

Validation d'un biomarqueur urinaire pour une meilleure identification des cas de déficience en vitamine B12

8 novembre 2022

Nancy Presse, DtP, PhD
Professeure et Chercheure



Laboratoire sur
l'alimentation des
aînés et la nutrition
gériatrique

USherbrooke.ca/Recherche



Centre de recherche
sur le vieillissement



Centre de recherche
iugm
Institut universitaire
de gériatrie de Montréal



Université de
Sherbrooke

Pas de conflits d'intérêt.



Université de
Sherbrooke

LA VITAMINE B12

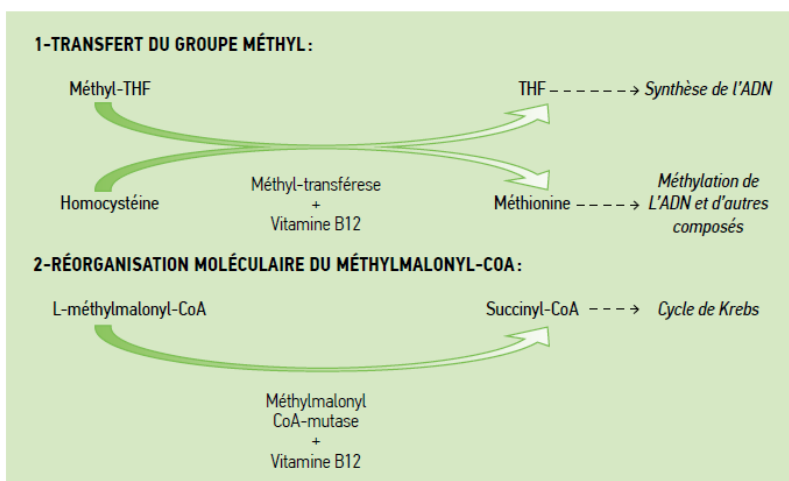


Recommandations de Santé Canada:

2,4 µg/jour pour les adultes

***Plusieurs appels à révision!**

RÔLES DE LA VITAMINE B12



Tiré de Presse N, Nutrition Sci Évol, 2016

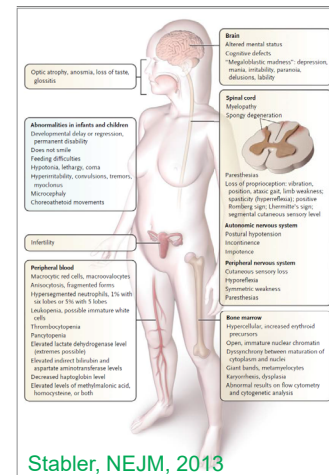
SIGNES ET SYMPTÔMES D'UNE DÉFICIENCE EN B12

Signes hématologiques

- Absents si l'apport ↑ acide folique
- Réversibles

Signes neurologiques

- > 50% des cas
- Potentiellement irréversibles



Carmel, Am J Hematol, 1990; Andres et al, Clin Lab Haematol, 2006; Stabler, NEJM, 2013; Lindenbaum et al, NEJM, 1988

CONDITIONS POUR LE DÉPISTAGE...

- La maladie peut avoir des conséquences sérieuses
- Un traitement efficace peut être offert
- La prévalence est élevée dans la population visée
- Test de dépistage:
 - performant
 - sécuritaire
 - abordable et accessible

VITAMIN B12 DEFICIENCY IN OLDER ADULTS

Prevalence in older adults:



5-15% in the community (Canada/USA)

McFarlane et al. AJCN, 2011; Lindenbaum et al. AJCN, 1994; Pennypacker et al. JAGS, 1992; Rajan et al. JAGS, 2002.

10.1-12.7% in healthy adults 67-84 years

Huang et al. J Nutr, 2022



Up to 42% of hospitalized (frail) older adults

Dharmarajan et al. JAMDA, 2000; O'Leary et al. J Nutr Health Aging, 2011; Lachner et al. J Nutr Health Aging, 2014

41% of hospitalized (frail) older adults in a Geriatric Assessment Unit

Presse et al. J Nutr Health Aging, 2016.

CAUSES DE LA DÉFICIENCE EN VITAMINE B12

- **Apports insuffisants**
- **Médicaments (metformin/IPP)**
- **Infection par *H. pylori*/gastrite**
- **Maladie de Biermer**
- **Chirurgies gastro-intestinales**
- Prolifération bactérienne de l'intestin
- Insuffisance exocrine du pancréas
- Syndrome Zollinger-Ellison
- Sprue tropicale
- Infections parasitaires

Green et al, 2017; Doscherholmen et al., 1978; Weck et al., 2007; Allen, 2008; Bor et al., 2010; Kanazawa et Herbert, 1985; Cravo et Camilo, 2000; Linnell et al, 1968; O'Callaghan et al, 2002; Carmel et Spencer, 1982; Chanarin, 1979; Stabler, 2013; Sumner et al, 1996; Kaptan et al, 2000; Blaser et Parsonnet, 1994; Correa, 1988; Carmel, 2014; Stabler, 2020; Sekhar et Stabler, 2007; Kim et al, 2019; Chapman, 2016; Jung et al, 2015

CONDITIONS POUR LE DÉPISTAGE...

- La prévalence est élevée dans la population visée
- La maladie peut avoir des conséquences sérieuses
- Un traitement efficace peut être offert

- **Test de dépistage:**
 - **performant**
 - **sécuritaire**
 - **abordable**
 - **accessible**

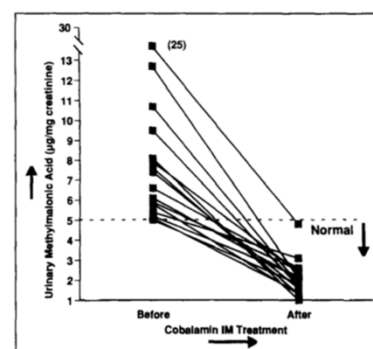
BIOMARKERS OF VITAMIN B12 STATUS

Blood biomarkers	Pros	Cons
Total vitamin B12 (active and non-active B12)	Cheap Widely available	Unclear cut-offs
Holotranscobalamin II (active B12)	Relatively specific and sensitive	Not widely available Little investigated Influence by liver disease, renal function and cancer
Homocysteine	Functional marker	Not specific
Methylmalonic acid (MMA)	Functional marker Specific	Influence by renal function Not widely available Expensive (GC-MS)

AN ALTERNATIVE... URINE MMA

- Urine sampling:
 - Safer and less costly
 - Proteome less complex
- Urine MMA (expressed as a ratio of urine creatinine):
 - Could be less influenced by renal function
 - Elevated in urine in cases of B12 deficiency
 - Normalized after treatment with B12

Norman et al. Blood, 1982







MEASURING THE MMA/CREATININE RATIO

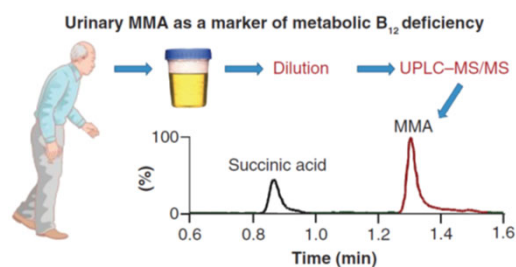
- Urine MMA is also typically measured using GC-MS (gas chromatography-mass spectrometry) methods

The challenge... finding a way to measure MMA and creatinine in urine **simultaneously** and at **low cost!**



Mass spectrometry analysis of urinary methylmalonic acid to screen for metabolic vitamin B₁₂ deficiency in older adults

Michel Boutin^{‡,1} , Nancy Presse^{‡,2,3,4} , Tristan Martineau¹, Audrey Perreault², Pierrette Gaudreau^{5,6}  & Christiane Auray-Blais^{*,1} 



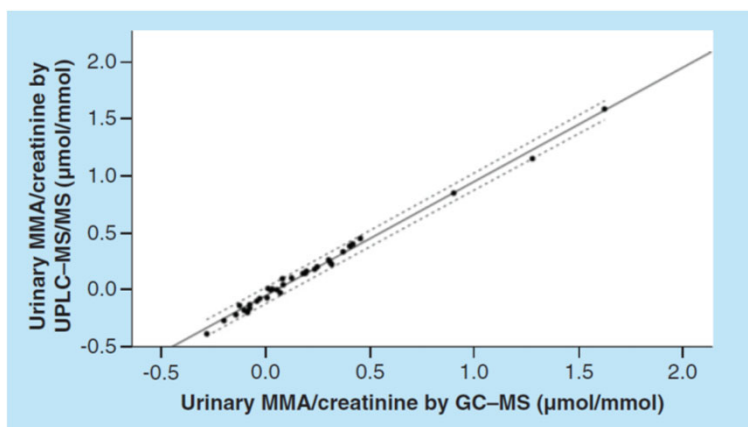
34 older adults with serum values of total vitamin B12 from 56 to 1229 pmol/l



URINE MMA/CREATININE: UPLC-MS/MS VS GC-MS

GC-MS: 0.53 to 42.47 (median, 1.23; IQR [0.90-2.08])

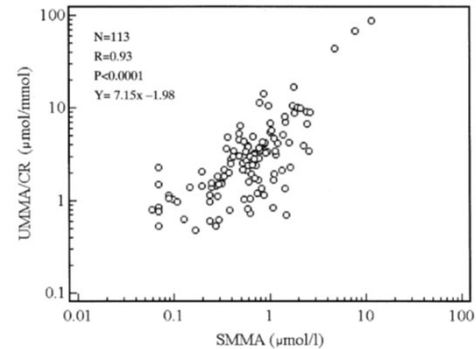
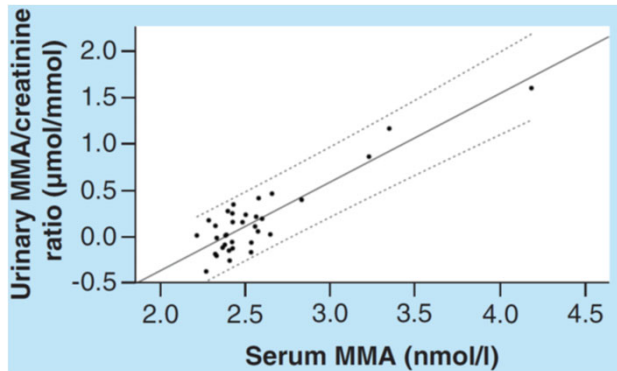
UPLC-MS/MS: 0.42 to 39.94 (median, 1.22; IQR [0.80-1.81])




URINE MMA/CREATININE VS SERUM MMA

Spearman's rho: 0.65; p-value < 0.001

Hill *et al.* J Nutr, 2013: r=0.59 in healthy older adults



Kwok *et al.* Nutrition, 2004  Université de Sherbrooke

CONDITIONS POUR LE DÉPISTAGE...

- La maladie peut avoir des conséquences sérieuses
- La prévalence est élevée dans la pop visée
- Un traitement efficace peut être offert

Test de dépistage:

- performant
- **sécuritaire**
- **abordable**
- accessible

RENDRE LE TEST DE DÉPISTAGE ACCESSIBLE?

- Programme de dépistage urinaire des maladies héréditaires chez les nouveau-nés

Formulaire de prélèvement urinaire modifié

Papier-filtre Whatman 903 pour le prélèvement urinaire



VALIDATION DU PAPIER BUVARD

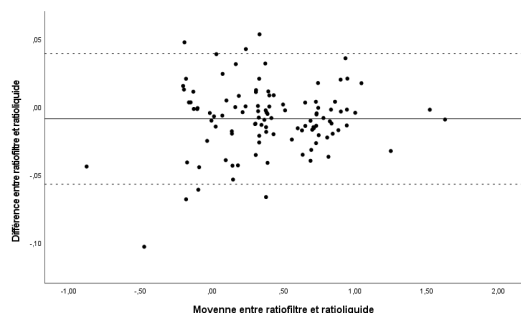
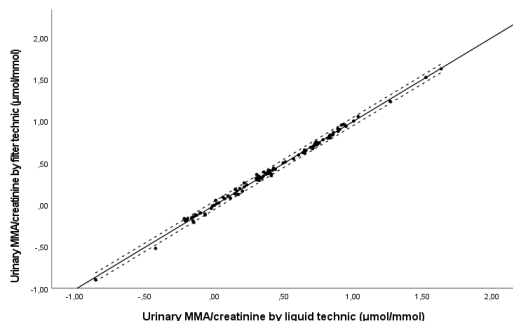
n=107 échantillons d'urine de 0,14 to 43,01 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$

Spearman's rho: 0,995; $p < 0,0001$

Bland-Altman analysis

$t = -3,82$; $p < 0,0001$

-1,67% (95% CI: -11,97% à 9,84%)



Boutin, Presse, Allard et al. Bioanalysis, 2022

TROUSSE DE DÉPISTAGE URINAIRE




Acceptabilité et utilisabilité de la trousse auprès des personnes âgées

CONDITIONS POUR LE DÉPISTAGE...

- La maladie peut avoir des conséquences sérieuses
- La prévalence est élevée dans la pop visée
- Un traitement efficace peut être offert

Test de dépistage:

- performant
- sécuritaire
- abordable
- accessible

PERFORMANCE D'UN TEST DE DÉPISTAGE

Intrinsèque (conditions expérimentales):

- Sensibilité: probabilité d'un test positif si maladie présente
- Spécificité: probabilité d'un test négatif si exempte de maladie

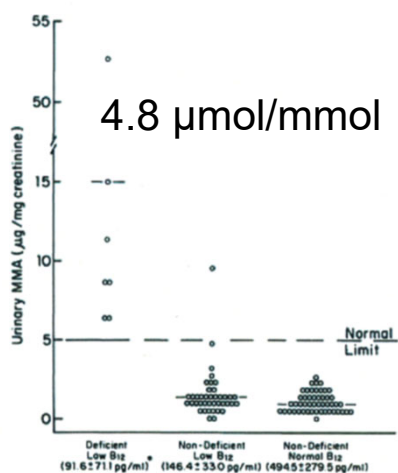
Extrinsèque (en situation de dépistage dans une pop précise):

- VPP: probabilité d'avoir réellement la maladie si le test est positif
- VPN: probabilité de ne pas avoir la maladie si le test est négatif



Seuil de positivité du test?

SEUIL DE POSITIVITÉ



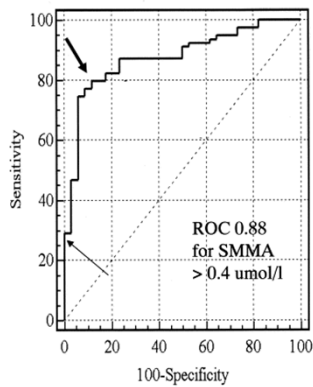
Matchar et al. Ann Int Med 1987.

TABLE I
Urinary MMA Levels (µg/mg creatinine, normal <5.0) by Age, Sex, and Screening Group

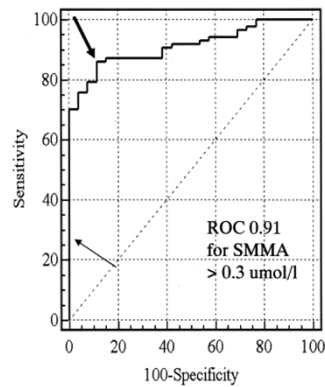
	Health Fair		Retirement Apartments		Assessment Center		Nursing Home	
	F	M	F	M	F	M	F	M
No.	96	39	148	49	270	105	92	10
Age 65-79								
0 < 2	31	22	31	11	66	40	3	1
2 < 4	55	14	29	10	59	17	7	2
4 < 5	1	0	1	0	6	2	0	1
5+	4	0	1	0	6	0	1	0
Age 80+								
0 < 2	3	1	44	16	61	25	46	5
2 < 4	2	2	34	10	59	18	30	1
4 < 5	0	0	1	0	4	1	1	0
5+	0	0	7	2	9	2	4	0
% Elevated								
Overall	3.0	5.1	5.6	4.5	4.9	5.1	4.9	0

Norman et Morrison Am J Med, 1993.

SEUIL DE POSITIVITÉ DU TEST



2.0 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$

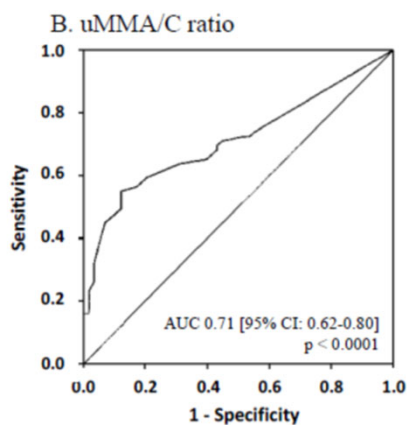


1.5 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$

- 113 femmes végétariennes
- 55-94 ans
- Fonction rénale normale

Kwok et al. Nutrition, 2004

SEUIL DE POSITIVITÉ DU TEST



1.45 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$

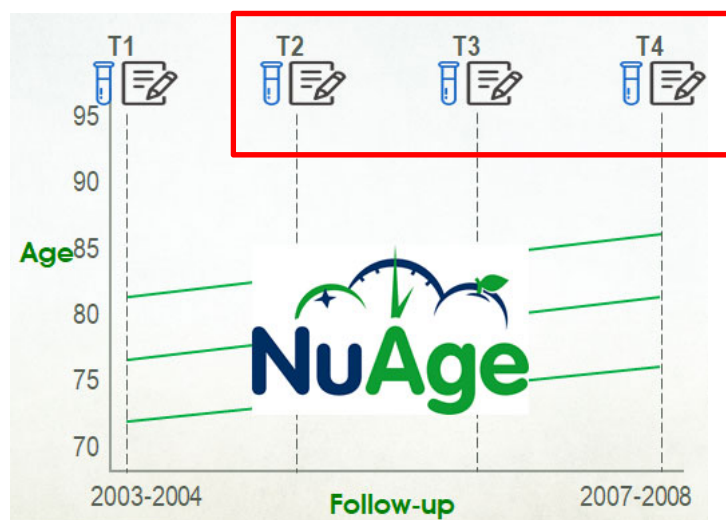
- 127 patients hospitalisés (md interne)
- 44-81 ans
- B12 sérique entre 148 et 258 pmol/L
- Dx: Hcy et MMA sériques élevés

Supakul et al. Nutrients, 2020

URINE METHYLMALONIC ACID TO IDENTIFY CASES OF VITAMIN B12 DEFICIENCY: A POPULATION-BASED STUDY IN OLDER ADULTS

- Examiner la distribution des valeurs du ratio AMM/créatinine et la prévalence de la déficience (métabolique) en vitamine B12 dans une population âgée en santé selon les différents seuils proposés;

URINE SAMPLES IN THE NUAGE COHORT



DISTRIBUTION DES VALEURS DU RATIO AMM/CREATININE URINAIRE

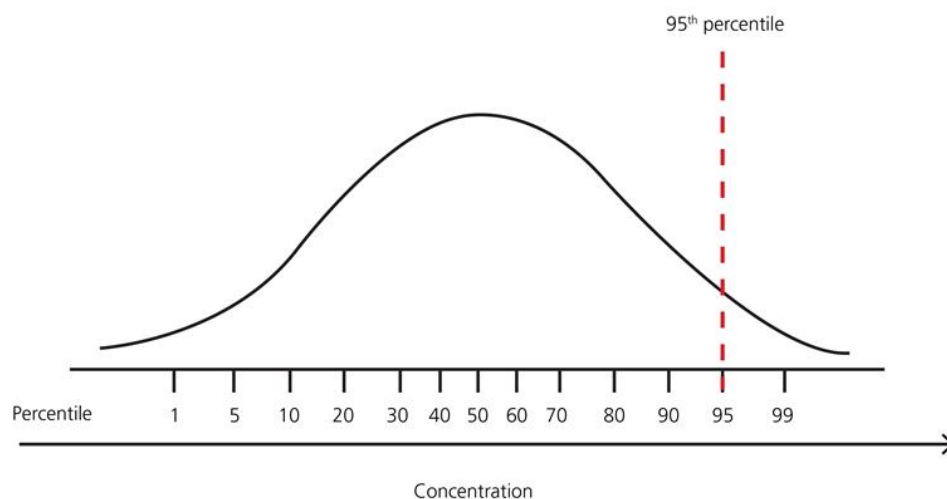
PREVALENCE (%) OF VITAMIN B12 DEFICIENCY

Urine MMA/creatinine	NuAge follow-up		
	T2	T3	T4
Cut-offs			
> 4.8			
> 2.0			
> 1.5			

All data are weighted to be representative of the Quebec population

A survival bias might explained that the prevalence tends to decrease over time

THE 95TH PERCENTILE



THE 95TH PERCENTILE IN OUR SAMPLE

Participants with serum total vitamin B12 values > 350 pmol/l

WHAT'S NEXT?

- Poursuivre les travaux dans la cohorte NuAge (et 3C?)
 - Association avec l'équilibre unipodal et les chutes
- Valider le seuil à partir duquel il y a des bénéfices (cliniques et perçus) à offrir un traitement de supplémentation en vitamine B12
 - Essai clinique pilote
 - Essai clinique d'envergure

CONCLUSIONS.... SO FAR

- Urine MMA/creatinine measured by UPLC-MS/MS and filter paper:
 - Valid, practical (accessible), rapid, and less expensive
- Ratio > 2.0 for mild to severe cases:
 - Prevalence – consistent with published data
 - 95th percentile ~ 2.0 (population-based sample)
- To screen or not to screen?

REMERCIEMENTS

- Christiane Auray-Blais, PhD
- Alan Cohen, PhD
- Valérie Turcot, PhD
- He Helen Huang, DtP
- David Allard, MD
- Aline Bolduc, MSc
- Afiwa N'Bouke, PhD



Laboratoire sur
l'alimentation des
aînés et la nutrition
gériatrique



Fonds de recherche
Santé

Québec



UNIVERSITÉ DE
SHERBROOKE

Faculté de médecine
et des sciences de la santé

UDS Université de
Sherbrooke

USherbrooke.ca/Recherche

VOUS AVEZ UNE IDÉE DE PROJET?

Visitez notre site web! <https://nuage.recherche.usherbrooke.ca>

FR EN  


Banques NuAge
Banques de données et d'échantillons biologiques de l'Étude longitudinale québécoise sur la nutrition comme déterminant d'un vieillissement réussi

Accueil Contact À propos L'équipe Activités de développement scientifique Faire une demande d'accès

Accueil > Faire une demande d'accès aux données et à la biobanque


Faire une demande d'accès aux données et à la
biobanque

UDS Université de
Sherbrooke