

**Supplemental Data Table S10.** Cases with genetic alterations irrelevant to metabolite abnormalities

Sample ID	Metabolite	cut-off*	NBS tests*	Gene	NT alteration	AA alteration	Conventional criteria	ACMG category	Zygosity	Disease	Frequency in PCD
IMD_002	17 $\alpha$ -OHP	12	20.2	<i>MTHFR</i>	c.T193C	p.F65L	EP	VUS	Het	Homocystinuria	1/125
				<i>DUOX2</i>	c.413dupA	p.Y138X	EP	LP	Het	CH	5/125
IMD_004	17 $\alpha$ -OHP	12	18.8	<i>GALK1</i>	c.G382A	p.V128M	EP	VUS	Het	Galactosemia	1/125
				<i>TPO</i>	c.C2445G	p.I815M	EP	VUS	Het	CH	1/125
IMD_005	17 $\alpha$ -OHP	12	21.7	<i>PC</i>	c.G440A	p.R147H	EP	VUS	Het	Pyruvate carboxylase deficiency	2/125
				<i>PCCA</i>	c.G1598T	p.W533L	KP	LP	Het	Propionic Acidemia	9/125
				<i>SLC7A7</i>	c.T498G	p.I166M	EP	VUS	Het	Lysinuric protein intolerance	8/125
IMD_006	17 $\alpha$ -OHP	12	12.9	<i>SLC5A5</i>	c.C391T	p.L131F	EP	VUS	Het	CH	1/125
IMD_007	17 $\alpha$ -OHP	12	32.6	<i>MTR</i>	c.3339delC	p.R1113fs	EP	LP	Het	Homocystinuria	11/125
				<i>PC</i>	c.G1354A	p.V452I	EP	VUS	Het	Pyruvate carboxylase deficiency	1/125
				<i>HAL</i>	c.G394A	p.V132M	EP	VUS	Het	Histidinemia	5/125
				<i>TSHR</i>	c.G733A	p.G245S	KP	LP	Het	CH	3/125
IMD_008	17 $\alpha$ -OHP	12	64.8	<i>MTR</i>	c.3339delC	p.R1113fs	EP	LP	Het	Homocystinuria	11/125
IMD_012	17 $\alpha$ -OHP	12	14.8	<i>MMAA</i>	c.G1210A	p.G404R	EP	VUS	Het	MMA	1/125
IMD_013	17 $\alpha$ -OHP	12	13	<i>HLCS</i>	c.G1694A	p.R565Q	EP	VUS	Het	Holocarboxylase synthetase deficiency	2/125
IMD_016	17 $\alpha$ -OHP	12	24.9	<i>BTD</i>	c.G1625T	p.R542M	EP	VUS	Het	Biotinidase deficiency	3/125
IMD_017	17 $\alpha$ -OHP	12	21.1	<i>TSHR</i>	c.G733A	p.G245S	KP	LP	Het	CH	3/125
				<i>SLC22A5</i>	c.C1400G	p.S467C	KP	LP	Het	Carnitine deficiency, systemic primary	1/125
IMD_023	17 $\alpha$ -OHP	12	12.9	<i>OAT</i>	c.G47C	p.R16P	EP	VUS	Het	Hyperornithinemia	1/125
IMD_025	17 $\alpha$ -OHP	12	13.8	<i>ALDH4A1</i>	c.T683A	p.V228E	EP	VUS	Het	Hyperprolinemia	1/125
IMD_033	C0	7	3.352/4.079	<i>SLC25A15</i>	c.T292A	p.L98M	EP	VUS	Het	HHH syndrome	1/125
				<i>PRODH</i>	c.230_230delinsCA	.	EP	LP	Het	Hyperprolinemia	7/125
IMD_035	C0	7	4.060/4.215	<i>DUOX2</i>	c.G2654A	p.R885Q	KP	LP	Het	CH	4/125
				<i>PRODH</i>	c.230_230delinsCA	.	EP	LP	Het	Hyperprolinemia	7/125
				<i>OTC</i>	c.298+5G>C	.	KP	LP	Hom	OTC deficiency	4/125
IMD_036	C0	7	6.599/6.623	<i>MTR</i>	c.3339delC	p.R1113fs	EP	LP	Het	Homocystinuria	11/125
				<i>ETFB</i>	c.155_156insT	p.P52fs	EP	LP	Hom	Glutaric acidemia type II	1/125
IMD_038	FT4	0.8	0.7	<i>PDX1</i>	c.G399T	p.Q133H	EP	VUS	Het	Pyruvate dehydrogenase deficiency	2/125
				<i>AHCY</i>	c.T98C	p.M33T	EP	VUS	Het	Hypermethioninemia	4/125
				<i>BTD</i>	c.G1625T	p.R542M	EP	VUS	Het	Biotinidase deficiency	3/125
IMD_040	FT4	0.8	0.3	<i>GALT</i>	0.0001	.	KP	LP	Het	Galactosemia	4/125
				<i>PDX1</i>	c.G399T	p.Q133H	EP	VUS	Het	Pyruvate dehydrogenase deficiency	2/125
				<i>PRODH</i>	c.230_230delinsCA	.	EP	LP	Het	Hyperprolinemia	7/125
IMD_045	TSH	12	33.2	<i>GCDH</i>	c.C769T	p.R257W	KP	LP	Het	Glutaric acidemia type I	1/125
IMD_055	TSH	12	12.5	<i>CPS1</i>	c.1444delT	p.L482X	EP	LP	Het	CPS I deficiency	1/125
				<i>PRODH</i>	c.230_230delinsCA	.	EP	LP	Het	Hyperprolinemia	7/125

(Continued to the next page)

Supplemental Data Table S10. Continued

Sample ID	Metabolite	cut-off*	NBS tests*	Gene	NT alteration	AA alteration	Conventional criteria	ACMG category	Zygosity	Disease	Frequency in PCD
IMD_058	TSH	12	29.4	<i>PCCA</i>	c.G1598T	p.W533L	KP	LP	Het	Propionic Acidemia	9/125
IMD_059	TSH	12	13.1	<i>DLAT</i>	c.335delA	p.E112fs	EP	LP	Het	Pyruvate dehydrogenase deficiency	2/125
				<i>TAT</i>	c.C169T	p.R57X	KP	P	Het	Tyrosinemia	1/125
IMD_061	TSH	12	15.6	<i>MTHFR</i>	c.C1417T	p.R473W	EP	VUS	Het	Homocystinuria	2/125
IMD_063	TSH	12	20.7	<i>HPD</i>	c.G22A	p.G8R	EP	VUS	Het	Tyrosinemia	2/125
				<i>MTRR</i>	c.30delA	p.A10fs	EP	LP	Het	Homocystinuria	1/125
IMD_064	TSH	12	13.2	<i>SLC7A7</i>	c.A422G	p.N141S	EP	VUS	Het	Lysinuric protein intolerance	2/125
				<i>TAT</i>	c.C841T	p.R281C	EP	VUS	Het	Tyrosinemia	1/125
IMD_065	TSH	12	19	<i>DLAT</i>	c.335delA	p.E112fs	EP	LP	Het	Pyruvate dehydrogenase deficiency	2/125
				<i>SLC22A5</i>	c.A535T	p.M179L	KP	LP	Het	Carnitine deficiency, systemic primary	1/125
IMD_070	Gal	13	21.7	<i>DUOX2</i>	c.G4232A	p.C1411Y	KP	VUS	Het	CH	2/125
				<i>SLC5A5</i>	c.T1250C	p.F417S	EP	VUS	Het	CH	1/125
IMD_071	Gal	13	14.3	<i>HADHA</i>	c.C871T	p.R291X	KP	P	Het	Trifunctional protein deficiency	1/125
				<i>PCCB</i>	c.A707G	p.N236S	EP	VUS	Het	Propionic Acidemia	1/125
IMD_072	Gal	13	13.6	<i>MMADHC</i>	c.T481A	p.F161I	EP	VUS	Het	MMA	2/125
IMD_073	Gal	13	21.6	<i>MTR</i>	c.3339delC	p.R1113fs	EP	LP	Het	Homocystinuria	11/125
				<i>TPO</i>	c.C835T	p.R279W	EP	VUS	Het	CH	1/125
IMD_075	Gal	13	22.8	<i>ETFA</i>	c.G68A	p.G23D	EP	VUS	Het	Glutaric acidemia type II	1/125
IMD_076	Gal	13	17.8	<i>HAL</i>	c.G394A	p.V132M	EP	VUS	ComHet	Histidinemia	5/125
				<i>HAL</i>	c.T371C	p.I124T	EP	VUS	ComHet	Histidinemia	1/125
IMD_084	Gal	13	16.1	<i>DBT</i>	c.360delA	p.K120fs	KP	P	Het	MSUD	1/125
				<i>CBS</i>	c.444dupG	p.N149fs	EP	LP	Het	Homocystinuria	1/125
IMD_085	Gal	13	17.1	<i>ACADSB</i>	c.G655A	p.V219M	EP	VUS	Het	2-MBCAD deficiency	2/125
				<i>SLC25A20</i>	c.G773T	p.R258L	EP	VUS	Het	CACT deficiency	1/125
IMD_086	Gal	13	15.5	<i>OTC</i>	c.298+5G>C		KP	LP	Het	OTC deficiency	4/125
				<i>ACADVL</i>	c.929dupT	p.V310fs	EP	LP	Het	VLCAD deficiency	1/125
IMD_090	17 $\alpha$ -OHP	12	16.1	<i>TSHR</i>	c.1196dupC	p.T399fs	EP	LP	Het	CH	1/125
				<i>TPO</i>	c.C2515T	p.P839S	KP	LP	Het	CH	3/125
				<i>MTRR</i>	c.G319C	p.G107R	EP	VUS	Het	Homocystinuria	1/125
				<i>SLC6A8</i>	c.1731delG	p.M577fs	EP	LP	Het	Creatine deficiency	1/125
IMD_094	TSH	12	21.9	<i>HAL</i>	c.G1051C	p.A351P	EP	VUS	ComHet	Histidinemia	3/125
				<i>HAL</i>	c.64dupC	p.L22fs	EP	LP	ComHet	Histidinemia	1/125
IMD_099	17 $\alpha$ -OHP	12	15.6	<i>PC</i>	c.G2515A	p.E839K	EP	VUS	Het	Pyruvate carboxylase deficiency	1/125
				<i>HAL</i>	c.G1051C	p.A351P	EP	VUS	Het	Histidinemia	3/125
IMD_103	17 $\alpha$ -OHP	12	15.6	<i>ALDH4A1</i>	c.1387dupG	p.A463fs	EP	LP	Het	Hyperprolinemia	4/125
IMD_104	17 $\alpha$ -OHP	12	12.8	<i>DUOX2</i>	c.C3328T	p.R1110X	EP	LP	Het	CH	1/125
				<i>PRODH</i>	c.230_230delinsCA		EP	LP	Het	Hyperprolinemia	7/125

(Continued to the next page)

Supplemental Data Table S10. Continued

Sample ID	Metabolite	cut-off*	NBS tests*	Gene	NT alteration	AA alteration	Conventional criteria	ACMG category	Zygoty	Disease	Frequency in PCD
IMD_107	17 $\alpha$ -OHP	12	18.3	<i>DUOX2</i>	c.G1232A	p.R411K	EP	VUS	Het	CH	2/125
IMD_109	Met	60	80.753/ 85.991	<i>MMACHC</i>	c.G482A	p.R161Q	KP	LP	Het	MMA	1/125
IMD_110	FT4	0.8	0.3	<i>CBS</i>	c.G346A	p.G116R	KP	LP	Het	Homocystinuria	2/125
IMD_114	17 $\alpha$ -OHP	12	85	<i>DUOX2</i>	c.G2139T	p.E713D	EP	VUS	Het	CH	1/125
				<i>GLDC</i>	c.983dupG	p.G328fs	EP	LP	Het	Nonketotic hyperglycinemia	1/125
IMD_116	17 $\alpha$ -OHP	12	31.3	<i>GALK1</i>	c.612-2->C		EP	LP	Het	Galactosemia	1/125
IMD_117	17 $\alpha$ -OHP	12	16.9	<i>TSHR</i>	c.G733A	p.G245S	KP	LP	Het	CH	3/125
IMD_119	Gal	13	25.2	<i>ASL</i>	c.G1039A	p.D347N	EP	VUS	Het	ASA	1/125
IMD_120	17 $\alpha$ -OHP	12	25.9	<i>CBS</i>	c.G346A	p.G116R	KP	LP	Het	Homocystinuria	2/125
IMD_121	TSH	12	20.4	<i>SLC7A7</i>	c.T498G	p.I166M	EP	VUS	Het	Lysinuric protein intolerance	8/125
IMD_122	17 $\alpha$ -OHP	12	13.9	<i>PAH</i>	c.A611G	p.Y204C	KP	LP	Het	Hyperphenylalaninemia	1/125
				<i>SLC7A7</i>	c.T498G	p.I166M	EP	VUS	Het	Lysinuric protein intolerance	8/125
				<i>TAT</i>	c.G24A	p.M8I	EP	VUS	Het	Tyrosinemia	1/125
IMD_126	FT4	0.8	0.6	<i>HMGCL</i>	c.G438T	p.M146I	EP	VUS	Het	3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A lyase deficiency	1/125
IMD_127	TSH	12	14.6	<i>PDP1</i>	c.G56A	p.R19K	EP	VUS	Het	Pyruvate dehydrogenase deficiency	2/125
IMD_130	Tyr	299.35	335.282/ 341.969	<i>TPO</i>	c.C2515T	p.P839S	KP	LP	Het	CH	3/125
				<i>SLC25A13</i>	c.851delGTAT	p.M285Pfs*2	KP	P	Het	Citrullinemia	4/125
IMD_132	Gal	13	14.8	<i>ACADSB</i>	c.C283A	p.Q95K	EP	VUS	Het	2-MBCAD deficiency	1/125
				<i>SLC7A7</i>	c.T498G	p.I166M	EP	VUS	Hom	Lysinuric protein intolerance	8/125
IMD_133	Gal	13	15.5	<i>DLAT</i>	c.C998G	p.P333R	EP	VUS	Het	Pyruvate dehydrogenase deficiency	2/125
				<i>OTC</i>	c.298+5G>C		KP	LP	Het	OTC deficiency	4/125
IMD_135	Gal	13	15	<i>DUOX2</i>	c.T535C	p.Y179H	EP	VUS	Het	CH	2/125
IMD_136	Gal	13	20	<i>ETHE1</i>	c.C530T	p.S177L	EP	VUS	Het	Ethylmalonic encephalopathy	1/125
IMD_140	Gal	13	19.2	<i>ACADSB</i>	c.G655A	p.V219M	EP	VUS	Het	2-MBCAD deficiency	2/125
				<i>HAL</i>	c.G1051C	p.A351P	EP	VUS	Het	Histidinemia	3/125
IMD_145	TSH	12	12.9	<i>PCCA</i>	c.G1598T	p.W533L	KP	LP	Het	Propionic Acidemia	9/125
IMD_146	TSH	12	15	<i>DLD</i>	c.G44C	p.G15A	EP	VUS	Het	MSUD	1/125
IMD_148	TSH	12	12.1	<i>MAT1A</i>	c.C142A	p.Q48K	EP	VUS	Het	Hypermethioninemia	1/125
IMD_151	TSH	12	15.1	<i>MTHFR</i>	c.1266dupG	p.E423fs	EP	LP	Het	Homocystinuria	1/125
				<i>HADHA</i>	c.T1947A	p.N649K	EP	VUS	Het	Trifunctional protein deficiency	2/125
				<i>PRODH</i>	c.230_230delinsCA		EP	LP	Het	Hyperprolinemia	7/125

(Continued to the next page)

Supplemental Data Table S10. Continued

Sample ID	Metabolite	cut-off*	NBS tests*	Gene	NT alteration	AA alteration	Conventional criteria	ACMG category	Zygoty	Disease	Frequency in PCD
IMD_154	FT4	0.8	0.6	<i>GALE</i>	c.264delT	p.F88fs	EP	LP	Het	Galactosemia	2/125
				<i>SLC7A7</i>	c.T498G	p.I166M	EP	VUS	Het	Lysinuric protein intolerance	8/125
				<i>BCKDHA</i>	c.G736A	p.A246T	EP	VUS	Het	MSUD	2/125
IMD_156	FT4	0.7	0.5	<i>ASS1</i>	c.C851T	p.T284I	KP	LP	Het	Citrullinemia	1/125
IMD_158	FT4	0.7	0.6	<i>MTHFR</i>	c.C136T	p.R46W	KP	LP	Het	Homocystinuria	2/125
				<i>GLYCTK</i>	c.G673A	p.G225R	EP	VUS	Het	D-glyceric aciduria	1/125
				<i>PCCB</i>	c.A1304G	p.Y435C	KP	LP	Het	Propionic Acidemia	2/125
				<i>GALT</i>	0.0001	.	KP	LP	Het	Galactosemia	4/125
IMD_162	C5	0.81	1.909/ 1.599	<i>PC</i>	c.G440A	p.R147H	EP	VUS	Het	Pyruvate carboxylase deficiency	2/125
				<i>SLC7A7</i>	c.498_499insC	p.C167fs	EP	LP	Hom	Lysinuric protein intolerance	2/125
				<i>SLC7A7</i>	c.T498G	p.I166M	EP	VUS	Hom	Lysinuric protein intolerance	8/125
IMD_163	C4DC	0.8	1.109/ 1.080	<i>ALDH4A1</i>	c.1387dupG	p.A463fs	EP	LP	Het	Hyperprolinemia	4/125
				<i>TAT</i>	c.A574G	p.K192E	EP	VUS	Het	Tyrosinemia	1/125
				<i>PCCB</i>	c.C1148T	p.A383V	EP	VUS	Het	Propionic Acidemia	1/125
IMD_165	17 $\alpha$ -OHP/ FT4	12.0/0.7	16.3/ 0.6	<i>MTR</i>	c.3339delC	p.R1113fs	EP	LP	Het	Homocystinuria	11/125
				<i>AHCY</i>	c.T98C	p.M33T	EP	VUS	Het	Hypermethioninemia	4/125
IMD_166	17 $\alpha$ -OHP/ FT4	12.0/0.7	30/0.5	<i>SLC7A7</i>	c.T498G	p.I166M	EP	VUS	Het	Lysinuric protein intolerance	8/125
				<i>MTRR</i>	c.G754T	p.V252L	EP	VUS	Het	Homocystinuria	1/125
IMD_173	17 $\alpha$ -OHP	12	21.3	<i>NAGS</i>	c.A541G	p.T181A	EP	VUS	Het	N-acetylglutamate synthase deficiency	1/125
				<i>ETFDH</i>	c.A350G	p.H117R	EP	VUS	Het	Glutaric acidemia type II	1/125
IMD_175	17 $\alpha$ -OHP	12	49.9	<i>ALDH4A1</i>	c.1387dupG	p.A463fs	EP	LP	Het	Hyperprolinemia	4/125
				<i>AASS</i>	c.C2633A	p.T878N	EP	VUS	Het	Hyperlysinemia	1/125
IMD_179	17 $\alpha$ -OHP	12	23.9	<i>TPO</i>	c.C1626A	p.P542P	EP	VUS	Het	CH	1/125
IMD_180	17 $\alpha$ -OHP	12	12.2	<i>PCCB</i>	c.30_39del	p.V10fs	EP	LP	Het	Propionic Acidemia	1/125
IMD_181	17 $\alpha$ -OHP	12	36.6	<i>TPO</i>	c.T2423A	p.M808K	EP	VUS	Het	CH	1/125
IMD_184	Tyr	299.35	571.513/ 627.341	<i>NAGS</i>	c.A505T	p.M169L	EP	VUS	Het	N-acetylglutamate synthase deficiency	3/125
IMD_185	TSH/GAL	12.0/13.0	14/23.1	<i>PCCA</i>	c.C343A	p.P115T	EP	VUS	Het	Propionic Acidemia	1/125
IMD_188	TSH/FT4	12.0/0.8	32.6/0.7	<i>GALE</i>	c.G905A	p.G302D	KP	LP	Het	Galactosemia	3/125
				<i>PCCB</i>	c.G389T	p.G130V	EP	VUS	Het	Propionic Acidemia	2/125
IMD_190	TSH/FT4	12.0/0.8	45.1/0.7	<i>MTHFR</i>	c.C1417T	p.R473W	EP	VUS	Het	Homocystinuria	2/125
IMD_193	TSH	12	12	<i>QDPR</i>	c.G520A	p.G174R	EP	VUS	Het	Hyperphenylalaninemia	1/125
IMD_194	TSH	12	64.8	<i>HADHA</i>	c.T1947A	p.N649K	EP	VUS	Het	Trifunctional protein deficiency	2/125
				<i>SLC1A1</i>	c.G447C	p.M149I	EP	VUS	Het	Dicarboxylic aminoaciduria	1/125

(Continued to the next page)

Supplemental Data Table S10. Continued

Sample ID	Metabolite	cut-off*	NBS tests*	Gene	NT alteration	AA alteration	Conventional criteria	ACMG category	Zygosity	Disease	Frequency in PCD
IMD_195	TSH	12	16.6	<i>PAH</i>	c.968_969del	p.T323fs	EP	LP	Het	Hyperphenylalaninemia	1/125
				<i>MTRR</i>	c.C268T	p.R90W	EP	VUS	Het	Homocystinuria	1/125
				<i>CYP21A2</i>	c.G1084A	p.A362T	KP	LP	Het	CAH	1/125
IMD_198	TSH	12	18.3	<i>GCDH</i>	c.T32C	p.L11P	EP	VUS	Het	Glutaric acidemia type I	1/125
				<i>HADHA</i>	c.1689+2T>G		KP	P	Het	Trifunctional protein deficiency	1/125
				<i>AMT</i>	c.C751T	p.R251C	EP	VUS	Het	Nonketotic hyperglycinemia	1/125
IMD_199	TSH	12	15.2	<i>ACADM</i>	c.T622A	p.Y208N	KP	LP	Het	MCAD deficiency	1/125
IMD_200	TSH	12	12.9	<i>ACADS</i>	c.C164T	p.P55L	KP	LP	Het	SCAD deficiency	1/125
IMD_201	TSH	12	17.9	<i>GALE</i>	c.G1004A	p.R335H	KP	LP	Het	Galactosemia	1/125
IMD_202	TSH	12	12.5	<i>GALE</i>	c.C715T	p.R239W	KP	LP	Het	Galactosemia	1/125
IMD_205	TSH	12	12.7	<i>PAH</i>	c.C721T	p.R241C	KP	LP	ComHet	Hyperphenylalaninemia	1/125
				<i>PAH</i>	c.442-1G>A		KP	P	ComHet	Hyperphenylalaninemia	1/125
				<i>SLC25A13</i>	c.C674A	p.S225X	KP	P	Het	Citrullinemia	1/125
IMD_207	TSH	12	17	<i>MUT</i>	c.T1481A	p.L494X	KP	P	Het	MMA	1/125
IMD_213	Gal	13	17.1	<i>CBS</i>	c.C190G	p.P64A	EP	VUS	Het	Homocystinuria	1/125
IMD_214	Gal	13	21.4	<i>DUOX2</i>	c.T3239C	p.I1080T	KP	LP	ComHet	CH	2/125
				<i>DUOX2</i>	c.A2678G	p.N893S	EP	VUS	ComHet	CH	1/125
IMD_216	Gal	13	13.5	<i>DUOX2</i>	c.G4232A	p.C1411Y	KP	VUS	ComHet	CH	2/125
				<i>DUOX2</i>	c.G617T	p.G206V	KP	VUS	ComHet	CH	1/125
				<i>ETFDH</i>	c.1323delC	p.C441X	EP	LP	Het	Glutaric acidemia type II	1/125
IMD_218	TSH/FT4	12.0/0.7	44.2/0.7	<i>GCH1</i>	c.91_92insCACAG	p.G31fs	EP	LP	Het	Hyperphenylalaninemia	9/125
				<i>FAH</i>	c.C622T	p.P208S	EP	VUS	Het	Tyrosinemia	1/125
IMD_222	TSH	12	38.8	<i>NAGS</i>	c.A505T	p.M169L	EP	VUS	Het	N-acetylglutamate synthase deficiency	3/125
IMD_223	TSH	12	40.9	<i>PAH</i>	c.G728A	p.R243Q	KP	LP	Het	Hyperphenylalaninemia	1/125
				<i>GALT</i>	0.0001	.	KP	LP	Het	Galactosemia	4/125
IMD_224	TSH	12	12.9	<i>MTHFR</i>	c.T248G	p.M83R	EP	VUS	Het	Homocystinuria	1/125
IMD_227	TSH	12	47.6	<i>ASL</i>	c.C94T	p.R32W	EP	VUS	Het	ASA	1/125
IMD_228	TSH	12	20.2	<i>PC</i>	c.C2324T	p.T775M	EP	VUS	Het	Pyruvate carboxylase deficiency	1/125
IMD_229	FT4	0.7	0.6	<i>MTHFR</i>	c.C1475T	p.P492L	EP	VUS	Het	Homocystinuria	1/125
				<i>ETFDH</i>	c.G170A	p.W57X	EP	P	Het	Glutaric acidemia type II	1/125
IMD_231	FT4	0.7	0.1	<i>ACAT1</i>	c.C772T	p.R258C	EP	VUS	Het	3-oxothiolase deficiency	1/125
IMD_232	FT4	0.7	0.5	<i>CPS1</i>	c.A1778G	p.Y593C	EP	VUS	Het	CPS I deficiency	1/125
IMD_240	FT4	0.8	0.1	<i>GCH1</i>	c.91_92insCACAG	p.G31fs	EP	LP	Het	Hyperphenylalaninemia	9/125
IMD_241	FT4	0.8	0.5	<i>MMACHC</i>	c.A589G	p.N197D	EP	VUS	Het	MMA	1/125
IMD_242	FT4	0.8	0.7	<i>NAGS</i>	c.A505T	p.M169L	EP	VUS	Het	N-acetylglutamate synthase deficiency	3/125

(Continued to the next page)

Supplemental Data Table S10. Continued

Sample ID	Metabolite	cut-off*	NBS tests*	Gene	NT alteration	AA alteration	Conventional criteria	ACMG category	Zygoty	Disease	Frequency in PCD
IMD_243	FT4	0.8	0.6	<i>SLC7A7</i>	c.498_499insC	p.C167fs	EP	LP	Hom	Lysinuric protein intolerance	2/125
				<i>SLC7A7</i>	c.T498G	p.I166M	EP	VUS	Het	Lysinuric protein intolerance	8/125
IMD_247	FT4	0.8	0.5	<i>GCH1</i>	c.91_92insCACAG	p.G31fs	EP	LP	Het	Hyperphenylalaninemia	9/125
IMD_248	FT4	0.8	0.3	<i>GCH1</i>	c.91_92insCACAG	p.G31fs	EP	LP	Het	Hyperphenylalaninemia	9/125
IMD_250	FT4	0.8	0.7	<i>GCH1</i>	c.91_92insCACAG	p.G31fs	EP	LP	Het	Hyperphenylalaninemia	9/125
				<i>SLC25A13</i>	c.C1978A	p.P660T	EP	VUS	Het	Citrullinemia	1/125
IMD_252	Cit	55	61.588/ 55.158	<i>GCH1</i>	c.91_92insCACAG	p.G31fs	EP	LP	Het	Hyperphenylalaninemia	9/125
				<i>CBS</i>	c.A647G	p.N216S	EP	VUS	Het	Homocystinuria	1/125
IMD_254	C5	0.81	5.911/5.115	<i>SLC5A5</i>	c.A674G	p.N225S	EP	VUS	Het	CH	1/125
IMD_255	C5	0.81	3.73/3.993	<i>ALDH4A1</i>	c.A1334G	p.Y445C	EP	VUS	Het	Hyperprolinemia	1/125
				<i>GALE</i>	c.C629T	p.P210L	EP	VUS	Het	Galactosemia	1/125
				<i>CYP21A2</i>	c.293-13C>G		KP	LP	Het	CAH	2/125
IMD_256	C5	0.81	3.014/3.852	<i>PCCA</i>	c.G1598T	p.W533L	KP	LP	Het	Propionic Acidemia	9/125
				<i>AMT</i>	c.T767C	p.M256T	EP	VUS	Het	Nonketotic hyperglycinemia	1/125
IMD_257	C4DC	0.8	1.644/1.406	<i>ACAD8</i>	c.A529G	p.K177E	EP	VUS	Het	Isobutyryl-CoA dehydrogenase deficiency	1/125
IMD_259	C3	5	11.277/ 16.213	<i>PDP1</i>	c.G56A	p.R19K	EP	VUS	Het	Pyruvate dehydrogenase deficiency	2/125
IMD_261	C0, C5	7.0/0.81	1.608/0.080/ 1.845	<i>GCH1</i>	c.91_92insCACAG	p.G31fs	EP	LP	Het	Hyperphenylalaninemia	9/125
				<i>AHCY</i>	c.T98C	p.M33T	EP	VUS	Het	Hypermethioninemia	4/125
				<i>BTBD</i>	c.G1625T	p.R542M	EP	VUS	Het	Biotinidase deficiency	3/125
IMD_262	C0, C3	59.44/5	76.94/71.25, 4.913/5.586	<i>HAL</i>	c.G394A	p.V132M	EP	VUS	Het	Histidinemia	5/125
IMD_265	17 $\alpha$ -OHP/ FT4	12.0/0.12	39.3/0.4	<i>PCCA</i>	c.G1598T	p.W533L	KP	LP	Het	Propionic Acidemia	9/125
				<i>PCCB</i>	c.A1316G	p.Y439C	KP	LP	Het	Propionic Acidemia	3/125
IMD_266	17 $\alpha$ -OHP/ FT4	12.0/0.7	16.8/0.6	<i>PCCA</i>	c.G1598T	p.W533L	KP	LP	Het	Propionic Acidemia	9/125
				<i>GCH1</i>	c.91_92insCACAG	p.G31fs	EP	LP	Het	Hyperphenylalaninemia	9/125
				<i>PCCB</i>	c.A1316G	p.Y439C	KP	LP	Het	Propionic Acidemia	3/125
IMD_269	17 $\alpha$ -OHP/ FT4	12.0/0.8	20.8/0.5	<i>SLC7A7</i>	c.A1384G	p.R462G	EP	VUS	Het	Lysinuric protein intolerance	1/125
IMD_270	17 $\alpha$ -OHP/ FT4	12.0/0.14	104.4/0.7	<i>HAL</i>	c.G394A	p.V132M	EP	VUS	Het	Histidinemia	5/125
IMD_271	17 $\alpha$ -OHP/ FT4	12.0/0.15	102.3/0.5	<i>CPT2</i>	c.C1891T	p.R631C	KP	LP	Het	CPT deficiency	1/125
				<i>BCKDHA</i>	c.G736A	p.A246T	EP	VUS	Het	MSUD	2/125
IMD_273	17 $\alpha$ -OHP	12	14.1	<i>HPD</i>	c.G22A	p.G8R	EP	VUS	Het	Tyrosinemia	2/125

(Continued to the next page)

**Supplemental Data Table S10.** Continued

Sample ID	Metabolite	cut-off*	NBS tests*	Gene	NT alteration	AA alteration	Conventional criteria	ACMG category	Zygosity	Disease	Frequency in PCD
IMD_273	17 $\alpha$ -OHP	12	14.1	GLDC	c.G2137A	p.V713M	EP	VUS	Het	Nonketotic hyperglycinemia	1/125
IMD_274	17 $\alpha$ -OHP	12	27	GCH1	c.91_92insCACAG	p.G31fs	EP	LP	Het	Hyperphenylalaninemia	9/125
IMD_275	17 $\alpha$ -OHP	12	16.9	TSHR	c.G394C	p.G132R	KP	LP	Het	CH	1/125
				PCCB	c.G389T	p.G130V	EP	VUS	Het	Propionic Acidemia	2/125

Reference sequences of AASS, ACAD8, ACADM, ACADS, ACADSB, ACADVL, ACAT1, AHCY, ALDH4A1, AMT, ASL, ASS1, BCKDHA, BTD, CBS, CPS1, CPT2, CYP21A2, DBT, DLAT, DLD, DUOX2, DUOX2, ETFA, ETFB, ETFDH, ETHE1, FAH, GALE, GALK1, GALT, GCDH, GCH1, GLDC, GLYCK, HADHA, HAL, HLCS, HMGCL, HPD, MAT1A, MMAA, MMACHC, MMADHC, MTHFR, MTR, MTRR, MUT, NAGS, OAT, OTC, PAH, PC, PCCA, PCCB, PDP1, PDX1, PRODH, QDPR, SLC1A1, SLC22A5, SLC25A13, SLC25A15, SLC25A20, SLC5A5, SLC6A8, SLC7A7, TAT, TPO, and TSHR were NM\_005763, NM\_014384, NM\_001286044, NM\_000017, NM\_001609, NM\_001033859, NM\_000019, NM\_000687, NM\_001161504, NM\_001164710, NM\_001024944, NM\_054012, NM\_000709, NM\_000060, NM\_000071, NM\_001122634, NM\_000098, NM\_001128590, NM\_001918, NM\_001931, NM\_000108, NM\_014080, NM\_207581, NM\_001127716, NM\_001014763, NM\_001281738, NM\_014297, NM\_000137, NM\_001127621, NM\_000154, NM\_000155, NM\_000159, NM\_000161, NM\_000170, NM\_145262, NM\_000182, NM\_001258333, NM\_000411, NM\_001166059, NM\_002150, NM\_000429, NM\_172250, NM\_015506, NM\_015702, NM\_005957, NM\_001291939, NM\_024010, NM\_000255, NM\_153006, NM\_000274, NM\_000531.5, NM\_000277, NM\_022172, NM\_001127692, NM\_000532, NM\_001161781, NM\_000209, NM\_001195226, NM\_000320, NM\_004170, NM\_003060, NM\_001160210, NM\_014252, NM\_000387, NM\_000453, NM\_001142805, NM\_001126105, NM\_000353, NM\_175721, and NM\_000369, respectively.

Units of TSH, FT4, and 17-OHP were mU/L, ng/dL, and ng/mL, respectively. The unit of the other metabolites were  $\mu$ mol/L.

Abbreviations: KP, known pathogenic based on the Human Genome Mutation Database (DM) or ClinVar (pathogenic) databases; EP, expected pathogenic based on population frequency, *in silico* prediction, and mutation type (loss of function mutations); LP, likely pathogenic; VUS, variant of unknown significance; Het, heterozygous; ComHet, compound heterozygous; Hom, homozygous; CH, Congenital hypothyroidism; MMA, Methylmalonic Acidemia; CPS I deficiency, Carbamoyl phosphate synthetase I deficiency; 2-MBCAD deficiency, 2-Methylbutyryl-coenzyme A dehydrogenase deficiency; CACT deficiency, Carnitine acylcarnitine translocase deficiency; ASA, Argininosuccinic aciduria; OAT deficiency, Ornithine carbamoyltransferase deficiency; MSUD, Maple syrup urine disease; CPT deficiency, Carnitine palmitoyl transferase deficiency; CAH, Congenital adrenal hyperplasia; 17 $\alpha$ -OHP, 17-hydroxyprogesterone; TSH, thyroid stimulating hormone; FT4, Free T4.