

Combinatiescreening op vitamine B12-tekort

Samenvatting

Geutjes PJ, Van den Ouweland JMW. Combinatiescreening op vitamine B12-tekort. *Huisarts Wet* 2015;58(5):234-7.

DOEL Voor het vaststellen van een vitamine B12-tekort is de bepaling van de totale vitamine B12-concentratie in het bloed essentieel, maar deze methode heeft echter zijn beperkingen. Door toevoeging van methylmalonzuur (MMA), een marker voor de functionele vitamine B12-status, kan de vitamine B12-diagnostiek mogelijk verbeteren. In de klinische praktijk past men deze combinatiebepaling echter slechts beperkt toe. Het doel van dit onderzoek is om de diagnostische opbrengst van deze combinatiebepaling binnen de eerstelijnspraktijk vast te stellen.

METHODE Dit is een retrospectief beschrijvend onderzoek. In 2012 werd binnen het huisartsenlaboratorium Rivierenland Gelre een nieuw stroomschema geïntroduceerd. Sinds de introductie bepalen we de MMA-concentratie bij alle vitamine B12-aanvragen van huisartsen met een concentratie tussen 100-200 pmol/L (1752 van 8246 aanvragen). Patiënten met een vitamine B12 < 100 pmol/L of MMA > 0,34 µmol/L beschouwden we, los van de klinische achtergrond, als patiënten met een vitamine B12-tekort.

RESULTATEN In dit onderzoek was de prevalentie van vitamine B12-tekort op basis van de laboratoriumuitslagen 8%, waarvan 1% met een serum vitamine B12 < 100 pmol/L en 7% met een MMA > 0,34 µmol/L. Van de patiënten die we hebben gescreend op basis van vitamine B12- en MMA-bepalingen had 27% ondanks een 'normale' vitamine B12-concentratie (150-200 pmol/L) een verhoogde MMA-concentratie (> 0,34 µmol/L). Van de patiënten met een 'lage' vitamine B12-concentratie (100-150 pmol/L) bleek 59% op basis van een normale MMA-concentratie geen afwijkende vitamine B12-status te hebben.

CONCLUSIE Toevoeging van MMA veroorzaakt een verschuiving in de categorisering van patiënten met een intermediaire vitamine B12-concentratie, die mogelijk bijdraagt aan minder onder- en overdiagnostiek en -behandeling van vitamine B12-tekort.

INLEIDING

Het menselijk lichaam is niet in staat om vitamine B12 te synthetiseren en moet deze via voeding binnenkrijgen. Naar schatting heeft 5 tot 10% van de Nederlandse bevolking een te lage vitamine B12-inname.¹ Door beperkingen in het dieet, een verhoogde behoefte of absorptiestoornissen kan er een tekort ontstaan, dat zowel de eiwit- als DNA-synthese in de weefsels belemmert. De beginfase van een vitamine B12-tekort verloopt veelal aspecifiek, maar op termijn kan het tekort leiden tot anemie of verstoring van de vorming van mye-

line, die noodzakelijk is voor een optimale neuronale functie.² Demyelinisatie van de achter- en zijstrengen van het ruggenmerg kan aanleiding geven tot symptomen die variëren van vermoeidheid en prikkelingen van handen en voeten tot spierzwakte en progressieve loopstoornissen.^{3,4} Aangezien een relatief eenvoudige behandeling met vitamine B12-injecties of orale suppletie deze klinische verschijnselen kan beperken, is een vroege en accurate diagnose van een vitamine B12-tekort gewenst.

Bij het vermoeden van een vitamine B12-tekort is de meting van totaal vitamine B12 in serum een belangrijk diagnostisch middel. Over het algemeen spreken we van een vitamine B12-tekort bij een serumwaarde van < 150 pmol/L. In de regel kunnen we bij een waarde < 100 pmol/L een tekort met grote zekerheid vaststellen en bij een waarde van > 200 pmol/L een tekort in grote mate uitsluiten. Tussen 100 en 200 pmol/L bevindt zich een grijs gebied en kunnen we een tekort op weefselniveau niet goed duiden. Door de matige sensitiviteit en specificiteit van de meting is er een kans dat we de vitamine B12-concentratie als 'vals-normaal' meten en de indicatie voor behandeling missen.^{5,6} Anderzijds kunnen we patiënten met een 'vals-lage' concentratie ten onrechte als deficiënt aanmerken, waardoor deze patiënten een onnodige behandeling krijgen.

Op celniveau is vitamine B12 als cofactor betrokken bij de omzetting van methylmalonyl-CoA naar succinyl-CoA. Bij een vitamine B12-tekort werkt het enzym onvoldoende, waardoor er minder succinyl-CoA wordt gevormd. Hierbij accumuleert het methylmalonyl-CoA, dat na hydrolyse een stijging van methylmalonzuur (MMA) in de bloedbaan geeft, maar het normaliseert zodra de vitamine B12-concentratie in het weefsel toeneemt.^{7,8} De MMA-concentratie in serum beschouwt men

Wat is bekend?

- Vroege diagnose van een vitamine B12-tekort is essentieel als we (sub)klinische neurologische en hematologische afwijkingen willen voorkomen.
- De totaal vitamine B12-bepaling in bloed is door de matige sensitiviteit en specificiteit te beperkt voor het vaststellen van een vitamine B12-tekort.
- Methylmalonzuur (MMA) in bloed beschouwt men als de beste parameter voor het vaststellen of uitsluiten van een functioneel vitamine B12-tekort op weefselniveau.

Wat is nieuw?

- Dit onderzoek bevestigt de beperkingen van de vitamine B12-bepaling als meest gebruikte test bij de screening op een vitamine B12-tekort.
- De methylmalonzuur-bepaling vermindert onder- en overdiagnostiek bij vitamine B12-screening.

Huisartsenlaboratorium Rivierenland Gelre, Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis, Weg door Jonkerbos 100, 6532 SZ Nijmegen; dr. P.J. Geutjes, assistent klinisch chemicus; dr. J.M.W. van den Ouweland, klinisch chemicus • Correspondentie: p.geutjes@cwz.nl • Mogelijke belangenverstrengeling: niets aangegeven.

als een belangrijke metabole marker die een vitamine B12-tekort op weefselniveau met grote zekerheid kan aantonen dan wel uitsluiten.⁹ Op basis van dit gegeven heeft men een voorstel ter verbetering van de vitamine B12-diagnostiek gedaan, namelijk de introductie van MMA als bevestigingstest bij patiënten met een intermediaire vitamine B12-concentratie (100-200 pmol/L).^{10, 11} Conform dit voorstel hebben we de gecombineerde vitamine B12- en MMA-bepalingen voor alle aanvragen uit de eerste lijn toegepast. In dit onderzoek belichten we de diagnostische opbrengst van één jaar screening volgens dit stroomschema.

METHODE

In overleg met de regionale huisartsenvereniging zijn we in het CWZ Huisartsenlaboratorium Rivierenland Gelre op 1 januari 2012 gestart met het toepassen van een nieuw stroomschema voor de screening van vitamine B12-tekort bij patiënten uit de eerste lijn. Hierbij bepalen we routinematig een MMA bij alle vitamine B12-aanvragen met een concentratie tussen 100-200 pmol/L [figuur]. Bij het evalueren van de diagnostische opbrengst van het nieuwe stroomschema hebben we patiënten met een verminderde nierfunctie (kreatinineconcentratie vrouwen > 90 µmol/L; mannen > 100 µmol/L) buiten beschouwing gelaten. De klinische gegevens van patiënten voor wie een vitamine B12 was aangevraagd hadden we niet tot onze beschikking.

De vitamine B12-concentratie in serum hebben we gemeten met een elektro-chemiluminescente immunoassay (COBAS e602, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Duitsland). De MMA-concentratie hebben we bepaald met behulp van vloeistofchromatografie met massaspectrometrische detectie (LC-MS/MS, Waters Milford, MA, VS).¹²

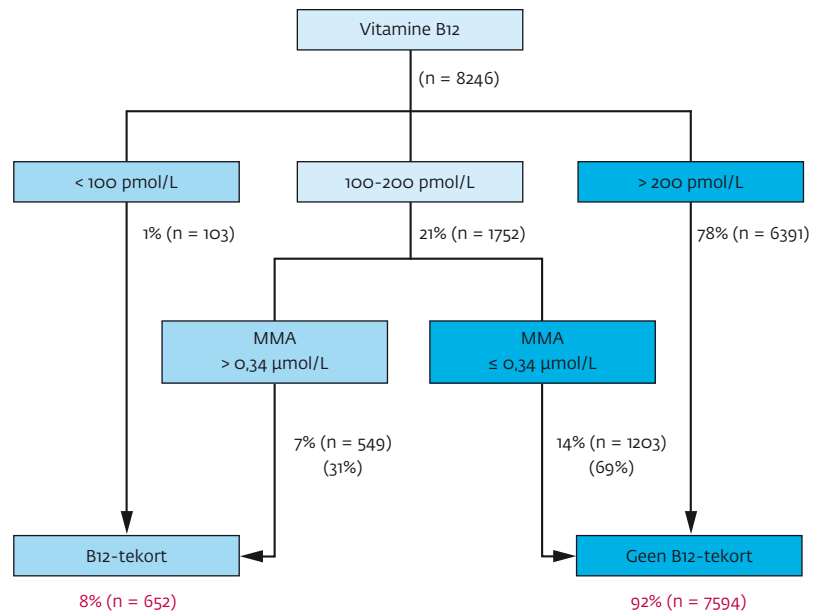
Met behulp van het laboratoriuminformatiesysteem hebben we alle vitamine B12- en MMA-uitslagen uit de eerste lijn over 2012 opgevraagd en gecategoriseerd. Conform het stroomschema beschouwden we patiënten met vitamine B12-concentraties < 100 pmol/L als deficiënt en patiënten met een vitamine B12 > 200 pmol/L als suffiënt (referentiewaarde: 150-700 pmol/L). Beide groepen hebben we buiten de MMA-vervolgscreening gelaten, omdat uit eerder onderzoek is gebleken dat de toegevoegde waarde van MMA bij deze patiënten beperkt is.¹³ De referentiewaarde voor MMA hebben we eerder vastgesteld in een gezonde populatie met normale nierfunctie ($\leq 0,34$ µmol/L).¹³

RESULTATEN

In 2012 hebben we 1752 (21%) MMA-bepalingen toegevoegd op een totaal van 8246 vitamine B12-aanvragen. De mediane leeftijd van de totale onderzoekspopulatie en het MMA-cohort was respectievelijk 58 jaar (spreiding 2-105) en 55 jaar (spreiding 9-100). De man-vrouwverhouding was voor beide groepen 30-70.

Bij 8% van de 8246 aanvragen hebben we volgens het vernieuwde stroomschema een vitamine B12-tekort vastgesteld: 1% (103) had een vitamine B12 < 100 pmol/L en 7% (549) had een

Figuur Stroomschema met metingen van vitamine B12 en MMA



vitamine B12-concentratie tussen 100-200 pmol/L, in combinatie met een verhoogde MMA-concentratie ($> 0,34$ µmol/L; [figuur]). Het percentage deficiënte patiënten op basis van de standaardvitamine B12-controle (het 'klassieke protocol' met

Abstract

Geutjes PJ, Van den Ouweland JMW. Combination screening for vitamin B12 deficiency. *Huisarts Wet* 2015;58(5):234-7.

OBJECTIVE The diagnosis of vitamin B12 screening deficiency rests on the measurement of the total vitamin B12 concentration in blood, but this method has its limitations. The additional measurement of methylmalonic acid (MMA), a marker of functional vitamin B12 status, may improve the diagnosis of vitamin B12 deficiency. However, the two assays in combination are rarely used in clinical practice. The aim of this study was to investigate the diagnostic yield of the combined measurement in primary care.

DESIGN Observational study. In 2012 a new screening scheme was introduced in the blood analysis service Rivierenland Gelre, by which MMA levels are measured when vitamin B12 concentrations are between 100 and 200 pmol/L (1752 of 8246 samples submitted in this study). Patients with a vitamin B12 concentration < 100 pmol/L or an MMA concentration of $> 0,34$ µmol/L are considered to be vitamin B12 deficient regardless of their clinical background.

RESULTS The prevalence of vitamin B12 deficiency was 8% in this study: 1% with a serum vitamin B12 concentration < 100 pmol/L and 7% with an MMA concentration $> 0,34$ µmol/L. Of the samples screened with both assays, 27% that had a 'normal' vitamin B12 concentration (150-200 pmol/L) had a raised level of MMA ($> 0,34$ µmol/L). Of the samples with a 'low' vitamin B12 concentration (100-150 pmol/L), 59% had a normal MMA concentration and thus a normal vitamin B12 status.

CONCLUSION Measurement of MMA in addition to vitamin B12 levels changes the classification of patients with intermediate concentrations of vitamin B12, which could lead to over- or under-diagnosis and treatment of vitamin B12 deficiency.

Tabel De relatie tussen de MMA en totaal vitamine B12-serumconcentraties in het laag-normale B12-bereik (100-200 pmol/L). De afkapwaarde voor vitamine B12-tekort op basis van alleen de vitamine B12-bepaling is < 150 pmol/L ('klassiek protocol'). De afkapwaarde voor vitamine B12-tekort op basis van de MMA-bepaling is > 0,34 µmol/L.

	Vitamine B12 100-149 pmol/L	%	Vitamine B12 150-200 pmol/L	%	Totaal
MMA > 0,34 µmol/L	233	41	316	27	549
MMA ≤ 0,34 µmol/L	340	59	863	73	1203
Totaal	573		1179		1752

serum B12-afkapwaarde < 150 pmol/L) was volgens onze berekeningen ook 8% (675). Als we de uitkomsten van het klassieke protocol met het vernieuwde stroomschema vergelijken, dan verschillen de groepen niet qua grootte, maar wel qua samenstelling [tabel]. Bij 27% (316 van de 1179 patiënten) met een 'normale' vitamine B12-concentratie (150-200 pmol/L) hebben we een verhoogd MMA gemeten. Deze groep patiënten heeft mogelijk baat bij vitamine B12-behandeling, maar zou men op basis van alleen de vitamine B12-concentratie als voldoende beschouwen. Daarnaast heeft 59% (340 van de 573 patiënten) met een lage vitamine B12-concentratie (100-149 pmol/L) op basis van een normale MMA-concentratie geen vitamine B12-tekort.

BESCHOUWING

Voor het diagnosticeren van een vitamine B12-tekort zijn doorgaans de klinische verschijnselen in combinatie met de hoeveelheid totaal vitamine B12 in het bloed bepalend. De in vitro diagnostische tests die hiervoor beschikbaar zijn, hebben echter een beperkte sensitiviteit en specificiteit.^{6,14} De geautomatiseerde vitamine B12-bepalingen zijn primair gebaseerd op een competitiebinding van serum vitamine B12 met intrinsic factor (IF) reagens, waarbij de IF-antistoffen van de patiënt met de meting kunnen interfereren.^{5,6} Een groot deel van de patiënten met een pernicioze anemie heeft deze antistoffen (naar schatting 70%), waardoor er een reële kans is dat een laboratoriumtest de vitamine B12-concentratie vals normaal meet en behandelaars een tekort missen.¹⁵

Een ander probleem bij het vaststellen van de vitamine B12-status heeft te maken met de samenstelling van het totaal vitamine B12 in het bloed. Het overgrote deel is aan haptocorrinegebonden, dat zorgt voor opslag of transport. De overige 20% is aan transcobalamine II gebonden en betreft de actieve fractie die beschikbaar is voor cellulaire processen. Er zijn patiënten met een normale totaal vitamine B12-concentratie bij wie de actieve vitamine B12-status in de weefsels niet noodzakelijkerwijs voldoende is. Zo kan het totaal vitamine B12 bij de ziekte van Crohn of maligniteiten normaal zijn, terwijl het actieve vitamine B12 verlaagd is.^{16,17} Anderzijds meet men bij patiënten met een haptocorrietekort een vals verlaagde vitamine B12, terwijl de actieve fractie normaal is.¹⁸

Ondanks de beperkingen van de vitamine B12-bepaling is het de meestgebruikte diagnostische test voor het screenen op een vitamine B12-tekort. Recente literatuur propageert combinatietests (zoals totaal vitamine B12 met MMA) om de diagnostiek van vitamine B12-tekort te verbeteren,¹⁹⁻²¹ maar in de klinische praktijk past men deze beperkt toe. Uit ons onderzoek blijkt dat de diagnostische uitkomst in sommige gevallen verandert, als we de vitamine B12- en MMA-bepalingen combineren.

Relevant voor de interpretatie is de invloed van de nierfunctie en de leeftijd op de MMA-concentratie.²¹⁻²⁴ Een verminderde renale klaring kan namelijk ook een verhoging van MMA geven, waarbij het dus raadzaam is om vooral bij ouderen en diabetici de nierfunctie te controleren. Een daling van de MMA-concentratie na vitamine B12-suppletie blijft in alle gevallen de beste bevestiging van een tekort, waarbij de behandelaar rekening moet houden met een minimale afname van 37% (kritisch verschil) ten opzichte van de voorgaande MMA-uitslag.²¹

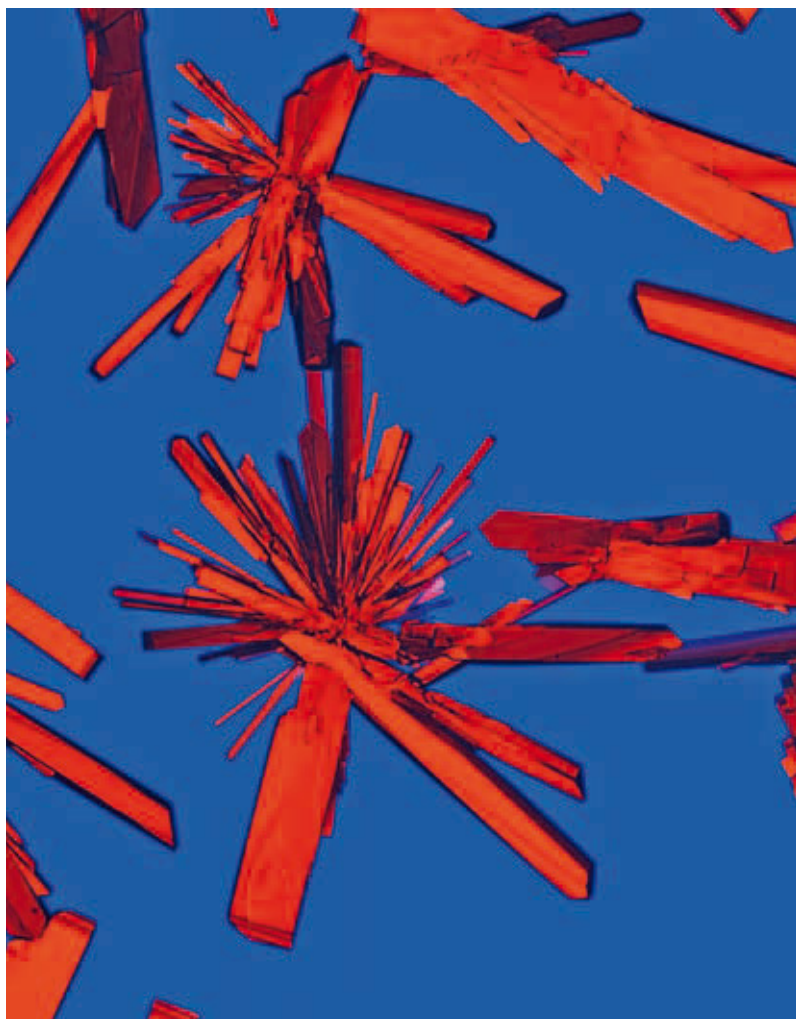


Foto: Corbis/HH

De MMA-bepaling is een robuuste bepaling, waarvoor geen speciale afnamecondities nodig zijn, zoals afname in een aparte buis of op ijs.¹² De kosten liggen doorgaans hoger dan die van een immunologische vitamine B12-bepaling, maar staan ons inziens niet in verhouding tot de diagnostische meerwaarde. We adviseren om met uw lokale laboratorium in gesprek te gaan over de meerwaarde van MMA als bevestigingstest bij patiënten met een intermediaire vitamine B12-concentratie en/of over de manier waarop u een gecombineerd testprotocol in de praktijk kunt brengen.

Dit onderzoek betreft een retrospectief onderzoek. Door anonimisering van de patiëntresultaten ontbraken nadere klinische gegevens. Om de diagnostische meerwaarde van de MMA-bepaling te bevestigen is aanvullend onderzoek nodig, waarbij we de klinische kenmerken van de patiënten in de interpretatie moeten meewegen, mede in relatie tot de eventuele behandeling en mogelijke kostenbesparing ten gevolge van minder onder- en overbehandeling met vitamine B12.²⁵

CONCLUSIE

De toepassing van de MMA-laboratoriumbepaling bij patiënten met een intermediaire vitamine B12-concentratie wijst uit dat een deel van de patiënten met een 'normale' vitamine B12-concentratie op basis van een verhoogde MMA-concentratie mogelijk toch een functioneel vitamine B12-tekort heeft. Anderzijds heeft een deel van de patiënten met een 'lage' vitamine B12-concentratie een normale MMA-concentratie. Deze groep behoeft geen suppletie. Prospectief onderzoek naar het effect van een behandeling op het vermoede vitamine B12-tekort is noodzakelijk om de resultaten van dit onderzoek te kunnen bevestigen. ■

LITERATUUR

- Voedingscentrum. Zo eet Nederland. Resultaten van de Voedselconsumptiepeiling 1997-1998. Den Haag: Voedingscentrum, 1998.
- Lindenbaum J, Heaton EB, Savage DC, Brust JC, Garrett TJ, Podell ER, et al. Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis. *N Engl J Med* 1988;318:1720-8.
- Jansen L, Van der Linden CMJ. Vallen door een vitamine B12-deficiëntie. *Ned Tijdschr Geneesk* 2013;157:A5132.
- Jongen JCF, Koehler PJ, Franke CL. Gecombineerde strengziekte door vitamine-B12-deficiëntie: eenvoudige diagnose, effectieve therapie. *Ned Tijdschr Geneesk* 2001;145:1229-33.
- Carmel R, Agrawal YP. Failures of cobalamin assays in pernicious anemia. *N Engl J Med* 2012;367:385-6.
- Yang DT, Cook RJ. Spurious elevations of vitamin B12 with pernicious anemia. *N Engl J Med* 2012;366:1742-3.
- Su VC, Shalansky K, Jastrzebski J, Martyn A, Li G, Yeung CK, Snyder F, et al. Parenteral vitamin B12 in macrocytic hemodialysis patients reduced MMA levels but did not change mean red cell volume or hemoglobin. *Clin Nephrol* 2011;75:336-45.
- Hvas AM, Ellegaard J, Nexø E. Vitamin B-12 treatment normalizes metabolic markers but has limited clinical effect: a randomized placebo-controlled study. *Clin Chem* 2001;47:1396-1404.
- Allen RH, Stabler SP, Savage DG, Lindenbaum J. Diagnosis of cobalamin deficiency I: usefulness of serum methylmalonic acid and total homocysteine concentrations. *Am J Hematol* 1990 Jun;34:90-8.
- Wiersinga WJ, De Rooij SEJA, Huijmans JGM, Fischer JC, Hoekstra JBL. De diagnostiek van vitamine-B12-deficiëntie herzien. *Ned Tijdschr Geneesk* 2005;149:2789-94.
- Hart B, Woudstra J, Rutten G. Screen metforminegebruikers op vitamine B12! *Huisarts Wet* 2012;55:444-7.
- Van den Ouweland JMW, Beijers AM, Van Daal HW. Methylmalonzuurmeting in serum en urine met behulp van LC-tandem massaspectrometrie. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2011;36:260-2.
- Van den Ouweland JMW, Beijers AM, Van Daal HW. Diagnostische opbrengst van standaard reflexmeting op serum methylmalonzuur voor het vaststellen van een functioneel vitamine B12-tekort. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2011;36:263-4.
- Van Rossum AP, Verheijen FM, Klein Gunnewiek JMT, Castel A, Fouraux MA. Vitamine-B12-bepaling: probleem opgelost! *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2009;34:251-4.
- Toh BH, Van Driel IR, Gleeson PA. Pernicious anemia. *N Engl J Med* 1997;337:1441-8.
- Morkbak AL, Hvas AM, Milman N, Nexø E. Holotranscobalamin remains unchanged during pregnancy. Longitudinal changes of cobalamins and their binding proteins during pregnancy and postpartum. *Haematologica* 2007;92:1711-2.
- Murphy MM, Molloy AM, Ueland PM, Fernandez-Ballart JD, Schneede J, Arija V, et al. Longitudinal study of the effect of pregnancy on maternal and fetal cobalamin status in healthy women and their offspring. *J Nutr* 2007;137:1863-7.
- Carmel R, Brar S, Agrawal A, Penha PD. Failure of assay to identify low cobalamin concentrations. *Clin Chem* 2000;46:2017-8.
- Carmel R. Biomarkers of cobalamin (vitamin B-12) status in the epidemiologic setting: a critical overview of context, applications, and performance characteristics of cobalamin, methylmalonic acid, and holotranscobalamin II. *Am J Clin Nutr* 2011;94:348S-58S.
- Stabler SP. Vitamin B12 deficiency. *N Engl J Med* 2013;368:149-60.
- Russcher H, Heil SH, Slobbe L, Lindemans J. Vitamine B12-deficiëntie. *Ned Tijdschr Geneesk* 2012;156:A3595.
- Herrmann W, Obeid R. Utility and limitations of biochemical markers of vitamin B12 deficiency. *Eur J Clin Invest* 2013;43:231-7.
- Vogiatzoglou A, Oulhaj A, Smith AD, Nurk E, Dreven CA, Ueland PM, et al. Determinants of plasma methylmalonic acid in a large population: implications for assessment of vitamin B12 status. *Clin Chem* 2009;55:2198-206.
- Lindenbaum J, Rosenberg IH, Wilson PW, Stabler SP, Allen RH. Prevalence of cobalamin deficiency in the Framingham elderly population. *Am J Clin Nutr* 1994;60:2-11.
- Jacobs LH, Steuten LM, Sant P van 't, Kusters R. Cost-minimisation in vitamin B12 deficiencies: expensive diagnostics can reduce spending. *Neth J Med* 2013;71:274-5.