

short-Riport 14

Juillet 2009

www.risch.ch

Détermination de l'ac. méthylmalonique (AMM) par CL/SM (chromatographie liquide-spectrométrie de masse) pour la mise en évidence d'un manque de vitamine B12

Bases

La vitamine B12 sert d'une part, sous la forme de méthylcobalamine, de cofacteur à l'enzyme méthionine synthétase pour la transformation de l'homocystéine en méthionine. D'autre part, elle représente sous forme d'adénosylcobalamine le cofacteur pour l'enzyme methylmalonyl-coenzyme A mutase, qui est responsable de la transformation du methylmalonyl-coenzyme A en succinylcoenzyme A.

Lors d'un manque en vitamine B12, la concentration de l'homocystéine, respectivement de l'ac. méthylmalonique augmente. Un succès d'une thérapie orale, respectivement parentérale, avec de la vitamine B12 se laisse démontrer avec la détermination de l'AMM. Déjà quelques jours après le début du traitement, la valeur élevée de l'AMM retombe dans la zone de référence. Cliniquement, un manque de vitamine B12 occasionne des modifications neurologiques partiellement irréversibles comme la polyneuropathie, la myéopathie, des psychoses et des démenances. A un stade avancé, ce manque conduit à l'anémie pernicieuse.

Pendant que dans la plupart des cas, grâce à une détermination de la vitamine B12 et de l'holotranscobalamine, un manque peut être exclu ou démontré, dans certains cas la classification ne sera possible que par la détermination de l'AMM.

Recommandations lors de suspicion d'un manque de vitamine B12

- lors d'une suspicion d'un manque de vitamine B12, commencer par le dosage de celle-ci
 - valeurs > 300 pmol/l: manque très peu probable
 - valeurs < 125 pmol/l: parlent pour une balance B12 négative et un manque fort probable
- Valeurs entre 125 - 300 pmol/l: correspondent à la zone grise et une détermination de l'holotranscobalamine (Holo-Tc) est recommandée
 - Teneurs Holo-Tc > 50 pmol/l: manque en B12 fort improbable
 - Teneurs en Holo-Tc < 35 pmol/l: parlent pour un manque fort probable
- Valeurs Holo-Tc situées entre 35 - 50 pmol/l: zone grise et nécessitent une mesure de l'AMM
- Valeurs de l'AMM < 290 nmol/l: manque très improbable
 - Valeurs de l'AMM > 750 nmol/l: parlent pour un manque
 - Valeurs de l'AMM entre 290 et 750: ne sont pas claires et peuvent nécessiter, comme indiqué dans le schéma, d'autres analyses

Manque de B12, schéma d'interprétation



Sur désir, la réalisation de l'algorithme peut se faire automatiquement.

Analytique

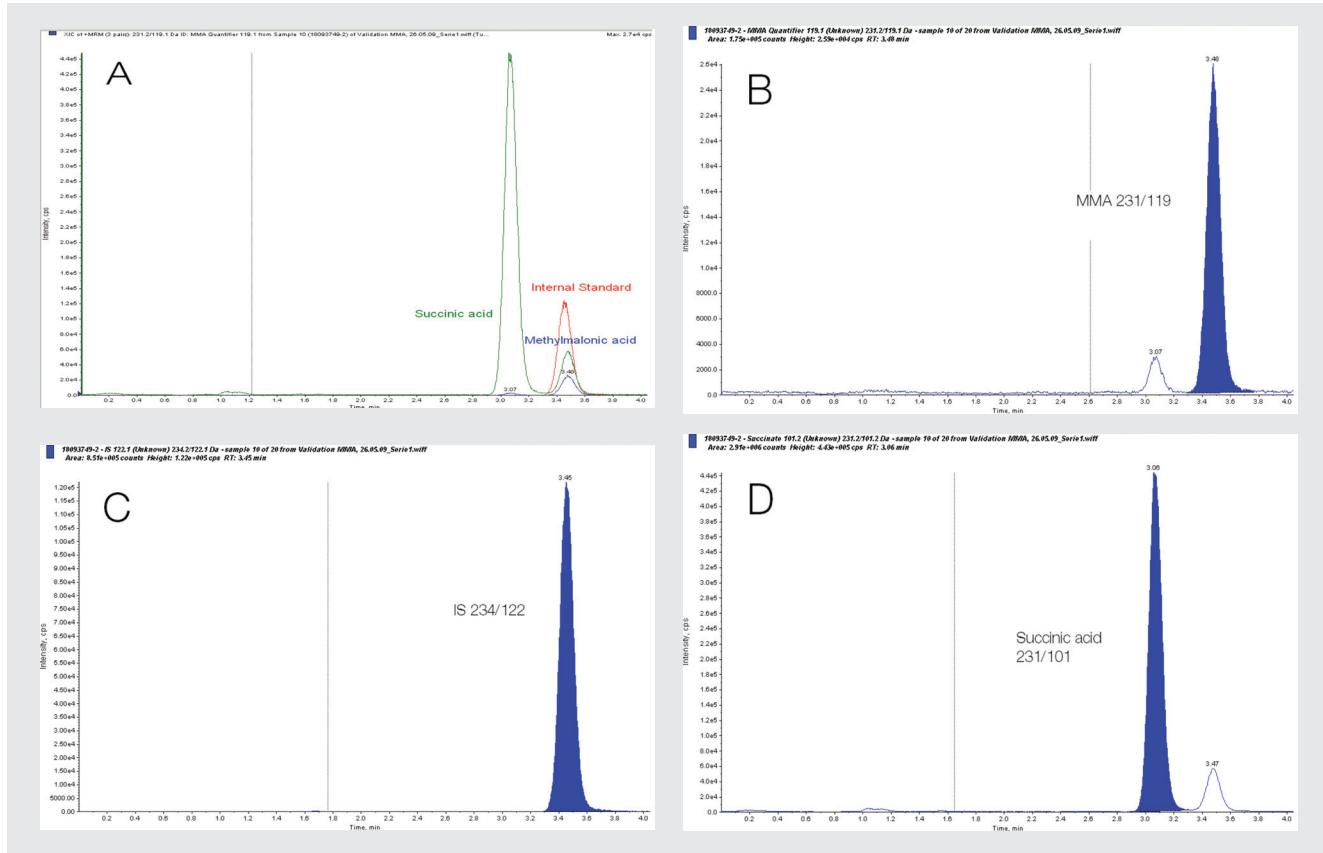
La détermination de l'AMM se fait par CG-SM (chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse). Il s'agit d'une méthode à très grande sélectivité. Les instruments nécessaires sont extrêmement chers et nécessitent un très grand know-how.

Pour ces raisons ils sont peu utilisés en diagnostic de routine. Après un développement fastidieux, le centre des laboratoires médicaux Dr Risch est dans la possibilité de déterminer l'AMM de manière rapide, sensible et hautement spécifique dans le sérum (aussi plasma) et dans l'urine par le CL/SM/SM (chromatographie en phase liquide et spectromètre de masse tandem).

XIC (chromatogramme des ions extraits) et spécifications du test voir au verso.



Chromatogramme des ions



Après addition d'un standard marqué au deutérium et après extraction de la phase solide, les acides organiques sont séparés des éléments de la matrice. Une dérivaturation va suivre afin d'augmenter la sélectivité de la méthode. Ceci permettra de quantifier l'analyte de manière hautement spécifique. Une séparation chromatographique va nous permettre de séparer complètement l'AMM et son isomère physiologiquement présent, l'acide succinique. Par rapprochement et superposition du «XIC», il est possible de quantifier les paramètres recherchés. La figure A montre les 3 transitions MRM ensemble; B, C et D les mêmes mais séparées.

Spécification du test:

- Matériel: sérum (matériel alternatif plasma EDTA ou héparine)
 Urine
 Quantité: minimum 500 µl
 Méthode: LC/MS/MS
 Fréquence: 2x par semaine

Responsables du contenu

- PD Dr méd. Lorenz Risch, MPH
 Dr phil II Manfred Zerlauth, FAMH chimie clinique,
 hématologie et immunologie
 Martina Fanzun, Chimiste FH/ NDS