

De diagnostiek van vitamine-B₁₂-deficiëntie herzien

W.J.Wiersinga, S.E.J.A.de Rooij, J.G.M.Huijmans, J.C.Fischer en J.B.L.Hoekstra

- Deficiëntie van vitamine B₁₂ (cobalamine) komt frequent voor met potentieel irreversibele hematologische en neurologische consequenties.
- De huidige diagnostische tests, zoals de serumbeplating van vitamine B₁₂ en de Schilling-test, zijn ontoereikend, bijvoorbeeld omdat de positief voorspellende waarde van een lage serumspiegel van vitamine B₁₂ voor een werkelijke vitamine-B₁₂-deficiëntie, dat wil zeggen voor een deficiëntie op weefselniveau, laag is.
- Bij onvoldoende beschikbaarheid van vitamine B₁₂ zal er in het lichaam stapeling optreden van methylmalonzuur en homocysteïne. Nagenoeg alle patiënten met een vitamine-B₁₂-deficiëntie hebben dan ook sterk verhoogde methylmalonzuur- en homocysteïnewaarden.
- De nieuwe laboratoriumbepalingen van methylmalonzuur en homocysteïne in serum hebben een grote gevoeligheid; daarmee kan men de diagnostiek verbeteren en vereenvoudigen en wordt de nogal omslachtige Schilling-test overbodig.

Ned Tijdschr Geneesk. 2005;149:2789-94

Recent werd in dit tijdschrift beschreven dat er bij 5-10% van de Nederlandse bevolking een vitamine-B₁₂-tekort bestaat.¹ Meestal zal deze deficiëntie niet aan het licht komen, aangezien er op dit moment nog niet stelselmatig op gescreend wordt.² Een ander probleem is dat, nadat een verlaagde serumvitamine-B₁₂-spiegel vastgesteld is, de diagnostiek naar de onderliggende oorzaak vaak verwaarloosd wordt. Lastig hierbij is dat een verlaagde serumvitamine-B₁₂-spiegel niet altijd wil zeggen dat er ook een echte vitamine-B₁₂-deficiëntie bestaat. Amerikaans onderzoek wees uit dat 50% van de patiënten met een lage vitamine-B₁₂-spiegel, gedefinieerd als 2 standaarddeviaties beneden het gemiddelde in de niet-afwijkende bevolking, geen deficiëntie op weefselniveau heeft.³ Aan de andere kant sluit een vitamine-B₁₂-uitslag binnen het referentie-interval een functionele deficiëntie niet uit.⁴ Het is dan ook waarschijnlijk dat er vaak ten onrechte wel of juist geen suppletie therapie wordt ingesteld.

De plaats van de op dit moment gangbare diagnostische tests, zoals de serumvitamine-B₁₂-bepaling en de Schilling-test, is aan herziening toe. Nieuwe bepalingen zijn namelijk beschikbaar gekomen, zoals de methylmalonzuur- en homocysteïnebepalingen, die subklinische en klinische vitamine-B₁₂-deficiëntie met meer zekerheid kunnen aantonen.

In dit artikel doen wij een suggestie om tot een gestandaardiseerde analyse van vitamine-B₁₂-deficiëntie te komen, die een aanvulling kan zijn bij de recente standaard 'Anemie' van het Nederlands Huisartsen Genootschap.^{5 6}

VITAMINE-B₁₂-DEFICIËNTIE: KLINIEK, OORZAKEN EN BEHANDELING

Vitamine B₁₂, ook wel 'cobalamine' genoemd, is met name aanwezig in vlees, melkproducten en eieren. Deze is essentieel voor de erythropoëse en het functioneren van zenuwcellen. Een tekort aan vitamine B₁₂ kan dan ook leiden tot anemie en ook tot irreversibele neurologische schade als gevolg van demyelinisatie en axonale degeneratie; dit kan paresthesieën, ataxie, dementie en psychose tot gevolg hebben. Echter, de meeste patiënten bij wie een vitamine-B₁₂-deficiëntie ontdekt wordt, zullen bij presentatie geen symptomen hebben. Vitamine B₁₂ wordt uit het voedsel vrijgemaakt door maagzuur en pepsine, gebonden aan 'intrinsic factor', dat door de pariëtale cellen van de maag wordt geproduceerd en in de dunne darm wordt geresorbeerd via receptoren voor intrinsic factor.

Anemie veroorzaakt door een vitamine-B₁₂-deficiëntie en neurologische symptomen komen niet noodzakelijkerwijs gelijktijdig voor. De oorzaken van vitamine-B₁₂-deficiëntie en de indicaties voor het bepalen van de vitamine-B₁₂-concentratie worden in respectievelijk tabel 1 en 2 genoemd.

De therapie is eenduidig en bestaat uit intramusculaire suppletie met hydroxocobalamine. Men begint met een op-laaddosis van 10 mg, verdeeld over een aantal weken, waarna 1 mg eens per 2 maanden wordt toegediend.⁵ Indien de oorzaak van de deficiëntie niet weg te nemen is, dient de suppletie levenslang voortgezet te worden.⁵

Academisch Medisch Centrum/Universiteit van Amsterdam, Meibergdreef 9, 1105 AZ Amsterdam.

Afd. Inwendige Geneeskunde: hr.W.J.Wiersinga, assistent-geneeskundige; mw.S.E.J.A.de Rooij en hr.prof.dr.J.B.L.Hoekstra, internisten.

Afd. Klinische Chemie: hr.dr.J.C.Fischer, klinisch chemicus.

Erasmus MC, afd. Klinische Genetica, Rotterdam.

Hr.dr.J.G.M.Huijmans, klinisch chemicus.

Correspondentieadres: hr.prof.dr.J.B.L.Hoekstra (j.b.hoekstra@amc.uva.nl).

TABEL 1. Oorzaken van vitamine-B₁₂-deficiëntie

ziektebeeld	frequentie	mechanisme
pernicieuze anemie	> 70%	auto-immuun proces
gastrectomie of gastrische 'bypass'	2%	geen 'intrinsic factor' beschikbaar
ziekte of resectie van het ileum	5%	inadequate resorptie
pancreasinsufficiëntie	< 1%	inadequate resorptie
door geneesmiddel colchicine, neomycine, omeprazol	< 1%	inadequate resorptie
congenitale afwezigheid/ disfunctie van intrinsic factor	< 1%	mogelijk gendefect
bacteriële overgroei/ <i>Diphyllobothrium</i>	4%	malabsorptie
congenitale transcobalamin- II-deficiëntie	< 1%	inadequaat transport van vitamine B ₁₂
overige (lacto)vegetariërs, chronisch alcoholisme	15%	deficiënt dieet

TABEL 2. Indicaties voor de bepaling van vitamine B₁₂ ⁷

macrocytaire of normocytaire anemie
risicofactoren voor een vitamine-B ₁₂ -deficiëntie, zoals een deficiënt dieet, maag-darmaandoeningen, alcoholisme of het gebruik van bepaalde geneesmiddelen, zoals colchicine, neomycine en omeprazol
aanwijzingen voor neurologische schade door demyelinisatie, bijvoorbeeld: paresthesiën, ataxie

HUIDIGE LABORATORIUMBEPALINGEN BIJ EEN PATIËNT MET EEN VITAMINE-B₁₂-DEFICIËNTIE

Vitamine-B₁₂-bepaling. Voor commercieel beschikbare bepalingmethoden van vitamine B₁₂ in bloed is het referentie-interval doorgaans 200-900 ng/l (= 148-664 pmol/l).⁸ De variatiecoëfficiënt binnen het referentie-interval is in het algemeen niet hoger dan bij vergelijkbare immunochemische tests. De beslisgrens met betrekking tot het al of niet aanwezig zijn van een vitamine-B₁₂-deficiëntie hoeft echter niet overeen te komen met de ondergrens van het referentie-interval, maar hangt samen met de gewenste sensitiviteit en specificiteit. Vaak denkt men dat een lage serumconcentratie van vitamine B₁₂ ook daadwerkelijk op een deficiëntie wijst. Dit is echter niet altijd het geval, zeker niet bij licht verlaagde waarden.

In Nederland wordt veelal van een te lage serumconcentratie gesproken bij waarden < 150 pmol/l. In een Amerikaanse populatie wordt geschat dat 2% van de bevolking

boven de 60 jaar een niet-gediagnosticeerde pernicieuze anemie heeft, terwijl bij 10-25% van de bevolking verlaagde serumwaarden gevonden worden. Een lage vitamine-B₁₂-uitslag op serumniveau zou slechts bij 25-50% van de patiënten overeenkomen met een echte vitamine-B₁₂-deficiëntie op weefselniveau.⁹⁻¹⁰ Met name in het overgangsgedebied tussen normale en evident verlaagde serumvitamine-B₁₂-waarden is niet goed te differentiëren tussen personen met een echte deficiëntie op weefselniveau en personen zonder deficiëntie. Daarnaast kan comorbiditeit de positief of negatief voorspellende waarde van een uitslag beïnvloeden. Een verlaagde vitamine-B₁₂-serumwaarde komt voor bij ziekten als multipole myeloom en hiv-infectie, maar ook bij zwangeren en patiënten die orale anticonceptiva gebruiken, zonder dat er een functionele deficiëntie hoeft te zijn.¹¹⁻¹² Het mechanisme hierachter is grotendeels onbekend.

Serumgastrinewaarde. Pernicieuze anemie, een vorm van auto-immune gastritis, berust op een ontsteking van fundus en corpus van de maag. Deze ontsteking leidt enerzijds tot atrofie van de zuurproducerende cellen in fundus en corpus, en anderzijds tot hyperplasie van de gastrineproducerende cellen in het antrum door het wegvallen van de feedbackremming door maagzuur, met als gevolg een overproductie van gastrine. De serumgastrinewaarde is bij 85-90% van de patiënten met een pernicieuze anemie dan ook verhoogd.¹²⁻¹³ Bij patiënten met een verlaagde vitamine-B₁₂-uitslag en afwezigheid van antistoffen tegen intrinsic factor en tegen pariëtale cellen, bij wie men toch pernicieuze anemie waarschijnlijk acht, is de bepaling van de serumwaarde van gastrine geïndiceerd.

Antistoffen tegen intrinsic factor en tegen pariëtale cellen. Het bepalen van antistoffen tegen intrinsic factor en tegen pariëtale cellen is een waardevolle aanvulling bij de diagnostiek van pernicieuze anemie, daar deze antistoffen aanwezig zijn bij 50 respectievelijk 85% van de patiënten. Aanwezigheid van intrinsic-factorantistoffen maakt die van pernicieuze anemie zeer waarschijnlijk (hoge specificiteit); bij afwezigheid van deze antistoffen moet men de diagnose echter niet verwerpen (lage sensitiviteit).¹³ Nadere diagnostiek is dan geïndiceerd. Voorts dient men bedacht te zijn op fout-positieve uitslagen bij andere ziekten, zoals bij de ziekte van Graves.¹²

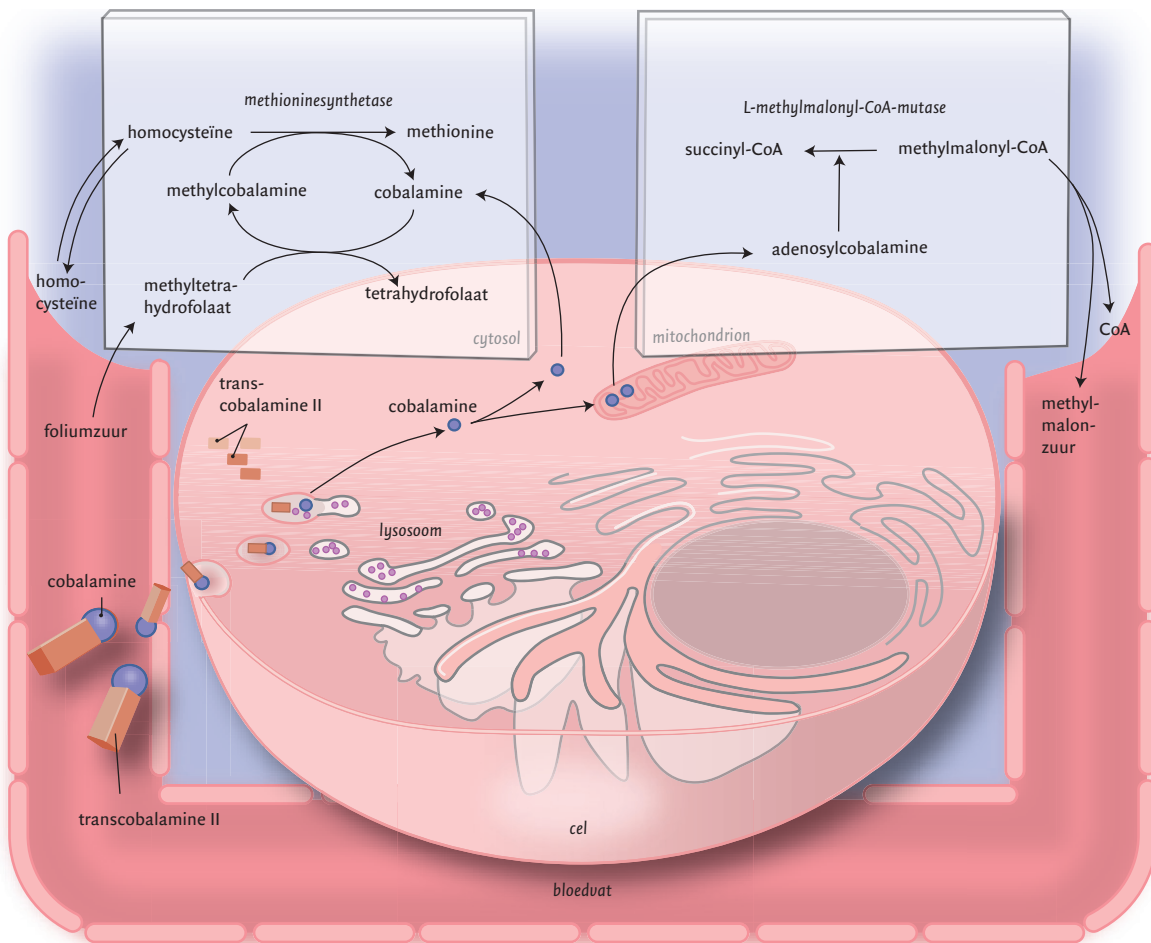
Schilling-test. Met behulp van de Schilling-test, in 1953 door de gelijknamige Amerikaanse hematoloog voor het eerst beschreven, kan men onderzoeken of er malabsorptie is van vitamine B₁₂ in het distale deel van het ileum.¹⁴ Bij de uitvoering van deze test wordt eerst een overmaat van vitamine B₁₂ intramusculair gegeven, teneinde de bindingsplaatsen in de lever te verzadigen, waarna de patiënt radioactief gelabelde vitamine B₁₂ inneemt. Daarna wordt de hoeveelheid radioactieve vitamine B₁₂ die in de urine is uitgescheiden, gemeten. Bij een malabsorptie zal het percentage van de in de urine uitgescheiden vitamine B₁₂ verlaagd

zijn ten opzichte van de orale dosis; normaal bedraagt die $\geq 10\%$. De test kan desgewenst herhaald worden met orale toevoeging van intrinsic factor, waarna men kan verwachten dat, in het geval van een pernecieuze anemie, de opname en daarmee de uitscheiding in de urine zullen toenemen.

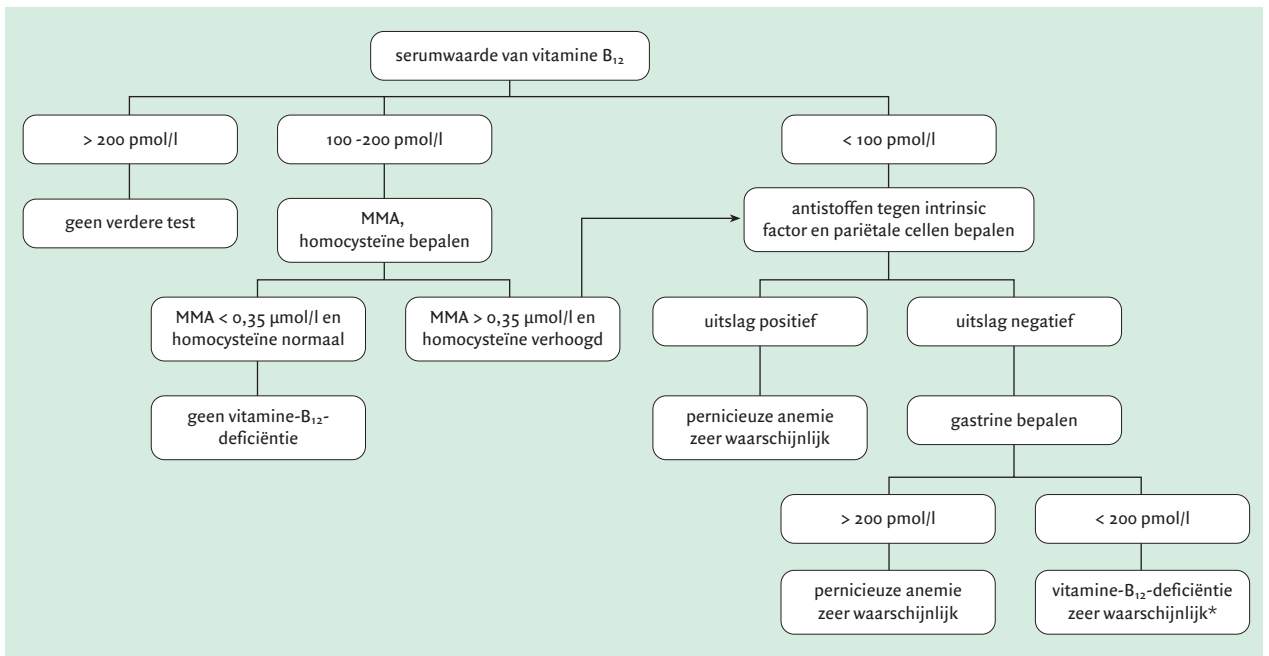
Aan de Schilling-test kleven diverse bezwaren. De meest voorkomende oorzaak van een verkeerd testresultaat komt door een onvolledige verzameling van urine.¹⁵ Voorts kan de uitslag van de Schilling-test fout-normaal zijn bij patiënten met een vitamine-B₁₂-deficiëntie na partiële gastrectomie. De afwezigheid van maagzuur en pepsine bij deze

patiënten verhindert in het dagelijkse leven het vrijkomen van vitamine B₁₂ dat nog gebonden is aan voedingsmiddelen, zodat vitamine B₁₂ zich niet of onvoldoende kan binden aan intrinsic factor. Naarmate een maagresectie uitgebreider is, zal de betekenis van het tekort aan intrinsic factor belangrijker worden.

Een ander probleem bestaat eruit dat de testuitslag bij een klein percentage van patiënten met pernecieuze anemie niet normaliseert na toevoeging van intrinsic factor. Vervolgens is bij nierinsufficiëntie de Schilling-testuitslag niet goed te interpreteren, gezien de geringe renale klaring van



FIGUUR 1. Schematisch overzicht van de rol van vitamine B₁₂ (cobalamine) in het homocysteïne- en het methylmalonzuurmetabolisme. Vitamine B₁₂ komt gebonden aan het transporteiwit transcobalamine II de cel binnen. In het lysosoom wordt het cobalamine van het transcobalamine gescheiden. Vervolgens fungeert cobalamine als cofactor van 2 enzymatische reacties: de eerste is de synthese van methionine uit homocysteïne. Deze reactie vindt plaats in het cytosol onder invloed van het enzym methioninesynthetase. Ten tweede is in het mitochondrion adenosylcobalamine een cofactor bij de omzetting van methylmalonyl-co-enzym-A (methylmalonyl-CoA) naar succinyl-CoA. Als methylmalonyl-CoA uit de cel in het serum terecht komt, verliest het de CoA-groep en ontstaat methylmalonzuur. Een vitamine-B₁₂-deficiëntie zal dan ook resulteren in verhoogde serumconcentraties van homocysteïne en methylmalonzuur. Uit de figuur is ook af te leiden dat een verlaagde hoeveelheid foliumzuur – en daarmee een verlaagde hoeveelheid methyltetrahydrofolaat – zal resulteren in een verhoogde homocysteïnespiegel in het serum, maar geen invloed heeft op het methylmalonzuurmetabolisme.



FIGUUR 2. Stroomdiagram voor de analyse van vitamine-B₁₂-deficiëntie,^{4 11} bedoeld als een handreiking aan de clinicus. Bij een licht verlaagde serumconcentratie van vitamine B₁₂ kan bepaling van methylmalonzuur (MMA) en homocysteïne uitsluitel geven of er een vitamine-B₁₂-deficiëntie is. Aanvullende bepalingen van antistoffen tegen ‘intrinsic factor’ en pariëtale cellen en van de serumwaarde van gastrine zijn geïndiceerd om een pernicioze anemie aan te tonen dan wel onwaarschijnlijk te maken. Als deze aanvullende bepalingen geen uitsluitel geven, dient men aan de hand van anamnese en lichamelijk onderzoek verdere diagnostiek te overwegen. Bij een patiënt met een verlaagde serumwaarde van vitamine B₁₂ na een maagresectie is onderzoek naar pernicioze anemie doorgaans overbodig. Referentiewaarden van homocysteïne zijn 5-15 µmol/l en van methylmalonzuur < 0,35 µmol/l; * = indicatie voor diagnostiek naar een achterliggende oorzaak.

het radioactief gelabelde vitamine B₁₂. Een praktisch probleem is tenslotte dat het benodigde ⁵⁷Co-B₁₂ op het moment moeilijk te verkrijgen is. In sommige ziekenhuizen is de Schilling-test inmiddels dan ook afgeschaft. In plaats van de Schilling-test kan men nieuwe, niet-invasieve bepalingen uitvoeren.

NIEUWE MATEN VOOR VITAMINE-B₁₂-DEFICIËNTIE

Methylmalonzuur en homocysteïne. Vitamine B₁₂ dient als co-enzym voor 2 enzymen: L-methylmalonyl-co-enzym-A-mutase en methioninesynthetase. Bij een vitamine-B₁₂-deficiëntie werken deze enzymen onvoldoende en ontstaat er stapeling van onder andere methylmalonzuur en homocysteïne (figuur 1). In tegenstelling tot de serumspiegelbepaling van vitamine B₁₂ en de Schilling-test blijkt de gecombineerde serumbeplating van zowel het methylmalonzuur als het homocysteïne een sensitieve test te zijn om een echte vitamine-B₁₂-deficiëntie op te sporen.^{10 12 16 17} Bij een cohort van 406 patiënten met een vitamine-B₁₂-deficiëntie had 98% verhoogde methylmalonzuur- en 96% verhoogde

homocysteïnewaarden; beide waarden lagen 3 standaarddeviaties boven het gemiddelde in de gezonde controlegroep.¹⁰ In deze studie was vitamine-B₁₂-deficiëntie gedefinieerd op grond van een lage serumvitamine-B₁₂-spiegel (alle patiënten hadden een vitamine-B₁₂-concentratie < 150 pmol/l), hematologische afwijkingen (een megaloblastair beeld van het beenmerg en/of gehypersegmenteerde neutrofiële cellen werden bij 74% van de casussen gezien) en een duidelijke respons op therapie (deze trad op bij 97% van de patiënten). Slechts 1 patiënt met vitamine-B₁₂-deficiëntie had zowel een niet-afwijkende methylmalonzuur- als homocysteïnewaarde.¹⁰

Op basis van deze studie kan geconcludeerd worden dat niet-afwijkende waarden van zowel methylmalonzuur als homocysteïne een vitamine-B₁₂-deficiëntie nagenoeg uitsluiten. Licht verhoogde serumwaarden van methylmalonzuur zijn ook beschreven bij patiënten met een nierinsufficiëntie en hypovolemie.^{10 12} De serumhomocysteïneconcentratie kan ook verhoogd zijn bij congenitale hyperhomocysteinemie, bij foliumzuur- en vitamine-B₆-deficiëntie, nierfalen en hypothyreoïdie. In een groot aantal

klinisch-chemische laboratoria en in alle klinisch-genetische laboratoria kan homocysteïne in plasma routinematig bepaald worden. De gebruikte methoden zijn onder andere: tandem-massaspectrometrie, 'high-performance liquid chromatography' (HPLC) en immunoassays.

Aangezien een verhoogde homocysteïnewaarde gezien wordt als een risicofactor voor hart- en vaatziekten, lijkt het interessant om de relatie tussen vitamine-B₁₂-deficiëntie en cardiovasculaire morbiditeit te onderzoeken. De concentratie methylmalonzuur in plasma wordt, voorzover wij weten, alleen in klinisch-genetische laboratoria in Nijmegen (Universitair Medisch Centrum St Radboud), Amsterdam (VU Medisch Centrum) en Rotterdam (Erasmus MC) bepaald met een tandemmassaspectrometrische dan wel een gaschromatografisch-massaspectrometrische bepaling met een stabiele isotoop.

Transcobalamine. Vitamine B₁₂ wordt door het bloed getransporteerd gebonden aan de bindingseiwitten transcobalamine I, II en III. Deficiëntie van een van deze eiwitten zal dan ook leiden tot een vitamine-B₁₂-deficiëntie op weefselniveau.¹⁸ De bepaling van transcobalamine is complex en wordt momenteel niet in Nederland uitgevoerd.

NAAR EEN NIEUWE, GESTANDAARDISEERDE ANALYSE VAN VITAMINE-B₁₂-DEFICIËNTIE

Op het ogenblik wordt er in de praktijk weinig gebruik gemaakt van tests die kunnen differentiëren tussen enerzijds patiënten met een vitamine-B₁₂-deficiëntie en een fout-negatieve testuitslag en anderzijds patiënten zonder een deficiëntie met een fout-positieve testuitslag. Zoals eerder aangegeven, kan de gecombineerde bepaling van de serumconcentratie vitamine B₁₂ met zowel die van methylmalonzuur als van homocysteïne wel leiden tot een correcte diagnose 'vitamine-B₁₂-deficiëntie'.

Beslisboom. De beslisboom weergegeven in figuur 2 kan de medicus practicus van pas komen.^{4 11 12} Deze beslisboom is niet in prospectief onderzoek gevalideerd. Zoals Gans reeds eerder aangaf in dit Tijdschrift, dient de analyse van anemie primair verricht te worden met behulp van logisch-klinisch redeneren.⁶ De weergegeven beslisboom kan zowel voor het aanvullend onderzoek van macrocytaire anemie als voor screeningsdoeleinden gebruikt worden. Als men eenmaal zeker is van de diagnose 'vitamine-B₁₂-deficiëntie', zal men veelal aanvullende diagnostiek naar de oorzaak hiervan inzetten. Soms zal een pragmatischer beleid gevoerd worden waarbij de patiënt direct behandeld wordt. Bij een vitamine-B₁₂-deficiëntie zullen na de start van de behandeling de concentraties van methylmalonzuur en homocysteïne normaliseren.

Dr.M.Duran, klinisch chemicus, prof.dr.P.Fockens, maag-darm-leverarts, en prof.dr.W.A.van Gool, neuroloog, gaven commentaar op het manuscript.

Belangenconflicten: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

Aanvaard op 27 juli 2005

Literatuur

- 1 Dagnelie PC. Voeding en gezondheid – potentiële gezondheidsvoordelen en risico's van vegetarisme en beperkte vleesconsumptie in Nederland. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 2003;147:1308-13.
- 2 Carmel R. Prevalence of undiagnosed pernicious anemia in the elderly. *Arch Intern Med.* 1996;156:1097-100.
- 3 Stabler SP. Screening the older population for cobalamin (vitamin B₁₂) deficiency. *J Am Geriatr Soc.* 1995;43:1290-7.
- 4 Klee GG. Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteïne vs vitamin B(12) and folate. *Clin Chem.* 2000;46(8 Pt 2):1277-83.
- 5 Kolnaar BGM, Wijk MAM van, Pijnenborg L, Assendelft WJJ. Samenvatting van de standaard 'Anemie' van het Nederlands Huisartsen Genootschap. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 2003;147:1956-61.
- 6 Gans ROB. De standaard 'Anemie' van het Nederlands Huisartsen Genootschap; reactie vanuit de interne geneeskunde. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 2003;147:1945-7.
- 7 College voor zorgverzekeringen (CVZ). Diagnostisch kompas 2003. Diemen: CVZ; 2003.
- 8 Dawson D, Waters H. Hematology. In: Wild D, editor. *The immunoassay handbook.* New York: Nature Publishing Group; 2001.
- 9 Matchar DB, McCrory DC, Millington DS, Feussner JR. Performance of the serum cobalamin assay for diagnosis of cobalamin deficiency. *Am J Med Sci.* 1994;308:276-83.
- 10 Savage DG, Lindenbaum J, Stabler SP, Allen RH. Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteïne determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. *Am J Med.* 1994;96:239-46.
- 11 Snow CF. Laboratory diagnosis of vitamin B₁₂ and folate deficiency: a guide for the primary care physician. *Arch Intern Med.* 1999;159:1289-98.
- 12 Ward PC. Modern approaches to the investigation of vitamin B₁₂ deficiency. *Clin Lab Med.* 2002;22:435-45.
- 13 Toh BH, Driel IR van, Gleeson PA. Pernicious anemia. *N Engl J Med.* 1997;337:1441-8.
- 14 Schilling RF. Intrinsic factors studies. II. The effect of gastric juice on the urinary excretion of radioactivity after the oral administration of radioactive vitamin B₁₂. *J Lab Clin Med.* 1953;42:860-6.
- 15 Guidelines on the investigation and diagnosis of cobalamin and folate deficiencies. A publication of the British Committee for Standards in Haematology. BCSH General Haematology Test Force. *Clin Lab Haematol.* 1994;16:101-15.
- 16 Elin RJ, Winter WE. Methylmalonic acid: a test whose time has come? *Arch Pathol Lab Med.* 2001;125:824-7.
- 17 Dharmarajan TS, Adiga GU, Norkus EP. Vitamin B₁₂ deficiency. Recognizing subtle symptoms in older adults. *Geriatrics.* 2003;58:30-8.
- 18 Lindgren A, Kilander A, Bagge E, Nexo E. Holotranscobalamin – a sensitive marker of cobalamin malabsorption. *Eur J Clin Invest.* 1999;29:321-9.

Abstract

Diagnosis of vitamin B₁₂ deficiency revised

- Vitamin B₁₂ (cobalamin) deficiency is a common disorder with potential irreversible haematological and neurological consequences.
- Currently used diagnostic tests such as the evaluation of serum vitamin B₁₂ and the Schilling test are insufficient, e.g. the positive predictive value of a low serum vitamin B₁₂ level for actual vitamin B₁₂ deficiency (i.e. tissue deficiency) is low.

- Insufficient availability of vitamin B₁₂ will lead to the accumulation of methylmalonic acid and homocysteine in the body. Nearly all patients with vitamin B₁₂ deficiency also have substantially increased levels of methylmalonic acid and homocysteine.
- New tests of serum methylmalonic acid and homocysteine are highly sensitive for vitamin B₁₂ deficiency and may obviate the need for the somewhat cumbersome Schilling test.

Ned Tijdschr Geneesk. 2005;149:2789-94