



DIAGNOSTICO DEL DÉFICIT DE VITAMINA B12 Y FOLATO.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA Y RECOMENDACIONES.

Diciembre de 2015



EQUIPO DE TRABAJO:

- Carmen Mar Medina, coordinadora, Laboratorio, Hospital Galdakao-Usansolo
- Pedro Aranegi Lasuen Medicina Interna Hospital Universitario Donostia
- Jose Luis Balentziaga Muñoz, Médico de Familia, Centro de Salud Landako, Durango
- Ricardo San Vicente Blanco, Médico de Familia, Centro de Salud Zumarraga
- Jose Ramón Furundarena Salsamendi, Hematología Hospital Universitario Donostia
- José Asua Batarrita, Evaluación de Tecnologías Sanitarias, Osteba. Departamento de Salud, Gobierno Vasco
- Gustavo Cilla Eguiluz, Microbiología Hospital Universitario Donostia
- Miguel Sanchez Fernandez, Urgencias Hospital Galdakao-Usansolo
- Jose Luis Mirabel Gil, Laboratorio Hospital Universitario Araba

REVISORES EXTERNOS:

- Mikel Aldamiz-Echebarria San Sebastian. Medicina Interna, Hospital Universitario Araba.
- Juan Carlos García Moncó. Neurología, Hospital Galdakao-Usansolo
- Beatriz Arrizabalaga Amutxastegi. Hematología, Hospital Universitario Cruces.
- Juan Ignacio Arenas Ruiz Tapiador. Digestivo, Hospital Universitario Donostia.
- Pilar Sierra Polo. Endocrinología, Hospital Universitario Araba.

Versión Diciembre de 2015

Revisión prevista: diciembre 2018

Índice

	<u>Página</u>
1. INTRODUCCIÓN	4
2. OBJETIVO	4
3. METODOLOGÍA	4
3.1. Búsqueda de la Evidencia:	5
3.2. Reuniones de trabajo y revisión externa:	5
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.	6
5. RECOMENDACIONES	26
6. BIBLIOGRAFÍA	29

1. INTRODUCCIÓN

En el año 2009 Osakidetza puso en marcha el Plan Director de Laboratorios. Posteriormente se creó un “Grupo de Trabajo para la Gestión de la Demanda”, que tiene como misión analizar los aspectos relacionados con las solicitudes de pruebas analíticas y las evidencias que las soportan y establecer recomendaciones para realizar una práctica clínica efectiva y eficiente.

Este equipo ha establecido un plan de trabajo por el que se abordan una a una las pruebas de laboratorio consideradas prioritarias de analizar. Este es el tercer documento de recomendaciones, tras los publicados en diciembre 2012 sobre “Utilización de las pruebas de función tiroidea en la práctica clínica” (<https://www.osakidetza.eus/sites/Intranet/es/referencia-documental/Documentos>) y sobre “Indicaciones para la determinación de niveles séricos de vitamina D” en enero del 2015. (<https://www.osakidetza.eus/sites/Intranet/es/referencia-documental/Documentos%20compartidos/RecomendacionesVitD.pdf>).

La utilización de las determinaciones de Vitamina B12 y Folato en suero ha experimentado un notable incremento en los últimos 5 años, habiéndose duplicado el número de pruebas informadas desde el 2009. Esto implica que a lo largo del 2014 se solicitaron en Osakidetza cerca de 600.000 determinaciones, suponiendo un gasto en reactivos aproximado de 700.000 €

2. OBJETIVO

Efectuar unas recomendaciones sobre las pruebas analíticas dirigidas al diagnóstico del déficit de vitamina B12 y folato basadas en una revisión exhaustiva de la literatura científica.

No se incluyen recomendaciones sobre el manejo clínico y el tratamiento aunque se han incorporado algunos comentarios relacionados por tener influencia en las peticiones de pruebas analíticas.

3. METODOLOGÍA

Una vez definido el objetivo de este proyecto, durante 2014, el equipo multidisciplinar estableció un reparto de tareas, de manera que se elaboró una propuesta de trabajo que fue discutida y posteriormente aprobada por el grupo. Se identificaron las frecuencias de demanda de estas pruebas

diagnósticas en Osakidetza y cuantificó su repercusión económica. Se definieron las áreas de incertidumbre estableciendo las preguntas PICO para cada una de las cuestiones y poder así perfeccionar las búsquedas bibliográficas.

3.1. Búsqueda de la Evidencia:

Se ha realizado una búsqueda en las bases bibliográficas UpToDate, Ovid MEDLINE y Cochrane Library empleando los términos "B12 deficiency", "Cobalamine deficiency" y "Folate deficiency". Se han filtrado los trabajos publicados entre Enero de 2000 y octubre de 2014 en lengua inglesa. Se han elegido aquellos trabajos publicados como guías, revisiones y actualizaciones. Se ha incluido alguna cita anterior al año 2000 por ser muy referenciada en los demás trabajos y alguna otra referencia rescatada desde los trabajos revisados. Se ha incluido algún trabajo canadiense en francés por su interés. Se han rechazado aquellos trabajos que no contemplaban el diagnóstico.

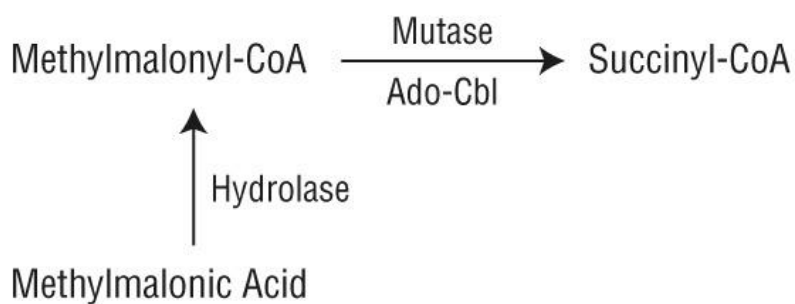
3.2. Reuniones de trabajo y revisión externa:

Se realizaron reuniones periódicas del grupo, con el fin de discutir y elaborar recomendaciones. Posteriormente el documento se sometió a revisión externa por pares, lo que permitió afinar aún más sus conclusiones y recomendaciones para la práctica clínica habitual.

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

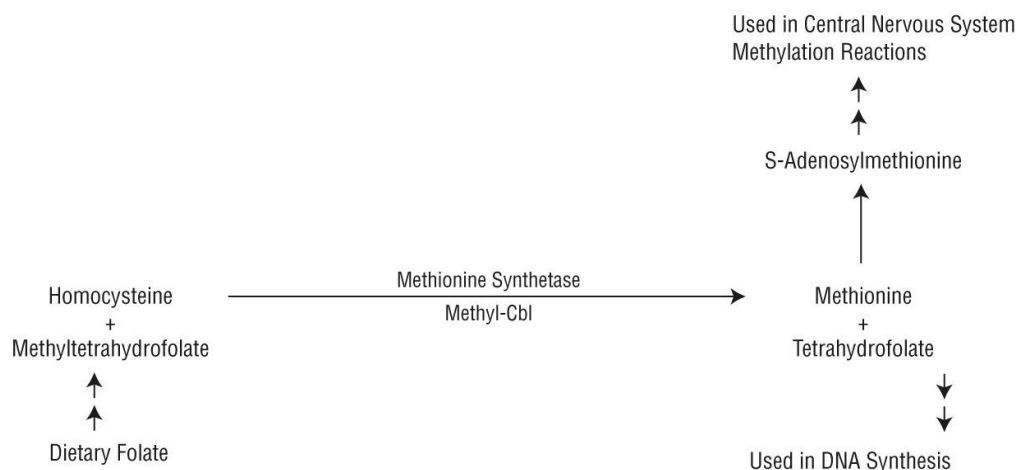
Reacciones metabólicas en las que participan la vitamina B12 y el folato

La cobalamina o vitamina B12 participa en dos reacciones metabólicas. Una es la conversión de metilmalonil-CoA a succinil-CoA donde la adenosil-cobalamina actúa de cofactor. Por ello un déficit de B12 conlleva un aumento de metilmalonil-CoA y de su producto de hidrólisis el ácido metilmalónico (ver figura extraída de la Ref 3).



La segunda reacción es la síntesis de metionina a partir de homocisteína gracias a la metionina sintetasa y a la metil-cobalamina como cofactor. En esta misma reacción el metiltetrahydrofolato es transformado a tetrahydrofolato que es necesario para la síntesis de DNA (ver figura extraída de la Ref 3). Un déficit de B12 o de folato producirá un aumento de homocisteína. A partir de la metionina se forma la S-Adenosinmetionina (SAM) que es muy importante para el sistema nervioso central donde participa en reacciones de metilación. Esto explica las manifestaciones neurológicas del déficit de B12. Aunque parece que el déficit de folato también debería afectar a la síntesis de SAM las complicaciones neurológicas son muy raras en el déficit de folato.

A diferencia del folato de la dieta el folato administrado en comprimidos es reducido directamente a tetrahydrofolato lo que explica que en pacientes con déficit de cobalamina pueda mejorar los parámetros hematológicos y persistir los problemas neurológicos.



Pruebas analíticas para diagnosticar un déficit de cobalamina o de folato

Recientemente en el año 2014 el BCSH (British Committee for Standards in Haematology) ha publicado una guía muy completa sobre diagnóstico y tratamiento del déficit de vitamina B12 y folato (4). En Canadá hay algunas guías publicadas (5,6,7,8). En una reciente revisión Stabler (9) ha referido que la Sociedad Americana de Hematología (ASH) no tiene ninguna guía para el diagnóstico y tratamiento del déficit de vitamina B12. La Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH) tampoco dispone de ninguna.

La guía inglesa (4) en su introducción señala que en la mayoría de las situaciones las recomendaciones sobre el diagnóstico y el manejo de los déficit de vitamina B12 y de folato están basadas principalmente en el juicio clínico y el consenso más que en datos objetivos de laboratorio, no existiendo estudios randomizados controlados.

Volumen Corpuscular Medio (VCM) y morfología de sangre periférica

Un VCM normal no puede ser empleado para rechazar una determinación de nivel de cobalamina ya que hasta un 25 % de casos con manifestaciones neurológicas cursan con un VCM normal (4).

La identificación de neutrófilos hipersegmentados y de macrocitos ovals puede sugerir un déficit de cobalamina o folato pero no son hallazgos muy sensibles para un diagnóstico temprano y tampoco son específicos (4).

En una serie de pacientes con déficit de cobalamina sólo un 29 % tenían anemia y sólo un 36 % tenían un VCM > 100 fl (10).

Cobalamina sérica (nivel de B12)

Es el test diagnóstico rutinario inicial estándar (4,9,11,12). Cuantifica en un único valor la cobalamina sérica inactiva (unida a las transcobalaminas I y III y conocida como halohaptocorrina, que representa aproximadamente el 80 % de la cobalamina circulante) y la activa (unida a la transcobalamina II y conocida como holotranscobalamina, que representa el 20 % de la cobalamina circulante). Es un test ampliamente disponible, de bajo coste y automatizado. Sin embargo presenta algunas limitaciones:

- Existencia de varias técnicas y ausencia de un *gold standard* por lo que hay diferentes límites de referencia (10).
- Variación intraindividual muy alta (dos determinaciones en la misma persona pueden dar valores de cobalamina diferentes).
- Carece de la sensibilidad y especificidad requerida para un test diagnóstico robusto.
- Algunas técnicas pueden dar falsos resultados normales en presencia de niveles altos de anticuerpos anti-FI (2,8,11). Sería conveniente incluir muestras control con anticuerpos anti-FI para evitar errores de medición (13).
- Un déficit subclínico (niveles bajos de cobalamina y cambios bioquímicos moderados sin síntomas ni macrocitos ni neutrófilos hipersegmentados) es un problema exasperante sobre todo en ancianos. El revisor de UpToDate (10) es partidario de iniciar tratamiento aunque los beneficios están poco claros.
- La mayoría de los autores citan tres niveles: uno con alta probabilidad de déficit, otro con baja probabilidad de déficit y una zona gris.
- Puede haber niveles bajos de cobalamina sérica sin déficit real de vitamina B12 en el embarazo, déficit de folato, déficit de transcobalamina I (con frecuencia de origen genético), toma de anticonceptivos orales, mieloma, anemia ferropénica e infección VIH (11,3,13,14,15).
- Puede haber niveles falsamente normales o altos de cobalamina en casos de elevación de transcobalamina I como en los síndromes mieloproliferativos crónicos, presencia de anticuerpos contra la transcobalamina II (a menudo tras tratamientos intramusculares con hidroxicobalamina), elevaciones moderadas en la insuficiencia renal, en la raza negra, en algunos polimorfismos genéticos, hepatopatía, déficit congénito de transcobalamina II, sobrecrecimiento bacteriano intestinal y administración previa de cobalamina (3,13,15).

Según la guía inglesa (4) se debe medir simultáneamente los niveles de cobalamina y de folato debido a su estrecha relación en el metabolismo (Grado 1A). Un nivel de cobalamina sérica inferior a 148 pmol/l (200 ng/l) u otro nivel derivado de unos intervalos de referencia locales debe ser usado como evidencia de un déficit de cobalamina en presencia de una alta sospecha clínica (Grado 2B).

La OMS publicó en 2008 (16) las conclusiones de un grupo técnico consultado sobre el déficit de cobalamina y folato. El grupo reconoció que no existen unos umbrales universalmente reconocidos para definir el déficit de ambas vitaminas y expresaron la necesidad de un consenso. El grupo consultado llegó a un consenso sobre los puntos de corte que había que utilizar cuando se hacen estudios del estado nutricional de poblaciones. Los puntos de corte están basados en el estudio US NHANES III (National health and nutrition examination survey) que utiliza la concentración de ambas vitaminas por debajo de la cual se elevan el nivel de ácido metilmalónico para la cobalamina y de homocisteína para el folato. El punto de corte que indicaría un déficit de cobalamina sería de 150 pmol/L (203 pg/mL).

Según la revisión de UpToDate (10) los resultados de nivel de cobalamina sérica pueden ser interpretados en general de la siguiente manera:

- > 300 pg/mL (> 221 pmol/L). Resultado normal. Déficit de cobalamina muy improbable (probabilidad del 1-5 %).
- Entre 200 y 300 pg/mL (entre 148 y 221 pmol/L). Resultado borderline. El déficit de cobalamina es posible.
- < 200 pg/mL (< 148 pmol/L). Resultado bajo compatible con déficit de cobalamina (especificidad del 95-100 %).

En una reciente revisión Stabler (9) ha referido que un nivel < 200 pg/ml (o límite inferior establecido por cada laboratorio) tiene una sensibilidad del 65-95 % para detectar un déficit clínico comprobado y de un 50 % para nivel elevado de ácido metilmalónico. La especificidad es del 50-60 % en cuanto a respuesta clínica y del 80 % para niveles elevados de ácido metilmalónico.

Remacha y cols en una ponencia del congreso español de Hematología del 2013 (11) expusieron que un resultado < 150 pmol/L no significa necesariamente que exista un déficit de B12. Por otro lado por encima del umbral mínimo teórico de los valores de referencia existe una zona gris entre 150 y 200-250 pmol/L en la que puede existir un déficit de esta vitamina en aproximadamente el 25-50 % de los casos sobre todo en ancianos, pacientes con problemas tromboembólicos o pacientes neuropsiquiátricos (demencia).

Hvas y Nexø (12) en su revisión recomendaron la siguiente estrategia:

- Un nivel de cobalamina sérica < 125 pmol/L para un límite de referencia mínimo de 156 pmol/L (25 % menor que el límite bajo normal de referencia dado por el fabricante) confirmaría un déficit de vitamina B12.
- Un nivel de cobalamina sérica > 250 pmol/L descarta el déficit de B12.
- Un nivel de cobalamina sérica entre 125 y 250 pmol/L sería la zona gris.

La asociación de médicos de Columbia Británica en Canadá (8) comenta las limitaciones de la medición de cobalamina sérica por lo que su resultado debe ser interpretado siempre junto a los datos clínicos. Aconsejaron efectuar esta interpretación:

Nivel cobalamina sérica (pmol/L)	Probabilidad de déficit sintomático
< 75	Alta
15-150	Moderada
150-220	Baja
> 220	Raro

Un panel de expertos de Ontario en Canadá realizó una revisión de la literatura publicada entre los años 2000 y 2012 sobre las pruebas diagnósticas de déficit de vitamina B12 (17). Identifican tres guías: dos están publicadas en revistas médicas (18,19) con una revisión sistemática de la literatura describiendo la metodología y dando unas recomendaciones y otra revisión que no está basada en una revisión sistemática de la literatura (8). Observaron que el test de vitamina B12 sérica tiene una baja precisión diagnóstica. Las tres guías que revisan el diagnóstico de déficit de B12 revelan una evidencia muy limitada que soporte las recomendaciones.

Willis y un panel de expertos de Australia (20) realizaron una revisión sistemática de la literatura publicada entre 1990 y 2009 y posteriormente un meta-análisis para comprobar el rendimiento diagnóstico de la medición de cobalamina sérica en pacientes que se pueden beneficiar de un tratamiento con B12. Identificaron 2.878 estudios de los que incluyen 54. La calidad metodológica en la mayoría no fue buena.

Según estos autores la sensibilidad del test de cobalamina sérica es baja cuando se le compara con la medición de ácido metilmalónico como método de referencia: 0.52 (0.39-0.65) y la especificidad es alta: 0.81 (0.70-0.89). Las cifras son similares cuando se le compara con el nivel de homocisteína como método de referencia con una sensibilidad de 0.40 (0.27-0.54) y una especificidad de 0.84 (0.73-0.90).

Los métodos de medición de cobalamina sérica varían entre los diferentes estudios pero en todos se confirmaron similares resultados de sensibilidad y especificidad.

Por último aplicando el criterio de respuesta clínica los resultados son similares a los obtenidos cuando se utilizaron los métodos de referencia ya citados.

Snow (3) en su guía sobre diagnóstico de déficit de vitamina B12 y folato refirieron que el límite inferior normal de cobalamina sérica es variable según la técnica utilizada, siendo generalmente usada la cifra de 148 pmol/L (200 pg/mL). La sensibilidad y especificidad del test para diagnosticar un déficit de

vitamina B12 varían mucho entre las publicaciones debido a que no hay un gold standard para el diagnóstico y a los diferentes diseños de los estudios.

Andrés y cols (19) realizaron una revisión basada en artículos publicados entre 1990 y 2003 sobre déficit de cobalamina especialmente en ancianos. Basándose en una publicación y en un trabajo propio utilizaron como definición de déficit de vitamina B12 en ancianos los siguientes criterios:

- Niveles de cobalamina sérica < 150 pmol/L en dos ocasiones separadas.
- Nivel de cobalamina sérica < 150 pmol/mL en una ocasión y niveles elevados de homocisteína (> 13 $\mu\text{mol/L}$) o ácido metilmalónico (> 0.4 $\mu\text{mol/L}$) en ausencia de déficit de fólico, vitamina B6 o insuficiencia renal.

En las publicaciones del Ministerio de Sanidad español hay un trabajo de J. Bilbao (21) revisando el déficit de vitamina B12, folatos y otras anemias carenciales. Dicho autor refiere como criterios diagnósticos de déficit de B12 los utilizados por Andrés (19).

Carmel en su revisión (13) refirió que en los déficits clínicos se ha demostrado que un nivel < 148 pmol/L (< 200 ng/L) tiene una sensibilidad diagnóstica del 95 % en las anemias megaloblásticas (90 % en un trabajo que tenía como criterio diagnóstico un descenso del 50 % en el nivel de AMM tras el tto). Sin embargo la sensibilidad para diagnosticar un déficit subclínico con ese cut-off fue del 38-39 % utilizando como criterio una elevación del AMM o de la homocisteína. El valor predictivo positivo fue del 58-78 %, si bien la especificidad no ha sido bien establecida ya que el *gold standard* siempre es un parámetro bioquímico y todos ellos tienen limitaciones.

Folato sérico

Es el test diagnóstico rutinario inicial estándar. Es un test ampliamente disponible, de bajo coste y automatizado. Sus principales ventajas y desventajas se resumen en los siguientes puntos:

- El nivel de folato sérico refleja el estatus y aporte recientes de folato (3,4,10,22). Unos días de hospitalización con una dieta normal o una transfusión pueden normalizar los niveles. Unos días con aportes pobres de folato pueden hacer descender el nivel de folato sérico con unos depósitos normales.
- No hay un consenso claro sobre el nivel de folato que indica déficit.
- Una muestra hemolizada libera el folato intraeritrocitario y puede elevar los niveles de folato sérico (3).

Según la guía inglesa (4) de forma convencional los clínicos utilizan un umbral de 7 nmol/l (3 µg/l) ya que por debajo de este nivel aumenta mucho el riesgo de anemia megaloblástica (grado 1B). Sin embargo hay una zona indeterminada que se sitúa aproximadamente entre 7 y 10 nmol/l (3 y 4.5 µg/l). Por tanto un nivel bajo de folato sérico debe considerarse como sugestivo de déficit más que como un test diagnóstico muy sensible.

En un trabajo que la OMS publica en 2008 (16) el punto de corte que indicaría un déficit de folato sería de 10 nmol/L (4 ng/mL).

SL Schrier ha referido en UpToDate (10) que con frecuencia coexiste un déficit de folato y de cobalamina por lo que conviene medir ambos niveles. Este documento recoge una referencia que sugiere utilizar el folato sérico como test de screening inicial y según el resultado:

- Si el nivel es > 4 ng/ml (9.1 nanomol/L) se descarta el déficit de folato.
- Si el nivel es < 2 ng/ml (4.5 nanomol/L) en ausencia de anorexia o ayuno reciente es diagnóstico de déficit de folato.

J. Bilbao (21) en su revisión señaló que la mejor manera de demostrar un déficit de folato es demostrar niveles de folato sérico < 4 ng/mL.

Snow (3) en su guía sobre diagnóstico de déficit de B12 y folato cita que los valores de referencia del folato sérico varían dependiendo de factores técnicos pero en general el límite inferior utilizado es de 6.8 nmol/L (3 ng/mL).

¿Cuándo se recomienda solicitar un test analítico de vitamina B12 o de folato sérico?

Hvas y Nexø (12) han referido que hay que sospechar un posible déficit de vitamina B12 en pacientes con anemia inexplicada, síntomas neuropsiquiátricos inexplicados y/o manifestaciones gastrointestinales como lengua dolorida, anorexia y diarrea. Hay que poner mayor atención en pacientes con mayor riesgo como ancianos debido a que presentan una incidencia más elevada de gastritis atrófica, así como en vegetarianos, veganos, pacientes con problemas intestinales o, enfermedades autoinmunes como Graves, tiroiditis y vitíligo, y tomadores de medicaciones como inhibidores de la bomba de protones, antagonistas del receptor de la histamina y biguanidas (metformina) durante largos períodos.

Los autores no son partidarios de efectuar cribado de déficit de vitamina B12 para la detección de casos subclínicos ya que los test diagnósticos no son lo suficientemente específicos lo que podría conllevar un sobrediagnóstico a gran escala cuando en realidad un déficit subclínico de vitamina B12 no es un problema clínico severo y el beneficio del tratamiento en dichos pacientes es cuestionable.

El Instituto canadiense INESSS ha publicado recientemente (5) unas recomendaciones revisadas por un Comité de expertos sobre el uso racional de 14 parámetros analíticos entre los cuales se encuentra la vitamina B12. El Comité de expertos ha efectuado las siguientes recomendaciones (no tienen grados de evidencia) sobre las indicaciones para hacer peticiones de niveles de vitamina B12:

- Anemia macrocítica, macrocitosis aislada o pancitopenia.
- Presencia de síntomas neurológicos inexplicados como parestesias, entumecimiento, déficit de coordinación motriz, problemas de memoria o cognitivos y cambios de personalidad.
- Personas de edad que padecen una enfermedad autoinmune que reciben metotrexate en asociación con suplementos de ácido fólico.

En cambio la medición del nivel de vitamina B12 no está indicada en personas asintomáticas, sin factores de riesgo de déficit de B12 o en los que están recibiendo suplementos de B12.

La Asociación de médicos de Columbia Británica en Canadá (8) ha efectuado unas indicaciones muy similares. Además refiere que habrá que considerar hacer una determinación en ancianos (> 75 años), pacientes con enfermedad inflamatoria del intestino delgado, resección de estómago o de intestino delgado, personas que siguen dieta vegetariana o sin carne ni pollo, así como personas con uso prolongado de medicamentos inhibidores de receptores H2, inhibidores de la bomba de protones o metformina. En pacientes con déficit no nutricional de vitamina B12 aconsejan un control analítico anual de cobalamina sérica.

Smellie et al (18) han publicado unas recomendaciones de expertos de varias especialidades de laboratorio sobre varias pruebas de laboratorio incluyendo la vitamina B12 y el folato.

Estos autores refirieron que hay indicación para medir niveles de cobalamina y folato en pacientes con anemia macrocítica, macrocitosis aislada > 110 fL y síntomas neuropsiquiátricos. Si coexisten talasemia o ferropenia la macrocitosis puede quedar enmascarada. Los síntomas neuropsiquiátricos pueden cursar sin anemia ni macrocitosis y en ese caso se solicitará medición de cobalamina pero no de folato.

También señalaron que algunos pacientes con déficit de vitamina B12, folato o hierro pueden desarrollar úlceras orales severas sin cambios en el hemograma. En personas que están recibiendo tratamiento únicamente se medirán niveles en caso de sospecha de incumplimiento del tratamiento o recurrencia de la anemia.

La guía inglesa también refiere que no hace falta medir niveles durante el tratamiento con vitamina B12 (4).

Un panel de expertos de Ontario en Canadá hizo una revisión de la literatura publicada entre los años 2000 y 2012 sobre las pruebas diagnósticas de déficit de B12 (17). Los pacientes con síntomas o signos de anemia por déficit de B12 (anemia macrocítica) deben ser estudiados con un test de B12 sérica. No está claro si otras subpoblaciones deben ser testadas (por ejemplo pacientes con anomalías neuropsiquiátricas). No está claro con qué frecuencia hay que medir niveles a los pacientes.

En la revisión de Andrés et al (19) sobre déficit de vitamina B12 en ancianos defienden que hay que medir niveles de B12 en todas las personas mayores de 65 años malnutridos, en todas las personas ingresadas en instituciones y hospitales psiquiátricos y en personas con manifestaciones hematológicas o neuropsiquiátricas sugestivas de déficit de B12.

Hunt (14) en su revisión aconseja solicitar estudio analítico de posible déficit de cobalamina en las siguientes situaciones: anemia, macrocitosis > 100 fl, síntomas clínicos de déficit de B12, enfermedad gastrointestinal conocida que se asocia a déficit de B12 y en veganos.

Pacientes en tratamiento con metformina

La metformina se usa en el tto de la diabetes de tipo II y puede asociarse a niveles disminuidos de cobalamina sérica. La toma de este medicamento disminuye la absorción de cobalamina por mecanismos no bien conocidos. Según la guía inglesa (3) no se puede establecer definitivamente la periodicidad con la que se deben determinar niveles de cobalamina sérica en pacientes en tratamiento con metformina pero se recomienda solicitar niveles cuando haya alta sospecha clínica de déficit (Grado 2B).

Pacientes en tratamiento hormonal sustitutivo y toma de anticonceptivos orales

En un estudio transversal se ha visto que los anticonceptivos orales pueden producir un descenso de cobalamina y holotranscobalamina séricas pero sin alterar los indicadores bioquímicos de alteración del metabolismo de la cobalamina como el ácido metilmalónico y la homocisteína (4). Se sugiere solicitar niveles de cobalamina únicamente en caso de alta sospecha clínica de déficit teniendo en cuenta el reto que supone interpretar los resultados (4).

Embarazo

Durante el tercer trimestre del embarazo se produce un descenso del 30 % en los niveles de cobalamina.

Según la guía inglesa (4) si durante el embarazo tenemos una alta sospecha de déficit debemos administrar un tratamiento breve empírico con hidroxicobalamina oral dejando el estudio completo para después del parto (Grado 2C). Durante el embarazo la holotranscobalamina es más fiable que la cobalamina para determinar si hay déficit y se recomienda como test de elección si se encuentra disponible (Grado 1B).

Vegetarianos

Según la guía inglesa (4) los vegetarianos, particularmente los veganos estrictos, se deben considerar para monitorizar niveles de cobalamina junto a una valoración clínica (Grado 2C). Se deben considerar suplementos orales principalmente en el embarazo y la lactancia (4,10).

Malabsorción debido a cirugía gástrica

La prevalencia de déficit de cobalamina es alta en pacientes sometidos a cirugía gástrica. Según la guía inglesa (4) los pacientes sometidos a cirugía bariátrica deben ser monitorizados en cuanto a niveles de cobalamina sérica y probablemente necesitarán suplementos de cobalamina por una vía de administración que dependerá del tipo de cirugía (Grado 1B). En la revisión de UpToDate (10) recomiendan suplementos con altas dosis diarias de cianocobalamina oral en pacientes sometidos a cirugía gástrica.

Malabsorción debido a enfermedad gástrica o afectación pancreática

Hay un grupo de alteraciones conocidas como malabsorción de la vitamina B12 unida a los alimentos (*food-bound cobalamin malabsorption*) que se caracterizan por hipoclorhidria gástrica debida a atrofia gástrica en relación a la edad o debido a la toma de medicamentos inhibidores de la bomba de protones o inhibidores de receptores H2. En estos casos la cobalamina no puede separarse de las proteínas del alimento y por tanto no puede unirse al factor intrínseco. Se asocia a un 30-40 % de casos de déficit subclínico de cobalamina. La guía inglesa (4) dice que los pacientes con malabsorción de la vitamina B12 unida a los alimentos pueden beneficiarse de suplementos orales de cobalamina a bajas dosis (Grado 2C).

Una enfermedad pancreática que afecte a su función exocrina impedirá que la cobalamina se libere de la haptocorrina en el duodeno pudiendo producir déficit de cobalamina. Esta situación es bastante rara y no se pueden dar recomendaciones concretas.

Infancia

Un déficit verdadero de cobalamina con problemas clínicos significativos es raro en la infancia en los países desarrollados y los datos sobre su prevalencia

son muy limitados. Niveles bajos de cobalamina sérica en la infancia en presencia de síntomas clínicos deben ser tratados de forma temprana para prevenir secuelas neurológicas (Grado 1A).

En caso de sospecha clínica de déficit de cobalamina aún en presencia de un nivel normal de cobalamina sérica la guía inglesa (4) recomienda solicitar pruebas analíticas de bioquímica como la homocisteína y el ácido metilmalónico (grado 1B). El papel de la holotranscobalamina en este contexto no está definido. Estudios adicionales para descartar anomalías genéticas deben ser referidos a centros de referencia.

Datos bioquímicos de déficit de cobalamina serían relativamente comunes en niños con lactancia exclusivamente materna. Sin embargo se desconoce el significado clínico y no se conoce si es necesario algún tipo de suplemento (4).

Se han comunicado algunos casos raros de defectos hereditarios de absorción y de incorporación celular de cobalamina que pueden producir déficit de cobalamina.

Exposición al óxido nitroso

En la revisión de UpToDate (10) se refiere que el óxido nitroso inactiva a la cobalamina y su uso como anestésico puede precipitar un deterioro neuropsiquiátrico en pacientes con déficit de cobalamina. Por ello aconsejan medir niveles séricos de cobalamina antes de usar este anestésico.

Déficit subclínico

Remacha y col (11) definieron a este grupo como aquellos pacientes que no presentan sintomatología típica del déficit clínico de vitamina B12 pero el estudio de laboratorio demuestra la presencia de déficit.

Hasta un 5-15 % de las personas mayores tiene un nivel de cobalamina sérica baja o en la zona gris (entre 150 y 200 pmol/L) y en esa misma franja de edad la anemia perniciosa supone un 2 %. Muchos serán casos de déficit subclínico (hasta la mitad de los casos presentan malabsorción de la vitamina B12 unida a los alimentos, otros tomarán medicamentos como la metformina u omeprazol, *Helicobacter pylori*, etc.). Es esencial hacer un estudio de los metabolitos para diferenciar si se trata de un déficit subclínico o de una cobalamina sérica baja o borderline sin déficit real. Un problema añadido es que muchas personas mayores tienen insuficiencia renal que eleva tanto la homocisteína como el ácido metilmalónico, aunque en menor medida. Probablemente el uso de diferentes puntos de corte diagnósticos en caso de insuficiencia renal podría solventar en parte este problema.

Carmel en su revisión (13) ha referido que cada vez se diagnostican más pacientes asintomáticos con cambios bioquímicos y ello nos plantea importantes interrogantes: ¿dichos pacientes deben ser tratados, monitorizados o ignorados? ¿si son tratados con qué dosis, durante cuánto

tiempo y con qué objetivo final?. El uso de cobalamina oral sin un diagnóstico preciso confunde tanto a los médicos como a los pacientes. La pérdida de las pruebas diagnósticas de absorción de la cobalamina ha contribuido a este escenario.

En la mayoría de los casos con déficit subclínico de cobalamina la absorción de dicha vitamina es normal. En aproximadamente el 30-50 % de los casos hay malabsorción moderada limitada a la vitamina B12 unida a los alimentos que ocasionalmente responde a un tratamiento antibiótico. El tiempo de latencia del déficit subclínico suele ser muy largo y puede evolucionar a la normalización espontánea o a un déficit clínico.

Solomon en su revisión (15) refirió que el déficit subclínico es prevalente en ancianos y se ha asociado a malabsorción de la cobalamina unida a los alimentos. Su significado clínico y pronóstico son inciertos. En algunos estudios no controlados algunos pacientes han mejorado con el tratamiento con vitamina B12 pero otros no. Sin embargo otros estudios sugieren que esta alteración no suele progresar y que el tratamiento no aporta ningún beneficio.

Enfermedad tromboembólica

Remacha y cols (9) refirieron que entre un 20 y un 25 % de los pacientes con enfermedad tromboembólica (ETE) presentan niveles elevados de homocisteína. Se han tratado miles de estos pacientes con dosis altas de vitamina B12 oral y no parece haber disminuido la incidencia de ETE aunque en recientes metaanálisis parece observarse cierto efecto protector sobre el accidente vascular cerebral.

Se han publicado estudios retrospectivos y prospectivos que demuestran una relación entre ETE y déficit de vitamina B12.

Queda por determinar cuál es realmente su posible papel en la ETE pues dada la prevalencia del déficit de vitamina B12 en la ETE se precisaría un número muy elevado de casos para demostrar su efecto protector.

En cuanto a la anemia por déficit de folato las causas más frecuentes son la dieta pobre, el alcoholismo severo y algunas enfermedades gastrointestinales (puede ser la forma de presentación de una enfermedad celiaca).

Durante el embarazo y la lactancia aumentan las necesidades maternas de folato. Teniendo en cuenta que a las embarazadas se les dan suplementos de folato no hace falta pedir niveles de folato sérico excepto en circunstancias especiales como dieta pobre, sospecha de malabsorción, hiperemesis o presencia de anemia macrocítica.

También aumentan las necesidades de folato en las anemias hemolíticas crónicas.

En las hemodiálisis se medirá el nivel de folato sérico previo a su realización.

Se pueden detectar niveles bajos de folato sérico en pacientes tomadores crónicos de medicación anticonvulsivante y en pacientes homocigotos para un

polimorfismo del gen *MTHFR* (HGNC:7436) que codifica el enzima 5,10-metilenetetrahidrofolato reductasa que participa en el metabolismo del folato.

Según la guía inglesa (4) los niveles de folato sérico generalmente se miden en situaciones clínicas similares a los de déficit de cobalamina (Grado 1A).

El Instituto canadiense INESSS en la publicación que hemos citado previamente (5) da las siguientes recomendaciones sobre las peticiones de ácido fólico:

- La medición de ácido fólico está indicada para la evaluación de una anemia macrocítica, de una macrocitosis aislada, de una pancitopenia o cuando la información clínica sugiere un déficit de folato. También está indicado en los casos de síndrome de malabsorción (enfermedad celiaca, enfermedad de Crohn), malnutrición grave, alcoholismo y pacientes en tratamiento con ciertos medicamentos (trimetoprim, salazopirina).
- La medición de ácido fólico no está indicada en personas asintomáticas o con hemograma normal o en aquellos que están recibiendo suplementos de ácido fólico.

Pruebas de confirmación en caso de resultados dudosos o inesperados en el nivel de cobalamina sérica o de folato sérico

Homocisteína plasmática total

Las principales características de esta prueba son las siguientes:

- Es un test sensible ya que aumenta de forma temprana en caso de déficit de cobalamina y de folato (ver esquema de reacciones metabólicas).
- Es un test poco específico ya que su nivel se eleva también en otras situaciones (3,4,9,12,13,22): déficit de folato, déficit de vitamina B6 (piridoxina), insuficiencia renal, hipotiroidismo, hipovolemia, toma de medicaciones (isoniazida), psoriasis y alteraciones metabólicas congénitas.
- El manejo preanalítico de la muestra es clave para este test ya que la muestra debe mantenerse en frío y debe centrifugarse separando el plasma de los eritrocitos antes de las 2 horas de la extracción (4,13,14).

En la revisión de UpToDate (10) se refiere que las determinaciones de homocisteína y de ácido metilmalónico estarían indicados en casos de alta sospecha de déficit de cobalamina y/o folato y resultados borderline de niveles de cobalamina y/o folato séricos y también en caso de síntomas neurológicos o macrocitosis inexplicadas.

La revisión cita un estudio (23) de 434 episodios con déficit documentado de cobalamina en los que el nivel de homocisteína y de ácido metilmalónico estaba elevado en el 96 % y 98 % respectivamente. En el mismo estudio se recogen datos de 123 episodios de déficit de folato de los cuales un 91 % presentaba nivel elevado de homocisteína y sólo un 12 % nivel elevado de ácido metilmalónico, en todos ellos excepto en un caso, debido a insuficiencia renal.

Los niveles elevados de homocisteína y de ácido metilmalónico se normalizan tras el tratamiento lo que puede ser una evidencia más que demuestre el déficit de vitamina.

En una reciente revisión de 2013 de Stabler (9) se indica que los niveles de homocisteína total se encuentran muy elevados (nivel > 21 $\mu\text{mol/L}$) en el 96 % de pacientes con déficit clínico de vitamina B12 incluyendo a los pacientes con síntomas neurológicos pero sin anemia.

Hasta un 50 % de los pacientes con niveles bajos de cobalamina sérica sin respuesta hematológica ni neurológica al tratamiento con vitamina B12 presentan niveles normales de estos dos metabolitos indicando que el nivel bajo de cobalamina sérica es un falso negativo.

Teniendo en cuenta las limitaciones de la medición de cobalamina sérica en los pacientes con sospecha clínica de déficit de vitamina B12 puede estar justificado medir niveles de homocisteína total y de ácido metilmalónico o de administrar tratamiento empírico estableciendo unos claros parámetros para medir la respuesta clínica.

Según la guía inglesa (4) se puede medir la homocisteína plasmática para confirmar un déficit de folato sólo en circunstancias especiales; un nivel superior a 15 $\mu\text{mol/l}$ puede ser indicativo de un déficit de folato pero siempre se deben tener en cuenta los niveles de referencia locales (Grado 2B).

Ácido metilmalónico plasmático

Las principales características de esta prueba son las siguientes:

- Es un test de alto coste y complejo (espectrometría de masas y cromatografía de gases) y está disponible sólo en muy pocos laboratorios (4,11).
- Su nivel se eleva en el déficit de cobalamina (ver esquema de reacciones metabólicas) pero también puede elevarse en personas con insuficiencia renal, sobrecrecimiento bacteriano intestinal, edad > 65 años, en caso de hemoconcentración y alteraciones metabólicas congénitas. Puede disminuir por la toma de antibióticos que reduzcan la flora intestinal (3,4,9,13).

Según la guía inglesa (4) la determinación de homocisteína plasmática total y/o de ácido metilmalónico plasmático (AMM), dependiendo de su

accesibilidad, pueden considerarse como pruebas analíticas suplementarias para saber si hay déficit de cobalamina sérica en casos de sospecha clínica y un nivel indeterminado de cobalamina sérica (Grado 2B). Aunque la homocisteína es un marcador sensible el ácido metilmalónico es más específico.

En la revisión de Stabler del 2013 (9) se dice que los niveles de AMM se encuentran muy elevados (> 400 nmol/L) en el 98 % de los pacientes con déficit clínico de vitamina B12 incluyendo a los pacientes con síntomas neurológicos pero sin anemia. Casi todos los pacientes tienen niveles de ácido metilmalónico > 500 nmol/L y un 86 % niveles > 1.000 nmol/L. Es una elevación razonablemente específica aunque puede haber aumentos moderados con valores entre 300 y 700 nmol/L en la insuficiencia renal.

Hvas y Nexø (12) recomiendan medir el nivel de AMM cuando el nivel de cobalamina sérica está en la zona gris entre 125 y 250 pmol/L. Los valores de referencia para el AMM son de 0.08-0.28 $\mu\text{mol/L}$. Según su resultado tendríamos:

- < 0.29 $\mu\text{mol/L}$. Se descarta déficit de vitamina B12.
- > 0.75 $\mu\text{mol/L}$. Se confirma déficit de vitamina B12.
- Entre 0.29 y 0.75 $\mu\text{mol/L}$. Zona gris.

En la guía publicada por Snow (3) se hace referencia a la posible utilidad del ácido metilmalónico y de la homocisteína para confirmar el diagnóstico de un déficit de vitamina B12 o de folato. Sus valores de referencia son variables dependiendo de cada laboratorio.

Esta guía hace referencia a un trabajo de Savage et al (23) sobre pacientes con déficit de cobalamina con alteraciones hematológicas en el que la sensibilidad diagnóstica de un nivel elevado de AMM y de homocisteína (3 DS por encima de la media) fue del 98 % y 96 %. Hubo unos pocos casos en los cuales se elevaba sólo uno de los dos parámetros.

La sensibilidad diagnóstica de estas pruebas analíticas en caso de déficit moderado de vitamina B12 no se conoce bien. Es muy probable que su nivel se eleve antes de que aparezcan las alteraciones hematológicas y el descenso de la cobalamina sérica. En cuanto a la especificidad de estas pruebas analíticas es difícil hacer una estimación.

Carmel en su revisión (13) ha referido que una elevación del nivel de AMM tendría una sensibilidad del 95 % para el diagnóstico de déficit de B12 en casos de anemia perniciosa. El nivel aumentaría mucho, habitualmente hasta miles de nmol/L. Sin embargo en estas situaciones sería una técnica que superaría poco al test de cobalamina sérica. En el déficit subclínico el nivel de AMM raramente superaría los 800 nmol/L y al igual que todos los biomarcadores tendría una sensibilidad diagnóstica menor.

Carmel refiere asimismo que en los estudios de investigación el diagnóstico de déficit de vitamina B12 debería estar basado en la combinación de dos pruebas analíticas con diferentes limitaciones y que se complementen. La mejor combinación sería la medición de cobalamina sérica y de AMM siendo diagnóstico únicamente en los casos en que el nivel de ambos parámetros estuviera alterado.

Holotranscobalamina

Las principales características de esta prueba son las siguientes:

- Es una medida de la fracción activa de la cobalamina sérica. No necesita preparación preanalítica.
- Hacen falta más estudios para determinar la utilidad clínica de la holotranscobalamina en la detección de un déficit de cobalamina (4,9,11,12,14,22).
- Se puede elevar según polimorfismos genéticos comunes, insuficiencia renal y hepatopatía lo que limita de forma considerable su utilidad (20). Se ha sugerido que pueden influir en los niveles la toma de anticonceptivos orales, mielodisplasia y otras patologías hematológicas, patología de los histiocitos, trastornos del folato y el alcoholismo (13).

Según la guía inglesa (4) esta prueba presenta una zona gris más pequeña y una mayor sensibilidad y especificidad que la cobalamina sérica. Los valores de normalidad en individuos sanos serían de 35-171 pmol/l variando según diferentes estudios los niveles inferiores entre 19 y 42 pmol/l y los niveles superiores entre 134 y 157 pmol/l. Puede servir para reducir los casos con resultados indeterminados sobre todo en personas con más de 65 años. También puede usarse en el embarazo o en las mujeres que toman anticonceptivos orales ya que no presenta el descenso fisiológico habitual de la cobalamina.

Según esta guía (4) parece un candidato firme para ser la determinación de primera elección en el estudio del déficit de cobalamina en el futuro, sobre todo si los costes disminuyen.

En una revisión de Stabler del 2013 (9) se refiere que esta medición ha supuesto una mejora en la especificidad con respecto a la medición de cobalamina sérica.

Para Hvas y Nexø (12) la holotranscobalamina ha demostrado en algunos trabajos ser un marcador temprano de déficit de B12 pero hacen falta más estudios para saber lo que realmente puede aportar de valor añadido a las pruebas analíticas previas.

Willis y un panel de expertos de Australia (20) en su revisión sistemática con respecto a la holotranscobalamina refirieron que aunque hay algún estudio con un gran número de pacientes en el que la holotranscobalamina se mostró más eficaz que la cobalamina sérica para diagnosticar déficit de vitamina B12 (área bajo la curva de 0.85 y 0.76 respectivamente) hay que tener en cuenta sus limitaciones.

Carmel en su revisión (13) ha señalado que es un parámetro cuya valoración clínica aún es limitada. Cuando se le compara con el nivel de cobalamina sérica el área bajo la curva es ligeramente mejor para la holotranscobalamina. En cuanto a la especificidad el resultado cuando se le compara con el AMM es poco claro.

Folato eritrocitario

Es un indicador del estado del folato tisular durante un plazo más largo teniendo en cuenta la vida media de los eritrocitos.

Un nivel de folato eritrocitario menor a 340 nmol/l (150 µg/l) se considera indicativo de un déficit clínico de folato. En una revisión se concluye que el nivel de folato sérico nos da una información similar. Se ha sugerido que medir el folato eritrocitario puede ser útil en aproximadamente un 5 % de pacientes con macrocitosis y folato sérico normal.

Las técnicas actuales pueden verse afectadas por variables preanalíticas y analíticas por lo que no es una medición robusta (3,4).

La guía inglesa (4) refiere que no es necesario medir de rutina el folato eritrocitario ya que el folato sérico es suficiente en la mayoría de los casos (Grado 1A). En caso de alta sospecha clínica de déficit de folato a pesar de tener un nivel de folato sérico normal, se puede solicitar un nivel de folato eritrocitario siempre que se haya descartado un déficit de cobalamina (Grado 2B).

Según UpToDate (10) la medición de folato eritrocitario se reservaría para pacientes con valores borderline de folato sérico (entre 2 y 4 ng/mL), pacientes con sospecha de déficit combinado de cobalamina y de folato y pacientes con difícil interpretación del resultado (comida hospitalaria reciente o anorexia reciente).

Pruebas diagnósticas para determinar la etiología del déficit de cobalamina

Anticuerpos anti-factor intrínseco (anti-FI)

Su resultado es positivo en el 40-60 % de las anemias perniciosas (2,8) y se obtiene un 1-2 % de falsos positivos. Por tanto es un test con baja sensibilidad y alta especificidad para el diagnóstico de la anemia perniciosa.

Según la guía inglesa (4) en todos los pacientes con anemia, neuropatía o glositis y sospecha de anemia perniciosa debe hacerse un estudio de anti-FI independientemente del nivel de cobalamina (2). En los pacientes en los cuales se detecta un nivel bajo de cobalamina sérica en ausencia de anemia y que no presentan malabsorción u otras causas de déficit debe hacerse el estudio de anti-FI para aclarar si hay una anemia perniciosa precoz/latente (Grado 2A).

Títulos altos de anti-FI pueden dar falsos niveles normales de cobalamina. Si hay alta sospecha clínica de déficit de cobalamina se podría solicitar estudio de anti-FI.

Anticuerpos anti-células parietales gástricas

Son positivos en el 80 % de los pacientes con anemia perniciosa pero también son positivos en el 10 % de las personas sin esta patología. Por ello la guía inglesa (3) no aconseja el estudio de anticuerpos anti-células parietales gástricas para el diagnóstico de anemia perniciosa (Grado 1A).

Según la revisión de Uptodate (10) la sensibilidad de este test es mayor que la de anticuerpos anti-FI pero la especificidad es baja por lo que su utilidad es muy cuestionada.

Wickramasinghe (22) refiere que los anticuerpos anti-células parietales gástricas son positivos en el 50-90 % de los casos de los pacientes con anemia perniciosa pero también en un 16 % de las personas de más de 60 años y en mayores porcentajes en algunos grupos de pacientes con otras patologías. Por ello cree que esta prueba analítica no ayuda a establecer la causa de la anemia perniciosa.

Otros

Ya no se dispone del test de Schilling en el Reino Unido (4) ni en EEUU (10) ni en muchos países. Tampoco se dispone de él en la Comunidad Autónoma del País Vasco.

Según la guía inglesa (4) en pacientes con anemia perniciosa que desarrollan también una anemia ferropénica (indicativa de gastritis crónica atrófica) se debe hacer una endoscopia debido a que presentan un riesgo aumentado de carcinoma gástrico pero no se recomiendan las endoscopias como vigilancia.

Según la revisión de UpToDate (10) niveles elevados de gastrina sérica, niveles bajos de pepsinógeno I y un ratio disminuido de pepsinógeno I versus pepsinógeno II tienen una sensibilidad del 90-92 % para el diagnóstico de anemia perniciosa pero con una baja especificidad. Podrían tener indicación para el diagnóstico de anemia perniciosa en los casos con anticuerpos anti-FI negativos.

Para Hvas y Nexo (12) una vez diagnosticado el déficit de vitamina B12 no hacen falta más pruebas analíticas en caso de que por la historia clínica la causa sea por una dieta vegetariana o por una resección gástrica o ileal. Tampoco les parece que haya que hacer más pruebas analíticas en ancianos en los que por los datos clínicos y las pruebas analíticas de laboratorio de primera línea se haya demostrado un déficit obvio de vitamina B12.

En el resto de pacientes consideran importante hacer más pruebas analíticas para llegar a saber la causa del déficit de B12 especialmente anticuerpos anti-FI que pueden ser positivos hasta en el 70 % de los pacientes con anemia perniciosa.

El pepsinógeno y la gastrina aumentan en la atrofia gástrica pero son pruebas analíticas con baja especificidad. Los anticuerpos anti-células parietales pueden estar presentes en la anemia perniciosa pero tienen una especificidad muy baja. No se pueden dar recomendaciones concretas sobre el uso de estas pruebas analíticas.

El test de Schilling ya no es accesible en muchos países. Recientemente los autores de la revisión han publicado algunos trabajos proponiendo un método alternativo llamado CobaSorb. En dicho método se administra una dosis oral de cobalamina no radiactiva y si se demuestra un aumento en el nivel sérico de holotranscobalamina se considera que hay una buena absorción de la cobalamina. Se ha probado en sujetos sanos y pacientes con defectos congénitos que alteran la absorción pero aún se ha probado en muy pocos pacientes con déficit adquirido de B12.

Hvas y Nexo refieren que la mayoría de los expertos recomiendan endoscopias de vigilancia cada 5 años en pacientes con anemia perniciosa debido al riesgo aumentado de cáncer gástrico.

Snow (3) en su guía refirió que el nivel de gastrina sérica está elevado en el 80-90 % de los pacientes con anemia perniciosa (la atrofia gástrica con hipoclorhidria se acompaña de una hiperplasia antral de células G con hipergastrinemia). Los niveles también tienden a ser elevados en pacientes con menor grado de atrofia gástrica con malabsorción de vitamina B12 unido a las proteínas de los alimentos. El test tendría una sensibilidad y especificidad limitada para el diagnóstico de anomalías gástricas subclínicas.

Aproximación clínica a la investigación de las alteraciones relacionadas con la cobalamina

La guía inglesa (4) resume las recomendaciones en dos algoritmos que se pueden consultar en dicha guía:

- Algoritmo 1: pacientes con alta sospecha de déficit de cobalamina con datos objetivos como anemia, glositis o parestesias.
- Algoritmo 2: pacientes con niveles bajos de cobalamina sérica pero sin anemia u otros datos objetivos significativos (cobalamina baja de

significado incierto). Se trata principalmente de pacientes mayores en los que se ha pedido la analítica por síntomas inespecíficos (astenia, síntomas neuropsiquiátricos, chequeo...). Puede tratarse de pacientes con una anemia perniciosa latente o ser un descenso por alguna de las causas citadas al hablar de la determinación de cobalamina sérica.

En la revisión de UpToDate (10) recomiendan evaluar los resultados de las pruebas analíticas de la siguiente manera: si los niveles de folato sérico son > 4 ng/mL y de cobalamina > 300 pg/mL (> 221 picomoles/L) el déficit es muy improbable y no está indicado hacer más pruebas analíticas.

Si los niveles son borderline o discordantes con los datos clínicos se solicitarán niveles de homocisteína total y de ácido metilmalónico. Según sus resultados:

- Si el nivel de ambos es normal es muy improbable que haya un déficit de alguna de las dos vitaminas. Si de todas maneras persiste la sospecha clínica se iniciará tratamiento con cobalamina 1.000 µg subcutáneo 1 vez por semana durante 1-3 semanas y se medirá la respuesta según reticulocitos, hemoglobina, macrocitos y neutrófilos hipersegmentados.
- Si el nivel de ambos está elevado se confirma un déficit de cobalamina con una sensibilidad y especificidad del 94 y 99 % respectivamente. Si los resultados están en los límites puede repetirse la medición en otra muestra. No podemos descartar que haya también un déficit de folato.
- Cuando el nivel de la homocisteína está elevado pero el nivel de ácido metilmalónico es normal debemos sospechar un déficit de folato con una sensibilidad y especificidad del 86 y 99 % respectivamente.

Snow (3) en su guía también presenta unos algoritmos diagnósticos diferenciando los pacientes con alteraciones hematológicas y los pacientes que sólo presentan alteraciones neurológicas. Podemos destacar lo siguiente:

- Pacientes con alteraciones hematológicas sugestivas de déficit de B12 o folato.
 - Nivel de cobalamina sérica < 74 pmol/L (100 pg/mL). Probable déficit de vitamina B12.
 - Nivel de cobalamina entre 74 y 221 pmol/L (100-300 pg/mL). Posible déficit de vitamina B12. Medir niveles de AMM y de homocisteína.
 - Nivel de cobalamina sérica > 221 pmol/L (300 pg/mL). Es improbable que haya un déficit de vitamina B12. Ver nivel de folato y si también es normal pensar en otras causas para las alteraciones hematológicas.
- Pacientes que sólo presentan alteraciones neurológicas. En estos pacientes hay que tener en cuenta que el déficit de folato raramente provoca síntomas neurológicos, el tratamiento con vitamina B12 es poco tóxico y un retraso en el tratamiento puede hacer que las

secuelas neurológicas sean permanentes por lo que en estos pacientes el binomio riesgo-beneficio sería favorable a tratar en caso de duda de si hay déficit. La falta de respuesta no demuestra que no se tratara de un déficit. Puede ser útil hacer un seguimiento del VCM ya que aunque inicialmente sea normal con el tratamiento puede observarse un descenso significativo en caso de que haya respuesta.

5. RECOMENDACIONES

Pruebas analíticas para diagnosticar un déficit de cobalamina o de folato

Volumen Corpuscular Medio (VCM) y morfología de sangre periférica

Un valor de hemoglobina o VCM normales no pueden ser empleados para rechazar una determinación de nivel de cobalamina o de folato.

La identificación de neutrófilos hipersegmentados y de macrocitos ovoides puede sugerir un déficit de cobalamina o folato pero no son hallazgos muy sensibles para un diagnóstico temprano y tampoco son específicos.

Cobalamina sérica (nivel de vitamina B12)

Es la prueba diagnóstica rutinaria estándar para el diagnóstico de déficit de vitamina B12. Los resultados del nivel de cobalamina sérica serán interpretados dependiendo de los valores de referencia de cada laboratorio y siempre teniendo también en cuenta los datos clínicos de sospecha de déficit de vitamina B12.

Pueden ser causas de un nivel bajo de cobalamina sérica sin déficit real los siguientes factores: déficit de folato, embarazo, toma de anticonceptivos orales, mieloma, anemia ferropénica y VIH.

Folato sérico

Es la prueba diagnóstica rutinaria estándar para el diagnóstico de déficit de folato. Los resultados del nivel de folato sérico serán interpretados dependiendo de los valores de referencia de cada laboratorio y siempre teniendo también en cuenta los datos clínicos de sospecha de déficit de folato. El nivel de folato sérico refleja el estatus y aporte recientes de folato en la dieta. Unos días de hospitalización con dieta normal o una transfusión pueden normalizar los niveles. Unos días con aportes pobres de folato pueden hacer descender el nivel de folato sérico con unos depósitos normales. Una muestra

hemolizada libera el folato intraeritrocitario y puede elevar los niveles de folato sérico.

¿Cuándo se recomienda solicitar determinación de vitamina B12 o de folato sérico?

Se recomienda solicitar ambas pruebas analíticas a la vez (vitamina B12 o cobalamina sérica y folato sérico) en los siguientes casos:

- Anemia macrocítica o macrocitosis aislada. Si coexisten ferropenia o talasemia la macrocitosis puede quedar enmascarada.
- Pancitopenia.
- Glositis y/o úlceras orales en población de riesgo de padecer déficit.

Se recomienda solicitar un test de vitamina B12 o cobalamina sérica sin incluir folato sérico en los siguientes casos:

- Presencia de síntomas neurológicos inexplicados como parestesias, entumecimiento, déficit de coordinación motriz, problemas de memoria o cognitivos y cambios de personalidad independientemente de los resultados del hemograma.

¿Cuándo NO se recomienda solicitar una determinación de vitamina B12 o de folato sérico?

No se recomienda solicitar ninguna de ambas pruebas en los siguientes casos:

- Personas asintomáticas con hemograma normal.
- Personas sin factores de riesgo de déficit.
- Personas que están recibiendo suplementos de vitamina B12 o folato, salvo sospecha de abandono del tratamiento.

Factores de riesgo de déficit de vitamina B12

- Edad avanzada. Los ancianos presentan una mayor incidencia de gastritis atrófica.
- Dieta vegetariana.
- Resección de estómago o de intestino delgado.
- Enfermedad inflamatoria del intestino delgado.
- Enfermedades autoinmunes como Graves, tiroiditis y vitíligo.
- Tratamiento crónico con inhibidores de la bomba de protones, antagonistas de receptores H2 de la histamina o biguanidas (metformina).

Factores de riesgo de déficit de folato

- Síndrome de malabsorción (enfermedad celiaca, enfermedad de Crohn).
- Malnutrición grave.
- Alcoholismo.
- Tratamiento crónico con ciertos medicamentos (trimetoprim, salazopirina, anticonvulsivantes).
- Hiperconsumo: anemias hemolíticas crónicas.

¿Qué pruebas se pueden solicitar para determinar la etiología del déficit de cobalamina?

Si por la historia clínica la etiología está clara (vegetarianos, cirugía gástrica, etc..) no hacen falta más estudios.

Sospecha de anemia perniciosa

- Anticuerpos anti-factor intrínseco (anti-FI). Se recomienda solicitar esta prueba analítica en caso de sospecha de anemia perniciosa. Tiene una sensibilidad baja pero una gran especificidad: su resultado es positivo en el 40-60 % de las anemias perniciosas y ocasiona un 1-2 % de resultados falsos positivos.
- Anticuerpos anti-células parietales gástricas. Con los datos disponibles es una prueba diagnóstica de recomendación dudosa ya que su utilidad está en entredicho debido a que a pesar de ser más sensible es poco específico: su resultado es positivo en el 50-90 % de los pacientes con anemia perniciosa pero también en el 10 % de las personas sin ella.
- Otras pruebas. No se recomienda medir niveles de gastrina ni de pepsinógeno. El test de Schilling ya no está disponible. A parte de las pruebas de laboratorio en algunas publicaciones recomiendan hacer una gastroscopia con biopsias al diagnóstico.

En caso de resultados dudosos en el nivel de cobalamina sérica o de folato sérico ¿Qué pruebas de confirmación se pueden solicitar?

En caso de resultados dudosos en los niveles de cobalamina sérica o de folato sérico o que no sean coherentes con los datos clínicos se recomienda consultar con los especialistas, quienes valorarán la necesidad de iniciar un tratamiento empírico y/o ampliar el estudio analítico con parámetros especiales como:

- Dudas de déficit de vitamina B12: homocisteína plasmática total, ácido metilmalónico plasmático y/o holotranscobalamina.

- Dudas de déficit de folato: folato intraeritrocitario y/o homocisteína plasmática total.

¿Qué analíticas de control se deben solicitar durante el tratamiento?

En los pacientes que inician tratamiento con cobalamina o folato se recomiendan las siguientes analíticas de control:

- Hemogramas periódicos: de forma orientativa mensual hasta la normalización y posteriormente anual. Si en 2 meses no se objetiva mejoría en la anemia o en la macrocitosis remitir al especialista.
- En el caso de déficit de cobalamina vigilar electrolitos en las primeras semanas del inicio del tratamiento debido a que puede aparecer hipokaliemia.
- No hace falta vigilar niveles de cobalamina sérica o de folato sérico. Sólo estarán indicadas estas pruebas de control en caso de que reaparezca una anemia o se sospeche un incumplimiento del tratamiento.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Utilización de las pruebas de función tiroidea en la práctica clínica. Recomendaciones. <https://www.osakidetza.net/sites/Intranet/es/salud-apoyo/plan-director-laboratorios/proyectos/Paginas/default.aspx>
2. Indicaciones para la determinación de niveles séricos de vitamina D. Enero 2015 <https://www.osakidetza.eus/sites/Intranet/es/referencia-documental/Documentos%20compartidos/RecomendacionesVitD.pdf>
3. Snow, C.F. Laboratory diagnosis of vitamin B12 and folate deficiency: a guide for the primary care physician. Archives of Internal Medicine 1999; 159: 1289–1298.
4. Devalia V., Hamilton M.S. and Molloy A.M. on behalf of the British Committee for standards in haematology. Guidelines for the diagnosis and treatment of cobalamin and folate disorders. Br J Haematol 2014; 166(4): 496-513.
5. Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS). Usage judicieux de 14 analyses biomédicales. Rapport rédigé par Faiza Boughrassa et Alicia Framarin avec la collaboration du Comité d'experts sur la pertinence-OPTILAB. Montréal, Québec: INESSS; 2014. 33 p.
6. British Columbia Ministry of Health (BCMH). Folate deficiency - Investigation & management. BC Medical Association. Victoria, BC : Guidelines and Protocols Advisory Committee; 2012. Disponible à : <http://www.bcguidelines.ca/pdf/folate.pdf>.
7. Ontario Association of Medical Laboratories (OAML). Guidelines for folate testing. Community laboratory guidelines. Toronto, ON : OAML;

2009. Disponible à:
<http://www.oaml.com/PDF/2009/OAML%20Folate%20Guideline%20FINAL%20September%202009.pdf>.
8. British Columbia Ministry of Health (BCMH). Cobalamin (vitamin B12) deficiency - Investigation & management. Victoria, BC : Guidelines and Protocols Advisory Committee 2013. Disponible à :
<http://www.bcguidelines.ca/pdf/cobalamin.pdf>.
 9. Stabler, S.P. Clinical practice. Vitamin B12 deficiency. *New England Journal of Medicine* 2013; 368: 149–160.
 10. Schrier S.L. Diagnosis and treatment of vitamin B12 and folate deficiency. *UpToDate*. Last updated: Jun 25, 2014.
 11. Remacha A.F., Zapico E., Sarda P., Remacha J., Queraltó J.M. Diagnóstico del déficit de vitamina B12-folato: papel de la homocisteína, el ácido metilmalónico y la holotranscobalamina. LV Congreso Nacional de la SEHH, Sevilla 2013. Programa educacional: 2-6.
 12. Hvas, A.M. & Nexø, E. Diagnosis and treatment of vitamin B12 deficiency—an update. *Haematologica* 2006; 91: 1506–1512.
 13. 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. *American Journal of Clinical Nutrition* 2011;94: 348S–358S.
 14. Hunt A. Vitamin B12 deficiency. *BMJ* 2014; 349: g5226.
 15. Solomon L.R. Disorders of cobalamin (vitamin B12) metabolism: emerging concepts in pathophysiology, diagnosis and treatment. *Blood reviews* 2007; 21: 113-130.
 16. de Benoist B. Conclusions of a WHO Technical Consultation on folate and vitamin B12 deficiencies. *Food Nutr Bull* 2008;29(2 Suppl):S238–44.
 17. Qualité des services de santé Ontario. Serum vitamin B12 testing: A rapid review. Toronto, ON : Health Quality Ontario; 2012. Disponible à :
<http://www.hqontario.ca/Portals/0/Documents/eds/rapid-reviews/vitamin-b12-121212-en.pdf>.
 18. Smellie WS, Wilson D, McNulty CA, Galloway MJ, Spickett GA, Finnigan DI, et al. Best practice in primary care pathology: Review 1. *J Clin Pathol* 2005;58(10):1016-24.
 19. Andres E, Loukili NH, Noel E, Kaltenbach G, Abdelgheni MB, Perrin AE, et al. Vitamin B12 (cobalamin) deficiency in elderly patients. *Can Med Assoc J.* 2004;171(3):251-9.
 20. Willis CD, Elshaug AG, Milverton JL, Watt AM, Metz MP, Hiller JE. Diagnostic performance of serum cobalamin tests: A systematic review and meta-analysis. *Pathol.* 2011;43(5):472-81.
 21. Bilbao J. Anemias carenciales II: anemia megaloblástica y otras anemias carenciales. *Información terapéutica del Sistema Nacional de Salud* 2006; 30: 67-75.

22. Wickramasinghe S.N. Diagnosis of megaloblastic anaemias. Blood reviews 2006; 20: 299-318.
23. Savage DG, Lindenbaum J, Stabler SP, Allen RH. Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. Am J Med 1994; 96:239.