

Aplicabilidade do indicador combinado do status de vitamina B₁₂ em atendimento ambulatorial de indivíduos vegetarianos

Applicability of the combined indicator of vitamin B₁₂ status in ambulatory care of vegetarians

Rafael Junio Rombardi da Silva¹, Maria Sônia Lopes Duarte¹, Mariana De Santis Filgueiras¹,
Lisiane Lopes da Conceição¹, Eliana Carla Gomes de Souza¹

(1) Departamento de Nutrição e Saúde (DNS), Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCB), Universidade Federal de Viçosa (UFV). Viçosa, Minas Gerais, Brasil

Resumo

Introdução: A deficiência de vitamina B₁₂ possui alta prevalência na população vegetariana. O indicador cB₁₂ representa um método com alta capacidade preditiva, mesmo na ausência de um ou dois biomarcadores. **Objetivo:** Investigar a aplicabilidade do indicador cB₁₂ com biomarcadores ausentes no diagnóstico da deficiência de vitamina B₁₂ de indivíduos vegetarianos em nível ambulatorial, bem como analisar a capacidade diagnóstica do ponto de corte proposto para a ferramenta. **Material e Métodos:** Refere-se a um estudo transversal com uma amostra de indivíduos vegetarianos. Foi avaliado a concordância da deficiência/baixa B₁₂ sérica entre o ponto de corte do indicador cB₁₂ e outros pontos de corte propostos para vitamina B₁₂ sérica. Foi avaliado também a sensibilidade e a especificidade do ponto de corte da ferramenta. **Resultados:** Observou-se concordância significativa, porém fraca, entre o ponto de corte do indicador cB₁₂ e um dos pontos de corte de vitamina B₁₂ sérica considerados, além de baixa sensibilidade e alta especificidade em relação aos mesmos. Verificou-se resultados parecidos na subamostra de indivíduos vegetarianos não suplementados com vitamina B₁₂, entretanto, observou-se concordância significativa e moderada em relação a um dos pontos de corte de vitamina B₁₂ sérica considerados. **Conclusões:** Os principais resultados sugerem que essa análise seja realizada em futuros estudos com diferentes amostras e com um maior número de observações para melhor investigação da acurácia do indicador cB₁₂ com biomarcadores ausentes, além da revisão de seu ponto de corte.

Palavras-chave: Vegetarianismo; vitamina B₁₂; deficiência; diagnóstico; ponto de corte.

Abstract

Introduction: Vitamin B₁₂ deficiency has a high prevalence in the vegetarian population. The cB₁₂ indicator represents a method with high predictive capacity, even in the absence of one or two biomarkers. **Objective:** To investigate the applicability of the cB₁₂ indicator with missing biomarkers in the diagnosis of Vitamin B₁₂ deficiency in vegetarian individuals at outpatient level, as well as to analyze the diagnostic capacity of the cut-off point proposed for the tool. **Material and Methods:** This is a cross-sectional study with a sample of vegetarian individuals. The concordance of serum B₁₂ deficiency/low B₁₂ between the cB₁₂ indicator cut-off point and other cut-off points proposed for serum Vitamin B₁₂ was evaluated. The sensitivity and specificity of the tool's cut-off point were also assessed. **Results:** Significant but weak agreement was observed between the cB₁₂ indicator cut-off point and one of the serum Vitamin B₁₂ cut-off points considered, as well as low sensitivity and high specificity in relation to them. Similar results were found for the sub-sample of vegetarian individuals not supplemented with Vitamin B₁₂. However, significant and moderate agreement was observed in relation to one of the serum Vitamin B₁₂ cut-off points considered. **Conclusions:** The main results suggest that this analysis be carried out in future studies with different samples and a greater number of observations in order to better investigate the accuracy of the cB₁₂ indicator with missing biomarkers, as well as reviewing its cut-off point.

Keywords: Vegetarianism; Vitamin B₁₂; deficiency; diagnosis; cut-off point.

1 Introdução

A Sociedade Vegetariana Brasileira (SVB) define o vegetarianismo como a exclusão total ou parcial de alimentos de origem animal da alimentação (SVB). O Guia Alimentar de Dietas Vegetarianas para Adultos indica que a alimentação vegetariana equilibrada e bem planejada é adequada e pode ser adotada em qualquer fase da vida (SLYWITCH, 2012). No entanto, a adoção da alimentação vegetariana não é sinônimo de alimentação equilibrada e saudável. Hábitos alimentares, como consumo insuficiente de verduras, legumes e frutas, e consumo excessivo de bebidas açucaradas e alimentos ultraprocessados, são observados no público vegetariano, podendo levar às deficiências nutricionais (RIBEIRO et al., 2015; SILVEIRA et al., 2017).

Dentre as deficiências nutricionais que podem ocorrer quando se adota a alimentação vegetariana desequilibrada, a de vitamina B₁₂ possui alta prevalência entre indivíduos que seguem este padrão alimentar (PAWLAK et al., 2013). Foi demonstrado que, de acordo com o nível de exclusão de produtos de origem animal da alimentação, as concentrações séricas dessa vitamina diminuem (GILSING et al., 2010). Isso foi observado também em estudos que avaliaram a prevalência da deficiência de vitamina B₁₂ em diferentes segmentos do vegetarianismo (HERRMANN et al., 2001; HERRMANN et al., 2003; PAWLAK et al., 2014; PAWLAK, 2015).

Diante dessa problemática, alguns estudos demonstraram métodos capazes e eficientes para investigação do status de vitamina B₁₂ em vegetarianos. Dentre os mais frequentemente utilizados, pode-se citar as dosagens de vitamina B₁₂ sérica, holotranscobalamina (Holo-TC), homocisteína (Hcy) e ácido metilmalônico (MMA). Entretanto, quando os marcadores são utilizados de forma isolada, pode haver subestimação da deficiência dessa vitamina (HANNIBAL et al., 2016; RIZZO et al., 2016; ALLEN et al., 2018). Assim, a investigação do status de vitamina B₁₂ em vegetarianos pode ser facilitada envolvendo todos estes biomarcadores.

Na busca de melhorar o diagnóstico de deficiência de vitamina B₁₂ e, conseqüentemente, facilitar o processo de investigação do status dessa vitamina, foi proposto um modelo matemático que associa todos os biomarcadores metabólicos da vitamina B₁₂, sendo eles: vitamina B₁₂ sérica, Holo-TC, Hcy e MMA (FEDOSOV, 2010). Ao longo dos anos esse modelo foi adaptado para considerar o efeito da idade e a associação com hemoglobina e função cognitiva (FEDOSOV, 2013). Até que em sua última versão, já denominado de indicador

combinado do status de vitamina B₁₂ (cB₁₂), foi demonstrada a possibilidade de cálculo quando um ou dois biomarcadores estão ausentes, a partir de diferentes fórmulas (FEDOSOV et al., 2015). Estudos que utilizaram o indicador cB₁₂ com todos os biomarcadores presentes demonstraram sua alta capacidade preditiva na investigação do status de vitamina B₁₂ (BRITO et al., 2017; KÖBE et al., 2016; BRITO et al., 2017; SIEBERT et al., 2017; JARQUIN et al., 2020). Já na ausência de um ou dois biomarcadores, o indicador cB₁₂, da mesma forma, demonstrou ter alta capacidade preditiva (VASHI et al., 2016; MINEVA et al., 2021).

Diante do exposto, o uso de métodos com alta capacidade preditiva para realizar o diagnóstico da deficiência de vitamina B₁₂, torna-se uma questão de grande relevância. O indicador cB₁₂ se mostra um método capaz de contornar esta inconveniência, mesmo quando alguns dos biomarcadores utilizados em seu cálculo encontram-se ausentes. Até o momento, existem poucos estudos que utilizaram o indicador cB₁₂ com biomarcadores ausentes para análises do status de vitamina B₁₂ em nível ambulatorial.

O objetivo do estudo foi investigar a aplicabilidade do indicador cB₁₂ com biomarcadores ausentes no diagnóstico de deficiência de vitamina B₁₂ de indivíduos vegetarianos em nível ambulatorial, bem como analisar a capacidade diagnóstica do ponto de corte proposto em relação a outros pontos de corte para vitamina B₁₂ sérica.

2 Desenvolvimento

2.1 Material e Métodos

Refere-se a um estudo transversal, realizado com indivíduos atendidos pelo Programa de Extensão Pró Vegetariano, vinculado ao Departamento de Nutrição e Saúde (DNS) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), campus Viçosa, Minas Gerais. Este estudo faz parte de um projeto guarda-chuva, que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFV (CEP/UFV; número do parecer – 2.831.804).

A amostra do estudo incluiu indivíduos vegetarianos atendidos pelo programa, com 18 anos ou mais, que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e possuíam exames bioquímicos com, pelo menos, dois dos quatro parâmetros utilizados para realizar o cálculo do indicador cB₁₂. Foram excluídos da análise indivíduos que não possuíam dados completos das variáveis analisadas. Quanto ao tamanho amostral, 61 indivíduos entre os indivíduos atendidos pelo programa no período de 2017 a 2021 cumpriram todos os critérios de inclusão.

A coleta de dados foi realizada a partir dos atendimentos nutricionais, realizados pelos integrantes do programa e alunos da disciplina optativa de “Práticas de Atendimento Nutricional ao Indivíduo Vegetariano”, oferecida pelo curso de Nutrição da UFV, campus Viçosa, Minas Gerais. Os atendimentos nutricionais ocorreram de modo presencial, na Divisão de Saúde da UFV (DSA/UFV), e de modo remoto, sempre sob a orientação da Coordenadora da disciplina e de Nutricionistas voluntários do programa.

Os atendimentos nutricionais seguiram um protocolo elaborado pelo programa onde, no primeiro atendimento, foi aplicado um questionário semiestruturado aos indivíduos sobre variáveis socioeconômicas, demográficas e de saúde e estilo de vida. Além disso, foram solicitados exames bioquímicos aos indivíduos que não possuíam exames com até seis meses e para aqueles que não possuíam os parâmetros considerados necessários para investigação do status de vitamina B₁₂. Todos os resultados de exames bioquímicos apresentados foram registrados em prontuário nutricional.

A caracterização da amostra foi realizada de acordo com o questionário semiestruturado, em relação às variáveis socioeconômicas, como segue: escolaridade (ensino médio completo/superior incompleto; ou superior completo), estudante universitário (sim; ou não) e renda familiar da casa dos pais (≤ 1 SM; > 1 SM), foi considerado como um salário-mínimo (SM), R\$ 986,00; e variáveis demográficas, segundo: sexo (feminino ou masculino) e idade (≥ 18 a 39 anos; ou > 40 anos). Em relação às variáveis de saúde e estilo de vida, os indivíduos foram caracterizados de acordo com: tipos de vegetarianismo (veganismo/vegetarianismo estrito; ou outros segmentos do vegetarianismo), tabagismo (sim; ou não), ingestão de bebida alcoólica (sim; ou não), prática de exercício físico (sim; ou não) e suplementação de vitamina B₁₂ (sim; ou não).

A avaliação do status de vitamina B₁₂ dos indivíduos foi realizada por meio do cálculo do indicador cB₁₂ com biomarcadores ausentes (FEDOSOV et al., 2015). Para os 56 indivíduos que não apresentavam informações sobre a Holo-TC e o MMA, foram utilizados os valores de vitamina B₁₂ sérica e Hcy para o cálculo do indicador cB₁₂. Para os outros 5 indivíduos, foram utilizadas fórmulas que consideravam a presença da vitamina B₁₂ sérica, Hcy e MMA em conjunto (n = 4), ou somente a vitamina B₁₂ sérica e o MMA (n = 1) (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição dos indivíduos atendidos no Programa Pró Vegetariano – UFV de acordo com o cálculo do Indicador Combinado do Status de Vitamina B₁₂ (cB₁₂). Viçosa, MG, 2021.

Marcador(es) ausente(s) (Z)	Marcador mensurado (X)	n (%)
$\log (\text{holoTC})$	$\log \left(\frac{B_{12}}{Hcy \times MMA} \right)$	4
$\log \left(\frac{\text{holoTC}}{MMA} \right)$	$\log \left(\frac{B_{12}}{Hcy} \right)$	56
$\log \left(\frac{\text{holoTC}}{Hcy} \right)$	$\log \left(\frac{B_{12}}{MMA} \right)$	1

Fonte: FEDOSOV *et al.*, 2015. Legenda: holoTC – holotranscobalamina; B₁₂ – vitamina B₁₂ sérica; Hcy – homocisteína; MMA – ácido metilmalônico.

Os pontos de cortes utilizados foram os propostos pelos mesmos autores, sendo valores entre -0,5 a 1,5 considerados como vitamina B₁₂ adequada e valores abaixo de -0,5 considerados baixos ou deficiência de vitamina B₁₂ (FEDOSOV *et al.*, 2015). A mesma avaliação foi realizada por meio dos pontos de corte para vitamina B₁₂ sérica propostos por Allen *et al.* (2006), ≤ 300 pg/mL, e por Herrmann e Geisel (2002), 490 pg/mL.

Todos os dados coletados foram tabulados em planilhas no programa Excel (versão 2019) e as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software IBM SPSS versão 23 for Windows (IBM SPSS, Inc. Chicago, IL, USA). Para todas as análises, foi adotado o nível de significância estatística de 5%. A distribuição das variáveis quantitativas foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. As variáveis qualitativas foram expressas em frequência absoluta (n) e relativa (%), e as variáveis quantitativas em média e desvio-padrão ou mediana e intervalo interquartilico.

Para comparar as concentrações séricas de vitamina B₁₂ e o indicador cB₁₂ de acordo as características socioeconômicas, demográficas e de estilo de vida, foi utilizado o teste t de Student. Foi obtido o coeficiente de Kappa de Cohen para avaliar a concordância da deficiência/baixa B₁₂ sérica pelo indicador cB₁₂ com a deficiência/baixa B₁₂ sérica classificada pelos pontos de corte de Allen *et al.* (2006) e Herrmann e Geisel (2002). A interpretação do coeficiente de Kappa de Cohen foi realizada a partir dos critérios propostos por Landis e Koch (1997), considerando valores < 0,00 pobres; 0,00 a 0,20, pouca; 0,21 a 0,40, fraca; 0,41 a 0,60, moderada; 0,61 a 0,80, substancial; 0,81 a 1,00, quase perfeita. Também foi possível analisar a sensibilidade e a especificidade do ponto de corte do indicador cB₁₂ (FEDOSOV *et al.*, 2015).

2.2 Resultados

A amostra foi composta por 61 indivíduos, sendo a maioria do sexo feminino (n = 39, 63,9%), com média de idade de 23 anos, Ensino Médio Completo (n = 40, 65,6%), renda familiar maior que um SM (n = 54, 88,5%) e estudante (n = 46, 75,4%). Ademais, a maioria apresentava ingestão de bebida alcoólica (n = 42, 68,9%) e era praticante de atividade física (n = 41, 67,2%), todavia não era tabagista (n = 53, 86,9%), pertencia a outros segmentos do vegetarianismo que não fosse o veganismo/vegetariano estrito (n = 52, 85,2%) e não usava suplemento de vitamina B₁₂ (n = 53, 86,9%). As concentrações séricas de vitamina B₁₂ e o indicador cB₁₂ não apresentaram diferenças significantes entre as características socioeconômicas, demográficas e de estilo de vida dos indivíduos avaliados (Tabela 2).

Tabela 2. Média e desvio-padrão de vitamina B₁₂ sérica e do Indicador Combinado do Status de Vitamina B₁₂ (cB₁₂) de acordo com as características dos indivíduos atendidos no Programa Pró Vegetariano – UFV. Viçosa, MG, 2021.

Características	n (%)	Vitamina B ₁₂ (pg/mL)	Valor de P	Indicador cB ₁₂	Valor de P
Sexo					
Masculino	22 (36,1%)	259±97	0,570	-0,44±0,71	0,680
Feminino	39 (63,9%)	278 (136)		-0,35±0,86	
Idade					
18 – 39 anos	55 (90,2%)	271±122	0,960	-0,39±0,79	0,810
≥ 40 anos	6 (9,8%)	269±142		-0,30±1,04	
Escolaridade					
Ensino Médio Completo	40 (65,6%)	254±124	0,140	-0,52±0,76	0,060
Ensino Superior Completo	21 (34,4%)	303±117		-0,11±0,85	
Renda familiar					
≤ 1 SM	7 (11,5%)	305±171	0,450	-0,25±0,54	0,660
> 1 SM	54 (88,5%)	267±117		-0,39±0,84	
Estudante universitário					
Sim	46 (75,4%)	264±117	0,460	-0,46±0,74	0,150
Não	15 (24,6%)	292±142		-0,11±0,95	
Tabagismo					

Sim	8 (13,1%)	287±159	0,700	-0,25±0,74	0,630
Não	53 (86,9%)	269±118		-0,40±0,82	
Ingestão de bebida alcoólica					
Sim	42 (68,9%)	263±121	0,440	-0,43±0,81	0,480
Não	19 (31,1%)	289±128		-0,27±0,80	
Prática de exercício físico					
Sim	41 (67,2%)	280±127	0,440	-0,38±0,85	0,940
Não	20 (32,8%)	254±117		-0,37±0,73	
Tipos de vegetarianismo					
Vegetarianismo estrito	9 (14,8%)	306±159	0,370	-0,41±1,04	0,880
Outros tipos	52 (85,2%)	265±117		-0,37±0,77	
Suplementação de vit. B ₁₂					
Sim	8 (13,1%)	299±145	0,490	-0,18±1,00	0,460
Não	53 (86,9%)	267±120		-0,41±0,78	

Fonte: autores. Legenda: SM – salário mínimo. Teste t de *Student*, $\alpha = 0,05$.

Ao avaliar a concordância da deficiência/baixa B₁₂ sérica segundo o ponto de corte do indicador cB₁₂ com a deficiência/baixa B₁₂ sérica classificada pelos pontos de corte de Allen et al. (2006) e Herrmann e Geisel (2002), observou-se que apenas o primeiro apresentou concordância significativa, porém, fraca (Kappa = 0,386, P = 0,001). A sensibilidade do ponto de corte do indicador cB₁₂ para identificar a deficiência/baixa B₁₂ sérica não foi satisfatória para ambos os pontos de corte citados anteriormente (52,6% e 38,6%, respectivamente). Todavia, a especificidade do ponto de corte do indicador cB₁₂ foi satisfatória, apresentando uma boa capacidade para identificar corretamente indivíduos que apresentaram adequada concentração sérica de vitamina B₁₂ (Tabela 3).

Tabela 3. Distribuição da deficiência ou baixa concentração sérica de vitamina B₁₂ avaliada pelo Indicador Combinado do Status de Vitamina B₁₂ (cB₁₂) nos indivíduos atendidos no Programa Pró Vegetariano – UFV, de acordo com os diferentes pontos de corte. Viçosa, MG, 2021.

Indicador cB ₁₂		Vit. B ₁₂ sérica						
	Deficiência ou baixa B ₁₂ (≤ 300 pg/mL)	Vit. B ₁₂ adequada (> 300 pg/mL)	Kappa	Valor de P	Deficiência ou baixa B ₁₂ (≤ 490 pg/mL)	Vit. B ₁₂ adequada (> 490 pg/mL)	Kappa	Valor de P
Deficiência ou baixa vit. B ₁₂ (< -0,5)	n = 38 20 (52,6%)	n = 23 2 (8,7%)	0,386	0,001	n = 57 22 (38,6%)	n = 4 0 (0,0%)	0,076	0,120
Vit. B ₁₂ adequada (-0,5 a 1,5)	18 (47,4%)	21 (91,3%)			35 (61,4%)	4 (100,0%)		

Fonte: autores. Coeficiente de Kappa de Cohen, $\alpha = 0,05$.

Considerando apenas a subamostra de indivíduos que não faziam suplementação de vitamina B₁₂ (n = 53), os resultados foram semelhantes aos da amostra total. Entretanto, observou-se concordância significativa e moderada (Kappa = 0,425, P = 0,001) entre a deficiência/baixa B₁₂ sérica avaliada pelo ponto de corte do indicador cB₁₂ e a deficiência/baixa B₁₂ sérica classificada por Allen et al. (2006) e Herrmann e Geisel (2002) (Tabela 4).

Tabela 4. Distribuição da deficiência ou baixa concentração sérica de vitamina B₁₂ avaliada pelo Indicador Combinado do Status de Vitamina B₁₂ (cB₁₂) nos indivíduos não suplementados com vitamina B₁₂ atendidos no Programa Pró Vegetariano – UFV, de acordo com os diferentes pontos de corte. Viçosa, MG, 2021.

Indicador cB ₁₂	Vit. B ₁₂ sérica							
	Deficiência ou baixa B ₁₂ (≤ 300 pg/mL)	Vit. B ₁₂ adequada (> 300 pg/mL)	Kappa	Valor de P	Deficiência ou baixa B ₁₂ (≤ 490 pg/mL)	Vit. B ₁₂ adequada (> 490 pg/mL)	Kappa	Valor de P
Deficiência ou baixa vit. B ₁₂ (< -0,5)	n = 38 19 (57,6%)	n = 23 2 (10,0%)	0,425	0,001	n = 57 21 (41,2%)	n = 4 0 (0,0%)	0,050	0,240
Vit. B ₁₂ adequada (-0,5 a 1,5)	14 (42,4%)	18 (90,0%)			30 (58,8%)	2 (100,0%)		

Fonte: autores. Coeficiente de Kappa de Cohen, $\alpha = 0,05$.

3 Discussão

Este é o primeiro estudo que analisou o indicador cB_{12} com biomarcadores ausentes proposto por Fedosov et al. (2015) em uma amostra composta exclusivamente por indivíduos brasileiros adeptos ao vegetarianismo. Ademais, também é o primeiro estudo nesse contexto que realizou a comparação entre o indicador cB_{12} com biomarcadores ausentes e o ponto de corte proposto por Herrmann e Geisel (2002) para avaliação do status de vitamina B_{12} sérica.

Não foi observada diferença estatística entre a vitamina B_{12} sérica e o indicador cB_{12} com biomarcadores ausentes em relação a todas as variáveis de caracterização da amostra deste estudo. Este achado pode ser justificado pela homogeneidade da amostra em relação ao tipo de alimentação adotada pelos indivíduos. Além disso, o fato da amostra ser composta, predominantemente, por estudantes universitários e, portanto, possuírem estilo de vida e hábitos alimentares similares, também pode ter contribuído para tal achado.

A análise de Kappa de Cohen realizada neste estudo demonstrou uma concordância significativa entre o indicador cB_{12} com biomarcadores ausentes e o ponto de corte de Allen et al. (2006) (≤ 300 pg/mL), porém, o mesmo não ocorreu para o ponto de corte de Herrmann e Geisel (2002) (≤ 490 pg/mL). Esse resultado foi observado tanto para a amostra total ($n = 61$), obtendo concordância fraca, quanto para a subamostra de vegetarianos não suplementados com vitamina B_{12} ($n = 53$), obtendo concordância moderada. O ponto de corte estabelecido por Allen et al. (2006) possui correspondência com os pontos de corte estabelecidos por Fedosov et al. (2015) para classificação do status de vitamina B_{12} sérica, como descrito em seu estudo, o que pode justificar tal resultado.

Para o cálculo de sensibilidade e especificidade realizados para análise do indicador cB_{12} com biomarcadores ausentes neste estudo, foram utilizados como métodos de referência para definição do status de vitamina B_{12} sérica os pontos de corte estabelecidos por Allen et al. (2006) e Herrmann e Geisel (2002), que consideram ≤ 300 pg/mL e ≤ 490 pg/mL, como deficiência/baixa B_{12} sérica; e > 300 pg/mL e > 490 pg/mL, como adequado nível sérico de B_{12} , respectivamente.

O indicador cB_{12} com biomarcadores ausentes não foi superior na detecção de vegetarianos com deficiência/baixa B_{12} sérica, visto os percentuais de sensibilidade encontrados no atual estudo, 52,6% em relação ao ponto de corte de Allen et al. (2006); e 38,6% em relação ao ponto de corte de Herrmann e Geisel (2002). A realização dessa

análise na subamostra de vegetarianos não suplementados com vitamina B₁₂ (n = 53), demonstrou resultados semelhantes (57,6% e 41,2% de sensibilidade em relação aos pontos de corte citados, respectivamente).

Os biomarcadores disponíveis para o cálculo do indicador cB₁₂ para a maioria da amostra dessa análise foram a vitamina B₁₂ sérica e a Hcy (n = 56). Fedosov et al. (2015) evidenciou que o cálculo do indicador cB₁₂ com biomarcadores ausentes demonstra maior confiabilidade quando estão presentes os valores de vitamina B₁₂, Holo-TC e MMA séricos, quando baseado em três biomarcadores; e Holo-TC e MMA, quando baseado em dois biomarcadores, o que pode justificar a baixa sensibilidade encontrada. Estudos que avaliaram a precisão de cada biomarcador isolado na previsão diagnóstica do indicador cB₁₂ a partir da análise de curva ROC (Receiver Operating Characteristic) evidenciaram que, principalmente, Holo-TC e MMA, apresentam características diagnósticas significativamente maiores (CAMPOS et al., 2020; VASHI et al., 2016; RISCH et al., 2015). Isso vai de acordo com as condições que conferem maior confiabilidade ao indicador cB₁₂ com biomarcadores ausentes e, conseqüentemente, com a baixa sensibilidade encontrada nesta análise. Outro fator que pode ter contribuído para a baixa sensibilidade foi a amostra em que o indicador cB₁₂ e seus pontos de corte foram validados, na qual incluiu em sua maioria, indivíduos idosos e indivíduos que não eram adeptos ao vegetarianismo (FEDOSOV et al., 2015).

Foi encontrada uma alta especificidade do indicador cB₁₂ com biomarcadores ausentes em relação à ambos os pontos de corte referências (ALLEN et al. [2006]; e HERRMANN E GEISEL [2002]), tanto para a amostra total de vegetarianos (n = 61), 91,3% e 100%, quanto para a subamostra de vegetarianos não suplementados com vitamina B₁₂ (n = 53), 90% e 100%, respectivamente. Logo, demonstrando um bom desempenho do indicador cB₁₂ com biomarcadores ausentes para identificação de vegetarianos com adequado nível sérico de vitamina B₁₂.

Sabe-se que a vitamina B₁₂ é um nutriente que pode ter a ingestão inadequada em vegetarianos e vale ressaltar que, quando ocorre redução ou deficiência na concentração sérica, pode ocorrer alteração em processos que resultam em perda de função cognitiva e desenvolvimento de anemia megaloblástica (KREY et al., 2017; MONTEIRO et al., 2019). Em indivíduos com deficiência de vitamina B₁₂, é comumente observado concentrações plasmáticas elevadas de MMA e Hcy (MONTEIRO et al., 2019). Os pontos de corte estabelecidos por Allen et al. (2006) e Herrmann e Geisel (2002) foram baseados

em alterações anormais observadas nas concentrações séricas de MMA e Hcy, além de manifestações clínicas da deficiência de vitamina B₁₂. De forma análoga, os pontos de corte estabelecidos para o indicador cB₁₂ foram validados de acordo com hemoglobina e função cognitiva (FEDOSOV et al., 2015). Dessa forma, a alta especificidade encontrada na atual análise pode ser justificada pela relação que todos os pontos de corte utilizados para definição do status de vitamina B₁₂ sérica possuem em comum. Ressalta-se que esse achado deve ser investigado em amostras com maior número de observações em futuros estudos.

Além disso, os achados desse estudo sugerem uma revisão dos pontos de cortes do indicador cB₁₂, tendo em vista a correspondência com pontos de corte para vitamina B₁₂ sérica mais adequados para investigação do status de vitamina B₁₂, como o proposto por Herrmann e Geisel (2002), que estabelece um ponto de corte adequado para prevenir a deficiência funcional de vitamina B₁₂ com mais confiabilidade. Outrossim, estudos que validassem tal indicador, sobretudo, com dois ou três biomarcadores ausentes, em populações específicas, são necessários.

4 Conclusões

A alimentação vegetariana, se inadequada, pode proporcionar risco de deficiência de alguns nutrientes, dentre eles, a de vitamina B₁₂. Logo, o diagnóstico precoce da deficiência dessa vitamina por métodos com alto valor preditivo é essencial para a população adepta a esse tipo de alimentação. Dentre esses métodos, o indicador cB₁₂ tem demonstrado boa alternativa, por realizar a combinação de quatro biomarcadores relacionados ao metabolismo de vitamina B₁₂, mesmo quando um ou dois biomarcadores encontram-se ausentes para o cálculo. No presente estudo, o indicador cB₁₂ com biomarcadores ausentes apresentou concordância significativa com o ponto de corte de Allen et al. (2006), porém, fraca, em relação a amostra total, e moderada, em relação a subamostra de vegetarianos. Além disso, foi observada baixa sensibilidade para detectar vegetarianos com deficiência/baixa B₁₂ sérica, entretanto, alta especificidade para detectar vegetarianos com adequada B₁₂ sérica. Os principais resultados observados sugerem que essa análise seja realizada em estudos futuros com diferentes amostras e com maior número de observações para melhor investigação da acurácia do indicador cB₁₂ com biomarcadores ausentes, além de uma revisão de seus pontos de corte.

5 Referências

- ALLEN, L.; BENOIST, B.; DARY, O.; HURRELL, R. **Guidelines on food fortification with micronutrients**. World Health Organization (WHO) and Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2006. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9241594012>. Acesso em 27 de mar. 2024.
- ALLEN, L. H.; MILLER, J. W.; GROOT, L.; ROSENBERG, I. H.; SMITH, A. D.; REFSUM, H.; RAITEN, D. J. Biomarkers of Nutrition for Development (BOND): Vitamin B-12 Review. **J Nutr**, 148(4):1995S-2027S, 2018. Disponível em: 10.1093/jn/nxy201. Acesso em 27 de mar. 2024.
- BRITO, A.; et al. The Human Serum Metabolome of Vitamin B-12 Deficiency and Repletion, and Associations with Neurological Function in Elderly Adults. **J Nutr**, 147(10):1839-49, 2017. Disponível em: 10.3945/jn.117.248278. Acesso em 27 de mar. 2024.
- BRITO, A.; et al. Vitamin B-12 treatment of asymptomatic, deficient, elderly Chileans improves conductivity in myelinated peripheral nerves, but high serum folate impairs vitamin B-12 status response assessed by the combined indicator of vitamin B-12 status. **Am J Clin Nutr**, 103(1):250-257, 2016. Disponível em: 10.3945/ajcn.115.116509. Acesso em 27 de mar. 2024.
- CAMPOS, A.; RISCH, L.; NYDEGGER, U.; WIESNER, J.; VAZQUEZ VAN DYCK, M.; RENZ, H.; STANGA, Z.; RISCH, M. Diagnostic Accuracy of Holotranscobalamin, Vitamin B12, Methylmalonic Acid, and Homocysteine in Detecting B12 Deficiency in a Large, Mixed Patient Population. **Dis Markers**, 2020:7468506, 2020. Disponível em: 10.1155/2020/7468506. Acesso em 27 de mar. 2024.
- FEDOSOV, S. N.; BRITO, A.; MILLER, J. W.; GREEN, R.; ALLEN, L. H. Combined indicator of vitamin B12 status: Modification for missing biomarkers and folate status and recommendations for revised cut-points. **Clin Chem Lab Med**, 53(8):1215-1225, 2015. Disponível em: 10.1515/cclm-2014-0818. Acesso em 27 de mar. 2024.
- FEDOSOV, S. N. Biochemical markers of vitamin B12 deficiency combined in one diagnostic parameter: The age-dependence and association with cognitive function and blood hemoglobin. **Clin Chim Acta**, 25(422):47-53, 2013. Disponível em: 10.1016/j.cca.2013.04.002. Acesso em 27 de mar. 2024.
- FEDOSOV, S. N. Metabolic signs of vitamin B12 deficiency in humans: computational model and its implications for diagnostics. **Metabolism**, 59(8):1124-1138, 2010. Disponível em: 10.1016/j.metabol.2009.09.036. Acesso em 27 de mar. 2024.
- GILSING, A. M. J.; CROWE, F. L.; LLOYD-WRIGHT, Z.; SANDERS, T. A. B.; APPLEBY, P. N.; ALLEN, N. E.; KEY, T. J. Serum concentrations of vitamin B12 and folate in British male omnivores, vegetarians, and vegans: results from a cross-sectional analysis of the EPIC-Oxford cohort study. **Eur J Clin Nutr**, 64(9):933-939, 2010. Disponível em: 10.1038/ejcn.2010.142. Acesso em 27 de mar. 2024.

HANNIBAL, L.; LYSNE, V.; BJØRKE-MONSEN, A. L.; BEHRINGER, S.; GRÜNERT, S. C.; SPIEKERKOETTER, U.; JACOBSEN, D. W.; BLOM, H. Biomarkers and algorithms for the diagnosis of vitamin B12 deficiency. **Front Mol Biosci**, 3(27), 2016. Disponível em: 10.3389/fmolb.2016.00027. Acesso em 27 de mar. 2024.

HERRMANN, W.; GEISEL, J. Vegetarian lifestyle and monitoring of vitamin B-12 status. **Clin Chim Acta**, 326(1-2):47-59, 2002. Disponível em: 10.1016/s0009-8981(02)00307-8. Acesso em 27 de mar. 2024.

HERRMANN, W.; SCHORR, H.; OBEID, R.; GEISEL, J. Vitamin B-12 status, particularly holotranscobalamin II and methylmalonic acid concentrations, and hyperhomocysteinemia in vegetarians. **Am J Clin Nutr**, 78(1):131-6, 2003. Disponível em: 10.1093/ajcn/78.1.131. Acesso em 27 de mar. 2024.

HERRMANN, W.; SCHORR, H.; PURSCHWITZ, K.; RASSOUL, F.; RICHTER, V. Total Homocysteine, Vitamin B12, and Total Antioxidant Status in Vegetarians. **Clin Chem**, 47(6):1094-1101, 2001. Disponível em: 10.1017/jns.2019.2. Acesso em 27 de mar. 2024.

KÖBE, T.; et al. Vitamin B-12 concentration, memory performance, and hippocampal structure in patients with mild cognitive impairment. **Am J Clin Nutr**, 103(4):1045-1054, 2016. Disponível em: 10.3945/ajcn.115.116970. Acesso em 27 de mar. 2024.

KREY, I. P.; ALBUQUERQUE, D. P.; BERNARDO, D. R. D.; COSTA, M. M.; SILVA, B. G.; VIEBIG, R. F. Atualidades sobre dieta vegetariana. **Nutrição Brasil**, 16(6):406-413, 2017. Disponível em: 10.33233/nb.v16i6.744. Acesso em 27 de mar. 2024.

LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. **Biometrics**, 33(1):159, 1977. Disponível em: 10.2307/2529310. Acesso em 27 de mar. 2024.

MINEVA, E. M.; STERNBERG, M. R.; BAILEY, R. L.; STORANDT, R. J.; PFEIFFER, C. M. Fewer US adults had low or transitional vitamin B12 status based on the novel combined indicator of vitamin B12 status compared with individual, conventional markers, NHANES 1999–2004. **Am J Clin Nutr**, 114(3):1070-1079, 2021. Disponível em: 10.1093/ajcn/nqab122. Acesso em 27 de mar. 2024.

MONTEIRO M. D.; FERREIRA, N. F.; MARINS, F. R.; ASSIS, I. B. ANEMIA MEGALOBLÁSTICA: REVISÃO DE LITERATURA. **Revista Saúde em Foco**, 11:934-963, 2019. Disponível em: https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2019/10/082_ANEMIA-MEGALOBL%C3%81STICA.pdf. Acesso em 27 de mar. 2024.

PAWLAK, R.; LESTER, S. E.; BABATUNDE, T. The prevalence of cobalamin deficiency among vegetarians assessed by serum vitamin B12: a review of literature. **Eur J Clin Nutr**, 68(5):541-548, 2014. Disponível em: 10.1038/ejcn.2014.46. Acesso em 27 de mar. 2024.

PAWLAK, R.; PARROTT, S. J.; RAJ, S.; CULLUM-DUGAN, D.; LUCUS, D. How prevalent is vitamin B(12) deficiency among vegetarians? **Nutr Ver**, 71(2):110-117, 2013. Disponível em: 10.1111/nure.12001. Acesso em 27 de mar. 2024.

PAWLAK, R. Is Vitamin B12 Deficiency a Risk Factor for Cardiovascular Disease in Vegetarians? **Am J Prev Med**, 48(6):e11-26, 2015. Disponível em: 10.1016/j.amepre.2015.02.009. Acesso em 27 de mar. 2024.

RIBEIRO, M. F.; BERALDO, R. A.; TOUSO, M. F. S.; VASSIMON, H. S. Ingestão alimentar, perfil bioquímico e estado nutricional entre vegetarianos e não vegetarianos. **Arq Ciênc Saúde**, 22(3):58-63, 2015. Disponível em: https://repositorio-racs.famerp.br/racs_ol/vol-22-3/Ingest%C3%A3o%20alimentar,%20perfil%20bioqu%C3%ADmico%20e%20estado%20nutricional%20entre%20vegetarianos%20e%20n%C3%A3o%20vegetarianos.pdf. Acesso em 27 de mar. 2024.

RISCH, M.; MEIER, D. W.; SAKEM, B.; MEDINA ESCOBAR, P.; RISCH, C.; NYDEGGER, U.; RISCH, L. Vitamin B12 and folate levels in healthy Swiss senior citizens: a prospective study evaluating reference intervals and decision limits. **BMC Geriatr**, 11(15):82, 2015. Disponível em: 10.1186/s12877-015-0060-x. Acesso em 27 de mar. 2024.

RIZZO, G.; et al. Vitamin B12 among Vegetarians: Status, Assessment and Supplementation. **Nutrients**, 8(12):767, 2016. Disponível em: 10.3390/nu8120767. Acesso em 27 de mar. 2024.

SIEBERT, A. K.; OBEID, R.; WEDER, S.; AWWAD, H. M.; SPUTTEK, A.; GEISEL, J.; KELLER, M. Vitamin B-12-fortified toothpaste improves vitamin status in vegans: a 12-wk randomized placebo-controlled study. **Am J Clin Nutr**, 105(3):618-625, 2017. Disponível em: 10.3945/ajcn.116.141978. Acesso em 27 de mar. 2024.

SILVEIRA, J. A. C.; MENESES, S. S.; QUINTANA, P. T.; SANTOS, V. S. Association between overweight and consumption of ultra-processed food and sugar-sweetened beverages among vegetarians. **Rev Nutr**, 30(4):431-441, 2017. Disponível em: 10.1590/1678-98652017000400003. Acesso em 27 de mar. 2024.

SLYWITCH, E. **GUIA ALIMENTAR DE DIETAS VEGETARIANAS PARA ADULTOS**. Sociedade Vegetariana Brasileira (SVB), 2012. Disponível em: <https://old.svb.org.br/livros/SVB-GuiaAlimentar-2018.pdf>. Acesso em 27 de mar. 2024.

SOCIEDADE VEGETARIANA BRASILEIRA (SVB). **Estatuto da Sociedade Vegetariana Brasileira**. Sociedade Vegetariana Brasileira (SVB). Disponível em: <https://svb.org.br/a-svb/estatuto/>. Acesso em 27 de mar. 2024.

VASHI, P.; EDWIN, P.; POPIEL, B.; LAMMERSFELD, C.; GUPTA, D. Methylmalonic Acid and Homocysteine as Indicators of Vitamin B-12 Deficiency in Cancer. **PLoS One**, 11(1):e0147843, 2016. Disponível em: 10.1371/journal.pone.0147843. Acesso em 27 de mar. 2024.