



Neonatoloji Perspektifinden Selektif Metabolik Tarama Testleri

Selective Metabolic Screening from a Neonatology Perspective

Hasan Sinan Uslu, Adil Umut Zübarioğlu, Ali Bülbül

Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Yenidoğan Yoğun Bakım Kliniği, İstanbul, Türkiye

ÖZET

Metabolizma hastalıkları tek başına ele alındıklarında oldukça nadir görülen hastalıklar olmakla birlikte kümülatif anlamda düşünüldüklerinde canlı doğumların yaklaşık 1:3,000 – 4,000'ini etkilemektedirler. Özellikle hastalıkların genetik olarak taşındıkları göz önüne alındığında "metabolik hastalıkların tarama programları" sadece yaşamayı değil kaliteli yaşatmayı hedefleyenler için büyük önem taşımaktadır. Yenidoğanlarda yapılabilen taramalar, genel tarama testleri ve selektif tarama testleri olarak iki grupta incelenebilir. Genel tarama testleri ise, Yenidoğan Metabolik Tarama Programı ve Genişletilmiş Yenidoğan Taraması olarak kendi içinde ikiye ayrılmaktadır. Metabolik hastalıkların büyük bölümünde doğumda etkilenme olmadığından herhangi bir klinik bulgu olmaksızın canlı doğan tüm yenidoğanlara uygun zaman sürecinde tarama programları uygulanmaktadır. "Yenidoğanda Metabolik Tarama Programı" olarak adlandırılan bu uygulama ülkenin gerçeklikleri göz önüne alınarak farklı hastalıklara yönelik farklı tarama testleri yapılmakta ve yine farklı sınır değerler uygulanmaktadır. Ulusal tarama programı içerisinde yer alamayan fakat Tandem Kütle Spektrometresi (Tandem MS/MS) ile çok pahalı analitik bir cihaz olmasına rağmen test maliyeti uygun, 1 damla kandan 30'un üstünde hastalık taramasının mümkün olduğu tarama testi uygulanmaktadır. Son 15 yıl içinde yaygınlaşmış olan bu uygulama "Genişletilmiş Yenidoğan Taraması" olarak tanımlanmaktadır. Metabolik hastalık açısından pozitif aile hikayesi olan (ailede tanımlanmış metabolik hastalık varlığı veya metabolik hastalık nedeniyle ölüm öyküsü olma) ve/veya metabolik hastalığı düşündürecek klinik semptomu olan yenidoğanlarda hedeflenen metabolik hastalık veya metabolik hastalık grubuna yönelik seçilmiş testlerin uygulanması "Selektif Metabolik Tarama Testleri" olarak kabul edilmektedir. Genellikle gelişmekte olan ülkelerde gerçekleştirilen bir stratejidir. Amaç, ciddi sorunlara yol açabilen en fazla sayıda metabolik hastalığın en kısa süre içerisinde tanımlanması için mümkün olduğunca ipucu elde etmektir. Öte yandan "selektif tarama testi negatifse hastalık yok" anlamına gelmediği bilinmelidir. Kalıtsal metabolik hastalıkları erken tanımayla yönelik gerçekleştirilen yenidoğanın metabolik tarama testleri temelde bir toplum sağlığı hizmetidir. Bu yönü ile düşünüldüğünde sadece bir laboratuvar hizmeti değil; eğitim, veri değerlendirilmesi, tanı, tedavi ve uzun dönem yönetsel anlayışı içine alan bir sistemler bütünlüğüdür. (JAREM 2015; 5: 39-46)

Anahtar Sözcükler: Yenidoğan, selektif, metabolik, tarama

ABSTRACT

Metabolic diseases are quite rare diseases when considered alone, but they are affecting approximately 1:3,000–4,000 of live births when considering the cumulative meaning. Particularly considering that diseases are inherited genetically, "screening programs for metabolic disease" is very important for those aiming people not only live but also quality to live. Screening feasible in neonates can be analyzed in two groups such as general screening and selective screening tests. The general screening tests are further divided into Newborn Metabolic Screening Program and Expanded Newborn Screening. As a large part of metabolic diseases do not affect the baby at birth, all live-born neonates without any clinical findings are implemented in the process of screening programs at a proper time. This application is called as "Newborn Metabolic Screening Program," and it is made considering the reality of each country with different diseases and limit values. Tandem mass spectrometry (Tandem MS/MS) can not take place in a national screening programme; although a very expensive analytical instrument, the testing is cost-effective because screening of more than 30 diseases is possible with one drop of blood. This practice has been widespread since the last 15 years defined as "Expanded Newborn Screening." Newborns with a positive family history for metabolic disease (defined as metabolic disease or death from a metabolic disease in the family) and/or neonates with clinical symptoms suggestive of metabolic diseases; implementation of selected tests for targeted metabolic disease or metabolic disease group considered as "Selective Metabolic Screening Tests." This is, usually, a strategy carried out in developing countries. The aim is to get a clue to define the maximum number of possible metabolic diseases in the shortest period that can lead to serious problems. On the other hand, it should be known that if the "selective screening test is negative," it does not mean "there is no disease". Newborn metabolic screening tests performed for the early recognition of inherited metabolic diseases is basically a public health service. Considering this aspect, it is not only a laboratory service but also an integration of systems including education, data assessment, diagnosis, treatment, and long-term management approach. (JAREM 2015; 5: 39-46)

Keywords: Newborn, selective, metabolic, screening



Metabolizma hastalıkları tek başına ele alındıklarında oldukça nadir görülen hastalıklar olmakla birlikte kümülatif anlamda düşünüldüklerinde canlı doğumların yaklaşık 1:3,000 - 4,000'nini etkilemektedirler (1-3). Özellikle hastalıkların genetik olarak taşındıkları göz önüne alındığında akraba evliliklerinin dünya ortalamalarının çok üzerinde gerçekleştiği (en düşük oran %12,8 ile Batı Anadolu'da, en yüksek oran ise %35 ile Güneydoğu Anadolu'dadır, Türkiye genel ortalaması %21 olup bu evliliklerin %70'i 1. derece kuzen evliliğidir), perinatal merkez kavramının yerleşmediği, antenatal bakımın ve genetik danışmanlığın farkındalığının ve öneminin sağlık politikalarını belirleyen kanun koyucularca hatta sağlık çalışanlarınca hassasiyetle dikkate alınmadığı ülkemizde "metabolik hastalıkların tarama programları" sadece yaşamayı değil kaliteli yaşatmayı hedefleyenler için büyük önem taşımaktadır (4, 5). European Agency for Health and Consumers (EAHC) 2011 yılında yayınladığı raporunda 40 ülke içinde ülkemizin (sadece Arnavutluk ve Kosova bildirmemiş) veri tabanının olmayışı üzücü ve ciddi bir diskordans olarak karşımıza çıkmaktadır (6). Carlson (7) yenidoğan tarama programlarını geçtiğimiz yüzyılın en önemli çocuk sağlığı gelişmesi olarak tanımlamaktadır. Kalıtsal metabolik hastalıkları erken tanılamaya yönelik gerçekleştirilen yenidoğanın metabolik tarama testleri temelde bir toplum sağlığı hizmetidir. Bu yönü ile düşünüldüğünde sadece bir laboratuvar hizmeti değil; eğitim, veri değerlendirilmesi, tanı, tedavi ve uzun dönem yönetsel anlayışı içine alan bir sistemler bütünlüğüdür.

Metabolik Hastalıklarda Tanısal Yaklaşımda Güçlükler ve Sonuçları

Tanıda gecikme: Doğru sanılan yanlışlar...

- Ender görülür.
- Metabolik hastalıkların tanısı için çok geniş bilgiye ihtiyaç vardır hatta biyokimyasal reaksiyonları çok iyi bilmek gerekir. Bu nedenle tanı koymak çok zordur.
- Ortaya çıkan semptomların nonspesifik bu nedenle tanı ancak sepsis, intrakraniyal kanama, konjenital kalp hastalığı gibi sık görülen hastalıklar elendikten sonra akla getirilmelidir.
- Tanı konulsa bile tedavi edilmeleri olanaksızdır.
- Tüm metabolik hastalıklar ölüm ya da zeka geriliği ile sonlanır.

Tanıda gecikmeler;

- Ciddi kalıcı sekellerin ortaya çıkması,
- Tanı konulamadan hastanın kaybedilmesi,
- Sonraki gebeliklerde prenatal tanı şansının ortadan kalkmasına yol açmaktadır.

Yenidoğanda Metabolik Tarama Testleri: Sınıflama ve Tanımlamalar

1. Genel Tarama Testleri

1.A. Yenidoğan Tarama Programı

Metabolik hastalıkların büyük bölümünde doğumda etkilenme olmadığından herhangi bir klinik bulgu olmaksızın canlı doğan tüm yenidoğanlara uygun zaman sürecinde tarama programları uygulanmaktadır. "Yenidoğanda Metabolik Tarama Programı" olarak adlandırılan bu uygulama çerçevesinde tüm yenidoğanlara (seçici olmayan) her ülkenin gerçeklikleri göz önüne alınarak farklı hastalıklara yönelik farklı tarama testleri yapılmakta ve yine farklı sınır değerler uygulanmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü Wilson-Jungner kriterlerine göre ulusal tarama programlarına alınacak hastalıklar

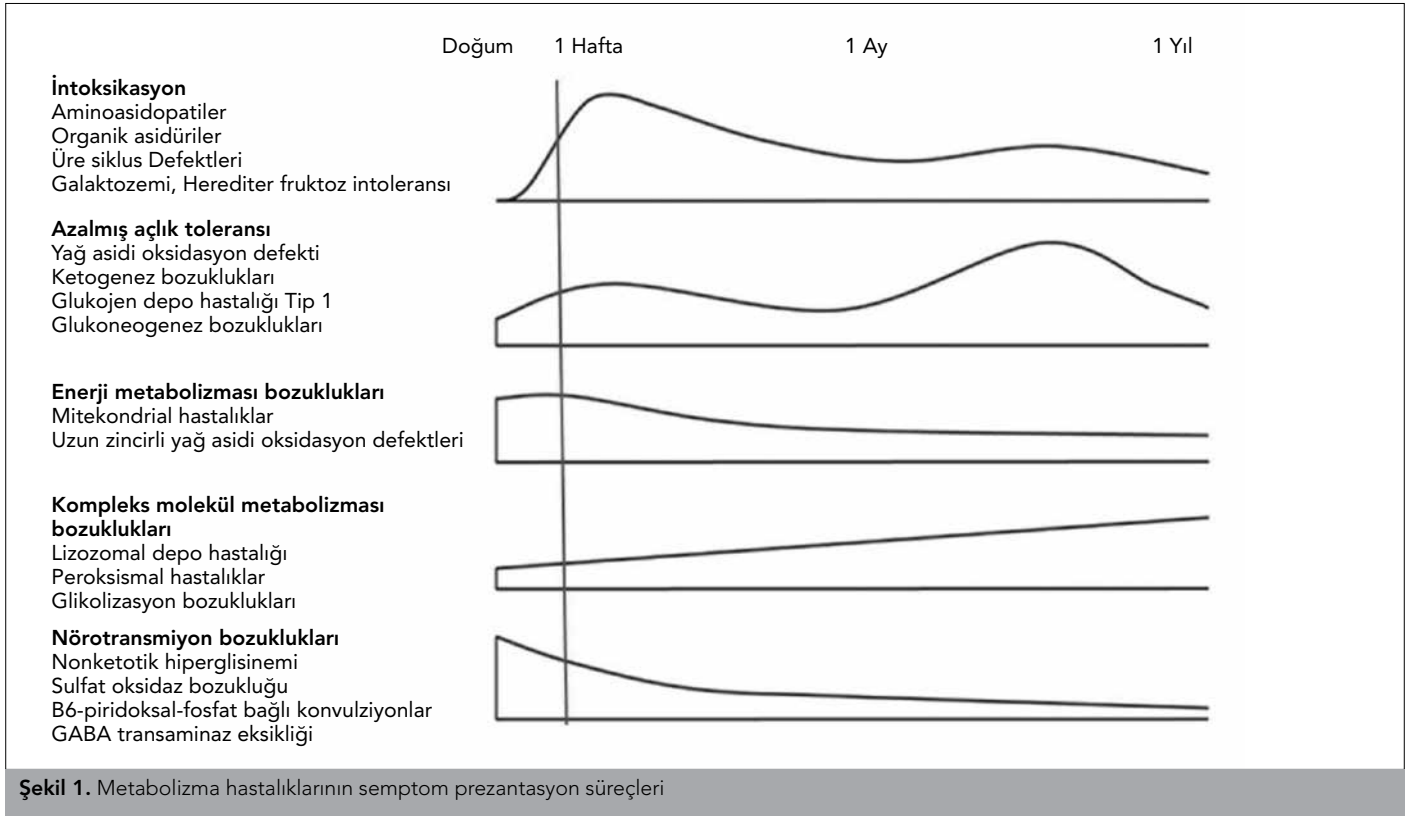
aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır: 1. Toplumda hastalık sıklığı yüksek önemli bir sağlık problemi olmalıdır (1:20,000'den daha sık); 2. Patolojik durumun doğal seyri yeterince anlaşılmalıdır; 3. Erken aşamalarında tanınabilir olmalıdır; 4. Uygun bir test prosedürü olmalıdır; 5. Test toplumun tüm popülasyonunu kapsamalıdır; 6. Testin tekrarlanacak aralıkları net bir şekilde tespit edilmelidir; 7. Etkin bir tedavisi olmalıdır; 8. Kesin tanı imkanı olmalıdır; 9. Hangi hastaların tedavi edileceğine yönelik mutabakata varılmış bir yöntem olmalıdır; 10. Test maliyet-yarar oranı ekonomik olarak dengeli olmalıdır (8). American College of Medical Genetics metabolik tarama kriterleri ise; 1. Klinik karakteristikler (insidans, tedavi edilmemiş hastalığın hastalık yükü, fenotip) 2. Tarama testlerinin analitik karakteri (kullanılabilirliği) 3. Tanı, tedavi ve akut ve kronik formların yönetimi ile ilişkilendirilmiş skorlama yöntemi; skor ≥ 1200 ise testin tarama testi olma uygunluğu mevcuttur, skor < 1000 ise uygun değildir. 1000-1199 ise etkin tedavisi veya hastalığın doğal seyri henüz ortaya konmamıştır, çalışmalar sürdürülmelidir (9). Ülkelerin sağlık sistemlerinin gelişmişliği, bu listedeki hastalık sayısının çokluğu ile paralellik gösterir. Ülkemizde Hipotiroidi (geçici 1:1.973, disgenез 1:3.707, dishormonogenез 1:9.140), Fenilketonüri (1:4.500), Biotinidaz (1:11.144) ve en son Kistik Fibroza (1:3.000) yönelik olarak ulusal tarama programı yönetilmektedir.

1.B. Genişletilmiş Yenidoğan Taraması

Ulusal tarama programı içerisinde yer alamayan fakat Tandem Kütle Spektrometresi (Tandem MS/MS) ile çok pahalı analitik bir cihaz olmasına rağmen test maliyeti uygun, 1 damla kandan 30'un üstünde hastalık taramasının mümkün olduğu tarama testi uygulanmaktadır. Son 15 yıl içinde yaygınlaşmış olan bu uygulama "Genişletilmiş Yenidoğan Taraması" olarak tanımlanmakta bu program çerçevesinde Wilson-Jungner tarama kurallarına uymayan hastalıklar da taranmakta, çeşitli etik sorunlar nedeniyle farklı tarama listeleri oluşturulmaktadır (9). Genişletilmiş yenidoğan taraması ile taranabilen hastalıklar; Yağ asidi oksidasyon defektleri, üre döngüsü bozuklukları, aminoasit metabolizması bozuklukları, organik asidemiler, bazı ülkeler için galaktozemi, konjenital adrenal hiperplazi, bazı lizozomal depo hastalıkları, orak hücreli anemi, konjenital enfeksiyon taramaları, hemoglobinopatiler, alfa-1-antitripsin eksikliği de bu tarama testleri içinde değerlendirilmektedir. Birçok gelişmiş ülke MS/MS teknolojisi eşliğinde neonatal tarama programlarını genişletmiştir. Örneğin Avusturya MS/MS analizi ile taranabilecek tüm hastalıkları ele alırken, Amerika Birleşik Devletleri (farklı eyaletlerde) 29-57, Hollanda 17, Danimarka 13, Almanya 12 iken, Çin (farklı bölgelerde) 5-30, Hindistan (farklı bölgelerde) 5-50 hastalığı genişletilmiş yenidoğan taramalarına dahil ederken Pakistan ve Bangladeş konjenital hipotiroidi, İran ise sadece konjenital adrenal hiperplaziyi tarama programı kapsamına almıştır (10, 11).

2. Selektif Metabolik Tarama Testleri

Metabolik hastalık açısından pozitif aile hikayesi olan (ailede tanımlanmış metabolik hastalık varlığı veya metabolik hastalık nedeniyle ölüm öyküsü olma) ve/veya metabolik hastalığı düşündürecek klinik semptomu olan yenidoğanlarda hedeflenen metabolik hastalık veya metabolik hastalık grubuna yönelik seçilmiş testlerin uygulanması "Selektif Metabolik Tarama Testleri" olarak kabul edilmektedir. Genellikle gelişmekte olan ülkelerde gerçekleştirilen bir stratejidir. Amaç, ciddi sorunlara yol açabilen en fazla sayıda metabolik hastalığı en kısa süre içerisinde tanımlanması



Şekil 1. Metabolizma hastalıklarının semptom prezantasyon süreçleri

için mümkün olduğunca ekonomik ipucu elde etmektir (12). Bu programda laboratuvar çalışması pahalı, ayrıntılı olup hasta hakkındaki değerlendirmeler ve konsültasyonlar doğru yaklaşımlar açısından çok önemlidir. Bu yönü ile deneyim ve uzmanlık gerektirmektedir. Öte yandan "selektif tarama testi negatifse hastalık yok" anlamına gelmediği bilinmelidir (13).

Selektif Metabolik Tarama Testlerinin Önemi Nedir?

Tanıda gecikmeye yol açan anlayışın tersine metabolik hastalıkların ön tanısı, aile öyküsü, klinik bulgular ve her hastada yapılabilen ilk basamak incelemeler ile konulabilmekte ve acil yaklaşım yapılabilmektedir. İşte bu noktada selektif metabolik tarama testlerinin iyi planlanması ve yorumlanması kritik öneme sahiptir.

Selektif Metabolik Tarama Testleri ile İlgili Önemli Noktalar

- Hiçbir test tek başına bütün metabolik hastalıkların tanısının konulması için yeterli değildir.
- Eğer doğumsal metabolik hastalıkların tanısı için gerekli örnekler, hastalığa ait karakteristik bulguların ortaya çıkacağı zamanda ve uygun şekilde alınmazsa spesifik tanı atlanabilir ve özellikle akut bozulma ile seyreden hastalıklarda ikinci bir şans da olmayabilir.
- Seçilecek testler hastanın klinik bulgularına ve rutin biyokimyasal incelemelerin sonuçlarına göre belirlenmelidir.
- Selektif tarama testlerinin primer rolünün kesin tanıyı koymak değil tarama amaçlı olduğu asla unutulmamalıdır.
- Her hastada yapılabilen rutin biyokimyasal testlerle olası bir metabolik hastalığı olan hastanın saptanması ve ilk acil tedavi yaklaşımının sağlanmasına karşın kesin tanı daha özel metabolik testlerin yapılmasını gerektirir.
- Selektif tarama testlerinin negatif olması hastalığın olmadığı anlamına gelmez.

Selektif Metabolik Tarama Testleri Nelerdir?

Yukarıda sayılan önemli noktalara istinaden selektif metabolik tarama testlerini basamaklandırıp kategorize ettikten sonra örneklerin toplanma şekli, zamanlaması, koruma ve taşıma koşulları hakkında bilgi verilmeye çalışılacaktır. Tıbbın birçok konusunda olduğu gibi hatta üzerinde konsensus oluşturulamamış, çok daha fazla tartışmaya açık ve didaktik yapıda olması nedeniyle metabolik hastalıkların selektif testleri ile ilişkili bilgiler ülkeden ülkeye, bölgeden bölgeye, merkezden merkeze ve hatta aynı klinikteki klinisyenler arasında bile ciddi yaklaşım farklılıkları içermektedir.

Hiçbir klinik semptomu olmayan aile öyküsünde şüphe tanımlanan (anne baba arasında akrabalık olması ve beraberinde ani bebek ölüm sendromu ve/veya yenidoğan döneminde tanı almamış ölüm hikayesi veya tek başına ani bebek ölüm sendromu ve/veya yenidoğan döneminde tanı almamış ölüm hikayesi varlığı) veya nonspesifik bulgular içeren hastalarda seçilecek testlerdir. Amaç, yenidoğan döneminde ortaya çıkabilecek problemleri en az tetkik yaparak en fazla sayıda olanını 48-72. saatlerde gerçekleştirilecek (kırmızı çizgi) tarama testi ile tanımlayabilmektir (Şekil 1).

A. İdrar Tetkikleri

Spot İdrarda Metabolik Testler

Spot idrarda tarama testleri yapılırken dikkat edilecek genel hususlar;

1. Hasta hazırlığı: Halen halihazırda ilaç alıp almadığı, aktif enfeksiyonun var olup olmadığı ve yakın zamanda transfüze edilip edilmediği belirlenmelidir.
2. Örnek alınması: En iyi örnek hastaya herhangi bir intravenöz (IV) sıvı verilmeden alınmalı, taze idrar alınmalı (mümkünse hasta

başı, ilk 30 dakikada çalışılacak) ve ilk 30 dakikada çalışılmayan örnekler dondurularak saklanmalıdır.

3. Ön işlem: Laboratuvara ulaşan numunenin yalancı pozitifliğine neden olabilecek etkenler açısından incelemesi yapılır (dansite, pH, protein, keton, nitrit, lökosit estera).

Dinitrofenilhidrazin (DNPH) testi

Tanım: İdrarda alfa ketoasit atılımına bakılır.

Taranan hastalıklar: Klasik Fenilketonüri, Akçaağaç şurubu hastalığı (MSUD), Tirozinemi Tip 1 ve 2.

Yanlış pozitiflik: Ketozisi olan hastalarda.

İnterferans: Radyoopak maddeler, bazı antibakteriyel ilaçlar (yüksek doz ampisilin).

Örneğin çalışılması: 1 mL süzölmüş idrara 10 damla DNPH ayıracı (100 mg dinitrofenilhidrazin 100 mL HCl içinde çözülür. Kahverengi şişelerde ve buzdolabında saklanmalıdır) konur. 10 dk. içinde sarı ya da tebeşir beyazı çökelek oluşması pozitif reaksiyonu gösterir.

Siyanid nitroprussid testi

Tanım: İdrarda sistin ve homosistein atılımına bakılır.

Taranan hastalıklar: Homosistinüri, sistinüri.

Yanlış pozitiflik: Asetoasetat, penisilinamin, kaptopril ve penisilin kullanılıyorsa.

Yanlış negatiflik: Bakteriyel kontaminasyon.

Örnek alınması: Sabahki taze idrar kullanılmalıdır.

Örneğin çalışılması: 5 mL idrara birkaç damla konsantre amonyak ve 2 mL %5'lik sodyum siyanidin taze çözeltisinden konur. 5-10 dk. reaksiyonun tamamlanması beklenir. Daha sonra karışıma 5 damla %5'lik taze hazırlanmış Na nitroprussid eklenir ve çözelti karıştırılır. Normal idrar sabit bir sarı renk veya soluk kahverengi bir reaksiyon verirken idrar kükürt içeriyorsa erguvani kırmızı sabit bir renk oluşması pozitif reaksiyonu gösterir.

Siyanid nitroprussid testindeki Na siyanür yerine gümüş nitrat kullanılırsa sadece homosistinüriye özgü mor renk oluşur.

İdrarda indirgeyici (redüktan) madde aranması

Tanım: İdrarda indirgen şeker (glukoz, galaktoz, fruktoz, laktoz, mannoz, ksiloz fakat sukrozda değil) atılımı araştırılır. Bazik bir çözeltide aldehit veya keton oluşturan şekerler indirgeyicidir.

Taranan hastalıklar: Galaktozemi, herediter fruktoz intoleransı, tirozinemi tip 1 ve 2.

Yanlış pozitiflik: Homogentisik asit (Alkaptonüri) homogentisik asidin kendisi idrardaki redüktan maddelerden birisidir.

İnterferans: Kontrast madde, askorbik asit, sefalosporin ve ampisilin kullanımı.

Örneğin çalışılması: Benedict, Fehling ayıraçları dışında sıklıkla Clinitest tablet ile gerçekleştirilmektedir. Bir test tüpüne 5 damla idrar ve 10 mL su konur ve karıştırılır. Üzerine 1 adet clinitest tablet konur ve 15 saniye sonra tüp karıştırılır. Mavi renk reaksiyonun negatif olduğunu, sarı-yeşil-kiremit kırmızısı renk ise pozitif reak-

siyonu gösterir. Bazı durumlarda idrarda şeker miktarı az olursa 15 dakika daha beklenip kırmızı çökelek aranmalıdır.

B. Kan Tetkiki

Tandem MS/MS - Ardışık Kütle Spektrometresi

Tarihsel Perspektif

1966 yılında Tanaka ve ark.nın (14) gaz kromatografi kütle spektrometresi (mass spektrometre: MS) ile izovalerik asidemiyi tanımlamalarıyla birlikte cihaz metabolik hastalıkların tanısında kullanılmaya başlamıştır. 90'lı yıllarda Edwin Naylor ve diğer araştırmacılar ardışık kütle spektrometresini gaz kromatografisi olmaksızın kan açılarnitin ve aminoasit düzeylerini ölçmede kullanmaya başlamışlardır (15). Bu durum yenidoğan taramalarında yeni bir çığır açmış, kan açılarnitin ve aminoasit düzeylerini etkileyen birçok konjenital metabolik hastalık aynı örnekte kısa sürede taranabilir hale gelmiştir.

Kütle Spektrometreleri Çalışma Prensipleri

Manyetik ya da elektriksel bir alanda hareket eden yüklü partikülleri kütle/yük (m/z) oranlarına göre diğer partiküllerden ayırarak analizleme esasına göre çalışmaktadır (16).

Guthrie kağıdı üzerine alınmış kan örneklerinden metanol ile elde edilen kısım, "soft iyonizasyon" veya "elektrospray" yöntemi ile cihaza yüklenir. İlk filtreleme kısmında iyonize olan ve iyonize olmayan moleküller ayrılır. İyonize ana moleküller daha sonra cihazın "çarpılma ünitesi" denilen bölümüne gelirler. Burada inert gazların (argon gazı, vb.) etkisi ile ana moleküller elektron yüklü daha küçük parçalara parçalanırlar (fragmentasyon). Ana molekülden ayrılan daha küçük iyonlar ikinci bir filtrede kütlelerine göre ayrıştırılır. Moleküller iyonlarına kütle/yük oranına göre ayrılır (17, 18). Cihazda bulunan iki MS aracılığıyla belli bir ana molekülün öncüsü olan küçük iyonize moleküller ile ana moleküller taranır ve gruplandırılırlar. Ana molekülden ayrılan küçük moleküllerin oluşturduğu spektrum, bu ana molekül için karakteristiktir. Cihazda iki adet kütle spektrometresi bulunduğundan MS/MS olarak gösterilir (19).

Niye Tandem MS/MS?

- Örnek miktarı çok az, örnek alımı ve saklama işlemleri kolay, taşıma basit.
- Çok sayıda hastalığı aynı anda, çok kısa sürede (yaklaşık 2-3 dakika) tarayabilmesi.
- Maliyet/yarar etkin.
- Yalancı negatiflik düşük (%0,26).

İdeal Zamanlama

Yenidoğan metabolik tarama testlerinde hastalığı saptamak için en uygun zaman dilimi, doğumdan sonraki 48-72. saattir. Buradaki amaç entoksikasyon tipi metabolik hastalıkları yakalamaya yöneliktir; yenidoğanın yeterli beslenmesi ve metabolik yolaktaki bozukluğa bağlı olarak patolojik metabolitlerin analiz edilebilecek düzeye erişmesi esas alınır. Kan örneği alma zamanı bazı durumlarda değişebilir. Selektif olarak yağ asidi oksidasyon defekti hedefleniyorsa 24-36 saat arasında yapılması daha uygundur. Eğer anne hastaneden erken taburcu oluyorsa hastaneden çıkış zamanına en yakın süre olacak şekilde bebekten örnek alınmalı, ancak bu gibi durumlarda yaşamın 14. gününden evvel ikinci kez kan örneği alınıp test tekrarlanmalıdır (16, 19, 20).

Özel Durumlar

Transfüze edilen, parenteral nutrisyon verilen, diyaliz uygulanan, kortikosteroid, antibiyotik veya dopamin tedavisi alan bebeklerde örnek işlem öncesinde alınmalıdır.

Transfüzyon; galaktozemi ve hemoglobinopatiler için yalancı negatif sonuç oluşturduğundan son transfüzyondan 3-4 ay sonra tarama tekrarlanmalıdır. Diğer kalıtsal hastalık tarama sonuçları transfüzyondan 4-72 saat içerisinde yalancı negatiflik riski taşır.

Parenteral nutrisyon (PN); aminoasit ve yağ asidi incelemesi için yalancı pozitifliğe yol açabilir. Birden fazla aminoasitte anormal sonucun elde edilmesi PN nedeniyle artmış serbest aminoasit veya karaciğer hastalıklarına sekonder gelişebilmektedir. Parenteral nutrisyon sıvıları orta zincirli yağ asidi içerdiğinden kanda yüksek sonuçlara neden olabilir. Uzun PN karnitin tüketimine yol açabilir. İzovalerik asidemi (IVA) açısından (yüksek C5) yalancı pozitifliğe neden olabilir. Yapılan tarama testinde anormal sonuç elde edilen bebeklerde PN sonlandırıldıktan 24-72 saat sonra tekrarlanmalıdır.

Maternal problemler; hipertiroidizm nedeniyle propiltiourasil ile tedavi edilen anne bebeklerinde geçici hipotiroidizm (yüksek TSH) olacağından ve bu bebeklerde ilacın etkisi 7-14 gün süreceğinden test 2. haftada tekrarlanmalıdır.

Konjenital adrenal hiperplazili (KAH) anne bebeklerinde de 17 hidroksi progesteron (17-OHP) yalancı pozitif sonuçlanacağından test doğumdan 3-7 gün sonra gerçekleştirilmelidir.

KontROLSÜZ fenilketonüri (PKU) annelerin bebeklerinde geçici hiperfenilalanin saptanabileceğinden bebekte PKU olmadıkça bu durum 12-24 saat içerisinde normale gelmesi beklenir.

Annesi hamileliği sırasında steroid tedavisi alan yenidoğanlarda KAH testleri yalancı pozitif sonuç verebilir. Bu etki steroidin tipine, dozuna bağlı olmakla birlikte yaklaşık 1-2 hafta devam edebilir. Test 2 hafta sonra tekrarlanmalıdır.

Maternal karnitin veya Vitamin B₁₂ eksikliği C0 (karnitin) ve C3 (Vitamin B₁₂) sonuçlarında yalancı pozitifliğe yol açabilir. Bu etki günlerce devam edebilir. Yenidoğana verilen karnitin suplementasyonu da yalancı negatiflik yaratabilir ve diğer açlık karnitin sonuçlarında yalancı pozitiflik yaratabilir. Bu durumda test 4 günden sonra tekrarlanmalıdır.

Hasta yenidoğanda; strese bağlı 17-OHP ve immünoreaktif triptosinojen (IRT) düzeyleri yükselebilir. Bu nedenle KAH ve kistik fibroz (KF) açısından yalancı pozitiflik ortaya çıkabilir. Karaciğer hastalıkları ve sarılık birçok durumda (tirozinemi, homosistinüri, PKU, KF, biotinidaz eksikliği) yalancı pozitifliğe yol açabilir.

Preterm veya düşük doğum tartısı olan bebeklerde; yüksek tirozin ve 17-OHP ve düşük biotinidaz düzeyleri sıklıkla ortaya çıkabilir. İmmatür karaciğer enzimleri nedeniyle aminoasit bozukluklarında yalancı pozitiflik görülebilir. Yine hipotalamik/hipofizer/tiroid aksının immatür olması [düşük tiroksin (T4) düzeyine yeterli tiroid stimulan hormon (TSH) cevabı oluşmadığından dolayı] prematüre bebeklerde hipotiroidizm açısından yalancı negatiflik yaratabilir. Bu durum 1 aydan daha uzun sürebilir. Hipotiroidizm ise genellikle geçicidir. Prematürelerde (<32. gebelik haftası) ilk örnek 48-72. saat civarında alınmalı; eğer hastanede kalış 14 günden uzunsa taburcu olmadan önce, 1 aydan uzunsa 1. ayda

alınacak yeni bir örnekte yinelenmelidir. Prematüre bebekler için düzeltilmiş yaş terme ulaştığında da tekrarlanmalıdır.

Dopamin tedavisi; TSH supresyonu yaparak hipotiroidizm için yalancı negatiflik yaratabilir.

Steroid tedavisi; TSH'yi suprese edebilir ve hipotiroidizm açısından yalancı negatiflik görülebilir. KAH açısından da yalancı negatiflik yaratabilir. Bu etki tedavi sonlandırıldıktan 1-2 hafta sonra ortadan kalkar.

Antibiyotik tedavisi; pivalik asitle konjuge antibiyotikler (ampisilin, amoksisilin, sefazolin ve çok sayıda yarı sentetik antibiyotik üretiminde yer alır) C5 düzeyini (IVA için yalancı pozitiflik) yükseltirler. Bu etki ilacın kesilmesinden 24 saat sonra sonlanır.

Erken örnekleme; doğum sonrası hormonların dalgalanmaları nedeni ile hipotiroidizm ve KAH açısından yalancı pozitiflik yaratabilir. İlk 24 saatte alınan örneklerde aminoasit ve organik asit bozuklukları açısından yalancı pozitiflik ortaya çıkabilir.

Geç örnekleme; özellikle yağ asidi oksidasyon defekti sadece katabolizma süresince tanımlanabildiğinden iyi beslenmiş bebeklerde 48 saatten sonra alınan kanlarda yalancı negatiflik yaratabilir. Bu nedenle bebeğin ilk örneğinde pozitif çıkan sonuç daha sonra alınan örnekte negatif ise ilk değerlendirme yalancı pozitif olarak yorumlanmamalı ve tanısal testler ile konfirme edilmelidir. Tandem MS/MS için örneğin uygunsa 24-36 saat arasında alınması önerilir. Yağ asidi oksidasyon defektleri için yalancı pozitiflik nadir bir durumdur.

Öte yandan erken metabolik krizlerle seyredebilen hastalıklarda (galaktozemi, MSUD, tuz tutucu KAH, üre siklus defektleri, organik asit bozuklukları ve bazı yağ asidi oksidasyon defektleri) semptomlar ortaya çıktıktan sonraki tarama testleri sonuçları tamamen bozulacağından testler anlamlılığını yitirecektir.

Diyaliz uygulananlarda 6, 30 ve 60. günlerde testler tekrarlanmalıdır.

Proteinsiz beslenme de yalancı negatiflik yapar (16, 19-21).

Uygun Kan Örneğinin Alınması

Yenidoğan bebeklerden kan alma için en uygun bölge topuktur. Topuk hafifçe ısıtılır ve kalp düzeyinden aşağıda tutulur. Topuk bölgesi uzunlamasına hayali çizgilerle üç eşit bölgeye ayrılır. Topuk temizlenir, kuruması beklenir ve ortadaki bölüm dışında yan bölümlerden biri lansetle delinir. Amaç tek seferlik delme işlemi ile topuğun sıkılmadan (doku sıvılarının sızması nedeniyle sonuç yanlış çıkabilir) bir büyük damla kan elde edilmesidir. Gelen ilk damla silinir (kanın alkol ile kontamine olmaması için), ikinci damla kan daha önceden hazırlanmış özel bir kağıdın (Guthrie kağıdı) bir yüzüne, işaretlenmiş halka içine iyi bir şekilde emdirilir. Topuk asla kağıda değdirilmemelidir sadece kan damlası kağıda emdirilmelidir.

- Venöz kan örneği veya hematokrit tüpüne alınan örnekler (kan örneğinin ilk değiştirildiği merkezi alanda kan daha fazla toplandığından ve viskozitesi artmış kanın kağıdın uygulandığı yerinden yayılma göstermediğinden) kullanılmamalıdır çünkü ilgili laboratuvar da 3-3,5 mm çaptaki diskten, 1-4 mikrolitre kan ayrılarak inceleme yapılacaktır.
- Kan alınırken doku çok sıkılmamalı (doku sıvılarının sızması).

- EDTA'lı tüp kullanılmamalı.
- Kan örneğinin emdirileceği bölgelere elle dokunulmamalı.
- Emdirilen kan hacmi, emdirilen kanın hematokrit seviyesi ve kanın emdirilme sürelerinin ölçümü etkileyen değişkenler olduğu unutulmamalı.
- Filtre kağıdında yer alan daireler içine aynı noktadan üst üste kan emdirilmemeli.
- Filtre kağıdının her iki yüzüne uygulanmamalı.
- Filtre kağıdı üzerinde çizik ve sıyrıklar bulunmamalı.
- Kart ısı, nem ve direkt güneş ışığına maruz bırakmamalı.
- Ayrıca kan örneğine idrar, dışkı, süt, vb. gibi dış etkenlerden bulaşma olmamalıdır.
- Kan örneği alınması sonrasında yenidoğan bebekle ilgili tanıtıcı bilgiler okunaklı şekilde forma yazılmalı; kimlik bilgileri, kullanılan ilaçlar, beslenme durumu, transfüzyon uygulanıp uygulanmadığı özellikle belirtilmelidir.
- Kan örnekleri oda ısısında yatay olarak kurutulduktan sonra, hızla uygun koşullarda analizin yapılacağı merkeze gönderilmelidir.
- Örnekler biriktirilmek üzere bekletilmemeli, laboratuvara 72 saatten önce ulaştırılmalıdır.

Yalancı Pozitiflik Nedenleri

- Cut-off sınırlarının düşük olması.
- Prematürite (KAH ve aminoasit metabolizması bozuklukları) ve hasta yenidoğan.
- Total parenteral nutrisyon ile beslenme.
- Vitamin C, Vitamin B₁₂ eksiklikleri.
- Erken örnekleme.
- Protein yüklemesi (inek sütü ile beslenenlerde).
- Belirli ilaç tedavileri (karnitin, valproik asid, pivalik asid, benzoik asid ve orta zincirli trigliseritler).
- Bazı maternal problemler (KAH, kontrolsüz PKU, hipertiroidi nedeniyle propiltiourasil kullanan, steroid alan, B₁₂ tedavisi verilen).
- Örneklemeyle ilgili hatalar [Kontamine örnek, örneğin ilk 24 saatte alınması, toplanma tekniği (Kalın damla alınması), kurutulma yolu (etüvde kurutma vb.), saklanma ve transport şekli, laboratuvar hatası].

Yalancı Negatiflik Nedenleri

- Cut-off değerleri çok yüksek olabilir.
- Hafif klinik formlar.
- Prematürite (geçici hipotiroidi).
- Beslenmeme veya proteinden fakir beslenme.
- Örnekleme (kontaminasyon, yetersiz numune, ısı ve alkol etkisi ile denatürasyon) ve laboratuvar hatası.
- Transfüzyon (galaktozemi ve hemoglobinopatilerde).
- Geç örnekleme (yağ asidi oksidasyon defekti).

Mesleki ve Hukuki Sorumluluk

Yenidoğan tarama testlerinde sonucu etkileyebilecek durumlar arasında teknik problemler ve laboratuvar, aile, klinisyen arasında iletişimin sağlanamaması sayılabilir. Bazı hastalıklarda optimal test sonuçlarının sağlanması bir takım ön koşullar gerektirmektedir ve bu ön koşullar sağlanmadıkça örnekleme yanlış olup tekrarlanan numune alımı gerekebilir. İşlem süreci konusunda ailenin bilgilendirilmesi, sözlü/yazılı onamlarının alınması, teknik açıdan uygun kan örneğinin alınması, uygun koşullarda saklanması, toplanan tüm örneklerin ilgili laboratuvara nakledilmesi, örneklerin uygun

zaman süreci içerisinde laboratuvara ulaştırılması ve sayılan tüm bu işlemlerin düzenlenmesi/denetlenmesi doğrudan hekimin, sistemin oluşturulması ve denetlenmesi ise kurum yöneticiliğinin görev ve sorumluluğudur.

Tarama testi öncesi ebeveynlerden sözlü ve yazılı onam alınması hususunda dikkati çeken unsurlar; tarama testlerinin tanı aracı olmamalarının vurgulanması, bu nedenle tarama testinde ortaya çıkan sonucun tanı testleri ile doğrulanmamasının gelişebilecek olumsuz psikolojik problemleri içerebileceğinin belirtilmesi, herhangi bir olumsuz sonuç çıkması durumunda diğer ileri tetkiklerin yapılma gerekliliğini kabul etmeleri olarak sıralanabilir.

Tandem MS/MS ile Hangi Hastalıklar Taranıyor?

Tandem MS/MS yöntemi ile temelde çoğu aminoasitler ile serbest karnitin (C0) ve C2'den C18'e kadar karbon içeren açılkar-nitinler saptanabilmektedir. "Genişletilmiş yenidoğan taraması" veya "selektif metabolik tarama" kapsamında yenidoğanların toptundan Guthrie kağıdına alınan kan örneğinden bu yöntemle aşağıda sunulan 45'e yakın ayrı kalıtsal metabolik hastalığın tanısı konulabilmektedir. Açılkar-nitin ve aminoasit profillerinin metabolik hastalıklarla ilişkisi Tablo 1'de gösterilmiştir. Sadece yenidoğan döneminde değil, herhangi bir yaşta ortaya çıkabilen bu tür hastalıklar Tandem MS/MS yöntemi kullanılarak taranabilmektedir. Son yıllarda geliştirilen teknikler ile lizozomal depo hastalıklarının da taranabileceği gösterilmiştir (22).

- Aminoasit metabolizma bozuklukları
 - Fenilketonüri
 - Akçaağaç kokulu idrar hastalığı
 - Benign hiperfenilalaninemi
 - Homosistinüri [Sistatyonin β-sentaz (CBS) eksikliği]
 - Tirozinemiler (Tip I için süksinilaseton)
 - Tirozinemiler Tip II
 - Biopterin kofaktör biyosentez defekti
 - Tirozinemiler Tip III
 - Biopterin kofaktör rejenerasyon defekti
 - Hipermetioninemi (Metionin adenoil transferaz eksikliği)
- Yağ asidi oksidasyon bozuklukları
 - MCAD (Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency) (Orta zincirli açıl KoA dehidrogenaz eksikliği)
 - VLCAD (Very Long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency) (Çok Uzun zincirli açıl KoA dehidrogenaz ek.)
 - LCHAD (Long chain 3-hydroxy acyl-CoA dehydrogenase deficiency) (Uzun zincirli 3-hidroksi açıl KoA dehidrogenaz ek.)
 - TFP (Trifunctional protein deficiency) (Trifonksiyonel protein eksikliği)
 - CUD (Carnitine uptake defect) (Karnitin uptake defekti)
 - SCAD (Short-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency) (Kısa zincirli açıl KoA dehidrogenaz eksikliği)
 - M/SCHAD (Medium/Short-chain L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency) (Orta/Kısa zincirli L-3 hidroksi açıl KoA dehidrogenaz eksikliği)
 - MCKAT (Medium-chain ketoacyl-CoA thiolase deficiency) (Orta zincirli keto açıl KoA tiolaz eksikliği)
 - CPT II (Carnitine palmitoyltransferase II deficiency) (Karnitin palmitoiltransferaz II eksikliği)

Tablo 1. Açıkarnitin ve aminoasit profillerinin metabolik hastalıklarla ilişkisi

	Kısaltma	Değişiklik	Hastalık
A) Açıkarnitinler			
A.1. Organik asidemiler			
Propionil karnitin	C3	Yüksek (↑↑)	Propionik asidemi, metil malonik asidemi
İzovaleril karnitin	C5	(↑↑)	İzovalerik asidemi, 2-metil bütiril CoA dehidrogenaz eks.
Üç hidroksi izovaleril karnitin	C5OH	(↑↑)	3 ketotiolaz eks. , 3-hidroksi 3-metil glutaril CoA liyaz eks. , 3-metil krotonil CoA karboksilaz eksikliği
Glutaril karnitin	C5DC	(↑)	Glutarikasidemi Tip I
A.2. Yağ asidi oksidasyon bozuklukları			
Bütiril karnitin	C4	(↑↑)	Kısa zincirli açıl CoA dehidrogenaz eks., izobütiril CoA dehidrogenaz eksikliği
Oktanoil karnitin	C8	(↑↑)	orta zincirli açıl CoA dehidrogenaz eks., çoklu açıl CoA dehidrogenaz eksikliği
Tetradekanoil karnitin	C14: 1	(↑)	Çok uzun zincirli açıl CoA dehidrogenaz eks.
Palmitoil karnitin	C16	(↑)	Karnitin palmitoil transferaz II eks., karnitin açıl karnitin translokaz eks., çoklu açıl CoA dehidrogenaz eksikliği
Hidroksipalmitoil karnitin	C16: OH	(↑)	Uzun zincirli hidroksi açıl CoA dehidrogenaz eksikliği
Karnitin (düşük)	C (total)	Düşük (↓↓)	Karnitin transport bozukluğu
B) Aminoasit metabolizma bozuklukları			
Glisin		(↑)	Non-ketotik glisinemi
Valin		(↑)	MSUD
Lösin/İzolösin		(↑)	MSUD
Fenilalanin		(↑)	FKU
Tirozin		(↑)	Tirozinemi
Metionin		(↑)	Homosistenemi ve diğer hipermetioninemiler
Arginin		(↑)	Argininemi
Sitrülin		(↑)	Sitrülinemi, Argininosüksinil-CoA-liyaz (ASAL) eksikliği
Arginosüksinik asit		(↑)	ASAL eksikliği

C: Karnitin, C3, C5, C5DC, C4, C8, C14:1, C16, C16:OH: alifatik karnitin esterleri, monokarboksilik asitlerin karbon atomuna uzun zincir ile bağlanma sayısına göre refere edilmektedir.

MSUD: Akçaağaç şurubu hastalığı; FKU: Fenilketonüri

- CACT (Carnitine/acylcarnitine translocase deficiency) (Karnitin/açıl karnitin translokaz eksikliği)
- CPT IA (Carnitine palmitoyltransferase I deficiency-liver) (Karnitin palmitoiltransferaz I eksikliği-karaciğer)
- DEREED (Dienoyl-CoA reductase deficiency) (Dienoil-KoA reduktaz eksikliği)
- CPT IB (Carnitine palmitoyltransferase I deficiency-muscle) (Karnitin palmitoiltransferaz I eksikliği-kas)
- Organik asidemiler
 - Biotinidaz eksikliği
 - İzovalerik asidemi
 - Glutarikasidüri Tip I
 - 3-Hidroksi-3-metilglutarik asidüri
 - Metilkarboksilaz eksikliği
 - Metilmalonik asidemi (mutaz eksikliği)
 - 3-Metilkrotonil-CoA karboksilaz eksikliği
 - Metilmalonik asidemi (Cbl A,B)
 - Propiyonik asidemi
 - Beta-Ketotiolaz eksikliği
 - Glutarik asidemi Tip II
 - Metilmalonik asidemi (Cbl C,D)
 - Malonik asidemi
 - İzobütiril-CoA dehidrogenaz eksikliği

- 2-Metil-3-hidroksibütirik asidüri
- 3-Metilglutamik asidüri
- 2-Metilbütiril-CoA dehidrogenaz eksikliği
- Üre siklus defektleri
 - Sitrullinemi Tip I
 - Sitrullinemi Tip II
 - Argininemi
 - Arginosüsinikasidemi
 - Ornitin transkarbamilaz eksikliği

Hakem değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - H.S.U., U.Z., A.B.; Tasarım - H.S.U., U.Z., A.B.; Denetleme - H.S.U., U.Z., A.B.; Kaynaklar - H.S.U., U.Z., A.B.; Malzemeler - H.S.U., U.Z., A.B.; Veri toplanması ve/veya işlemesi - H.S.U., U.Z., A.B.; Analiz ve/veya yorum - H.S.U., U.Z., A.B.; Literatür taraması - H.S.U., U.Z., A.B.; Yazıyı yazan - H.S.U.; Eleştirel İnceleme - H.S.U., U.Z., A.B.; Diğer - H.S.U., U.Z.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - H.S.U., U.Z., A.B.; Design - H.S.U., U.Z., A.B.; Supervision - H.S.U., U.Z., A.B.; Resource - H.S.U., U.Z., A.B.; Materials - H.S.U., U.Z., A.B.; Data Collection and/or Processing H.S.U., U.Z., A.B.; Analysis and/or Interpretation - H.S.U., U.Z., A.B.; Literature Review - H.S.U., U.Z., A.B.; Writer - H.S.U.; Critical Review - H.S.U., U.Z., A.B.; Other - H.S.U., U.Z.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

KAYNAKLAR

1. Rinaldo P, Matern D. Newborn Screening for Inherited Metabolic Disease. In: Inherited Metabolic Diseases: A Clinical Approach. Eds. Hoffmann GF, Zschocke J, Nyhan WL. Springer- Heidelberg Dordrecht London New York. 2010. p.251-63. [\[CrossRef\]](#)
2. Madhava M. A clinical guide to inherited metabolic diseases. Arch Dis Child. 2006; 91: 875. [\[CrossRef\]](#)
3. Wilcken B, Rinaldo P, Matern D. Newborn Screening for Inborn Errors of Metabolism In: Inborn Metabolic Diseases Diagnosis and Treatment. Eds. Saudubray JM, Berghe G, Walter JH. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, Fifth Edition. 2012: 75-86. [\[CrossRef\]](#)
4. Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü, 2008.
5. Tunçbilek E. Akaba evlilikleri. Görünüm 2011; 1: 3-4.
6. Loeber JG, Burgard P, Cornel MC, Rigter T, Weinreich SS, Rupp K, et al. Newborn screening programmes in Europe; arguments and efforts regarding harmonization. Part 1. From blood spot to screening result. J Inher Metab Dis 2012; 35: 603-11. [\[CrossRef\]](#)
7. Carlson MD. Recent advances in newborn screening for neurometabolic disorders. Curr Opin Neurol 2004; 17: 133-8. [\[CrossRef\]](#)
8. Wilson JM, Jungner YG. Principles and practice of mass screening for disease. World Health Organization Public Health Papers. No.34 1968: 1-163.
9. American College of Medical Genetics Newborn Screening Expert Group. Newborn screening: toward a uniform screening panel and system--executive summary. Pediatrics 2006; 117: S296-307.
10. Dhondt JL. Expanded newborn screening: social and ethical issues. J Inher Metab Dis 2010; 33: S211-7. [\[CrossRef\]](#)
11. Padilla CD, Therrell BL Jr; Working Group of the Asia Pacific Society for Human Genetics on Consolidating Newborn Screening Efforts in the Asia Pacific Region. Consolidating newborn screening efforts in the Asia Pacific region: Networking and shared education. J Community Genet 2012; 3: 35-45. [\[CrossRef\]](#)
12. Pitt JJ. Newborn screening. Clin Biochem Rev 2010; 31: 57-68.
13. Burgard P, Rupp K, Lindner M, Haeghe G, Rigter T, Weinreich SS, et al. Newborn screening programmes in Europe; arguments and efforts regarding harmonization. Part 2. From screening laboratory results to treatment, follow-up and quality assurance. J Inher Metab Dis 2012; 35: 613-25. [\[CrossRef\]](#)
14. Tanaka K, Budd MA, Efron ML, Isselbacher KJ. Isovaleric acidemia: a new genetic defect of leucine metabolism. Proc Natl Acad Sci USA 1966; 56: 236-42 [\[CrossRef\]](#).
15. Chace DH, Spitzer AR. Altered metabolism and newborn screening using tandem mass spectrometry: lessons learned from the bench to bedside. Curr Pharm Biotechnol 2011; 12: 965-75 [\[CrossRef\]](#).
16. David S. Millington DS. Tandem Mass Spectrometry in Clinical Diagnosis. In: Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases Eds. N. Blau, M. Duran, M.E. Blaskovics, K.M. Gibson. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, Second Edition 2003. p.57-77.
17. Chase DH. A Tandem Mass Spectrometry Primer for Metabolite Disease Detection. In Laboratory Guide to the Methods in Biochemical Genetics. In: Blau, et al. editors. Verlag Berlin Heidelberg: Springer; 2008. pp. 793-804.
18. Chace DH, Kalas TA, Naylor EW. Use of tandem mass spectrometry for multianalyte screening of dried blood specimens from newborns. Clin Chem 2003; 49: 1797-817. [\[CrossRef\]](#)
19. Mayatepek E. Newborn Screening. In: Inborn Errors of Metabolism – Early Detection, Key Symptoms and Therapeutic Options. Ed. Mayatepek E. UNI-MED Verlag AG, Bremen. 2008; 11-4.
20. Pourfarzam M, Zadhoush F. Newborn Screening for inherited metabolic disorders; news and views. J Res Med Sci 2013; 18: 801-8.
21. Mid-Atlantic Consortium for Genetic and Newborn Screening Services. A New York - Mid-Atlantic guide for patients and health professionals. Genetic Alliance. 2009
22. Scott CR, Elliott S, Buroker N, Thomas LI, Keutzer J, Glass M, et al. Identification of infants at risk for developing Fabry, Pompe, or mucopolysaccharidosis-I from newborn blood spots by tandem mass spectrometry. J Pediatr 2013; 163: 498-503. [\[CrossRef\]](#)