-hidroxi-3-metilvalérico	1
Aciduria glutárica tipo II	Ácido glutárico, ácido adípico, ácido etilmalónico, ácido subérico	1
Deficiencia de holocarboxilasintetasa	Ácido 3-hidroxiisovalérico, 3-metilcrotonilglicina, ácido metilcítrico, ácido 3-hidroxipropiónico, ácido láctico	1
Total		46
Total de pacientes		488

trastornos es baja en la población cubana, al igual que lo documentado por otros autores de la región, como ocurre en Brasil (16) (20) y en México (25).

La determinación de ácidos orgánicos que se emplea de rutina en el laboratorio permite incluir los α -cetoácidos en el análisis, para diagnosticar rápidamente la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce y la tirosinemia tipo I. Además, el empleo de ureasa en el tratamiento de las muestras, propuesto por Kuhara *et al.* (26), evita las interferencias de la urea con los ácidos orgánicos en el perfil cromatográfico. El procesamiento experimental descrito permite extraer e identificar más de 250 metabolitos en la orina, y cada compuesto se caracteriza por su espectro de masas y su tiempo de retención. Muchos de los marcadores de interés no están disponibles comercialmente y no pueden cuantificarse en el análisis rutinario. Esta limitación agrega valor a la interpretación cualitativa del perfil de ácidos orgánicos como resultado de mayor utilidad en la práctica clínica, en lugar de generar listas extensivas de medidas cuantitativas para cada analito (27).

El perfil de ácidos orgánicos para el diagnóstico de EIM cobra importancia en regiones en las cuales no se realiza el tamiz neonatal masivo para acidurias orgánicas, aminoacidurias y defectos de la β -oxidación de los ácidos grasos. Se considera que la principal limitante de esta estrategia está en que solo es posible identificar pacientes que ya sufrieron una o varias descompensaciones metabólicas, que posiblemente dejaron secuelas graves, en especial a nivel neurológico. La rapidez con la que se efectúe el diagnóstico es fundamental para reducir la morbilidad y la mortalidad de los pacientes afectados, garantizar la calidad del asesoramiento genético y plantear acciones preventivas en futuros embarazos.

La metodología aplicada permitió detectar casos positivos de AOs, aminoacidemias y defectos de la

β -oxidación de los ácidos grasos; sin embargo, los resultados sugieren que muchos pacientes cubanos quedan sin diagnosticar. Las alteraciones más frecuentes identificadas fueron la aciduria láctica, la aciduria metilmalónica, deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media la alcaptonuria y la aciduria propiónica.

Los hallazgos de este trabajo demuestran la importancia del análisis de ácidos orgánicos en pacientes sintomáticos. A pesar de que la mayoría de las AOs y aminoacidemias se consideraban enfermedades incurables en el pasado, en la actualidad existen terapias efectivas para muchas de ellas, lo que se traduce tanto en una mejor calidad de vida como en menos mortalidad y morbilidad de los pacientes. En el caso particular de los defectos de la β -oxidación de los ácidos grasos, el pronóstico de los pacientes tratados es en general muy favorable. Además, solo con el diagnóstico de los individuos afectados es posible ofrecer asesoramiento genético y diagnóstico prenatal. La situación económica de Cuba y la infraestructura tecnológica del sistema cubano de salud pública no permiten la pesquisa masiva de las AOs, aminoacidemias y defectos de la β -oxidación de los ácidos grasos en estos momentos; por tanto, la detección de estas enfermedades depende de la aplicación de estrategias para aprovechar las capacidades de la Red Nacional de Genética Médica en el diagnóstico clínico.

CORRESPONDENCIA

MSC. IVETTE CAMAYD VIERA
 Departamento de Genética Bioquímica
 Centro Nacional de Genética Médica
 Calle 146 No. 3102, Cubanacán, Playa. LA HABANA 16,
 C.P: 11300. Cuba.
 Tel: 53-7-2035513 Ext: 1112
 E-mail: ivettecamayd@infomed.sld.cu

Referencias bibliográficas

- Kumps A, Duez P, Mardens Y. Metabolic, nutritional, iatrogenic, and artifactual sources of urinary organic acids: a comprehensive table. *Clin Chem* 2002; 48: 708-17.
- Al Riyami S, Al Maney M, Joshi SN, Bayoumi R. Detection of inborn errors of metabolism using tandem mass spectrometry among high-risk Omani Patients. *Oman Med J* 2012; 27: 482-5.
- Chace DH, Kalas TA, Naylor EW. The application of tandem mass spectrometry to neonatal screening for inherited disorders of intermediary metabolism. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2002; 3: 17-45.
- Niu DM, Chien YH, Chiang CC, Ho HC, Hwu WL, Kao SM, *et al.* Nationwide survey of extended newborn screening by tandem mass spectrometry in Taiwan. *J Inherit Metab Dis* 2010; 33: S295-305.
- Sniderman LC, Lambert M, Giguere R, Auray-Blais C, Lemieux B, Laframboise R, *et al.* Outcome of individuals with low-moderate methylmalonic aciduria detected through a neonatal screening program. *J Pediatr* 1999; 134: 675-80.
- Hoffmann GF. Selective screening for inborn errors of metabolism—past, present and future. *Eur J Pediatr* 1994; 153: S2-8.
- Orphanet Report Series-Prevalence of rare diseases: Bibliographic data. última actualización: 2014; consultado el: 10 de julio de 2014; disponible en: http://www.orphanet/orphacom/cahiers/docs/GB/Prevalence_of_rare_diseases_by_alphabetical_list.pdf.
- Hoffmann GF, Kolker S. Defects in amino acid catabolism and the urea cycle. *Handbook of clinical neurology* 2013; 113: 1755-73.
- Vaidyanathan K, Narayanan MP, Vasudevan DM. Organic acidurias: an updated review. *Indian J Clin Biochem* 2011; 26: 319-25.
- Chace DH, DiPerna JC, Mitchell BL, Sgroi B, Hofman LF, Naylor EW. Electrospray tandem mass spectrometry for analysis of acylcarnitines in dried postmortem blood specimens collected at autopsy from infants with unexplained cause of death. *Clin Chem* 2001; 47: 1166-82.
- Seashore MR. The Organic Acidemias: An Overview. En: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Bird TD, Dolan CR, Fong CT, *et al.*, editores. *GeneReviews™* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington; última actualización: 2009; (Fecha de acceso: 7 de julio de 2014). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1134/>.
- Wilcken B. Fatty acid oxidation disorders: outcome and long-term prognosis. *J Inherit Metab Dis* 2010; 33: 501-6.
- Saudubray JM, Martin D, de Lonlay P, Touati G, Poggi-Travert F, Bonnet D, *et al.* Recognition and management of fatty acid oxidation defects: a series of 107 patients. *J Inherit Metab Dis* 1999; 22: 488-502.
- Feillet F, Ogier H, Cheillan D, Aquaviva C, Labarthe F, Baruteau J, *et al.* Deficit en acyl-CoA-deshydrogenase des acides gras a chaîne moyenne (MCAD): consensus français pour le dépistage, le diagnostic, et la prise en charge. *Arch Pediatr* 2012; 19: 184-93.
- Duez P, Kumps A, Mardens Y. GC-MS profiling of urinary organic acids evaluated as a quantitative method. *Clin Chem* 1996; 42: 1609-15.
- Wajner M, Coelho D de M, Ingrassia R, de Oliveira AB, Busanello EN, Raymond K, *et al.* Selective screening for organic acidemias by urine organic acid GC-MS analysis in Brazil: fifteen-year experience. *Clin Chim Acta* 2009; 400: 77-81.
- Wasant P, Liammongkolkul S, Kuptanon C, Vatanavicharn N, Sathienkijakanchai A, Shinka T. Organic acid disorders detected by urine organic acid analysis: twelve cases in Thailand over three-year experience. *Clin Chim Acta* 2008; 392: 63-8.
- Rashed M, Ozand PT, al Aqeel A, Gascon GG. Experience of King Faisal Specialist Hospital and Research Center with Saudi organic acid disorders. *Brain Dev* 1994; 16 Suppl: 1-6.
- Narayanan MP, Kannan V, Vinayan KP, Vasudevan DM. Diagnosis of major organic acidurias in children: two years experience at a tertiary care centre. *Indian J Clin Biochem* 2012; 26: 347-53.
- Wajner M, Barschak AG, Luft AP, Pires R, Grillo E, Lohr A, *et al.* Acidurias orgânicas: diagnóstico em pacientes de alto risco no Brasil. *J Pediatr (Rio J)* 2001; 77: 401-6.
- Shigematsu Y, Hata I, Tajima G. Useful second-tier tests in expanded newborn screening of isovaleric acidemia and methylmalonic aciduria. *J Inherit Metab Dis* 2010; 33: S283-8.
- Jouvet P, Touati G, Lesage F, Dupic L, Tucci M, Saudubray JM, *et al.* Impact of inborn errors of metabolism on admission and mortality in a pediatric intensive care unit. *Eur J Pediatr* 2007; 166: 461-5.
- Sun W, Wang Y, Yang Y, Wang J, Cao Y, Luo F. The screening of inborn errors of metabolism in sick Chinese infants by tandem mass spectrometry and gas chromatography/mass spectrometry. *Clin Chim Acta* 2011; 412: 1270-4.
- Hori D, Hasegawa Y, Kimura M, Yang Y, Verma IC, Yamaguchi S. Clinical onset and prognosis of Asian children with organic acidemias, as detected by analysis of urinary organic acids using GC/MS, instead of mass screening. *Brain Dev* 2005; 27: 39-45.
- Ibarra-Gonzalez I, Fernandez-Lainez C, Belmont-Martinez L, Guillen-Lopez S, Monroy-Santoyo S, Vela-Amieva M. Caracterización de errores innatos del metabolismo intermediario en pacientes mexicanos. *An Pediatr (Barc)* 2014; 80: 310-6.
- Kuhara T. Diagnosis of inborn errors of metabolism using filter paper urine, urease treatment, isotope dilution and gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2001; 758: 3-25.
- Rinaldo P. Organic Acids. En: Blau N, Duran M, Gibson KM, editores. *Laboratory Guide to the Methods in Biochemical Genetics*: Springer Berlin Heidelberg; 2008. p. 137-69.

Recibido: 31 de octubre de 2014.

Aceptado: 23 de enero de 2015.