

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS
EN ORINA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A MASAS (GC/MS)**Guía de Procedimiento para la determinación de ácidos orgánicos en
orina por Cromatografía de gases acoplados a masas (GC/MS)****Servicio de Patología Clínica****Laboratorio de Bioquímica Especializada**

Elaborado por:	Revisado por:	Aprobado por:
Equipo Técnico del Laboratorio de Bioquímica Especializada del Servicio de Patología Clínica	<ul style="list-style-type: none">• Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento• Unidad de Gestión de la Calidad	Dr. Antonio Ricardo Zopfi Rubio Director del Instituto Nacional de Salud del - Niño San Borja

Fecha: Agosto 2019	Código: GP-015/INSN-SB/USDXT/PC-V.01	Página 1 de 15
-----------------------	--------------------------------------	----------------



GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS
EN ORINA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A MASAS (GC/MS)

Guía de Procedimiento para la determinación de ácidos orgánicos en orina por Cromatografía de gases acoplados a masas (GC/MS)

I.	Título.....	3
II.	Finalidad	3
	a. Objetivos	3
	b. Objetivo General	3
	c. Objetivos específicos.....	3
III.	Ámbito de aplicación.....	3
IV.	Nombre del Proceso o Procedimiento a Estandarizar y Código CPT.....	3
V.	Consideraciones Generales	3
	a. Definiciones Operativas	3
	1. Definición del Procedimiento.....	3
	2. Aspectos Epidemiológicos importantes.....	4
	3. Consentimiento Informado.....	4
	b. Conceptos Básicos.....	4
	c. Requerimientos Básicos	5
VI.	Consideraciones Específicas	7
	a. Descripción detallada del Proceso o Procedimiento.....	7
	b. Indicaciones.....	12
	1. Indicaciones Absolutas	12
	2. Indicaciones Relativas.....	12
	c. Riesgos o complicaciones frecuentes.....	12
	d. Riesgos o complicaciones poco frecuentes.....	12
	e. Contraindicaciones.....	12
VII.	Recomendaciones	13
VIII.	Autores, fecha y lugar.....	13
IX.	Bibliografía.....	13
X.	Anexos	13



Ministerio
de Salud

Instituto Nacional
de Salud del Niño
San Borja



GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS
EN ORINA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A MASAS (GC/MS)

Guía de Procedimiento para la determinación de ácidos orgánicos en orina por Cromatografía de gases acoplados a masas (GC/MS)

I. Título

Determinación de Ácidos Orgánicos en Orina por cromatografía de gases acoplado a masas (GC/MS).

II. Finalidad

Contribuir como medio diagnóstico a la detección de errores congénitos del metabolismo intermediario, mediante el hallazgo de estos compuestos, producto de la acumulación de sustrato o metabolitos que dan origen a más de 60 enfermedades metabólicas.

a. Objetivos

b. Objetivo General

Determinación de Ácidos Orgánicos en Orina por Cromatografía de Gases Masa (GC/MS).

c. Objetivos específicos

Extraer e identificar los ácidos orgánicos presentes en la orina, para poder detectar alteraciones en la excreción de estos compuestos y relacionarlas con un eventual bloqueo metabólico.

III. Ámbito de aplicación

Para el personal responsable de los procedimientos de metabolómica por GC/MS en el laboratorio de Bioquímica especializada.

IV. Nombre del Proceso o Procedimiento a Estandarizar y Código CPT

Dosaje de Ácidos Orgánicos cualitativo en Orina.

Código CPT : 83919

V. Consideraciones Generales

a. Definiciones Operativas

1. Definición del Procedimiento

Detección de ácidos orgánicos a partir de muestras de orina, mediante extracción y posterior lectura en Cromatógrafo de gases. EL cromatograma derivado del proceso permite determinar la presencia cualitativa o no de una variedad de ácidos orgánicos en concentraciones anómalas.

Fecha: Agosto 2019	Código: GP-015/INSN-SB/USDXT/PC-V.01	Página 3 de 15
-----------------------	--------------------------------------	----------------

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS
EN ORINA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A MASAS (GC/MS)

2. Aspectos Epidemiológicos importantes

Su relevancia dentro del grupo de las Enfermedades Raras, es que son consideradas hoy un conjunto de patologías tratables, ya que han sido particularmente beneficiadas por leyes de drogas huérfanas, permitiendo el acceso a terapias seguras y eficaces en tratar sus síntomas y la causa que las produce.

3. Consentimiento Informado

No requiere. Se remite con formato de datos clínicos firmados por el médico tratante (ver Anexo N° 01).

b. Conceptos Básicos

1. Ácidos Orgánicos en Orina

Las enfermedades de los ácidos orgánicos (AO) son un grupo de enfermedades hereditarias raras, las cuales se transmiten como un rasgo autosómico recesivo y afectan tanto a hombres como a mujeres. Los ácidos orgánicos se producen como intermediarios fisiológicos en una variedad de vías metabólicas; las acidurias orgánicas son un grupo de trastornos en los que una o más de estas vías están bloqueadas, lo que resulta en una deficiencia de productos normales y una acumulación anormal de metabolitos intermedios (ácidos orgánicos) en el organismo.

Los ácidos orgánicos comprenden metabolitos claves de casi todas las vías metabólicas del metabolismo intermediario, por lo que el análisis de los mismos ofrece información sobre el estado de dichas vías. Sin embargo el diagnóstico se complica debido a la variabilidad de la excreción de estos ácidos, y además pueden tener un origen ambiguo, ya que la excreción puede verse alterada secundariamente en pacientes con otras enfermedades, o ser debida a fuentes nutricionales, medicamentos o artificiales.

2. Errores Innatos del Metabolismo

Los Errores Innatos del Metabolismo (EIM) son un grupo de condiciones caracterizadas por el acúmulo de sustancias tóxicas producido habitualmente por un defecto enzimático. Su diagnóstico se debe sospechar clínicamente ante ciertos patrones de síntomas y signos, y con un laboratorio básico disponible en toda institución de salud, se puede acceder fácilmente a una aproximación inicial, confirmada posteriormente por estudios realizados en centros de referencia.

Su tratamiento debe ser instaurado oportunamente para evitar el desarrollo de secuelas irreparables. La existencia de Programas de Tamizaje Neonatal es la aproximación diagnóstica ideal para llegar precozmente al diagnóstico de estas condiciones.

Fecha: Agosto 2019	Código: GP-015/INSN-SB/USDXT/PC-V.01	Página 4 de 15
-----------------------	--------------------------------------	----------------

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS
EN ORINA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A MASAS (GC/MS)**3. Cromatografía de Gases**

En cromatografía de gases (GC), la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de un gas inerte, y a diferencia de la mayoría de los tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna. Existen dos tipos de cromatografía de gases: la cromatografía gas-sólido (GSC) y la cromatografía gas-líquido (GLC). La cromatografía gas-líquido tiene gran aplicación en todos los campos de la ciencia y su denominación se abrevia normalmente como cromatografía de gases (GC).

La cromatografía gas-sólido se basa en una fase estacionaria sólida en la cual se produce la retención de los analitos como consecuencia de la adsorción física. La cromatografía gas sólido ha tenido una aplicación limitada debido a la retención semipermanente de las moléculas activas o polares y a la obtención de picos de elución con colas (una consecuencia del carácter no lineal del proceso de adsorción), de modo que esta técnica no ha encontrado una gran aplicación excepto para la separación de ciertas especies gaseosas de bajo peso molecular. Es por ello que se trata sólo brevemente en este acápite.

La cromatografía gas-líquido se basa en la distribución del analito entre una fase móvil gaseosa y una fase líquida inmovilizada sobre la superficie de un sólido inerte. El concepto de cromatografía gas líquido fue enunciado por primera vez, en 1941, por Martin y Synge, quienes fueron también los responsables del desarrollo de la cromatografía de distribución líquido-líquido. Más de una década tuvo que pasar, sin embargo, antes de que la importancia de la cromatografía gas líquido se demostrara experimentalmente. Tres años más tarde, en 1955, apareció en el mercado el primer aparato comercial para cromatografía gas líquido. Desde entonces, las aplicaciones de esta técnica han crecido de una forma espectacular. Se ha estimado que unos 200,000 Cromatógrafos de gases están actualmente en uso por todo el mundo

c. Requerimientos Básicos**➤ Equipos Biomédicos**

- Cromatógrafo de Gases Masa Agilent 7890A/5975C.
- Balanza Analítica de alta precisión..
- Termobloque (Baño de Calor Seco).
- Agitador Magnético.
- Centrifuga de Pie refrigerada.
- Refrigeradora de Reactivos de 2-8°C.
- Conservadora de -20°C.
- Vortex.
- Lavador Ultra Sónico.
- Campana Extractora de Gases.
- Espectrofotómetro.

Fecha: Agosto 2019	Código: GP-015/INSN-SB/USDXT/PC-V.01	Página 5 de 15
-----------------------	--------------------------------------	----------------

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS
EN ORINA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A MASAS (GC/MS)

- Sistema de Evaporación.
- Potenciómetro (pH-metro).
- Refractómetro Digital.
- Pipeteador Automático.
- Computadora.
- Impresora.

➤ **Material Médico Fungible**

• **Reactivos**

- Ácido Pentadecanoico (C15).
- Metanol, grado HPLC
- Hidróxido de Sodio
- PFB-Hidroxilamina HCL 94-99%
- Ácido Clorhídrico 36-37%).
- Cloruro de Sodio.
- Acetato de Etilo grado HPLC
- Nitrógeno Gaseoso UHP.
- N, O-Bis (trimetilsil) Trifluoracetamida + 1% Trimetilclorosilano BSTFA+ 1% TMCS).
- Agua Grado HPLC
- Detergente líquido Extrán MA05
- Acetona (para lavado de Jeringa).

• **Otros**

- Puntas de pipeta (Tips) con filtro.
- Tubo Centrifuga de polipropileno fondo cónico de 15 ml.
- Plumón marcador indeleble, resistente al agua.
- Plumón indeleble resistente a -20°C.
- Papel absorbente.

➤ **Material Médico no Fungible**

- Pipetas Volumétricas de 3 ml.
- Micropipetas automática de 2-20 µl y sus puntas con filtro.
- Micropipetas automática de 5-50 µl y sus puntas con filtros.
- Micropipetas automática de 20-200 µl y sus puntas con filtro.
- Micropipetas automática de 100-1000 µl y sus puntas con filtro.
- Matraz aforado (fiola) de 10 ml.
- Beaker de 250 ml y 1000 ml
- Pastilla magnética para agitación
- Pizeta de 1 L.
- Probeta de 100 ml.

**GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS
EN ORINA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A MASAS (GC/MS)**

- Probeta de 10 ml.
- Pipeta Pauster y bulbo.
- Vial de Vidrio Borosilicatado de 3 ml.
- Viales de 2 ml para cromatografía de gases.
- Insertos Cónico para viales de 2 ml.
- Jeringa tipo Hamilton de 100 µl.
- Jeringa tipo Hamilton de 10 µl.
- Cronómetro

➤ Recursos Humanos

- Médico Patólogo Clínico capacitado y entrenado en interpretación ácidos orgánicos en orina.
- Químico especialista capacitado y entrenado en Cromatografía de Gases Masa, en realización de técnica analítica de ácidos orgánicos.
- Técnico de Laboratorio capacitado y entrenado en procedimientos de Toma de Muestras.

VI. Consideraciones Específicas**a. Descripción detallada del Proceso o Procedimiento****a.1. Procedimiento para preparación de la muestra****➤ Día 1**

1. Rotular los tubos de vidrio correspondientes a las muestras.
2. Descongelar y centrifugar la muestra de orina 10 minutos a 80rpm, de ser necesario.
3. Enviar una alícuota al laboratorio para la determinación de creatinina.
4. Centrifugar la muestra de orina 15 minutos a 3500 rpm.
5. Agregar el volumen de orina correspondiente a 0.06mg de creatinina. Se puede trabajar un máximo de 2ml
6. Agregar 20 µl de la solución de Standard Interno.
7. Agregar 100 µl de la solución de NaOH 3N.
8. Tapar e incubar 30 minutos a Temperatura ambiente.
9. Agregar 5 gotas de HCl cc, con Pipeta Pauster.
10. Llevar el volumen hasta 2 ml con solución Salina Sobresaturada.
11. Si el volumen de orina es igual a 2 ml (máximo permitido), agregar NaCl sólido hasta saturar.
12. Extraer con 3 ml de Acetato de Etilo.
13. Agitar durante 15 minutos en vortex.
14. Centrifugar durante 15 minutos a 3500 rpm.

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS
EN ORINA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A MASAS (GC/MS)

15. En el vial para derivatización agregar 100 µl de la solución de NaOH 0.05 N en metanol. Separar el sobrenadante y agregarlo al vial de derivatización.
16. Separar el sobrenadante y agregarlo al vial de derivatización.
17. Si el volumen de la muestra restante es inferior a 2mL., repetir el paso 10.
18. Repetir los pasos del 12 al 14.
19. Esperar a que baje el volumen del vial y repetir el paso 16.
20. Dejar en la campana de extracción hasta que se evapore la mayoría del líquido.

➤ **Día 2**

21. Terminar de secar bajo Nitrógeno gaseoso, No sobresecar.
22. Agregar 100 µl de BDTFA + 1% TMCS con jeringa Hamilton al vial, bañando las paredes internas del vial, sin tocarlas.
23. Incubar 30 minutos a 80°C en baño seco (bloque caliente).
24. Dejar enfriar.
25. Traspasar fase líquida al inserto dentro del inserto en el vial del autoinyector utilizando una jeringa Hamilton, No tocar el sedimento.
26. Inyectar 1 µl en el Equipo GC/MS.

a.2. Procedimientos para inyección en el equipo GC/MS

1. Esperar a que el equipo adquiera las temperaturas adecuadas.
2. Antes de utilizar el equipo es recomendable realizar un control de posibles fugas mediante el monitoreo Agua/Aire en función Tune and Vacuum Control.
3. Si existe fugas es preciso revisar el puerto de inyección, así como la entrada de la columna en la interface.
4. Si no existen fugas se puede proceder a cargar el método de trabajo y estirar la aguja del Automuestreador y lavarla manualmente varias veces con acetona. Volver a instalarla.
5. Agregar 100 µl de BDTFA + 1% TMCS dentro del inserto en el vial del autoinyector utilizando una jeringa de Hamilton. Colocar en posición 1.
6. Rellenar con metanol los viales A y B de Lavado hasta la marca.
7. Posteriormente se debe realizar el Autotune en la función Tune and Vacuum Control (Autotune), y revisar los parámetros medidos.
8. Luego del Autotune se programa la lista de trabajo en la función Edit Sequence y luego Save As.... (fecha del día).
9. Cargar el método de reposo.
10. Iniciar la corrida en función Run Sequence.
11. La corrida tiene una duración de 45 minutos.

Fecha: Agosto 2019	Código: GP-015/INSN-SB/USDXT/PC-V.01	Página 8 de 15
-----------------------	--------------------------------------	----------------

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS
EN ORINA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A MASAS (GC/MS)**a.3. Parámetro de inyección (Cromatógrafo de Gases)****a.3.1. Control Información**

- Sample: GC
- Injection Source: GC ALS
- Mass Spectrometer: Enabled

a.3.2. Front Injector

Sample Washes	1
Sample Pumps	2
Injection Volume	1 µl
Syringe Size	10 µl
Preinj Solvent A Washes	4
Preinj Solvent B Washes	4
Postinj Solvent A Washes	4
Postinj Solvent B Washes	4
Viscosity Delay	2 seg
Plunger Speed	Fast
Preinjection Dwell	0 min
Postinjection Dwell	0 min
Sampling Depth	7.4 mm

a.3.3. Oven

Initial temp	80 °C
Initial time	2 min
Maximun temp	325 °C
Equilibration time	1.0 min
Rapmps	
1	
# rate	5
Final Temp	280
Final Time	8
2. 0	off
Post Temp	0 °C
Post time	0 min
Run time	50 min

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS
EN ORINA POR CROMATOGRFÍA DE GASES ACOPLADO A MASAS (GC/MS)**a.3.4. Inlet (SPLIT/SPLITLESS)**

Mode	Splitless
Initial temp	280 °C (on)
Pressure	14.78 psi (on)
Purge flow	50 ml/min
Purge time	2.0 ml/min
Total Flow	54.4 ml/min
Gas saver	off
Gas Type	Helio

a.3.5. Detector: Temperatura 280 °C (On)**a.3.6. Columna**

Columna	Capilar
Modelo Número 0	Agilent 19091S- 433 HP-5MS 5% Phenyl Methyl Siloxane
Type	Col comp
Data Rate	0.1 Hz
Save Date	off
Normal length	30 m
Nominal Diameter	250 um
Nominal film thickness	0.25 um
Mode	Constant flow
Initial flow	1.5 ml/min
Nominal Init pressure	14.79 psi
Average Velocity	45 cm/sec
Source	Inlet
Outlet	MSD
Outlet pressure	vacuum
Zero	0 (off)
Range	0
Fast Peaks	Off
Attenuation	0

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS
EN ORINA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A MASAS (GC/MS)**a.4. Parámetro de Inyección (Espectrómetro de Masas)****a.4.1. Control Información**

- Tune File : atune u
- Acquisition Mode : Scan
- Mass Spectrometer : Enabled

a.4.2. MS Información

- Solvent Delay : 5 min
- Gain Factor : 1.00
- Resulting EM Voltage : 1365

a.4.3. Sacan Parametros

- Low Mass : 40.0
- High Mass : 650.0
- Threshold : 150.0
- Sample # : 2 A/D Samples 4
- Plot 2 Low mass : 40.0
- Plot 2 Higt mass : 650.0

a.4.4. MS Zonas

- MS Source : 230 °C max. 250 °C
- MS Quad : 150 °C max. 200 °C

a.5. Interpretación de Resultados

El análisis de ácidos orgánicos por este método es el tipo cualitativo, se asignará la validez de la corrida, dependiendo de la respuesta desplegada por el equipo. Si la muestra está muy diluida se recomienda solicitar una nueva muestra.

La interpretación de resultados será realizada por el médico Patólogo Clínico capacitado en identificación de ácidos orgánicos.

El cromatograma presenta la intensidad de la señal obtenida, en función del tiempo, originando picos de señal que corresponden a los diferentes compuestos. Cada pico posee un espectro de masas características, el cual debe ser confirmado con los espectros disponibles en la bibliografía, para su identificación.

Es muy importante tener presente que existen muchas variables que intervienen en el perfil obtenido de compuestos Urinarios. En la mayoría de los casos, un solo análisis de ácidos orgánicos urinarios no es suficiente para confirmar o descartar un diagnóstico.

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS
EN ORINA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A MASAS (GC/MS)**a.6. Valores de Referencia**

En la literatura se pueden encontrar diferentes criterios como normal o anormal la concentración de un ácido orgánicos determinado. Sin embargo en este método no se utiliza estos criterios por tratarse de un análisis cualitativo.

a.7. Uso de reactivos y tiempo de incubación, por muestra

Muestra	Volumen de reactivo
Solución de trabajo de Standard Interno	20 µl
NaOH 3N	100 µl
Tiempo de Incubación	30 min
HCl cc	100 µl (5gotas)
Solución Salina Sobresaturada	Llevar a 2 ml
Acetato de Etilo	3 ml *2
Tiempo de Agitación	15 min *2
Centrifugación	15 min *2
NaOH 0.02 N	100 µl
BSTFA + 1% TMCS	100 µl
Tiempo de Incubación	30 min

b. Indicaciones**1. Indicaciones Absolutas**

Acidemias orgánicas en Errores congénitos del metabolismo.

2. Indicaciones Relativas

- Síndromes neurológicos varios.
- Alergias alimentarias.
- Síndromes de Mala Absorción.

c. Riesgos o complicaciones frecuentes

Ninguna reportada.

d. Riesgos o complicaciones poco frecuentes

Ninguna reportada.

e. Contraindicaciones

Ninguna reportada. Exceptuar condiciones no adecuadas de recepción o conservación de la muestra.



Ministerio
de Salud

Instituto Nacional
de Salud del Niño
San Borja



GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS EN ORINA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A MASAS (GC/MS)

VII. Recomendaciones

Higiene previa de región genital del paciente y recolección de chorro medio, de preferencia primera orina de la mañana o al menos retención de orina de 4 horas. Mantener en cadena de frío (cooler a 2-8°C). El personal de laboratorio deberá congelar la muestra si no es procesada de inmediato.

VIII. Autores, fecha y lugar

Instituto Nacional de Salud del Niño - San Borja.

Laboratorio de Bioquímica Especializada.

Servicio de Patología Clínica.

Unidad de Apoyo al Diagnóstico y Tratamiento

Fecha de Elaboración: Agosto 2019

Autores:

- | | |
|---|--------------------------|
| 1. Dr. Carlos Jamieson Villanueva | cjamieson@insnsb.gob.pe |
| 2. M.D. Luzmila Rodriguez Pinto | lrodriguez@insnsb.gob.pe |
| 3. Lic. Quim. Luz Jeanette Abanto Aguilar | jabanto@insnsb.gob.pe |

IX. Bibliografía

1. Rashed M et al. 2003. Standard Operating Procedure MSL-CGMS-OA Version 1.
2. Lehninger A, Nelson D and Cox M, 2003. Lehninger Principles of Biochemistry. 4a Edición. W.H. Freeman, New York.
3. Hoffman GF. 2003. Organic acid analysis, En: Blau N, Duran M, Blaskovics M and Gibson K (eds). Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis. Chapman Hall, London, pp 31-49.
4. Scriver Cr, Beaudet AL, Sly WS y Valle D (eds). 1995. The Metabolic and Molecular Bases of inherited Disease. 7a, MC Graw Hill, New York, pp 1371-1629.
5. Sweetman L. 1991. Organic acid analysis En: Hommes FA (es) Techniques in Diagnostic Human Biochemical Genetics. Wiley-Liss, New York, pp 143-176.
6. Tanaka H, West-Dull A, Hine DG, Lynn TB and Lowe T, 1980 Gas-Chromatographic method of analysis for urinary organic acids. Clin Chem 26 (13): 1839-1853.
7. Kimura M, Yamamoto T and Yamaguchi S. 1999. Automated metabolic profiling and interpretation of GC/MS data for organic acidemia screening a personal computer-based system. J Exp Med 188: 317-334.
8. Kuhara T. 2002. Diagnosis and monitoring of inborn errors of metabolism using urease-pretreatment of urine, isotope dilution, and gas chromatography-mass spectrometry. J Chromatogr B 781:497-517.
9. Rinaldo P. 2008. Organic Acid En: Blau N, Duran M and Gibson K (eds). Laboratory Guide to the Methods in Biochemical Genetics. Springer, New York, pp 137-169.

X. Anexos

1. Anexo N° 01 : Ficha de Solicitud médica.
2. Anexo N° 02 : Condiciones preanalíticas.

Fecha: Agosto 2019	Código: GP-015/INSN-SB/USDXT/PC-V.01	Página 13 de 15
-----------------------	--------------------------------------	-----------------



GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS
EN ORINA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A MASAS (GC/MS)

ANEXO N° 01

Servicio de Patología Clínica – Formato de Solicitud Médica

IDENTIFICACION DEL PACIENTE		TIPO DE MUESTRA / ENVIO
Apellidos y Nombres:		Orina (10-20 mL) <input type="checkbox"/> inmediato + 2 –8°C ó congelar
Fecha de nacimiento : Edad:		
Médico tratante: Telf de contacto:		
Hospital : Servicio :		
Impresión Diagnóstica: (incluir resumen de Historia Clínica en hoja aparte o atrás)		FIRMA Y SELLO MEDICO TRATANTE
Edad de Inicio: Observaciones:		
EXAMEN SOLICITADO: ACIDOS ORGÁNICOS EN ORINA (CROMATOGRAFIA DE GASES MS) <input type="checkbox"/>		

ANOMALIAS FISICAS	ANOMALIAS NEFROLOGICAS	SIGNOS OCULARES
<input type="checkbox"/> Retraso estatural > 2 D S	<input type="checkbox"/> Cálculos renales <input type="checkbox"/> Restos renales	<input type="checkbox"/> Opacidad corneal
<input type="checkbox"/> Retraso ponderal > 2 D S	<input type="checkbox"/> Color / olor extraño de la orina	<input type="checkbox"/> Cataratas
<input type="checkbox"/> Anomalías cefálicas	<input type="checkbox"/> Poliúrea	<input type="checkbox"/> Atrofia óptica
<input type="checkbox"/> Facies anómala	Otros :	<input type="checkbox"/> Degeneración retiniana
<input type="checkbox"/> Hipertrofia gingival	ANOMALIAS NEUROLÓGICAS	<input type="checkbox"/> Mancha rojo cereza
<input type="checkbox"/> Anomalías en cabellos, uñas	<input type="checkbox"/> Retraso mental	ANOMALIAS HEMATOLOGICAS
<input type="checkbox"/> Hirsutismo	<input type="checkbox"/> Retraso motor	<input type="checkbox"/> Anemia
<input type="checkbox"/> Anomalías cutáneas	<input type="checkbox"/> Ataxia	<input type="checkbox"/> Leucopenia
<input type="checkbox"/> Hepatomegalia	<input type="checkbox"/> Espasticidad	<input type="checkbox"/> Trombopenia
<input type="checkbox"/> Esplenomegalia	<input type="checkbox"/> Hipotonía	<input type="checkbox"/> Anomalías trombo-embólicas
<input type="checkbox"/> Ictericia	<input type="checkbox"/> Distrofia/debilidad muscular	<input type="checkbox"/> Tendencia a sangrar
<input type="checkbox"/> Sordera	<input type="checkbox"/> Nistagmus	<input type="checkbox"/> Linfocitos vacuolados
<input type="checkbox"/> Taquipnea	<input type="checkbox"/> Distonía	<input type="checkbox"/> Anomalías de médula ósea
<input type="checkbox"/> Cardiomegalia	<input type="checkbox"/> Convulsiones	ANOMALIAS DE LABORATORIO
<input type="checkbox"/> Cardiomiopatía	<input type="checkbox"/> Mioclonías	<input type="checkbox"/> Acidosis <input type="checkbox"/> Alkalosis
<input type="checkbox"/> Crisis de apnea	<input type="checkbox"/> Oftalmoplejia	pH : pCO2: HCO3:
HISTORIA GESTACIONAL	<input type="checkbox"/> Coma/ Letargia	Anion Gap :
<input type="checkbox"/> Prematuridad	<input type="checkbox"/> Trastornos del comportamiento	<input type="checkbox"/> Cetosis
<input type="checkbox"/> Hidropsia Fetal no inmune	Otros:	<input type="checkbox"/> Hiperamonemia
<input type="checkbox"/> Síndrome de HELLP	NEUROIMAGEN Y NEUROFISIOLOGÍA	<input type="checkbox"/> Láctico : / Pirúvico:
<input type="checkbox"/> Infecciones maternas	<input type="checkbox"/> Atrofia	<input type="checkbox"/> Hipocolesterolemia
<input type="checkbox"/> Uso de medicamentos	<input type="checkbox"/> Desmielinización	<input type="checkbox"/> Hipoglucemia <input type="checkbox"/> Hiperglucemia
Medicamento :	<input type="checkbox"/> Trastornos de migración	NUTRICIÓN
ANOMALIAS GASTROINTESTINALES	<input type="checkbox"/> Potenciales evocados alterados	<input type="checkbox"/> Parenteral Fórmula :
<input type="checkbox"/> Vómitos	<input type="checkbox"/> Lentitud en la velocidad de conducción	
<input type="checkbox"/> Diarrea	<input type="checkbox"/> Signos miopáticos	<input type="checkbox"/> Enteral Fórmula:
<input type="checkbox"/> Rechazo de alimentos	<input type="checkbox"/> Electroencefalograma patológico	<input type="checkbox"/> Dietas especiales :
<input type="checkbox"/> Constipación	Otros:	
Otros :		<input type="checkbox"/> Suplementos Vitamínicos:
GENÉTICA	INMUNOLOGÍA	MEDICACIÓN
<input type="checkbox"/> Consanguinidad Grado :	<input type="checkbox"/> Infecciones Recurrentes	
<input type="checkbox"/> Otros casos en la familia, parentesco:		



Ministerio
de Salud

Instituto Nacional
de Salud del Niño
San Borja



GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS
EN ORINA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A MASAS (GC/MS)

<input type="checkbox"/> Muertes inexplicables en la infancia	Otros:	TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA: <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
---	--------	---

ANEXO N° 02

Condiciones Preanalítica para Detección de Ácidos Orgánicos en orina (Cromatografía de Gases Masa)

A continuación se detalla las condiciones Preanalítica a seguir:

1. Realizar la identificación y rotulado de la muestra por el personal asignado.
2. Llenado de la Solicitud Analítica del Laboratorio de Espectrometría de masas por el médico tratante.
3. Realizar el lavado de manos e higiene de genitales con agua y jabón, secar
4. Colección de muestra de orina en frasco estéril al menos 10 ml , se recomienda la 1ra orina de la mañana, o después de la retención de 4 horas.
5. Inmediatamente enviar al Laboratorio de Patología Clínica Especializada en un cooler de 2 a 8°C (para evitar la interferencia del análisis por proliferación bacteriana).
6. La muestra se procederá a congelar en el Servicio de Patología Clínica*.

Muestra	Cantidad Necesaria	Preparación	Conservación	Envío
Orina (reciente)	10-20 ml	Colectado en frasco estéril, sin conservante,	-20°C	-Envío inmediato a Temperatura 2 a 8°C. -Congelación Inmediata en Laboratorio.

** El personal de laboratorio procederá a congelar la muestra, previamente alicuotará 1 ml en un vial rotulado .*