

L'Interférence de la biotine dans les immunodosages : comment identifier et surmonter les artéfacts ?

M.L. Piketty, J.C. Souberbielle

Laboratoire des explorations Fonctionnelles, GH Necker

Depuis fin 2015, une épidémie de fausses hyperthyroïdies (17 case reports)

THYROID
Volume 26, Number 6, 2016
© Mary Ann Liebert, Inc.
DOI: 10.1089/thy.2015.0664

CASE STUDY, and PATIENTS WITH
REMARKABLE FEATURES OR RARE DISORDERS

Misdiagnosis of Graves' Disease with Apparent Severe
Hyperthyroidism in a Patient Taking Biotin Megadoses

Giuseppe Barbesino

**Factitious Graves' disease due to biotin immunoassay
interference – A case and review of the literature**

Marianne S Elston^{1,3}, Shekhar Sehgal¹, Stephen Du Toit², Tania Yarnley¹,
John V Conaglen³

JCEM 2016;101:3251-5

**HIGH-DOSE BIOTIN TREATMENT FOR
SECONDARY PROGRESSIVE MULTIPLE SCLEROSIS
MAY INTERFERE WITH THYROID ASSAYS**

Minkovsky A. et al AACE Clin Case Rep 2016; e370

Falso hipertiroidismo franco por
interferencia en inmunoanálisis

False overt hyperthyroidism by interference
in immunoassay

JAMA Internal Medicine | Teachable Moment | LESS IS MORE

Biotin-Induced Biochemical Graves Disease
A Teachable Moment

Anu Sharma, MD; Nikola A. Baumann, PhD; Pankaj Shah, MD

**A Somewhat Bizarre Case of Graves Disease
Due to Vitamin Treatment**

Abdallah Al-Salameh,¹ Laurent Becquemont,^{2,3} Sylvie Brailly-Tabard,^{4,5}
Patrick Aubourg,^{6,7} and Philippe Chanson^{1,5}

Biotin Treatment Mimicking Graves' Disease

TO THE EDITOR: Biotin is a water-soluble vitamin that is widely used in over-the-counter dietary supplements.¹ Apart from its administration in

nutritional deficiency or nonmedical applications, biotin plays an important role in the therapy of several inherited metabolic diseases (e.g., biotin-

Letter to the editor

**Biotin in multiple sclerosis and false biological
hyperthyroidism: Mind the interference**

N ENGL J MED 375:7 NEJM.ORG AUGUST 18, 2016

Letter

Biotin treatment causing erroneous immunoassay results: A word
of caution for clinicians

Raashda Almuhammad Sulaiman^{1,2,*}

Drug Discoveries & Therapeutics. 2016; 10(6):338-339.

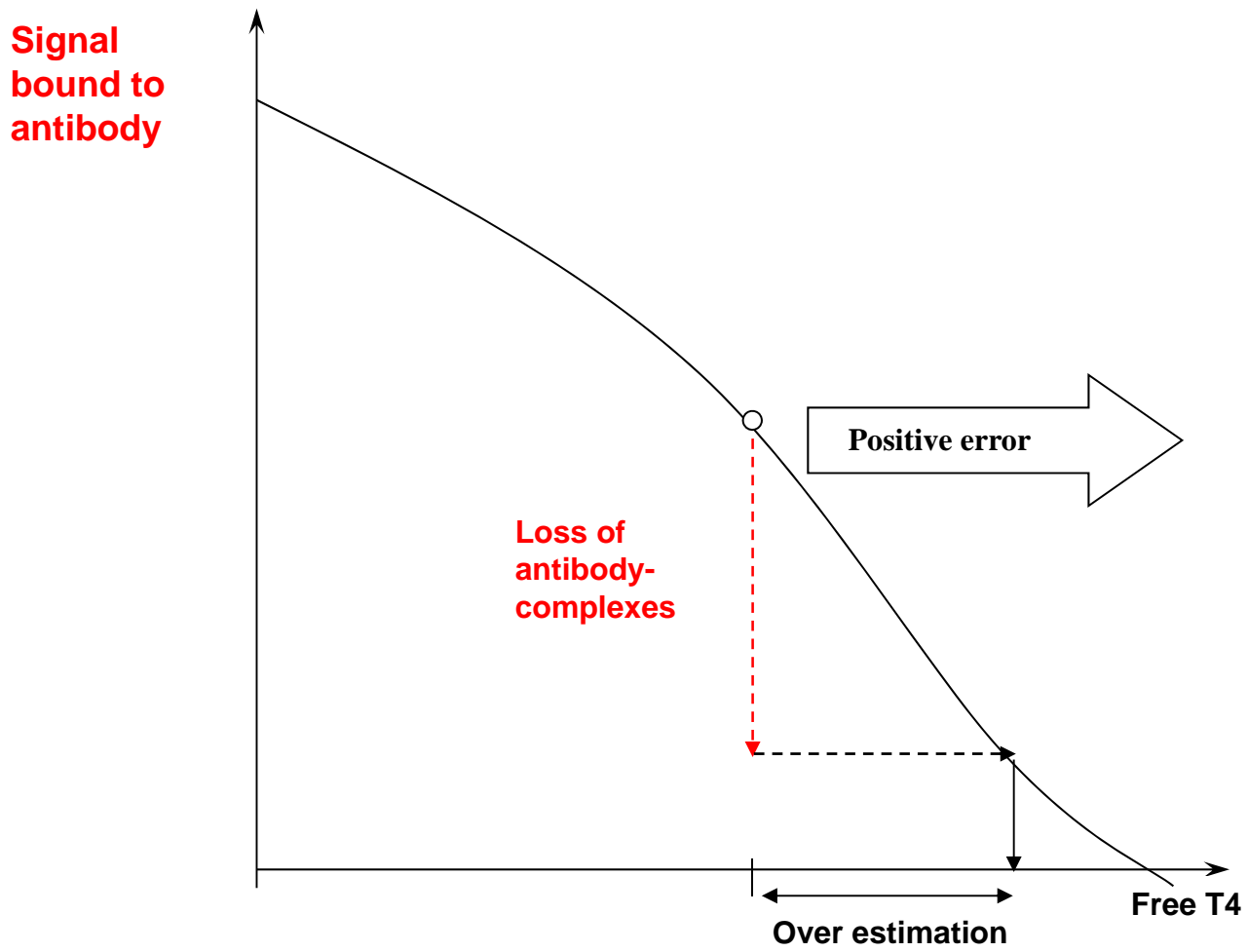
338

DOI: 10.5582/ddt.2016.01074

Une interférence connue depuis 1996, mais jusqu'ici rarissime

- Henry JG, et al. Ann Clin Biochem 1996;33:162 ; nouveau-né traité par 10 mg de Biotine pour une maladie métabolique rare
- **Mécanisme** : la biotine inhibe la séparation des complexes antigènes-anticorps à la fin de l'incubation de l'immunodosage
- Il y a donc une perte de traceur lié aux complexes antigène-anticorps : perte du signal lié à mesurer

Erreur par excès dans les dosages compétition



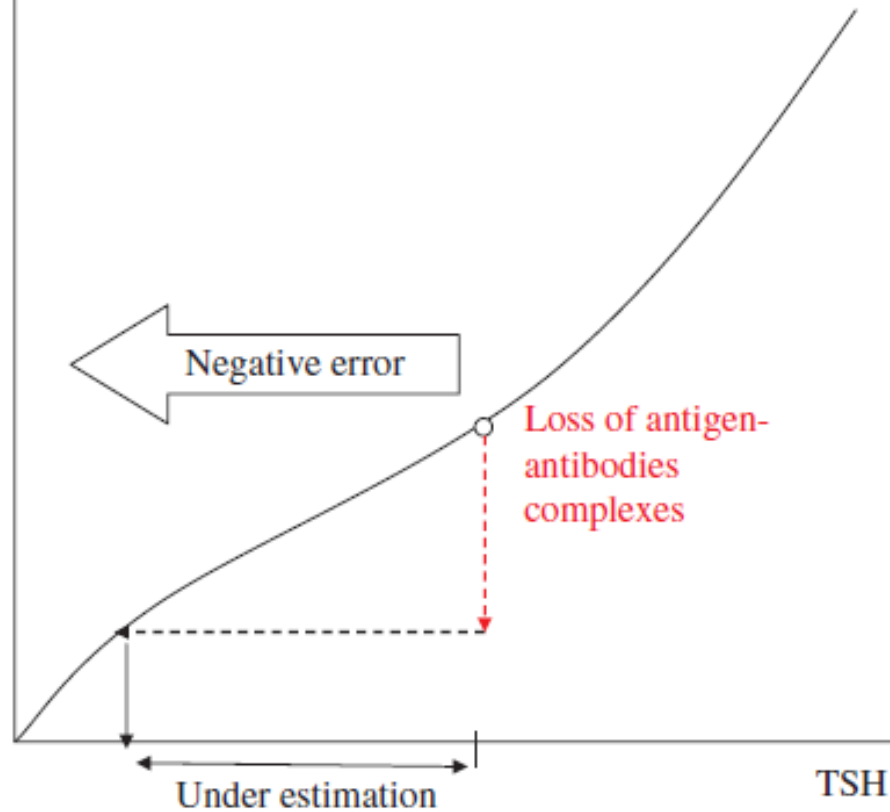
- T4 libre
- T3 libre
- Cortisol
- Estradiol
- Testostérone
- 25OH vitamine D
- stéroïdes
- anti-R TSH

- B12
- Folates
- médicaments

Erreur par défaut dans les dosages sandwich

Signal
bound to
antibodies

B



- TSH
- PTH
- FSH
- LH
- Prolactine
- ACTH
- Thyroglobuline
- Calcitonine
- Insuline
- C peptide

- Marqueurs cardiaques
- Marqueurs tumoraux
- Sérologies
- Ferritine

Une association malheureuse de résultats faussement augmentés et faussement diminués qui simule un bilan endocrinien cohérent, mais totalement factice

exemples :

- Thyroïde : T4 l >100 pmol/L et TSH <0,02 mUI/L et Ac anti-RTSH positifs : piège parfait
- Phosphocalcique : 25OHvitD >140 ng/ml et PTH <1 pg/ml
- Axe surrénalien : Cortisol >60 µg/dl et ACTH<1 pg/ml
- Testo >50 nmol/L ; FSH<0,1 UI/L; LH<0,1 UI/L

Trambas et al, NEJM 2016 ; biotine 300 mg en une prise

Table 1. Biotin Interference with Streptavidin–Biotin Immunoassays Leading to Falsely High Results in Competitive Formats and Falsely Low Results in Sandwich Formats.*

Test	Biotin-Affected Assay		Non–Biotin-Affected Assay	
	Result	Normal Reference Interval, Adults	Result	Normal Reference Interval, Adults
Competitive immunoassays				
Free thyroxine (pmol/liter)	>100.0†	12.0–22.0	11.3	9.0–19.0
Free triiodothyronine (pmol/liter)	17.3†	3.2–6.4	4.5	2.6–6.0
Testosterone (nmol/liter)	42.9†	9.9–27.8	10.1	9.5–28.0
Estradiol (pmol/liter)	740†	<160	73	<160
Progesterone (nmol/liter)	125.4†	<4.3	0.4	<4.1
DHEA sulfate (μmol/liter)	>27.1†	1.2–9.0	6.6	3.0–16.0
Vitamin B ₁₂ (pmol/liter)	>1400†	200–700	380	135–650
Sandwich immunoassays				
Thyrotropin (mU/liter)	0.02‡	0.50–5.50	1.30	0.40–4.00
Prostate-specific antigen (ug/liter)	0.04‡	0.25–3.00	0.60	0.25–3.00
Parathyroid hormone (pmol/liter)	0.6‡	1.6–6.9	2.8	1.6–6.9
Luteinizing hormone (IU/liter)	0.2‡	1.7–8.6	1.4	1.1–8.8
Follicle-stimulating hormone (IU/liter)	0.4‡	1.5–12.4	8.5	1.0–12.0

* DHEA denotes dehydroepiandrosterone.

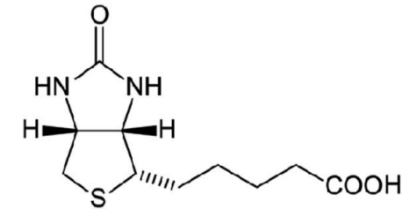
† Results are falsely high owing to biotin interference.

‡ Results are falsely low owing to biotin interference.

Pourquoi la Biotine ?

Biotine, coenzyme des carboxylases vitamine B8 (France), B7 ou H

- 30 -75 µg apport journalier recommandé



Food source	Biotin in µg/100 g
Egg yolk (egg, total)	53.0 (25.0)
Pork liver	27.0
Oat flakes	20.0
Wheat germ	17.0
White mushrooms	16.0
Unpolished rice (polished rice)	12.0 (3.0)
Spinach	6.9
Milk and milk products	
Cheese (brie)	6.2
Curd	6.0
Cow milk	3.5
Wheat, whole-grain	6.0
Pork	5.0
Carrot	5.0
Apple	4.5
Tomato	4.0
Beef	3.0
Chicken	2.0
Lettuce	1.9
Potato	0.4

« Egg-White injury »,

György P, et al, Science 1941

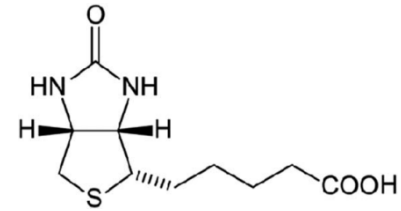
Ou « maladie du blanc d'œuf »

= Carence en biotine : rarissime

(troubles neurologiques, perte de cheveux, ongles et phanères touchés)

Pourquoi la Biotine ?

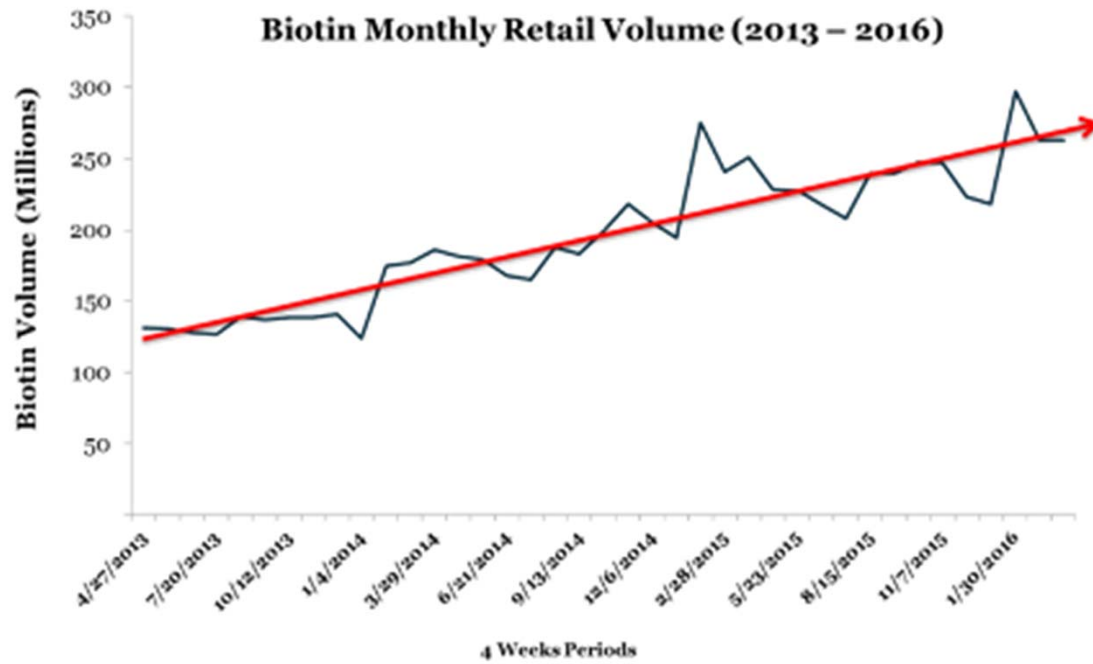
Biotine, coenzyme des carboxylases
vitamine B8 (France), B7 ou H



- Complément alimentaire pour les cheveux et la peau : 5 – 30 mg/j
(soit 1000 fois l'apport quotidien recommandé ..)

Quelle prévalence en France des compléments alimentaires contenant de la biotine ?

Aucune statistique précise ; quelques indices indirects



Source: Nielsen FDM Data Ending 03/26/16

*Volume sold represents # of capsules sold in the market.

It equalizes different sizes/forms to make comparisons easier

**Biotin Market includes any product that has Biotin as an ingredient

The Infatuation With Biotin Supplementation: Is There Truth Behind Its Rising Popularity? A Comparative Analysis of Clinical Efficacy versus Social Popularity

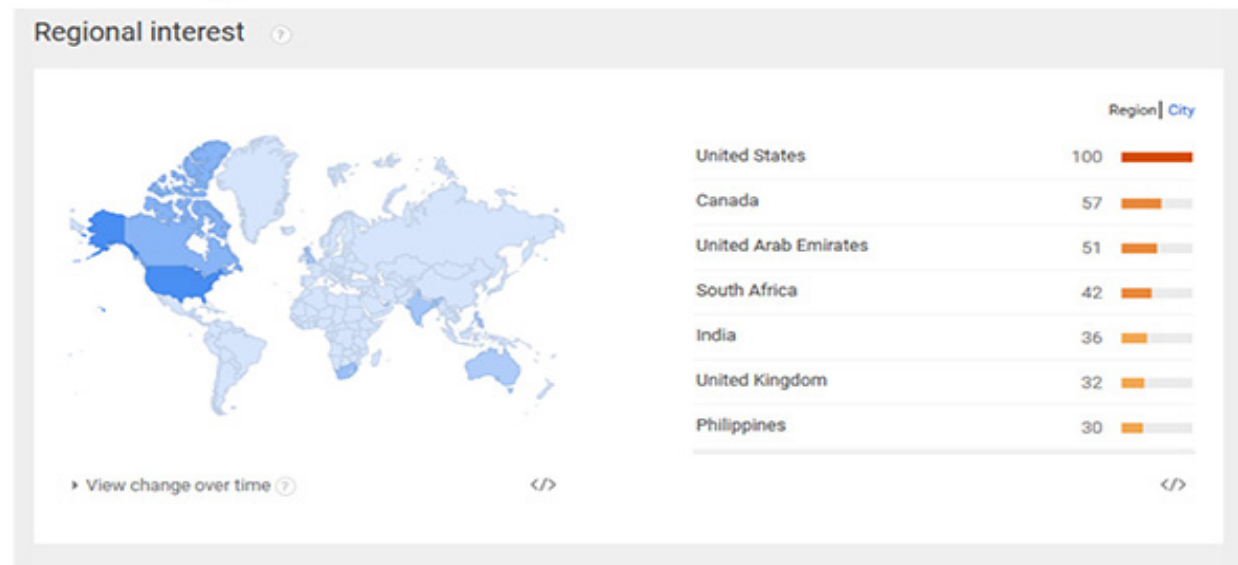
May 2017 | Volume 16 | Issue 5 | Original Article | 496 | Copyright © 2017

Teo Soleymani MD, Kristen Lo Sicco MD, and Jerry Shapiro MD FAAD FRCPC

^aThe Ronald O. Perelman Department of Dermatology, New York University School of Medicine, New York, NY

.....However, societal infatuation with biotin supplementation is not only propagated by its **glamorization in popular media**, its **popularity is vastly disproportionate** to the **insufficient clinical evidence** supporting its efficacy in hair improvement. In other words, **biotin supplements are quite “in vogue”**, without there being any real reason to be so.

FIGURE 2. Numbers on regional map represent search volume relative to the highest point on the map, defined as 100. Unsurprisingly, the United States had the highest search interest for “biotin” + “hair”.²⁸



The Infatuation With Biotin Supplementation: Is There Truth Behind Its Rising Popularity? A Comparative Analysis of Clinical Efficacy versus Social Popularity
May 2017 | Volume 16 | Issue 5 | Original Article | 496 | Copyright © 2017

Teo Soleymani MD, Kristen Lo Sicco MD, and Jerry Shapiro MD FAAD FRCPC

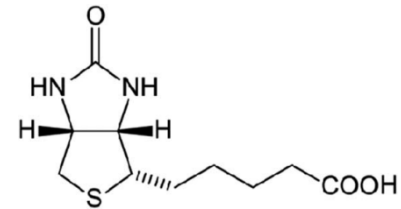
^aThe Ronald O. Perelman Department of Dermatology, New York University School of Medicine, New York, NY

.....However, societal infatuation with biotin supplementation is not only propagated by its **glamorization in popular media, its popularity is vastly disproportionate** to the **insufficient clinical evidence** supporting its efficacy in hair improvement. In other words, **biotin supplements are quite “in vogue”, without there being any real reason to be so.**

Enquête à la Mayo clinic : 10% des patients interrogés disent prendre un complément alimentaire à base de biotine

Pourquoi la Biotine ?

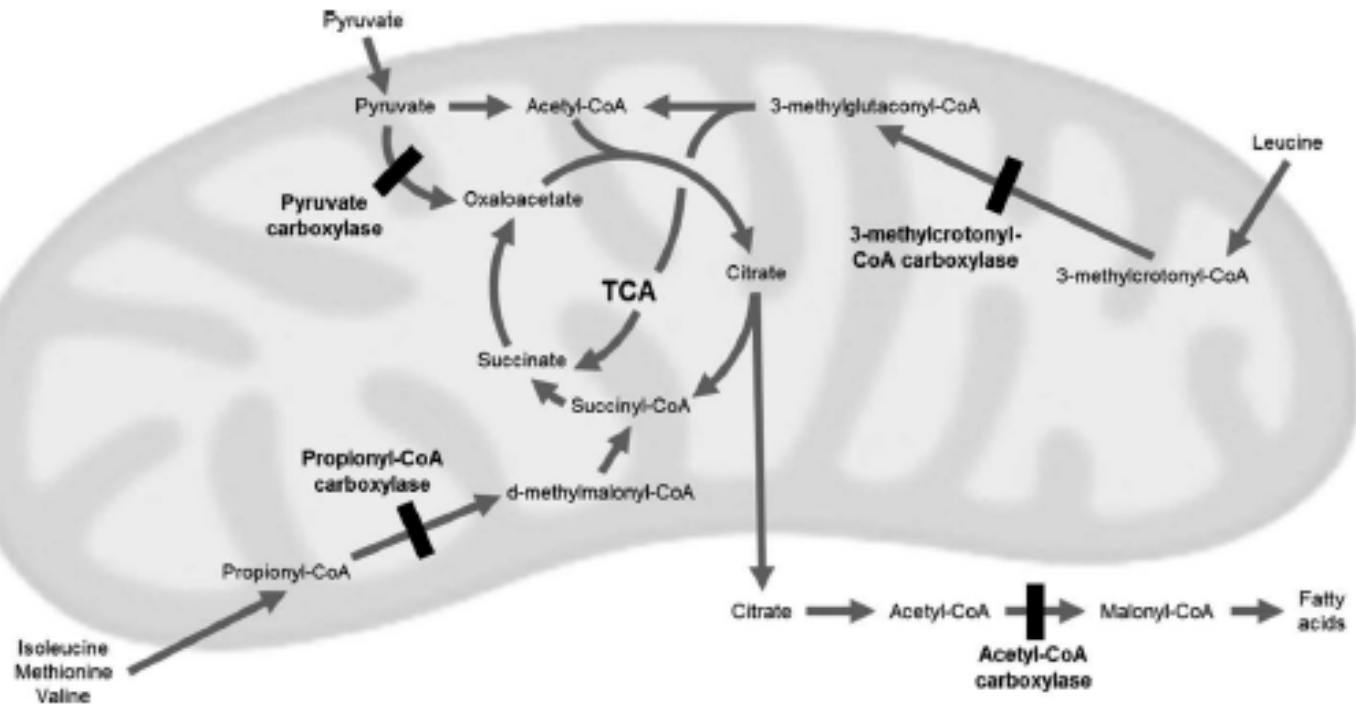
Biotine, coenzyme des carboxylases
vitamine B8 (France), B7 ou H



- Maladies héréditaires du métabolisme
 - Déficit en biotinidase : 5-10 mg/J
 - Déficit en holocarboxylase synthetase : 30-40 mg/J
 - Maladie des nyx gris centraux sensibles à la biotine : 100-300 mg/J
- Nutrition parentérale : 40 – 140 µg/jour

Pourquoi la Biotine ?

Biotine, coenzyme des carboxylases



Peyro de Saint Paul et al, expert opin drug metab toxicol 2016;12:327.

Original Research Paper

MD1003 (high-dose biotin) for the treatment of progressive multiple sclerosis: A randomised, double-blind, placebo-controlled study

Ayman Tourbah, Christine Lebrun-Frenay, Gilles Edan, Michel Clanet, Caroline Papeix, Sandra Vukusic, Jerome De Sèze, Marc Debouverie, Olivier Gout, Pierre Clavelou, Gilles Defer, David-Axel Laplaud, Thibault Moreau, Pierre Labauge, Bruno Brochet, Frédéric Sedel and Jean Pelletier; on behalf of the MS-SPI study group

Methods: Patients ($n=154$) with a baseline Expanded Disability Status Scale (EDSS) score of 4.5–7 and evidence of disease worsening within the previous 2 years were randomised to 12-month MD1003 (100 mg biotin) or placebo thrice daily, followed by 12-month MD1003 for all patients. The primary endpoint was the proportion of patients with disability reversal at month 9, confirmed at month 12, defined as an EDSS decrease of ≥ 1 point (≥ 0.5 for EDSS 6–7) or a $\geq 20\%$ decrease in timed 25-foot walk time compared with the best baseline among screening or randomisation visits.

Results: A total of 13 (12.6%) MD1003-treated patients achieved the primary endpoint versus none of the placebo-treated patients ($p=0.005$). MD1003 treatment also reduced EDSS progression and improved clinical impression of change compared with placebo. Efficacy was maintained over follow-up, and the safety profile of MD1003 was similar to that of placebo.

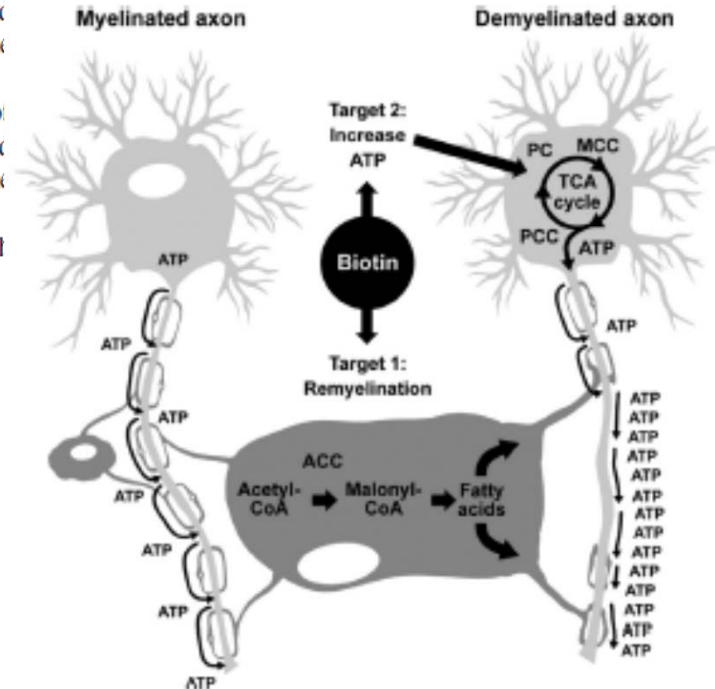
Conclusion: MD1003 achieves sustained reversal of MS-related disability in a subset of patients with progressive MS and is well tolerated.

-MD003 (Qizenday) aujourd'hui en ATU en France

3x100 mg/J

-formes à 300 mg en une prise disponibles sur internet

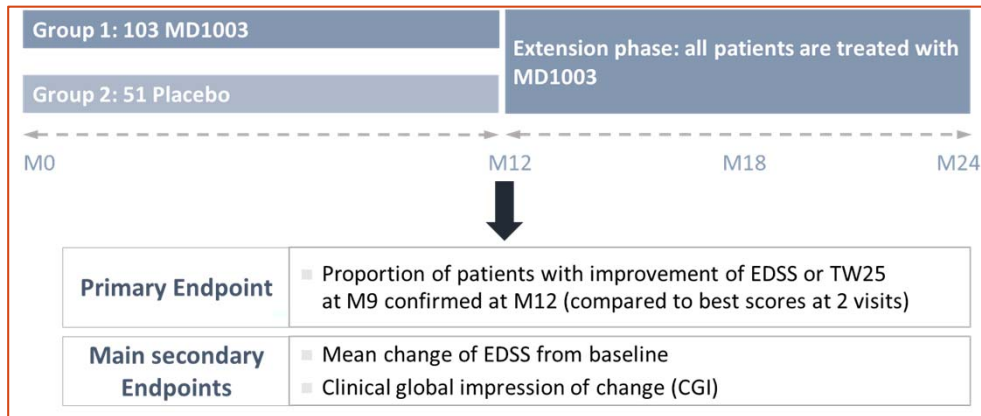
Environ 2.3 millions de patients SEP dans le monde.
-Forme initiale (RRMS)
-Forme progressive (environ 30000 patients en France)



MS-SPI: a controlled double blind study in Progressive MS comparing MD 1003 (Biotin) vs Placebo

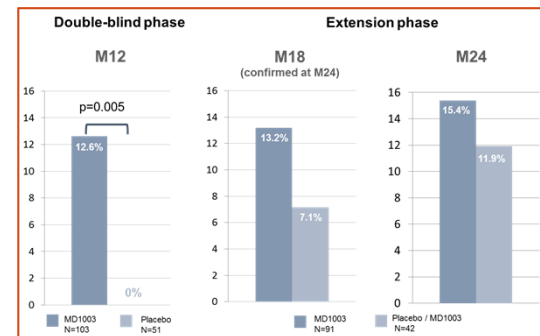
Study design

Target population: **Progressive MS** with a confirmed progression in the past 2 years and without disease inflammatory activity

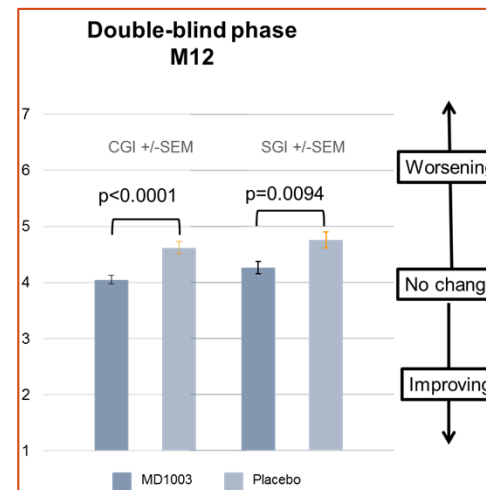


SEP : Bilan thyroïdien très fréquents (traitement Alemtuzumab, traitement interféron) ; traitement par la vitamine D

Main Results



MD1003 demonstrated a **12.6% EDSS or TW 25 improvement** at M9 confirmed at M12 vs 0% in the placebo group ($p=0.005$)



Both patients and clinicians reported a significantly **better outcome** in favor of MD1003 compared to placebo ($p<0.0001$ and $p=0.0094$ respectively)

Contrôle externe de Qualité Probioqual : Juin 2017

Nombre de labos d'hormonologie dont la technique dépend de la liaison streptavidine-biotine

TSH : N= 955 réponses, dont 511 : **53 %**


T3 libre : N= 693 réponses, dont 463 : **67 %**

T4 libre : N= 800 réponses, dont 511 : **64 %**

PTH : N= 512 réponses, dont 260 : **51 %**

Cortisol : N= 556 réponses, dont 235 : **42 %**

Pourquoi cette popularité dans les dosages actuels ?

- Liaison streptavidine – biotine : très haute affinité (10^{15} L/Mol) : donc très rapide et robuste, et facilité pour amplifier le signal (limite de  détection)
- Streptavidine : très stable et résistante a des conditions extrêmes
- Biotinylation des molécules biologiques : très facile pour une gamme très large de composés biologiques (Antigènes, Anticorps,..), sans modification de l'immunoréactivité.
- Utilisation aujourd'hui très répandue (dosages à haute cadence, biologie délocalisée, tests rapides en bandelettes, Elisa recherche, ana-path)

Dosages d'hormones susceptibles de subir l'interférence et concentrations de biotine aux dessus desquelles se produit l'interférence (ng/ml) : biais >10% (CLSI 2005)

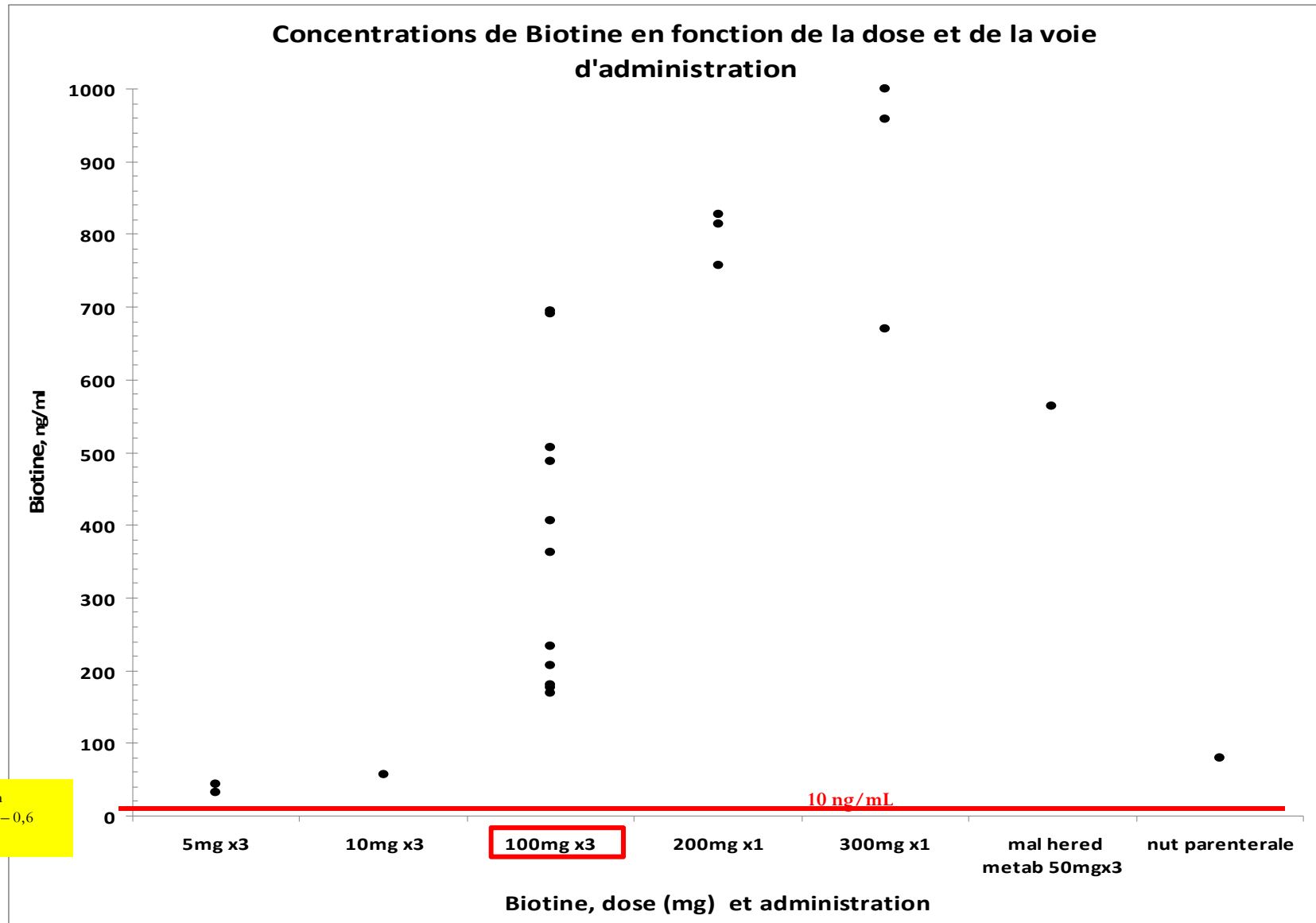
En bleu : sous-estimation

En rouge : surestimation

Hormone	Société (analyseur)							
	Beckman Coulter (Access, DXi, DXC)	Immuno diagnostic system (Isys)	Ortho Clinical Diagnostic (Vitros)	Roche (Cobas, Elecsys, Modular)	Siemens (Dimension)	Siemens (Centaur)	Siemens (Immulite)	Abbott (Architect)
T3 libre	✓			✓ (70)	✓ (50)		✓	
T4 libre	✓			✓ (20)	✓ (50)	✓		
Total T3	✓			✓ (10)				
Total T4				✓ (100)				
TSH			✓ (5)	✓ (25)	✓ (500)			
Ac anti-RTSH				✓ (10)				
SHBG				✓ (60)		✓ (100)		
Thyroglobuline	✓			✓ (80)			✓	
PTH		✓	✓ (5)	✓ (50)		✓ (1000)		
25OH vit D		✓ (73)	✓ (15)	✓ (70)				✓
Cortisol			✓ (10)	✓ (30)				
ACTH				✓ (60)				
Testosterone			✓ (10)	✓ (30)	✓ (100)	✓ (30)		✓
Estradiol			✓ (5)	✓ (36)	✓ (100)	✓ (100)		
SDHA				✓ (30)		✓ (100)		
FSH			✓ (10)	✓ (60)	✓ (100)			
LH			✓ (5)	✓ (50)	✓ (100)			
Prolactine			✓ (10)	✓ (40)	✓ (100)			
IGF1		✓ (73)						
GH		✓ (73)		✓ (30)				

Relation dose de biotine et concentration sanguine

Dosages LC-MSMS

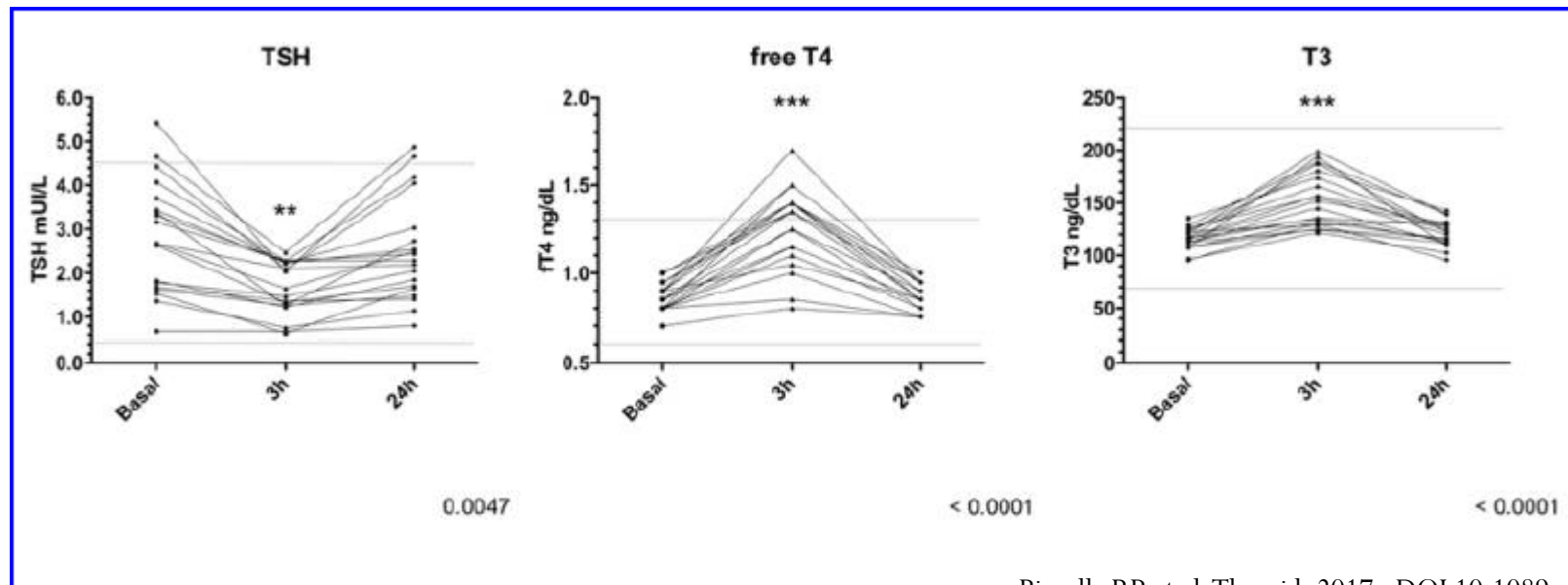


**Dans les immunodosages : Dépendance
étroite de l'interférence avec la
concentration de biotine**

**La biotine,
ou comment s'en débarrasser**

Arrêt de la prise de Biotine

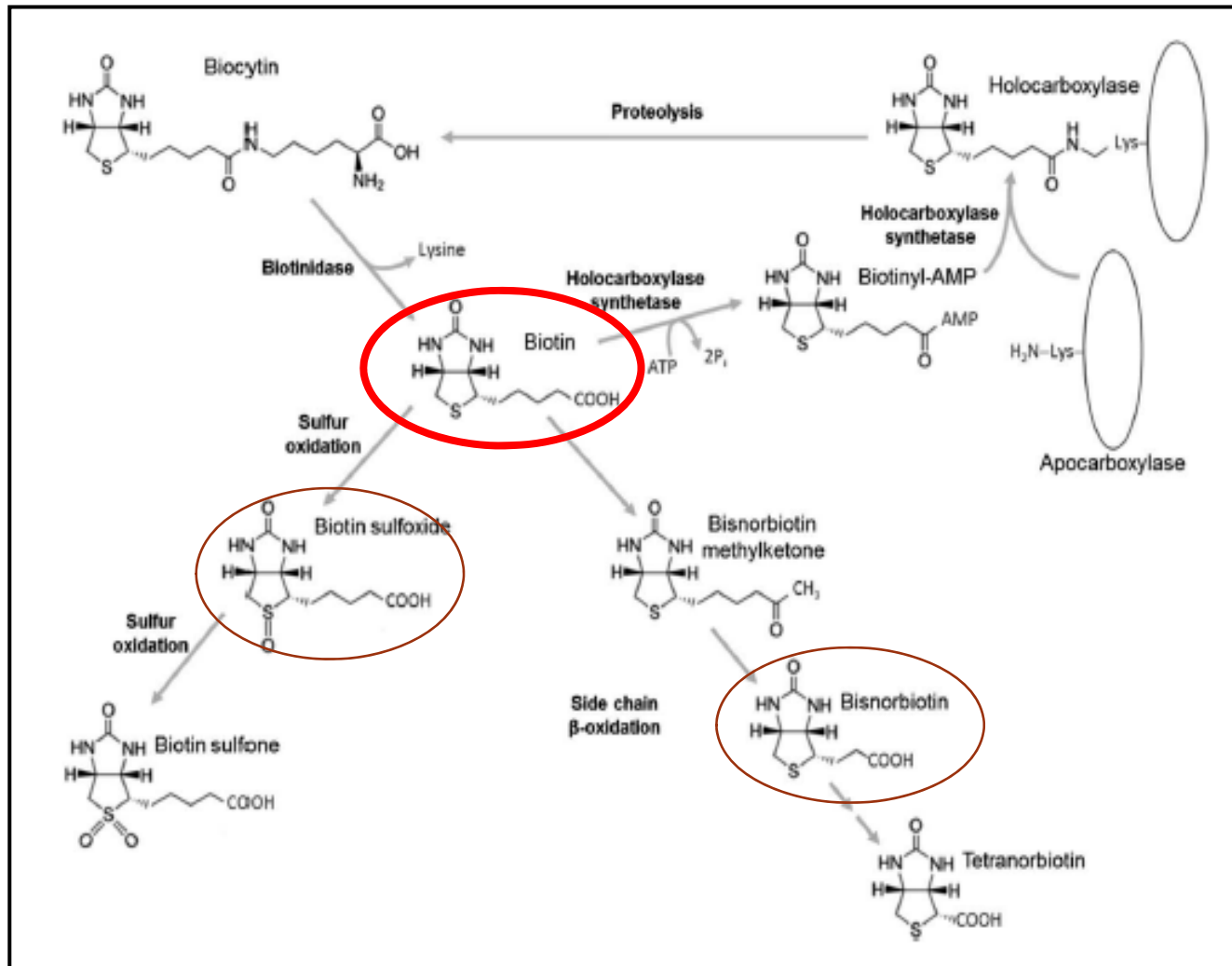
- Arrêt de la biotine : 10 mg : 24h



- Arrêt de la biotine : 30 mg : 48h

Métabolisme

Peyro de Saint Paul et al, expert opin drug metab toxicol 2016;12:327.



Absorption maximale : 1-3 heures (« food effect »)

Élimination rénale rapide, 1/2 vie 15h (8 – 19h)

Arrêt de la prise de biotine avant dosage : Oui, Mais :

- Très fortes doses (100 mg, t.i.d.) : combien de temps d'arrêt ?, (FT4, FT3, TSH : 4 jours), mais anti-R-TSH 7 jours, troponine 7 jours, autres dosages ?)
- Insuffisance rénale : combien de temps ? (insuffisance rénale terminale, 10 mg : artéfact PTH a duré 15 jours) Meany, et al. Clin Chem 2009;55:1737
- Maladies héréditaires du métabolisme : déficit en biotinidase : impossible d'arrêter
- Nutrition parentérale
- Urgence : exclu

Interférence en immunoanalyse après supplémentation en Biotine chez le patient insuffisant rénal chronique

S Ganel (1), N Reix (2), X Parent (1). (1) Biochimie CH Colmar, (2) Hormonologie HU Strasbourg

En immunoanalyse, certains tests commercialisés utilisent des anticorps ou des antigènes biotinylés couplés à des microparticules tapissées de streptavidine.

Dans certaines circonstances, une supplémentation en biotine peut être à l'origine de résultats erronés. Cette interférence, parfois mal connue du biologiste, n'est pas systématiquement mentionnée sur les notices des fournisseurs. A la suite d'une interférence franche, observée sur des dosages de T4L et de PTH, nous avons réalisé un travail de surcharge in vitro par de la biotine. Différents paramètres d'immunoanalyse utilisant le couple streptavidine-biotine ont été testés sur les automates Beckman Coulter DXc 600i et Modular E170.

Cas clinique

Mme L., en insuffisance rénale terminale est dialysée trois fois par semaine. Un bilan thyroïdien est demandé en pré-dialyse (J0) : TSH 140 mUI/L T4L 55,8 pmol/L. Devant la discordance de ce bilan et l'absence d'antériorité, nous interrogeons le service : « une supplémentation orale en biotine (3x5 mg/j) a été instaurée depuis un mois pour perte des cheveux ». Deux jours après (J+2), la patiente est hospitalisée pour une fracture, la biotine est interrompue : TSH 131,4 mUI/L T4L 71,6 pmol/L ; les jours suivants, J+4 : TSH 123 mUI/L T4L 27,8 pmol/L ; J+10 : TSH 127,4 mUI/L T4L < 3,2 pmol/L.

Par la suite, une PTH est dosée à 16 pg/L pour une antériorité à 190 pg/L quelques mois auparavant. Elle ressort à 329 pg/L après dilution du sérum au 1/10. La supplémentation en biotine avait été reprise.

Au total : franche hypothyroïdie, interférence positive sur le dosage de T4L avec levée progressive après arrêt de la biotine et interférence négative sur le dosage de PTH.

Résultats

Concentration en Biotine nmol/l	0	20	50	100	150	200	300	500	1000	1500	2000	Seuil d'interférence pour la biotine en nmol/l (cf. fiche réactif Roche)	Téchnique : Immunos dosage
T4L (pmol/l)	14,2	14,2	14,4	15,7	17,9	20,8	27,5	60,6	>80,5	>80,5	>80,5		Compétition
T3L (pmol/l)	3,89	3,75	3,4	3,55	3,42	3,57	3,76	4,9	6,86	8,22	10,14		Compétition
PCT (ng/ml)	6,81	6,74	6,67	6,66	6,28	6,03	5,49	4,12	1,27	0,52	0,345	123	Sandwich
PTH (ng/ml)	228	230,6	228,5	227,1	222,3	218,3	199,3	171,8	51,25	24,27	17,41	205	Sandwich
ACTH (pmol/l)	4,01	4,19	4,19	4,15	4,05	3,95	3,64	2,91	0,778	0,22	0,22	246	Sandwich
C-PEPTID (nmol/l)	4,17	4,2	4,2	4,24	4,23	4,2	4,16	3,96	3,24	2,36	1,25	246	Sandwich
FSH (UIU)	34,62	35,23	35,67	36,26	35,74	34,53	32,08	27,19	9,41	4,91	3,64	246	Sandwich
LH (UIU)	29,28	29,48	29,27	29,36	28,82	28,36	27,52	25,42	18,63	12,52	6,84	205	Sandwich
E2 (pmol/l)	117,4	98,55	84,69	86,12	83,08	86,41	86,37	114,7	178,7	397,5	589	147	Compétition
PRL (mUI)	858,2	851,4	848,7	858,5	857,3	866,7	857,9	857,4	798,1	746,2	665,2	164	Sandwich
CA15-3 (U/ml)	112,7	111,8	114,5	114,2	113,9	112,7	113,4	112	112,6	111,4	112,2	409	Sandwich
CA19-9 (U/ml)	231	226,7	229,9	227,8	228,3	226	228	232,2	229,2	218,1	201,7	100	Sandwich
CA125 (U/ml)	387,5	389,1	402,1	396,9	387,6	391	377,3	356,7	319	264,2	211,8	143	Sandwich
AFP (U/ml)	2,06	2,03	1,92	1,96	1,98	1,95	2,01	1,99	2,01	1,97	1,85	246	Sandwich
ACE (ng/ml)	19,87	20,5	20,71	20,49	19,97	20,09	19,97	20,02	19,41	18,85	17,94	491	Sandwich
PSA-I (ng/ml)	61,38	63,08	62,13	61,7	60,67	60,45	58,68	55,27	43,31	30,91	18,8	246	Sandwich
PSA-II (ng/ml)	12,22	12,63	12,77	12,78	12,28	12,28	11,69	10,42	6,97	3,48	1,34	123	Sandwich
B12 (pmol/l)	364,7	366	363,3	372,2	368,5	378,5	393,9	446,3	674,9	1064	>1476	205	Compétition

Discussion

En prenant la place de l'anticorps ou antigène biotinylé au niveau de la streptavidine, la biotine est susceptible de provoquer une baisse du signal réactionnel enregistré par l'automate. Pour une méthode « par compétition » cette diminution de signal apparaît comme une augmentation de l'analyte à doser. A l'inverse, pour une méthode « sandwich », la diminution du signal apparaît comme une diminution de la concentration de l'analyte. Les interférences obtenues par surcharge sont apparues pour des concentrations voisines de celles annoncées par Roche à l'exception des marqueurs tumoraux CA15.3, CA19.9, CA125, AFP et ACE, pour lesquels des concentrations de biotine (>1000 nmol/L) très supérieures aux seuils annoncés par le fournisseur ont été nécessaires.

La biotine (vitamine B8) est répandue et en quantité infime dans l'alimentation d'origine animale et végétale. L'apport journalier est estimé entre 35 et 75 µg/jour (143-287 nmol/jour) dans la population occidentale (1). La supplémentation en biotine est utilisée dans le traitement d'apport des alopécies, des neuropathies périphériques, dans certains désordres métaboliques rares comme le déficit en biotinidase ou l'acidémie propionique. Elles entre dans la composition de solutés de nutrition parentérale (2). L'élimination de la biotine est principalement rénale.

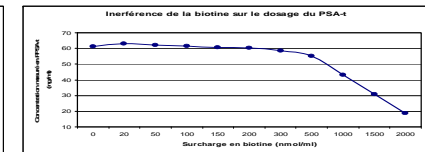
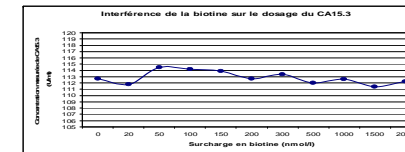
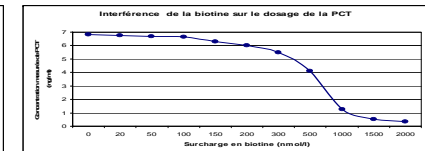
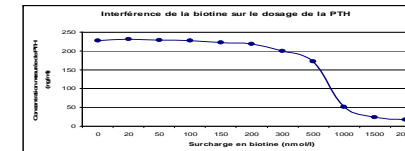
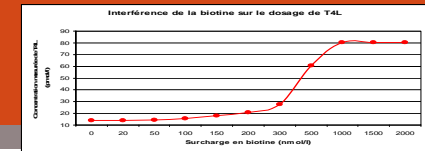
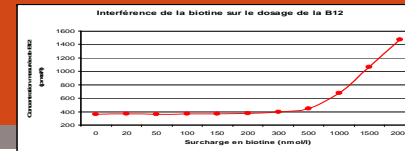
L'apport alimentaire de biotine n'est pas responsable d'interférence sur les immunodosages (2). Des interférences ont été observées sur différents immunodosages thyroïdiens lors de suppléments thérapeutiques, notamment chez une jeune enfant de 3 ans et deux nouveaux nés aux posologies respectives de 10mgx4/j (2), 10 mgx3/j deux jours après la naissance (3) et 10 mg/j dès la naissance (4). En terme de cinétique, une interférence maximale sur le dosage de T4L (Beckman DXI) est décrite 2h après une prise volontaire unique par un adulte de 30 mg de biotine avec persistance de l'interférence au-delà de 24h (3). La posologie orale courante (Vidal) destinée à l'adulte est moins importante, soit 5 mg par prise 3 fois par jour. Roche recommande de pratiquer les immunodosages >8h après la dernière prise chez les patients supplémentés. Chez Mme L., un défaut d'élimination du fait de l'insuffisance rénale pourrait être un des facteurs facilitant l'obtention d'une concentration sérique interférente de biotine et la persistance de cette interférence plus de 48h après arrêt de la supplémentation. Par la suite, nous avons observé cette interférence chez deux autres patients insuffisants rénaux chroniques dialysés. Un cas similaire de PTH faussement normale (48 ng/l versus 567 ng/L) a également été rapporté dans la littérature chez une patiente de 64 ans insuffisante rénale terminale supplémentée par 10 mg/j de biotine pour syndrome dans jambes sans repos (5).

Les immunodosages utilisant le couple streptavidine biotine et le risque d'interférence qui en découle doivent être connus du biologiste. L'insuffisance rénale terminale apparaît comme un facteur favorisant une interférence analytique consécutive à la supplémentation par biotine.

Etude au laboratoire

Après relecture des différentes notices des fournisseurs, nous avons étudié l'interférence de la biotine sur les tests d'immunoanalyse du laboratoire de biochimie utilisant le couple streptavidine-biotine :

- Hormones thyroïdiennes T4L et la T3L sur Beckman Coulter DXC 600i
 - Autres paramètres hormonaux et marqueurs tumoraux sur Modular E170 Roche.
- L'interférence a été étudiée in vitro par surcharge de différents pools de sérums à l'aide de différentes dilutions de biotine (Biotine Bayer 5mg/ml solution injectable). Les résultats sont confrontés aux informations disponibles sur les notices.



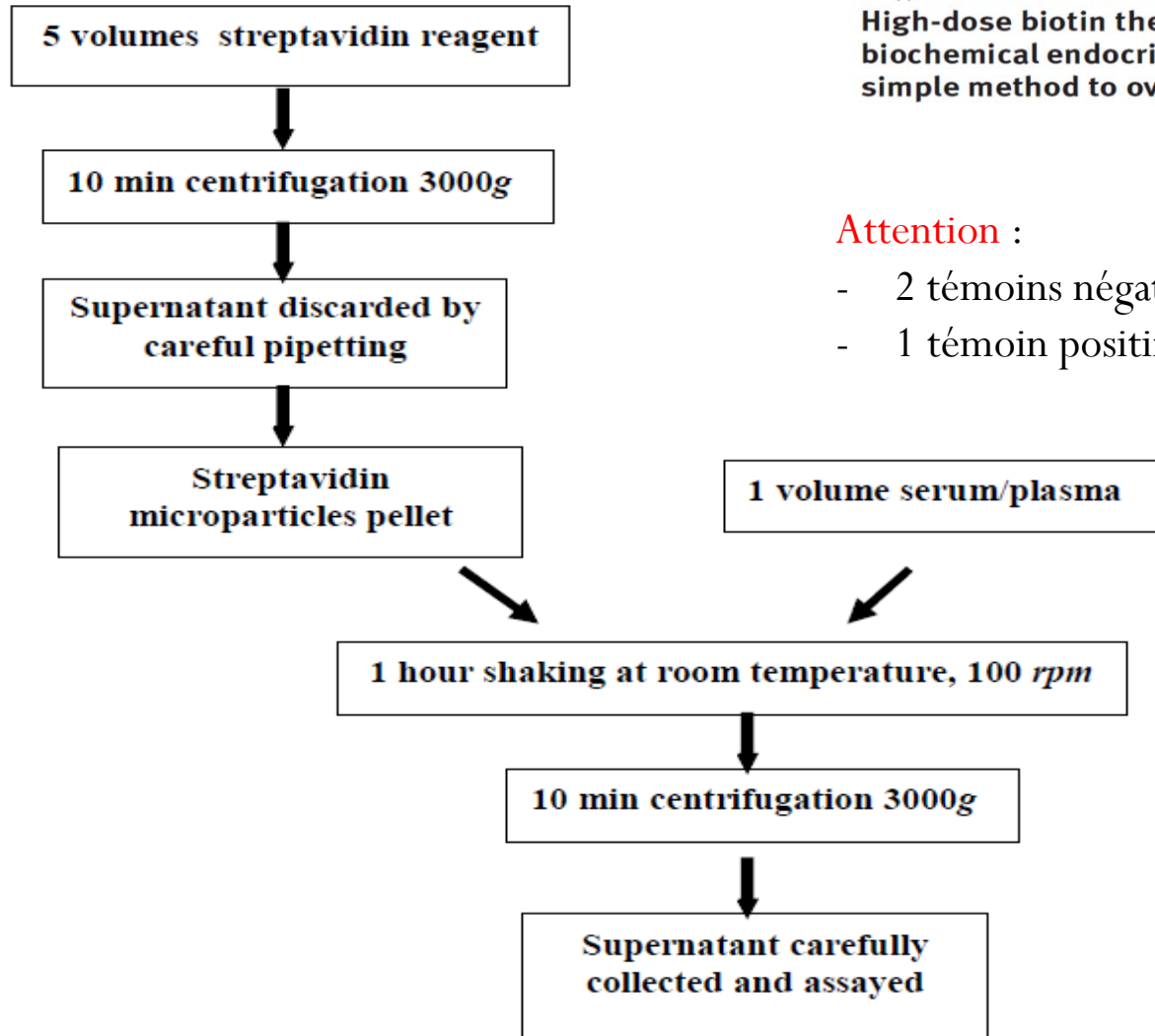
Neutralisation de la Biotine : microparticules coatées avec streptavidine à 0,72 mg/ml, capacité de liaison : min 1296 nmol/L soit 6480 nmol/L pour 5V/1V (Sigma-Aldrich : ref 11641778001)

DE GRUYTER

Clin Chem Lab Med 2017; aop

Marie-Liesse Piketty*, Dominique Prie, Frederic Sedel, Delphine Bernard, Claude Hercend, Philippe Chanson and Jean-Claude Souberbielle

High-dose biotin therapy leading to false biochemical endocrine profiles: validation of a simple method to overcome biotin interference

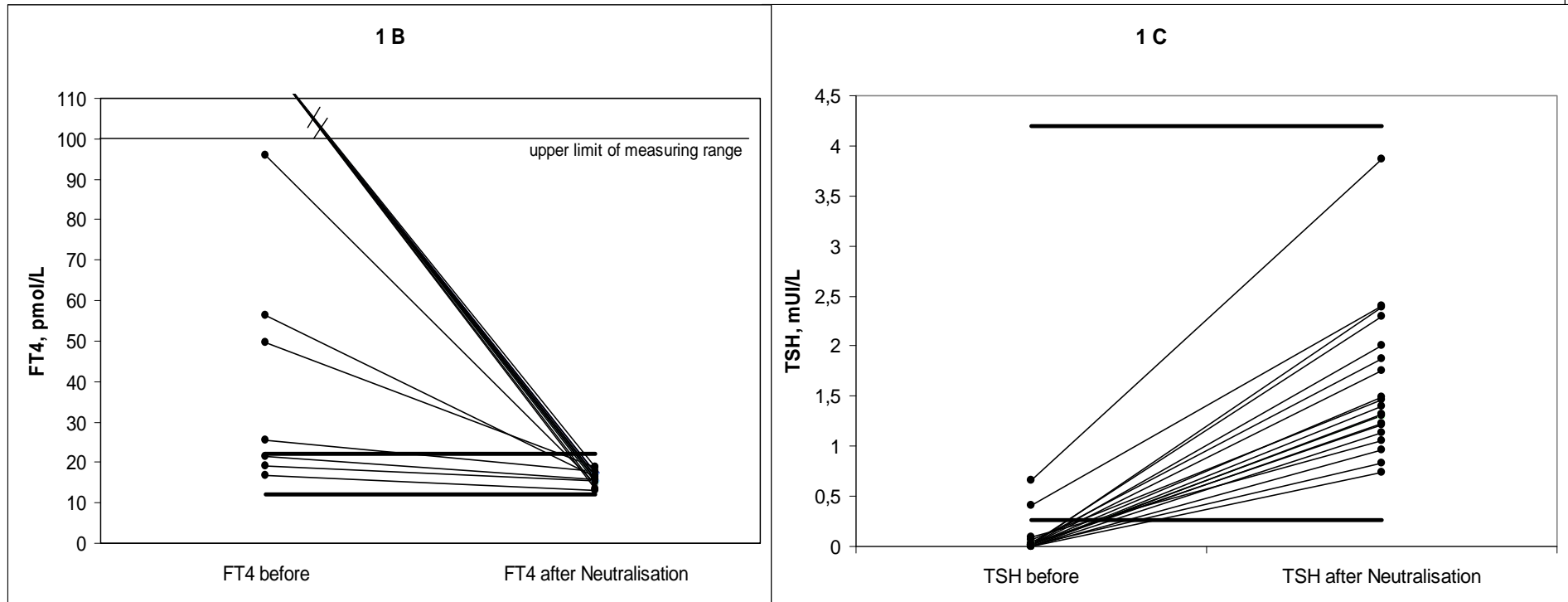


Attention :

- 2 témoins négatifs
- 1 témoin positif

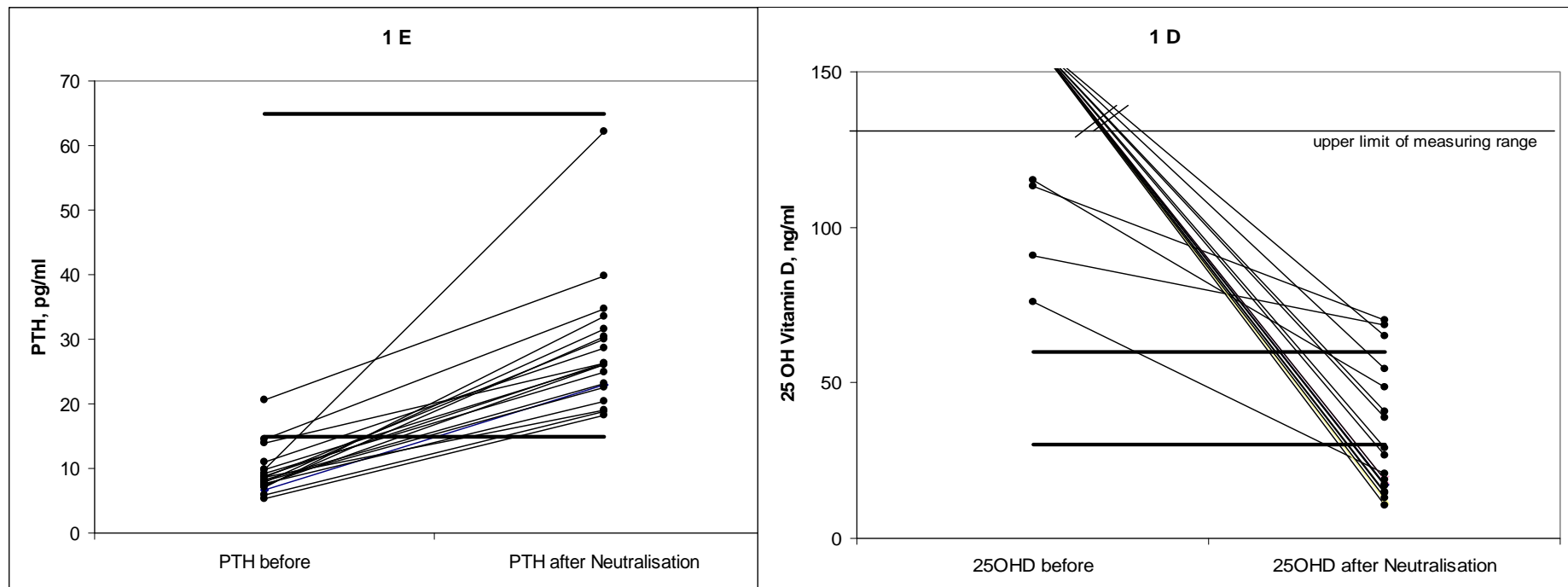
20 patients traités par 100 – 300 mg biotine résultats avant et après déplétion de la biotine

Bilan thyroïdien

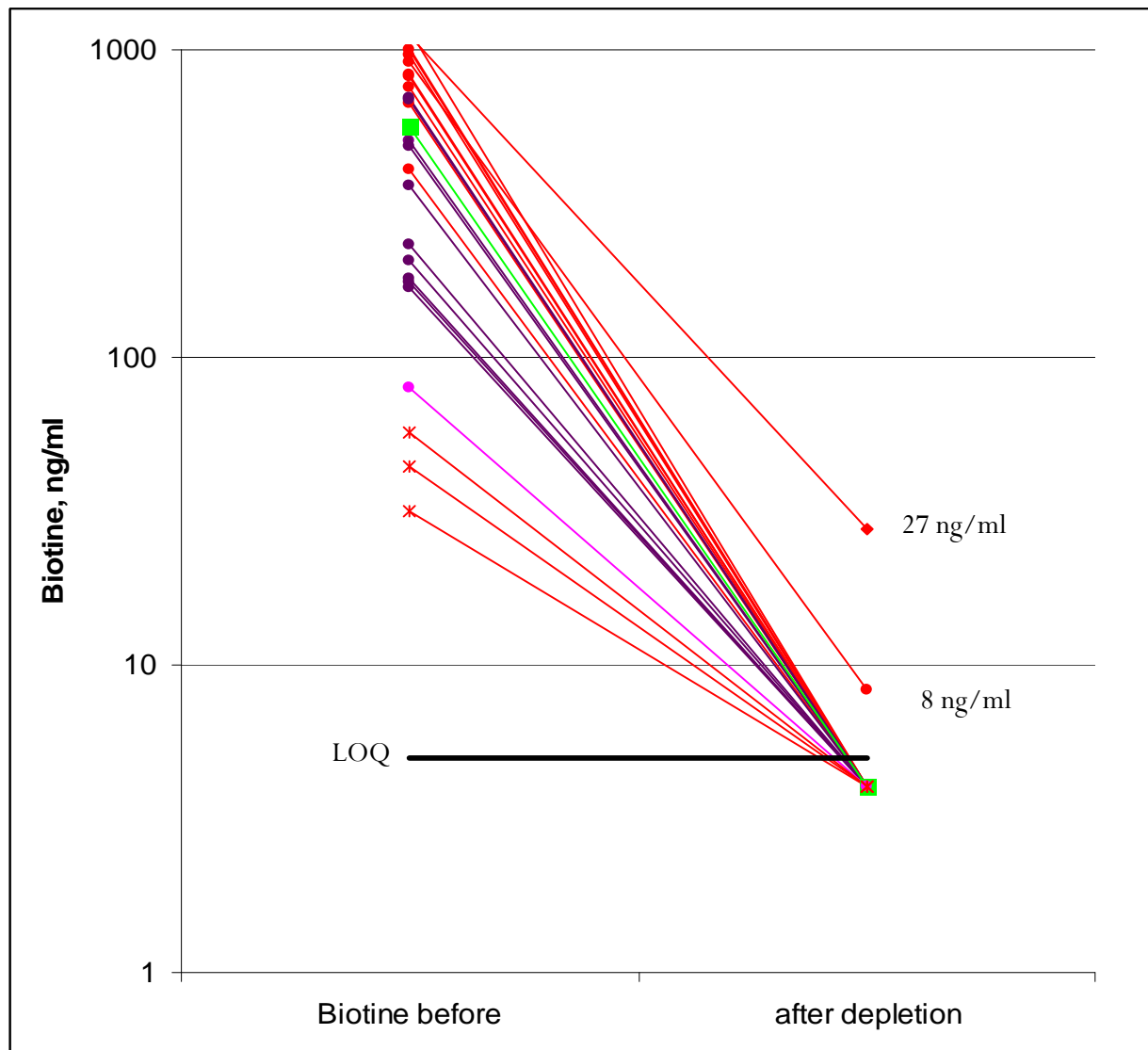


20 patients traités par 100 – 300 mg biotine : résultats avant et après déplétion de la biotine

Bilan phosphocalcique



Concentrations de biotine, avant et après déplétion (attention échelle Log)



- 300 mg x1
- 100 mg x3
- Mal héréd métab
- Nutr parentérale
- ★ 10 et 30 mg

Neutralisation de la biotine : effet sur des sérums de patients non traités par la biotine

Hormonal results in 39 biotin-unsupplemented patients, before and after neutralization (protocol N5, in parenthesis) (thyroid function test n= 12; cortisol n=6; FSH, LH and Prolactin n=10; PTH and 25OHD n= 11). CV : maximum CV, from daily internal quality control database.

	PTH, ng/L	25OHD, µg/L	FSH, UI/L	LH, UI/L	PROL, µg/L	CORTISOL, µg/dl	FT3, pmol/L	FT4, pmol/L	TSH, mUI/L
	71.5 (70.5)	24.7 (25.3)	3.3 (3.5)	0.71 (0.77)	20.4 (20.7)	0.46 (0.43)	2.7 (2.6)	12.5 (12.6)	1.11 (1.09)
	30.8 (29.6)	40.7 (43.5)	4.0 (4.0)	3.6 (3.7)	8.0 (7.9)	13.1 (12.5)	4.3 (4.3)	13.8 (13.6)	0.021 (0.021)
	93.4 (83.2)	25.1 (24.7)	1.2 (1.2)	<0.1 (<0.1)	13.0 (12.9)	5.98 (5.83)	2.8 (2.7)	38.0 (39.5)	0.018 (0.017)
	69.7 (63.3)	13.6 (13.0)	6.3 (6.7)	1.4 (1.5)	15.9 (16.5)	30.4 (28.7)	1.8 (1.7)	15.4 (15.4)	16.3 (16.4)
	788 (696)	16.6 (16.6)	2.2 (2.2)	0.14 (0.14)	11.0 (10.8)	0.91 (0.90)	4.7 (4.9)	22.7 (23.3)	0.101 (0.099)
	162 (150)	44.1 (45.6)	6.3 (6.8)	3.1 (3.2)	39.4 (40.2)	1.10 (1.04)	4.6 (4.8)	10.4 (10.7)	47.2 (47.0)
	81.2 (68.7)	11.0 (11.0)	4.8 (4.9)	3.4 (3.7)	55.9 (58.6)		2.7 (2.6)	9.7 (9.9)	0.77 (0.75)
	277 (242)	13.9 (12.5)	0.1 (0.1)	<0.1 (<0.1)	1.6 (1.6)		3.7 (3.6)	20.5 (20.4)	0.048 (0.051)
	7.1 (7.5)	22.0 (18.9)	4.7 (4.6)	2.9 (2.9)	19.8 (20.2)		4.3 (3.9)	32.8 (32.8)	0.005 (0.005)
	119 (100)	46.4 (45.0)	98.3 (101)	38.6 (39.6)	35.8 (35.3)		5.0 (5.0)	32.1 (32.7)	0.107 (0.109)
	32.6 (29.4)	45.2 (44.4)					4.1 (4.0)	19.1 (19.3)	56.0 (54.1)
							6.7 (6.6)	20.4 (20.7)	0.055 (0.057)
CV, %	5.1	8.8	4.5	4.8	4.4	3.5	4.6	3.6	4.2
Mean difference after N5, %	-8.4	-2.1	2.0	3.9	0.8	-2.3	-1.8	1.2	0.1
Maximum difference after N5, %	-15.7	6.8	7.8	8.9	4.8	-5.6	3.5	3.9	6.2

 Pas de modification significative des résultats, sauf biais négatif PTH : -8,4 % en moyenne

Depletion of biotin using streptavidin coated magnetic beads: A validated solution to the problem of biotin interference in streptavidin-based methods.

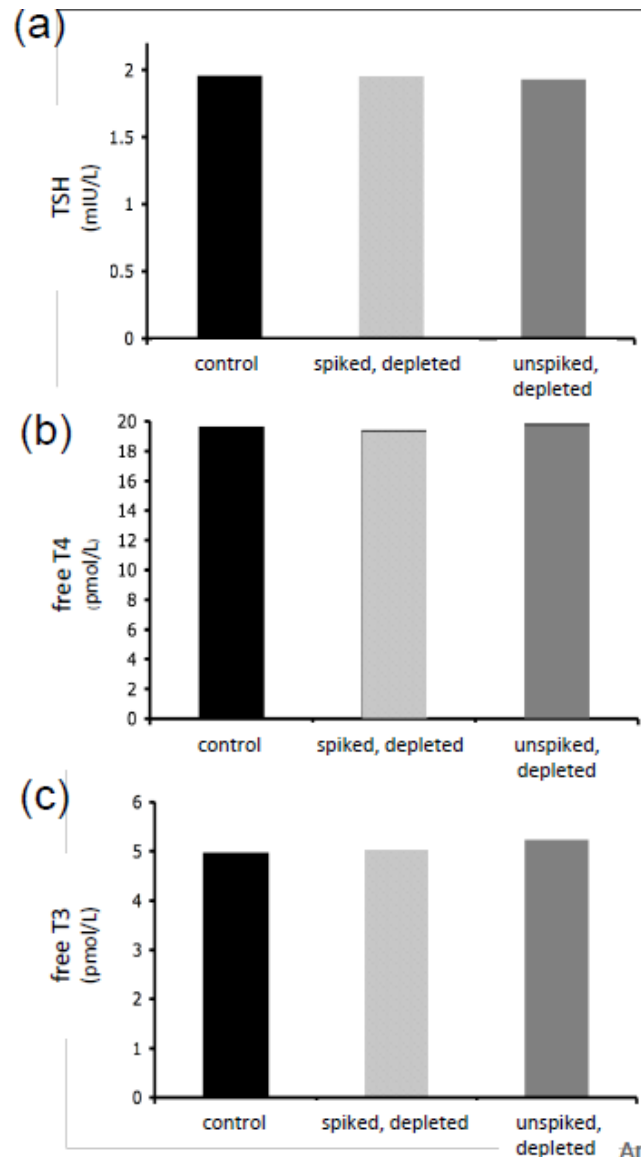


Figure 2: Accuracy and Precision

Five replicate serum aliquots were spiked with 1000 ng/mL biotin, leading to measured concentrations of TSH 0.018 mIU/L, free T4 > 100 pmol/L and free T3 20.4 pmol/L. After depletion of biotin (pale grey columns), there was no significant difference in measured analyte concentration in comparison to control, unspiked samples (black columns). Unspiked samples were also subjected to the depletion protocol and showed trivial difference in measured results (dark grey columns) in comparison to control samples. Results were as follows:

TSH: control 1.96 mIU/L (SD 0.04; CV 1.8%); spiked sample post-biotin depletion 1.95 mIU/L (SD 0.02; CV 1.0%; $p = 0.697$); control post-biotin depletion 1.93 mIU/L (SD 0.02, CV 0.9%; $p = 0.268$).

Free T4: control 19.7 pmol/L (SD 0.13, CV 0.7%); spiked sample post-biotin depletion 19.4 pmol/L (SD 0.12; CV 0.6%; $p = 0.065$), control sample post-biotin depletion 19.9 pmol/L (SD 0.11, CV 0.6%; $p = 0.029$).

Free T3: control 5.0 pmol/L (SD 0.03, CV 0.5%); spiked sample post-biotin depletion 5.0 pmol/L (SD 0.12; CV 2.5%; $p = 0.283$), control sample post-biotin depletion 5.3 pmol/L (SD 0.49, CV 9.2%; $p = 0.259$).

Trambas C. Ann Clin Biochem 2017
ajout biotine : 1000 ng/ml

Depletion of biotin using streptavidin coated magnetic beads: A validated solution to the problem of biotin interference in streptavidin-based methods.

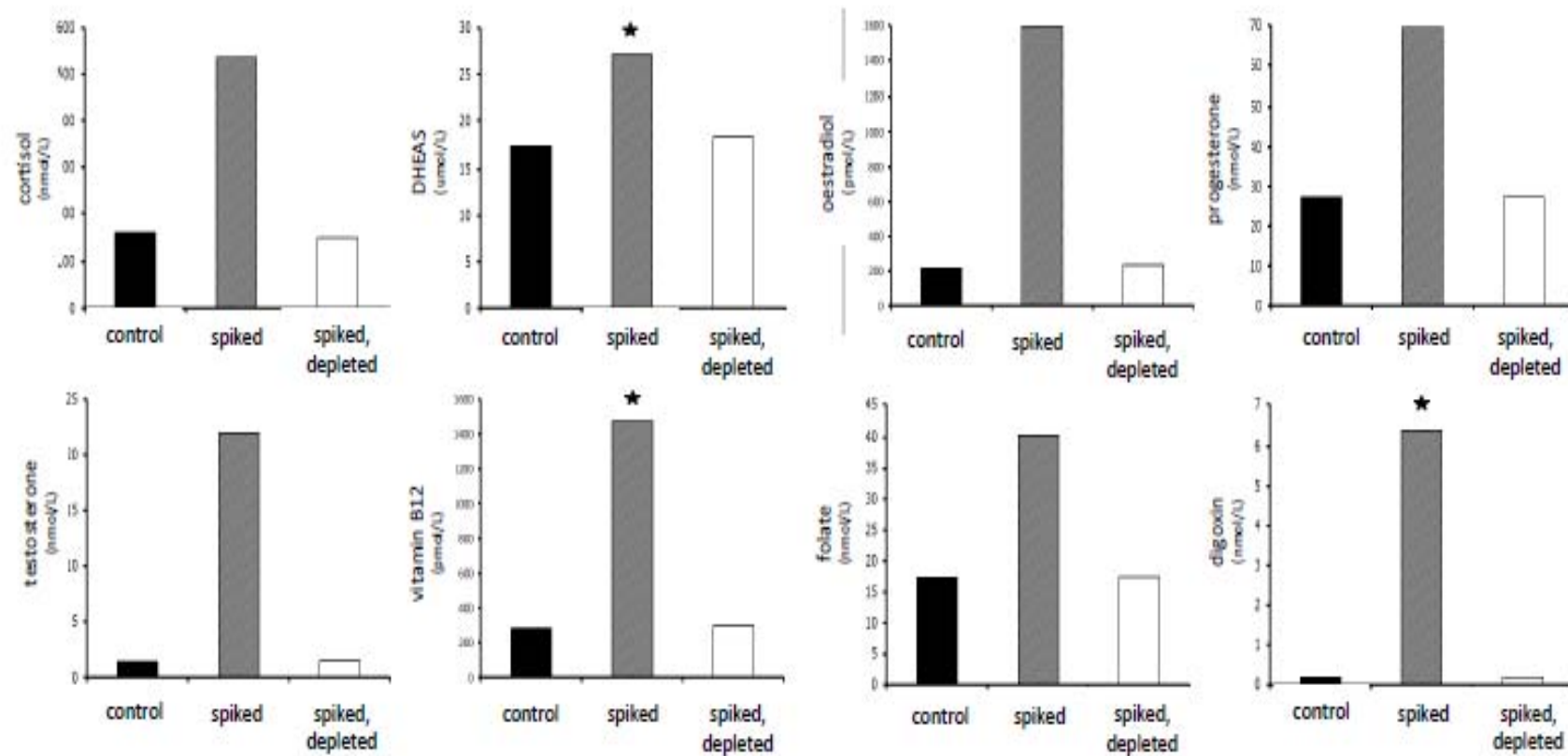


Figure 3: Applicability of the method to competitive immunoassays

Trambas C. Ann Clin Biochem 2017
ajout biotine : 1000 ng/ml

Depletion of biotin using streptavidin coated magnetic beads: A validated solution to the problem of biotin interference in streptavidin-based methods.

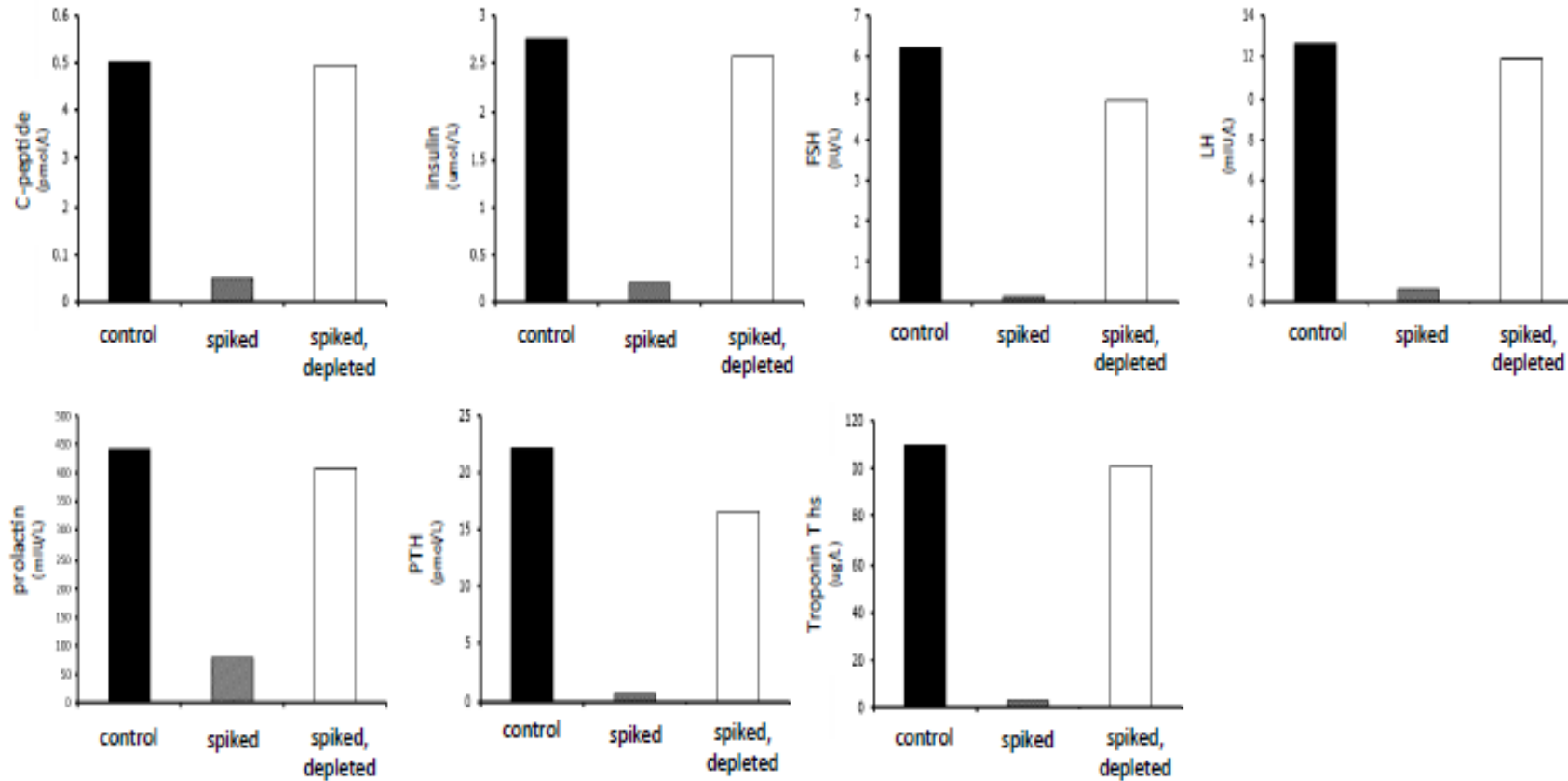


Figure 4a: Applicability of the method to sandwich immunoassays

Stratégie biotine point 1: connaître les dosages potentiellement impactés

- Recenser TOUS les dosages mettant en œuvre la liaison streptavidine – biotine présents au labo
- Les classer en compétition et sandwich pour savoir dans quel sens l'interférence va se manifester
- pour chaque test ,faire apparaitre avec le résultat la mention : « attention, dosage erroné en cas de prise de biotine »
- Recenser les possibilités de dosages alternatifs chez des collègues proches

Stratégie Biotine point 2 : informer

Information la + large : patients, cliniciens, biologistes

**Thyroid Patients,
Be Aware of Biotin**



AVERTISSEMENT

Certaines analyses de laboratoire peuvent être faussées par ce médicament. Il s'agit des tests utilisant un réactif à base de biotine (dosages hormonaux, marqueurs tumoraux, cardiaques, de l'anémie, du métabolisme osseux et de l'inflammation, recherches d'antigènes et d'anticorps de maladies infectieuses virales, examens d'anatomie-cytologie pathologiques).

Lorsqu'un médecin vous prescrit un prélèvement pour analyse il est souhaitable de l'informer de votre traitement par biotine à forte dose grâce à cette carte.

Il est recommandé de demander au laboratoire de vérifier si votre traitement par biotine à forte dose interfère ou non sur la méthode de dosage utilisée par ce laboratoire. Cette démarche peut être faite directement auprès du laboratoire, ou par l'intermédiaire de votre médecin.

Nom du patient/ de la patiente

Date de naissance

Indication du traitement

Posologie

Médecin prescripteur référent

Nom, prénom, adresse, téléphone

medDay
PHARMACEUTICALS

CARTE PATIENT TRAITÉ PAR
BIOTINE A FORTE DOSE

Votre médecin vous a prescrit un traitement par biotine à forte dose.

Pour utiliser ce médicament en toute sécurité, veuillez lire attentivement la notice d'information ainsi que les informations inscrites sur cette carte.

Elle contient un avertissement important sur de possibles interférences de ce médicament avec les analyses biologiques.

Veillez à toujours l'avoir sur vous et présentez-la à tous les médecins que vous consultez pour qu'ils soient tenus informés et puissent vous prodiguer des soins en toute sécurité.

DEMANDEZ À VOTRE MÉDECIN
DE REMPLIR LES SECTIONS
AU DOS DE CETTE CARTE

LA BIOTINE INTERFERE AVEC CERTAINS DOSAGES BIOLOGIQUES (liste non exhaustive)

ANEMIE	PIGF	Anti-Hbe	Phénytoïne	CA 72-4
Ferritine	Progestérogène	Anti-HBs	Procainamide	Cyfra 21-1
Folate	Prolactine	Anti-HCV 2	Sirolimus	HE4
Vitamine B12	S DHEA	CMV IgG, IgM	Tacrolimus	HER-2/neu
CARDIOLOGIE	SHBG	HIV Ag p24	Theophylline	NSE
CK-MB	Testostérogène	HIV Ag Confirm.	Tobramycine	ProGRP
Myoglobine	THYROÏDE	HIV Combi PT	Valproate sodium	PSA
NT-Pro BNP II	Anti TG	HSV-1/2 IgG	Vancomycine	S100
Troponine I	Anti TPO	Rubéole IgG, IgM	METABOLISME	sFlt-1
Troponine T	Anti-TSHr	Syphilis	OSSEUX	TPS
HORMONES /	Calcitonine	Toxo Avidity	Anti CCP	SEPSIS /
FERTILITE	T3, FT3	Toxo IgG, IgM	Beta cross Laps	INFLAMMATION
ACTH	T4, FT4	MEDICAMENTS	Ostéocalcine	C3, C4
AMH	Tg	Carbamazépine	PTH	CRP
Cortisol	TSH	Ciclosporine	P1NP	IgA IgE IgG IgM
Estradiol	T-Uptake	Digitoxine	Vitamine D	IL6 IL8 IL10
FSH, LH	INFECTIEUX	Digoxine	ONCOLOGIE	LBP
HCG	Ag HBe	Gentamicine	ACE	Prealbumine
hGH	Ag HBs	Lidocaine	AFP	Procalcitonine
Insuline	Anti-HAV	Lithium	CA 125	TNF-α
Peptide C	Anti-HBc	Mycophénolate	CA 15-3	Transferrine
PAPP-A	Anti-HBc IgM	Phénobarbital	CA 19.9	

Sur la page d'accueil du site internet d'un groupement de labos ..

Les médicaments à base de biotine tels que le **QIZENDAY® (CERENDAY®)**, utilisés dans la **sclérose en plaques** peuvent **interférer lors des immunodosages** (sérologies, troponine...) et conduire à des résultats incohérents.

Le protocole d'utilisation thérapeutique (ATU) précise qu'il est **impératif d'informer le laboratoire** en cas de prise de ces médicaments et que tout résultat anormal chez un patient sous traitement doit conduire à contacter le laboratoire pour vérification des méthodes de dosage.

Alertes en direction des endocrinologues

- **Depuis Janvier 2016: Thyroid Month: Beware of Biotin**
- <http://endocrinenews.endocrine.org/january-2016-thyroid-month-beware-of-biotin/>

Alertes pour les biologistes :

- Fournisseurs : 2016 , 2017
- ANSM : 17 juillet 2017

Stratégie Biotine Point 3 : obtenir l'information

Est-ce que le patient a un traitement par biotine ? :

info cruciale

Dosages de biotine : aujourd'hui peu accessible en routine

(dosage LC-MSMS)

Moyens informatiques pour obtenir l'information

Attacher l'information dans le dossier biologique

Stratégie Biotine Point 4 : éliminer l'interférence de la biotine

- Dilutions : non car $1/100^{\text{ème}}$: on descend dans la limite de Quantification
- Demander à reprélever après arrêt : quand c'est possible
- Ou alerter le clinicien pour l'informer que les dosages subissent une interférence (sens de l'interférence)
- Ou adresser le dosage à contrôler avec une technique alternative
- Ou déplétion de la biotine : résultats validés avec certains dosages (Lam 2017, Piketty 2017, Trambas 2017)

Perspectives : différents travaux pour mieux connaître cette interférence et amélioration attendue des dosages et /ou de la détection de l'interférence

Fonction rénale : délai en fonction du DFG ? Demi-vie fonction du DFG ?

Variabilité biologique de la demi-vie

Protocole de « déplétion » de la biotine validé avec certains dosages Roche : quid des autres systèmes analytiques ?

Influence des métabolites ? (cycle Ureido : liaison streptavidine)

- Les fournisseurs doivent répondre à ce nouveau risque et améliorer la tolérance à la biotine de leurs dosages: Besoin pressant d'innovation
- Ceci ne se produira probablement pas rapidement
- Amélioration des notices

CONCLUSIONS

- Comportement très particulier de l'interférence : Impliquant une compréhension du mécanisme et une stratégie
 - Fausse hyperthyroïdie (surveillance bilan thyroïdien dans le traitement de la SEP : alemtuzumab : Lemtrada®, interféron β) : appeler le clinicien
 - Simulant le bilan cohérent d'une pathologie endocrine (hypercorticisme, intoxication vitamine D, tumeur sécrétant des stéroïdes gonadiques, etc...) : Le bon dosage est celui que le biologiste discute avec le clinicien
 - Artéfactant de nombreux immunodosages, de façon très intense
- Interférence : très variable d'un dosage à l'autre, d'un fournisseur à l'autre

CONCLUSIONS

- **Streptavidine-biotine : technologie très répandue, mais talon d'Achille : prise supra-physiologique de biotine (autrefois rarissime)**
- **Nouvelle donne : un nombre significatif de patients absorbe quotidiennement un composant de nos dosages**
- **Information cruciale**
- **Besoin d'innovation**



Je prend de
la biotine et je
n'ai pas de
Basedow



Merci de votre attention