

# Traitement par la biotine : un nouveau piège en immunoanalyse

M.L. Piketty

Laboratoire des explorations Fonctionnelles, GH Necker

Journées de Biologie Praticienne, 8 décembre 2018



# Depuis 2 ans, de nombreux faux bilans d'hyperthyroïdie biologique (>20 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

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

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

## Biotin Treatment Mimicking Graves' Disease

**TO THE EDITOR:** Biotin is a water-soluble vitamin that is widely used in over-the-counter dietary supplements.<sup>1</sup> 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-

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

Marianne S Elston<sup>1,3</sup>, Shekhar Sehgal<sup>1</sup>, Stephen Du Toit<sup>2</sup>, Tania Yarndley<sup>1</sup>, John V Conaglen<sup>3</sup>

JCEM 2016;101:3251-5

Falso hipertiroidismo franco por interferencia en inmunoanálisis

False overt hyperthyroidism by interference in immunoassay

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

Abdallah Al-Salameh,<sup>1</sup> Laurent Bequemont,<sup>2,3</sup> Sylvie Brailly-Tabard,<sup>4,5</sup> Patrick Aubourg,<sup>6,7</sup> and Philippe Chanson<sup>6,5</sup>

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

Drug Discoveries & Therapeutics. 2016; 10(8):338-339

338

Letter

DOI 10.1161/01.res.00000

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

52 JBR 2018 - M. PIKETTY

# Mais aussi ... en novembre 2017

**"The FDA warns that Biotin may interfere with Lab tests :  
FDA safety communication"**

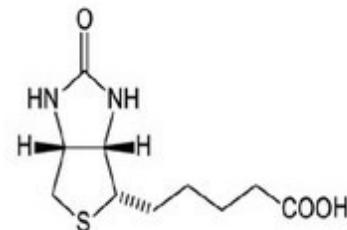
**"The FDA has received a report that one patient taking  
high levels of biotin died following **falsey low troponin**  
test results when a troponin test known to have biotin  
interference was used"**

# Qu'est-ce que 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

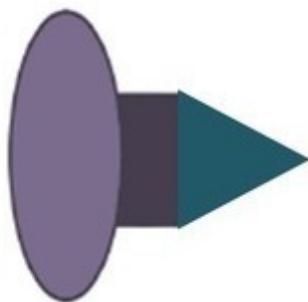


## Que se passe-t-il dans nos dosages en présence de biotine ?

- Mécanisme : si la séparation met en œuvre la liaison streptavidine-biotine
- la biotine **inhibe la séparation** des complexes antigènes-anticorps à la fin de l'incubation, il y a donc une **perte de signal** lié aux complexes antigène-anticorps : perte du signal lié à mesurer

## Dosage sandwich de TSH

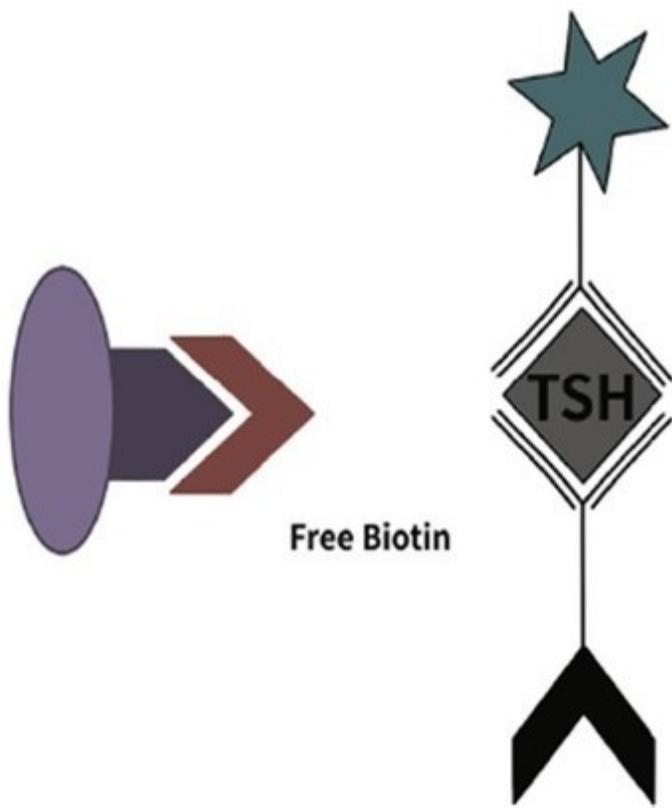
Billes recouvertes de streptavidine



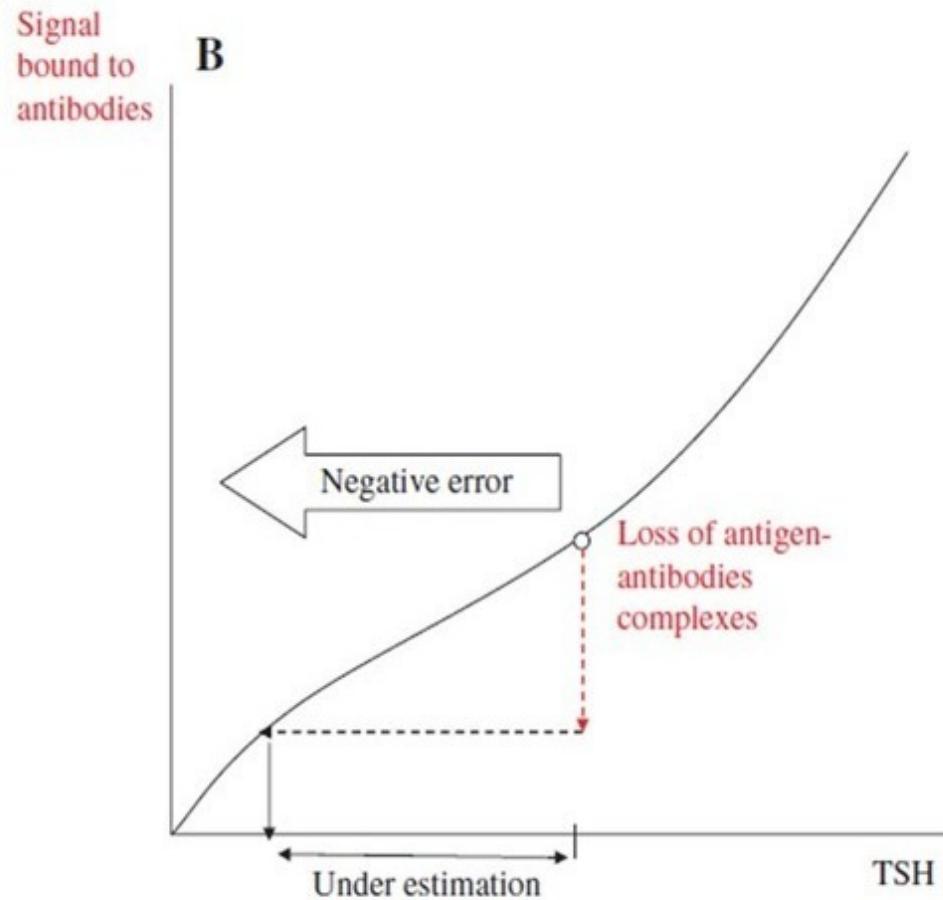
Anticorps portant le signal à mesurer

Anticorps biotinylé

# Que se passe-t-il en présence de biotine? La biotine libre bloque les sites de la streptavidine

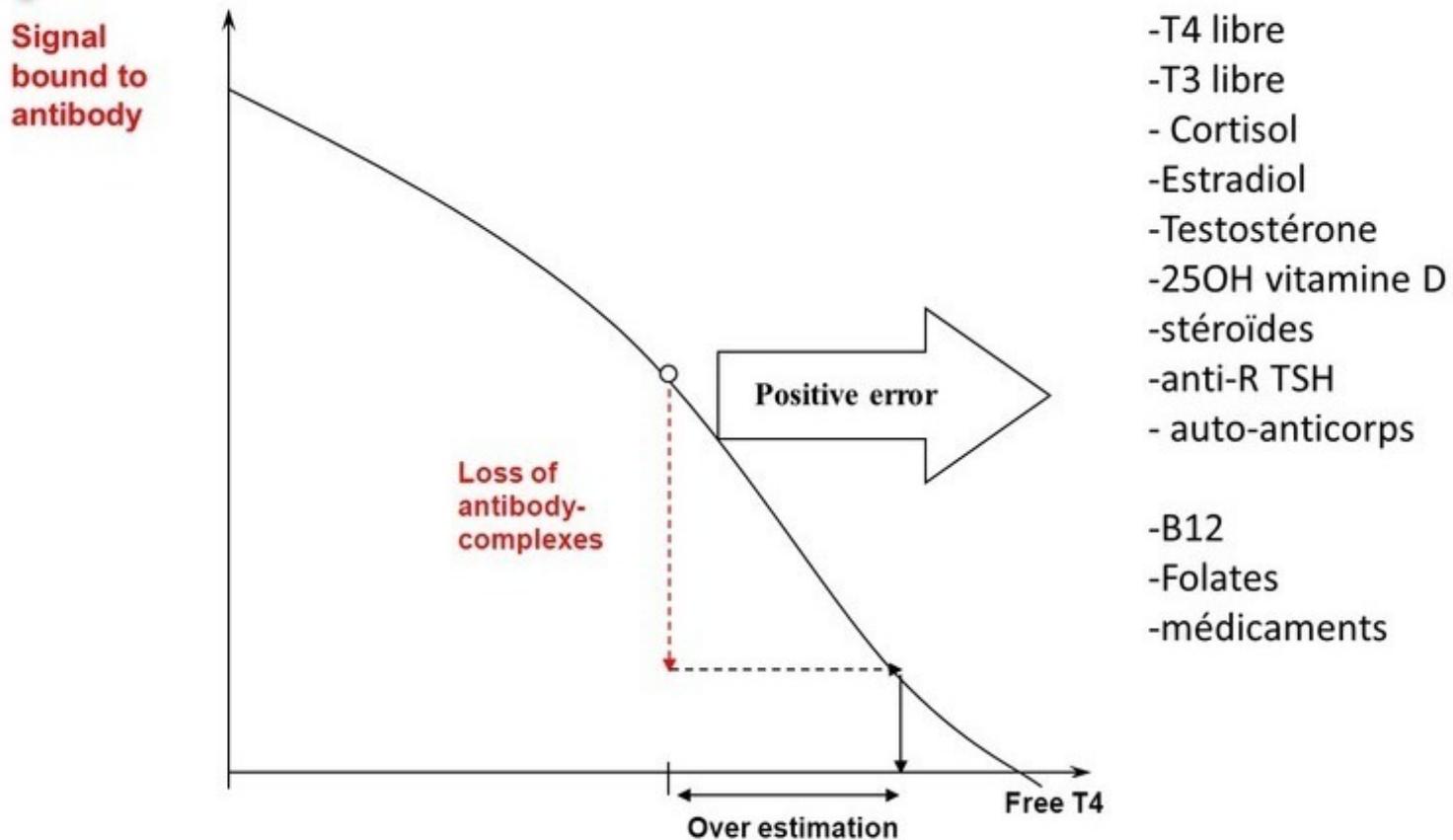


## Erreur par défaut dans les dosages sandwich



- TSH
  - FSH
  - LH
  - Prolactine
  - GH
  - ACTH
  - HCG
  - PTH
  - IGF1
  - Thyroglobuline
  - Calcitonine
  - Insuline
  - C peptide
- 
- Marqueurs cardiaques
  - Marqueurs tumoraux
  - Procalcitonine
  - Sérologies
  - Ferritine, IgE

## Erreur par excès dans les dosages compétition



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

exemples :

- Thyroïde : T4 I >100 pmol/L et TSH <0,02 mUI/L et Ac anti-RTSH positifs : le piège est 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

Hormonologie : dosages susceptibles de subir l'interférence et concentrations de biotine au dessus desquelles se produit l'interférence (ng/ml) : biais >10%

En bleu : sous-estimation (sandwich)

En rouge : surestimation (compétition)

Hormone	Beckman. Coulter (Access, DXi <sub>i</sub> )	IDS (ISYS)	Ortho Clin Diag (Vitros)	Roche (Cobas, Elecsys, Modular)	Siemens (Dimension Vista, EXL)	Siemens (Centaur)	Siemens (Immulite)	CisBio (RIA)	Diasorin (Liaison)
T3 libre	✓ (10)			✓ (70)	✓ (50)		✓		
T4 libre	✓ (10 mg/J)			✓ (20)	✓ (50)	✓			
Total T3	✓ (10 mg/J)			✓ (10)				✓ (15)	
Total T4				✓ (100)				✓ (15)	
TSH			✓ (5)	✓ (25)	✓ (500)				
Ac anti-RTSH				✓ (10)					
SHBG				✓ (60)		✓ (100)			
Thyroglobuline	✓ (10 mg/J)			✓ (80)			✓ (5)		
Calcitonine				✓ (40)					✓ >10 000
PTH		✓ (73)	✓ (5)	✓ (50)		✓ (1000)			
25OH vit D		✓ (73)	✓ (15)	✓ (70)					
Cortisol			✓ (10)	✓ (30)					
ACTH				✓ (60)					
Rénine		✓ (6)							✓ 3500
Testostérone			✓ (10)	✓ (30)	✓ (100)	✓ (30)			
Estradiol			✓ (5)	✓ (36)	✓ (100)	✓ (100)			
SDHA				✓ (30)		✓ (100)			
FSH			✓ (8)	✓ (60)	✓ (100)				
LH			✓ (5)	✓ (50)	✓ (100)				
Prolactine			✓ (8)	✓ (40)	✓ (100)				
Insuline				✓ (60)					
C peptide				✓ (60)					
IGF1		✓ (73)		✓ (50)					
GH		✓ (73)		✓ (30)					

Marqueurs cardiaques : concentrations de biotine au dessus desquelles se produit l'interférence (ng/ml) : biais >10%

Saenger AK et al, CCLM 2018 ; doi /10.1515/cclm-2018-0905 (IFCC)

En bleu : sous-estimation (sandwich)

Marqueurs	Beckman. Coulter (Access, DXi.)	Ortho Clin Diag (Vitros)	Roche (Cobas, Elecsys, Modular)	Siemens (Dimension EXL, Vista)	Siemens (Centaur, Atellica)	Siemens (Immulite)	Biomerieux (Vidas)	Singulex (Clarity)
TROPONINE I		✓ (2,5)		✓ (300 / 100)	✓ (3500 / 10)	✓ (1500)	✓ (2000)	✓ (10 000)
TROPONINE T			✓ (21)	✓ (50)				
BNP	✓			✓ (100)	✓ (250)			
NT-PRO BNP		✓ (20)	✓ (35)	✓ (250/100)	✓ (75)	✓ (1500)		

POCT	Radiometer (AQT90 flex)	Roche (cobas h232)	ET healthcare (Pylon 3d)
TROPONINE I	✓ (3)		✓ (200)
TROPONINE T	✓ (50)	✓ (200)	
BNP			✓ (200)
NT-PRO BNP	✓	✓ (30)	

## Evaluation Externe de Qualité Probioqual : 2018

### Labos dont la technique dépend de la liaison streptavidine-biotine (%)

TSH : 961 réponses, dont **54 %**

T3 libre : 675 réponses, dont **67 %**

T4 libre : 792 réponses, dont **68 %**

PTH : 511 réponses, dont **49 %**

Cortisol : 561 réponses, dont **43 %**

Peptides natriuretiques : 1105 réponses , dont **58%**

Troponines I + T : 1274 réponses , dont **43%**

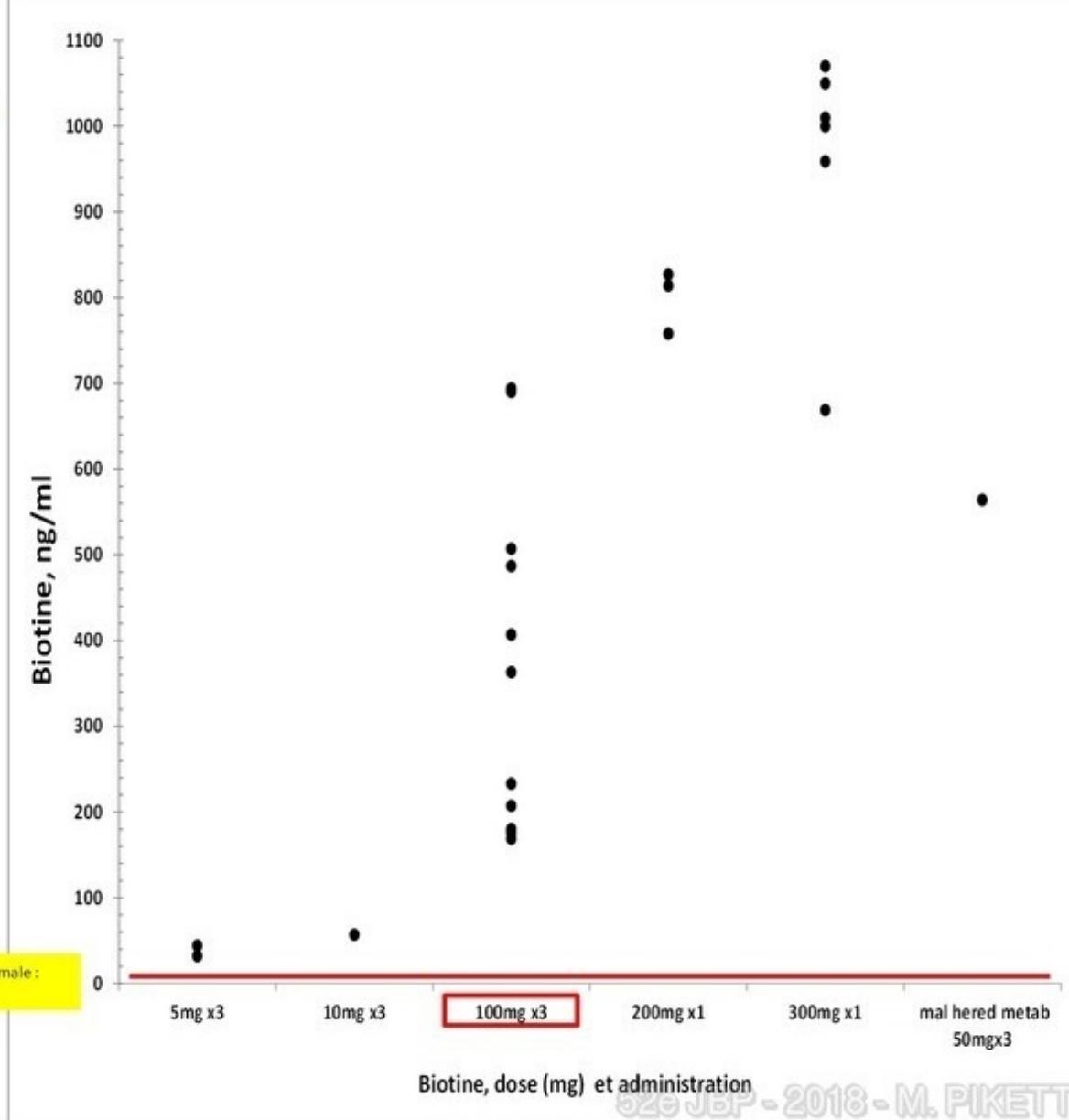
HCG : 1182 réponses, dont **43 %**

## Pourquoi cette popularité dans les immuno-dosages actuels ?

- Liaison streptavidine – biotine : très haute affinité ( $10^{15}$  L/Mol) : donc très rapide et robuste, et facilités pour amplifier le signal ( limite de détection)
- Biotinylation des molécules biologiques : très facile
- Aujourd’hui très répandue :dosages à haute cadence, biologie délocalisée, tests rapides en bandelettes, dosages en recherche ELISA.

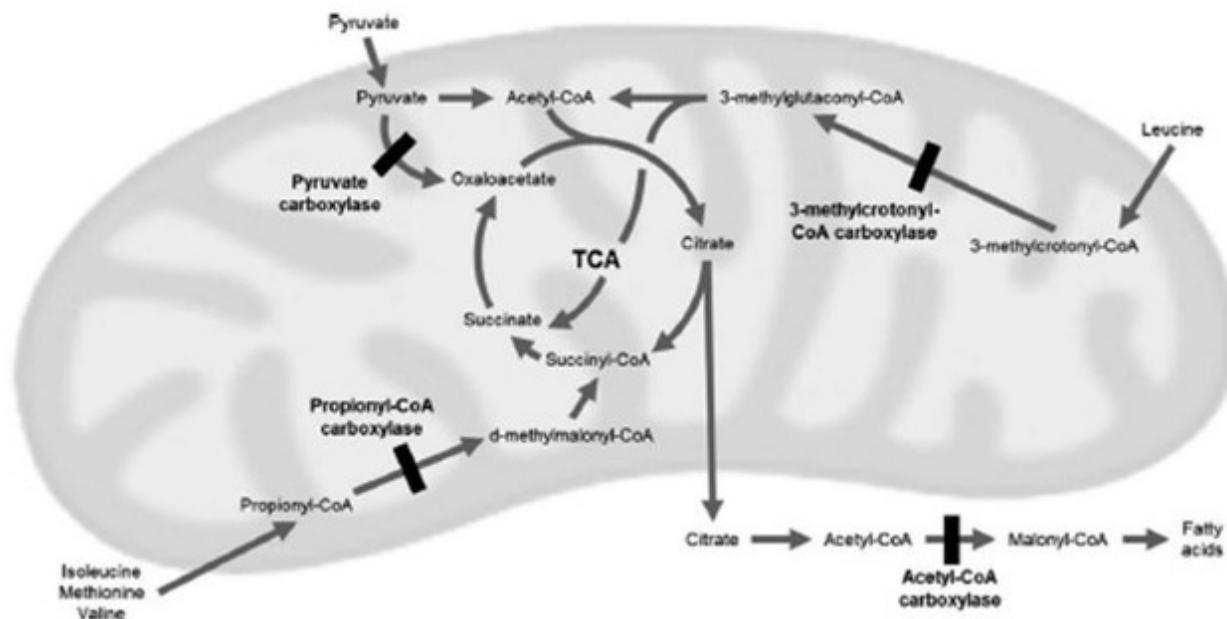
## Relation dose de biotine et concentration sanguine (LC-MSMS)

Concentration normale :  
0,4 - 1,2 ng/ml



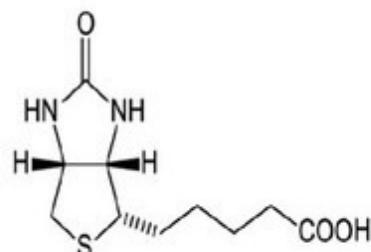
# Pourquoi la Biotine ?

Biotine, coenzyme des carboxylases : production d'ATP  
nombreux métabolismes : acides gras, acides aminés, neoglucogénèse



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

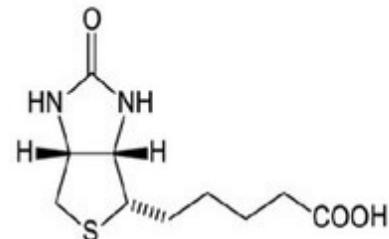
## Doses supra-physiologiques de Biotine :



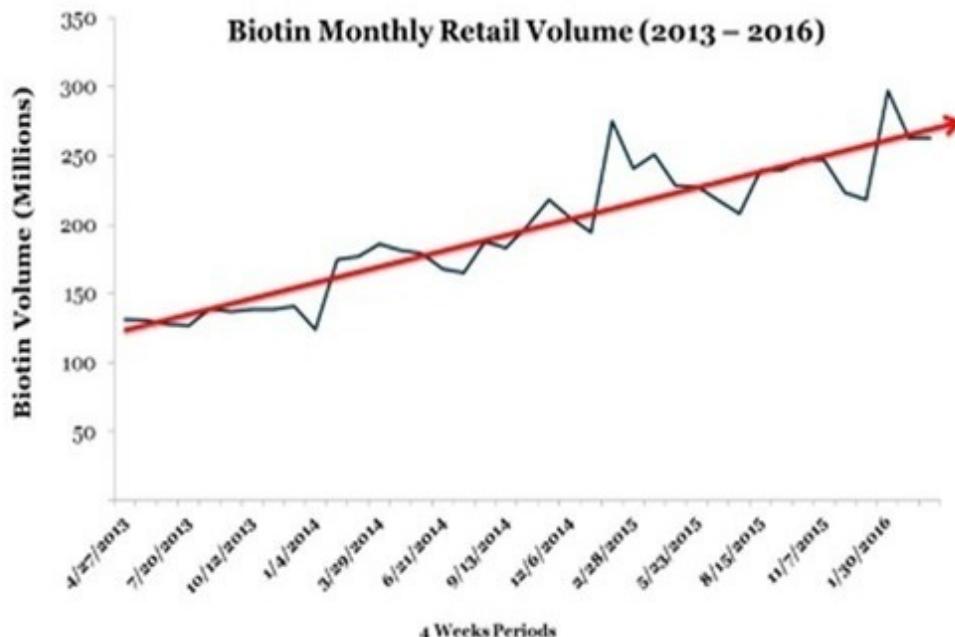
- Maladies héréditaires du métabolisme
  - Déficit en biotinidase : 5-10 mg/J
  - Déficit en holocarboxylase synthétase : 30-40 mg/J
  - Maladies mitochondrielles : 30 – 100 mg/J
  - Maladie des noyaux gris centraux sensibles à la biotine : 100 mg/J

Henry JG, et al. Ann Clin Biochem 1996;33:162

## Doses supra-physiologiques de Biotine :

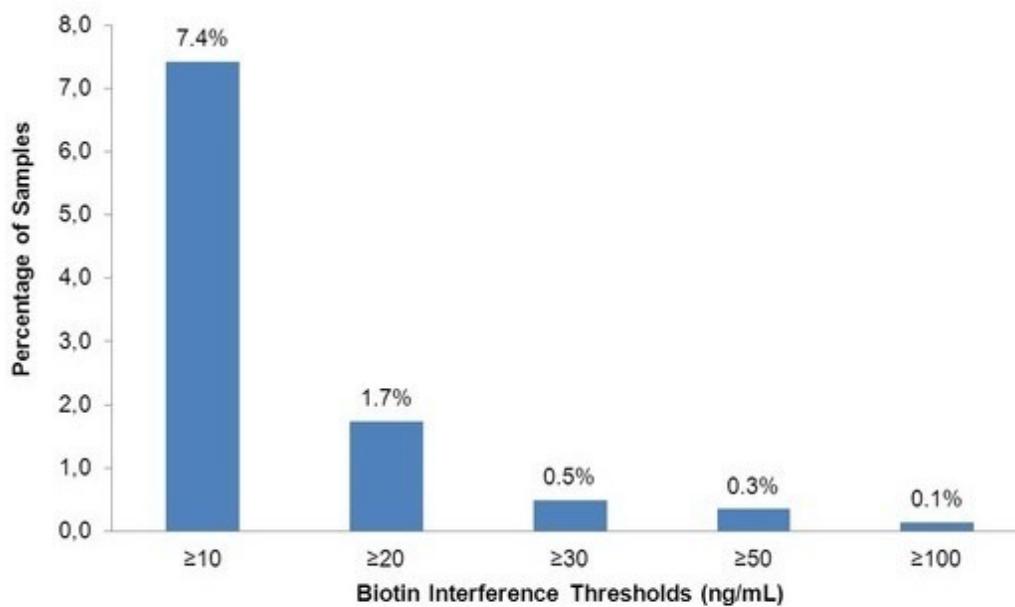


- dans les cocktails de vitamines couramment trouvés dans le commerce, la quantité de biotine est de 30 µg, c'est-à-dire la quantité quotidienne recommandée, ce qui ne pose aucun problème à aucun dosage
- Par contre, complément alimentaire spécifique pour les cheveux et la peau : **5 – 30 mg/j** (soit 1000 fois l'apport quotidien recommandé ..)



## Ventes mondiales de Biotine

Source: Nielsen FDM Data Ending 03/26/16



### Enquête à la Mayo clinic :

- 7,7% des patients interrogés déclarent prendre un complément alimentaire à base de biotine (N = 1944).
- 7,4% des patients vus aux urgences présente une concentration de biotine supérieure à 10 ng/ml (N=1442)

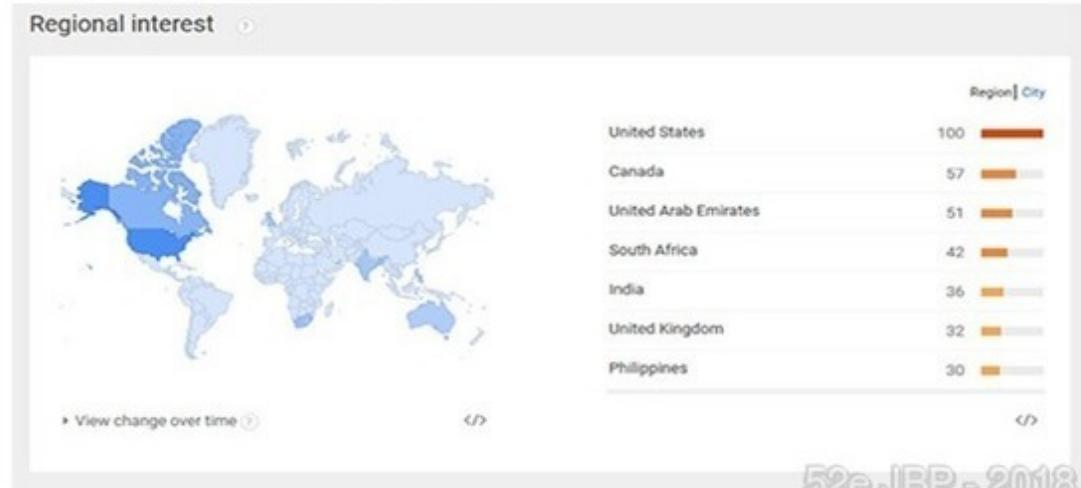
# The Infatuation With Biotin Supplementation: Is There Truth Behind Its Rising Popularity?

## A Comparative Analysis of Clinical Efficacy versus Social Popularity

J Drug Dermato 2017;16:496 Teo Soleymani MD, et al.

.....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 it's 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".<sup>28</sup>

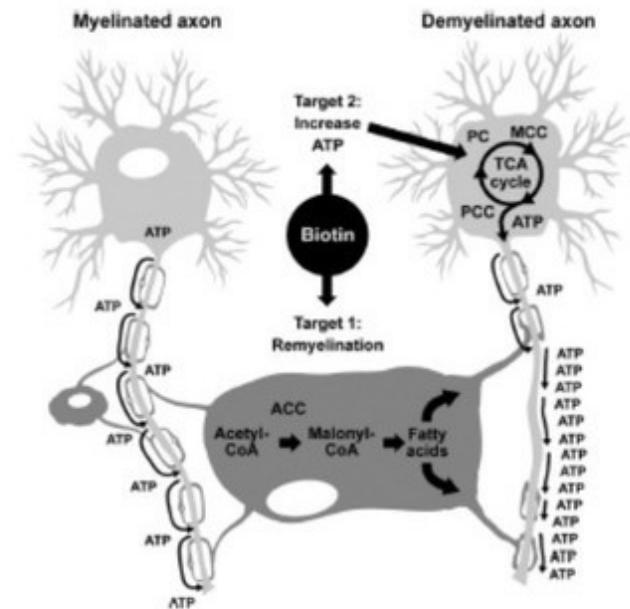


# Doses supra-physiologiques de Biotine : 3x100 mg/J (Qizenday : 10 000 fois l'apport quotidien recommandé)

## Sclérose en plaque (forme progressive)

Tourbah A. et al. Mult. Scler. J. 2016;22:1719

La Biotine favorise la synthèse de myéline  
La Biotine participe à la production d'ATP



**Sclérose en plaque : Environ 2.3 millions de patients dans le monde.**  
**-Forme progressive**  
**(environ 30 000 patients en France)**

**Qizenday** : ATU en France (juin 2016). Cohorte ATU : nouvelles inclusions interrompues en oct 2018.

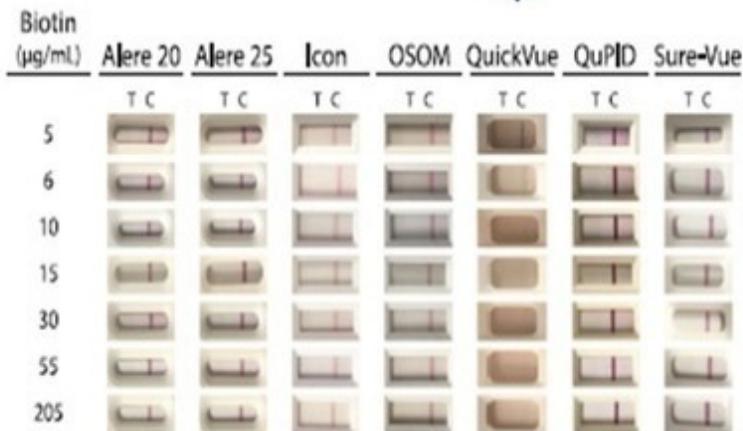
**SEP : Bilan thyroïdien très fréquents**  
**traitement Alectuzumab : tous les 3 mois (favorise l'auto-immunité thyroïdienne)**  
**traitement interféron : une fois par an**

# Prises supra-physiologiques de biotine

Cause de la prise	Dose /J	Moyens de contrôle
Maladies héréditaires du métabolisme (rare)	De 10 à 100 mg	Recrutement particulier de patients, bien identifiés
Complément alimentaire (cheveux, peau)	De 5 à 30 mg	?
Maladies démyélinisantes	100 mg x 3	Délivrance hospitalière, carte portée par le patient

## Etude de l'interférence dans les tests rapides de grossesse

Williams G.R. et al. Clin Biochem 2018;53:168



Étude de surcharge in vitro

Patient	Base	D1	D3	D7	
	TC	TC	TC	TC	
1	QuickVue Biotin ( $\mu\text{g/mL}$ ) Creatinine (mg/dL)	3 35	9 62	9 48	18 93
2	QuickVue Biotin ( $\mu\text{g/mL}$ ) Creatinine (mg/dL)	4 53	7 76	12 100	7 65
3	QuickVue Biotin ( $\mu\text{g/mL}$ ) Creatinine (mg/dL)	3 34	15 84	10 59	13 68
4	QuickVue Biotin ( $\mu\text{g/mL}$ ) Creatinine (mg/dL)	10 110	21 85	17 77	18 141

Étude in vivo chez 4 femmes (10 mg)

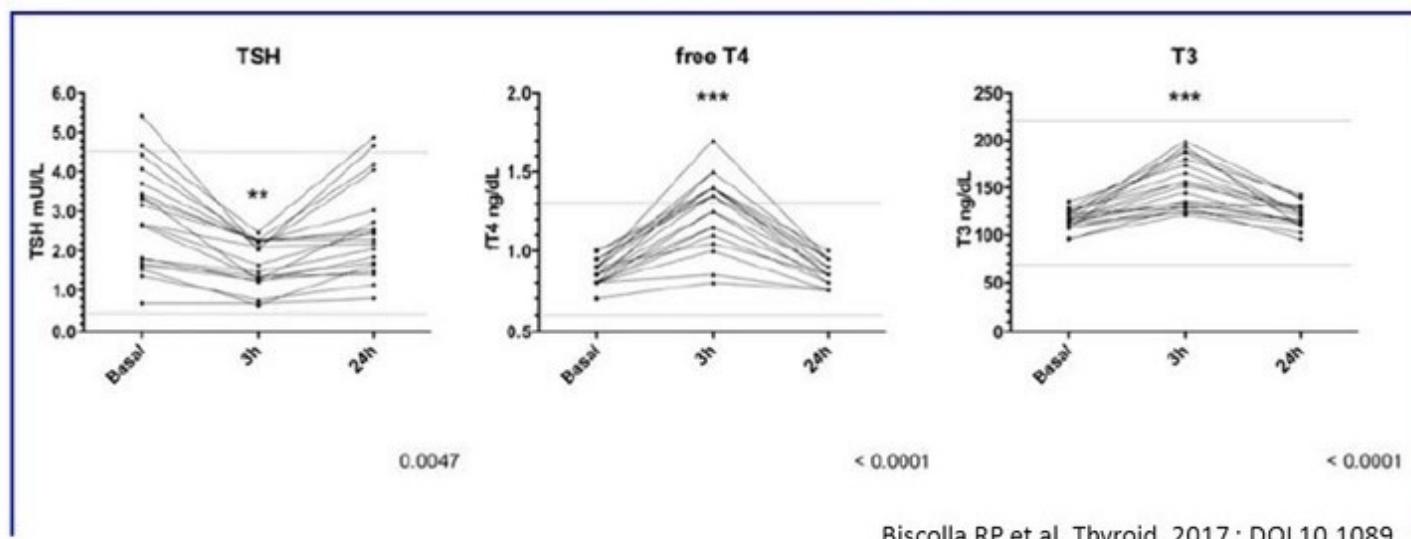
## Déterminants de l'interférence

- Type de dosage
- Temps écoulé depuis la dernière prise de biotine : impact maximum : 2 h
- Dose de biotine ingérée
- Fonction rénale du patient

# **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**

Wijeratne et al. Pathology 2012;44:674

# Arrêt de la prise de biotine avant dosage (demi-vie : environ 15h)

Oui Mais :

- Très fortes doses (SEP) : combien de temps d'arrêt ? (T4I, T3I, TSH : 4 jours), mais anti-R-TSH 7-15 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)
- Délai d'arrêt nécessaire : **très variable** (FDA nov 2017 : aucune recommandation possible)
- Maladies héréditaires du métabolisme : déficit en biotinidase : impossible d'arrêter
- Urgence : exclu

**Neutralisation de la Biotine : microparticules coatées avec streptavidine à 0,72 mg/ml,  
(Sigma-Aldrich : ref 11641778001)**

DE GRUYTER

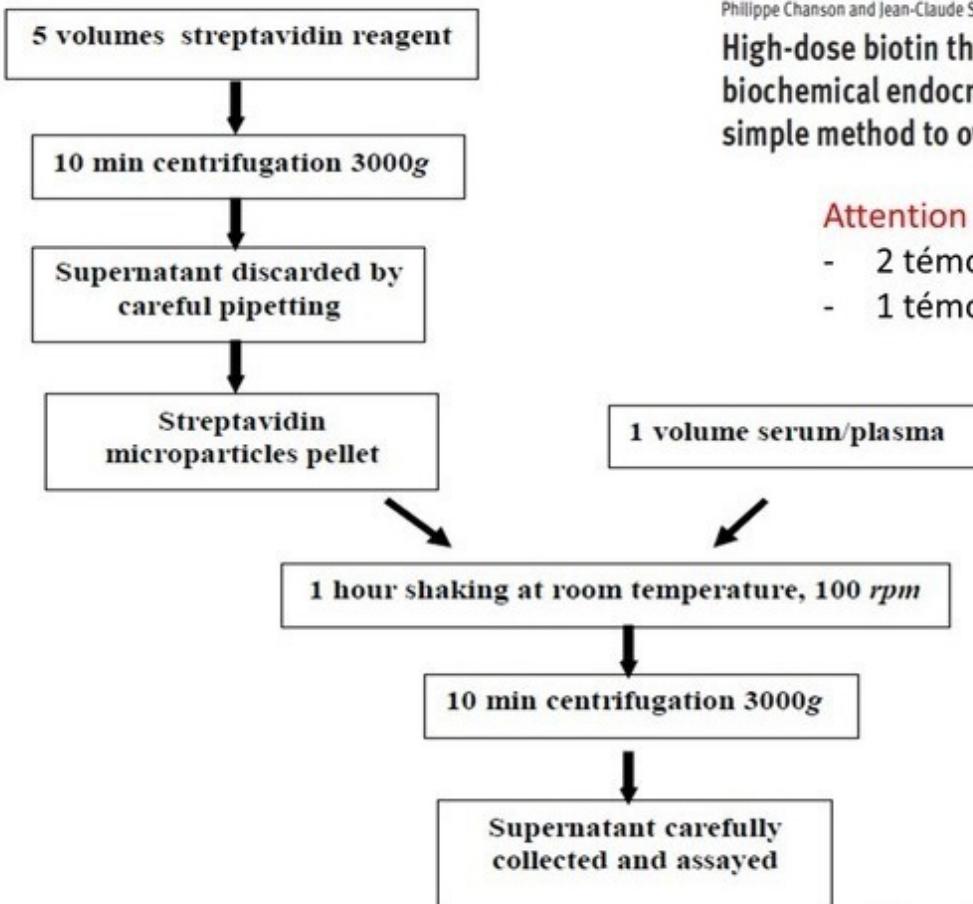
Clin Chem Lab Med 2017; 55:

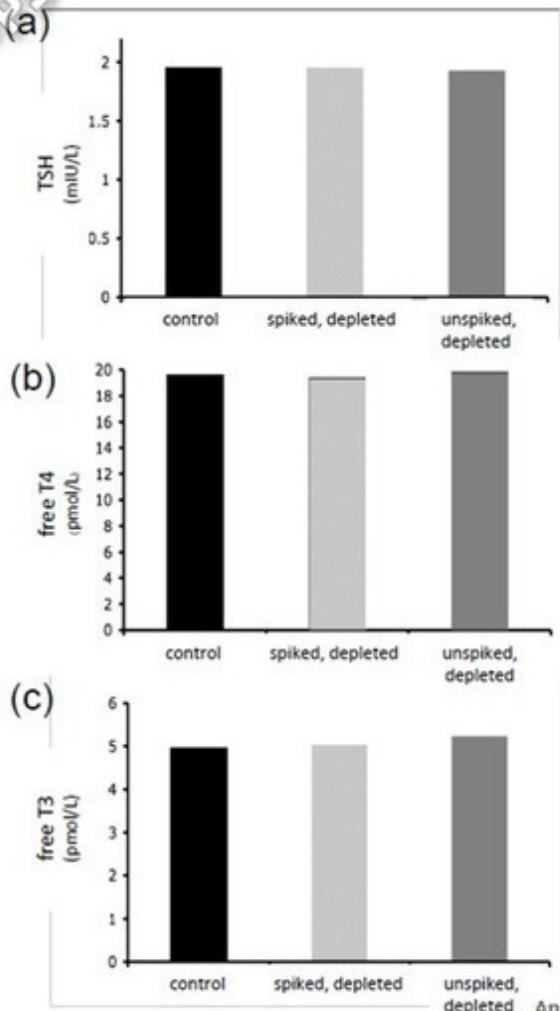
Marie-Liesse Piketty\*, Dominique Prie, Frédéric Sedel, Delphine Bernard, Claude Hercend,  
Philippe Chanson and Jean-Claude Souberbielle

**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





## 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).

## Comparaison avec les autres interférences dans les immunodosages

Contrairement aux interférences connues dans les immunodosages (anticorps hétérophiles, auto-anticorps, effet de matrice, Hook effect, etc )

- Plusieurs dosages impactés
- Interférence bidirectionnelle : capable de résultats faussement augmentés **et** faussement diminués
- Amplitude de l'Interférence très importante
- Origine **exogène**

## **Stratégie biotine point 1:** connaître les dosages potentiellement impactés

- Recenser TOUS les dosages mettant en œuvre la liaison streptavidine – biotine pour la séparation des immuns-complexes présents au labo
- Les classer en compétition et sandwich pour savoir dans quel sens l'interférence va se manifester
- Recenser les possibilités de dosages alternatifs chez des collègues

## **Stratégie Biotine point 2 : informer**

**Information la + large possible :  
patients, prescripteurs**

- pour chaque test ,faire apparaître avec le résultat la mention : « attention, dosage erroné en cas de prise de biotine », en donnant le sens de l'interférence

## **Stratégie Biotine Point 3 : obtenir l'information**

### **Est-ce que le patient a un traitement par biotine ? : info cruciale**

Dosage de biotine : aujourd'hui peu accessible en routine (LC-MSMS)

Lors du prélèvement (patient externes) : poser la question

**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** dans la SEP car 1/100<sup>ème</sup> : on descend dans la limite de Quantification
- Demander à prélever après arrêt : quand c'est possible
- Ou alerter le clinicien pour l'informer que les dosages subissent une interférence (et donner le sens de l'interférence)
- Ou contrôler avec une technique alternative
- Ou déplétion de la biotine : résultats validés avec certains dosages

(Lam 2017, Piketty 2017, Trambas 2017)

## Perspectives :

1. mieux connaître cette interférence

2. mieux connaître l'action de la biotine dans les métabolismes

- Variabilité biologique de la demi-vie
- Influence des métabolites ? (cycle Ureido : liaison streptavidine)

3. Amélioration attendue des dosages /ou de la détection

Les fournisseurs doivent répondre à ce nouveau risque et améliorer la tolérance à la biotine de leurs dosages

# CONCLUSIONS

**Comportement très particulier de l'interférence : bidirectionnelle : Impliquant une compréhension du mécanisme**

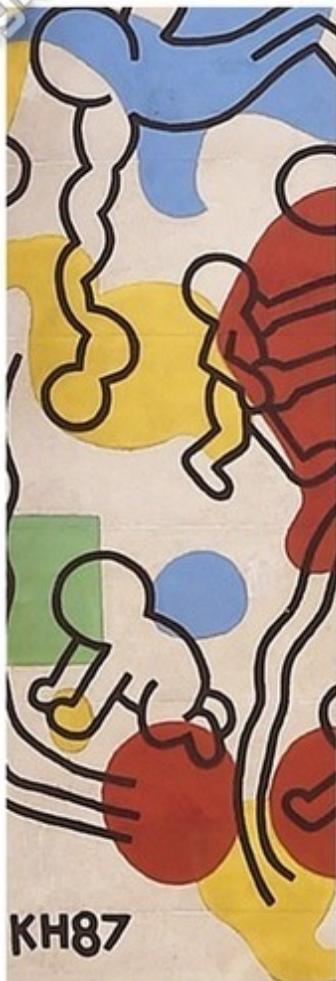
- Fausse hyperthyroïdie (surveillance bilan thyroïdien dans le traitement de la SEP : alemtuzumab : Lemtrada®, interféron  $\beta$ ) : appeler le prescripteur pour tout bilan d'hyperthyroïdie.
- Simulant le bilan cohérent d'une pathologie endocrine (hypercorticisme, intoxication vitamine D) : confrontation clinique indispensable

**Artéfactant de nombreux immunodosages, de façon très intense**

# 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 : potentiel d'artefact ++
- Information cruciale
- Nouveau challenge (biologistes, fournisseurs, cliniciens)

Author's  
copyright ©



**Merci de votre attention**

