

# Étude de l'interférence analytique de la biotine avec les immunoanalyses Siemens sur l'automate Dimension EXL® : impact sur les dosages de troponine I cardiaque et de vitamine D totale (D<sub>2</sub>+D<sub>3</sub>)

*Biotin analytical interference on Siemens immunoanalysis on Dimension EXL®: impact on cardiac troponin I and total vitamin D (D<sub>2</sub>+D<sub>3</sub>) assays*

Mehdi Djebrani<sup>1</sup>

Firas Jabbour<sup>1</sup>

Florence D Hulot<sup>2</sup>

Philippe De Mazancourt<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de biochimie médicale,  
Hôpital Raymond Poincaré, Garches,  
France

<sup>2</sup> Écologie systématique évolution,  
UMR 8079, Université Paris-Sud,  
Agro Paris Tech, CNRS,  
Université Paris-Saclay, Orsay, France

<sup>3</sup> Laboratoire de biochimie  
hormonologie et génétique moléculaire,  
UMR 1179, Hôpital Ambroise Paré,  
Boulogne-Billancourt, France

**Résumé.** Plusieurs cas de diagnostics biologiques erronés d'hyperthyroïdie dus à une interférence avec la prise de biotine ont été rapportés. La biotine est utilisée en immunoanalyse pour ses propriétés de liaison à la streptavidine. Des apports supra-physiologiques peuvent conduire à une interférence analytique majeure se traduisant par des résultats soit faussement majorés (compétitions), soit faussement minorés (sandwichs). Nous avons réalisé un test de simulation d'ingestion de biotine sur des prélèvements de patients. Des surcharges ont été réalisées avant dosages de la troponine I cardiaque (immunodosage sandwich) et de la vitamine D totale (D<sub>2</sub>+D<sub>3</sub>) (immunodosage compétition) sur Dimension EXL®. Pour chaque prélèvement (28 pour chaque paramètre), des doses croissantes de biotine ont été ajoutées avant dosage du paramètre considéré. Les résultats obtenus permettent la mise en évidence d'une interférence négative due à la biotine dès la concentration de 100 ng/mL sur les dosages de troponine I cardiaque, avec perte totale de signal pour les fortes doses de biotine, susceptibles de conduire à une prise en charge médicale inappropriée. Une interférence positive a été observée sur les dosages de vitamine D totale (D<sub>2</sub>+D<sub>3</sub>) mais avec un moindre impact sur la prise en charge médicale.

**Mots clés :** troponine I cardiaque, biotine – streptavidine, biais, immunodosage, vitamine D totale (D<sub>2</sub>+D<sub>3</sub>)

**Abstract.** Several hyperthyroidism misdiagnoses cases have been recently described due to biotin intake. Biotin used in immuno-analysis assays which rely on biotin/streptavidin binding properties. In these assays, high plasmatic biotin levels can lead to major analytical interferences resulting in falsely higher (competition tests) or falsely reduced determinations (for sandwich assays). We performed a simulation test of biotin intake with patient's samples. We studied the effect of biotin on cardiac troponin I and total vitamin D (D<sub>2</sub>+D<sub>3</sub>) assays that are using biotin-streptavidin binding on Dimension EXL®. Increasing doses of biotin were added (28 samples for each parameter) before the assays. The results evidenced a significant negative interference of biotin on cardiac troponin I determinations for concentrations of 100 ng/mL and above, with a total loss of signal for higher biotin additions. Such interference may lead to inappropriate therapeutic decisions. Positive interferences were observed on total vitamin D (D<sub>2</sub>+D<sub>3</sub>) with less impact for therapeutic decisions.

**Key words:** troponin I cardiac, biotin - streptavidin, bias, immunoassay, total vitamin D (D<sub>2</sub>+D<sub>3</sub>)

Article reçu le 23 novembre 2018,  
accepté le 24 novembre 2019

**Correspondance :** M. Djebrani  
<mehdi.djebrani@aphp.fr>

Ces dernières années, plusieurs cas de diagnostic biologique erroné d'hyperthyroïdie dus à l'interférence avec la biotine exogène administrée à but thérapeutique ou cosmétique ont été rapportés, conduisant même dans certains cas à un traitement à tort par un antithyroïdien de synthèse. La dose quotidienne recommandée est de 30 à 35 µg chez l'adulte. Des études récentes ont montré une amélioration clinique de certaines formes progressives de sclérose en plaques après administration de fortes doses de biotine (100 à 300 mg/jour) [1]. À ces doses, elle est susceptible d'interférer dans certains immunodosages dont le principe de détection repose sur la liaison biotine-streptavidine (sandwich ou compétition).

### Matériels et méthodes

#### *Population, échantillons et tests de surcharge*

L'étude a été menée sur 56 patients sans traitement connu par la biotine. Pour la troponine I cardiaque, les plasmas héparinés étaient issus de patients ( $n = 28$ ) ayant présenté un accident coronarien aigu (valeurs initiales 0,059-39,380 µg/L). Le seuil de positivité est de 0,056 µg/L (99<sup>e</sup> percentile). Pour la vitamine D totale ( $D_2 + D_3$ ) (28 résidus de sérum), les patients choisis étaient soit dénutris soit avec un statut vitaminique bien équilibré. Pour chacun des 56 prélèvements, 6 concentrations différentes de biotine (D-Biotin®, Thermo Fisher) ont été ajoutées, donnant des concentrations finales de 0 (la quantité initiale endogène était négligée, valeurs de référence dans le plasma [0,12-0,8 ng/mL] [2]), 50, 100, 150, 200, 500 et 1 000 ng/mL, correspondant aux taux de biotine rapportés dans la littérature [3].

#### *Méthodes analytiques, incertitude de mesure et statistiques*

Les dosages de troponine I cardiaque et vitamine D totale ( $D_2 + D_3$ ) ont été réalisés sur Dimension EXL® avec LM Siemens par immunodosage en chimiluminescence (sandwich pour la troponine I cardiaque et compétitif pour la vitamine D totale ( $D_2 + D_3$ )) reposant sur la technologie Loci® comprenant deux réactifs à billes synthétiques (Sensibeads® et Chimibeads®). Les Chimibeads® sont recouverts d'un anticorps monoclonal anti-analyte à doser et les Sensibeads® sont recouverts de streptavidine (phase solide).

L'incertitude de mesure utilisée a été calculée par un pres-tataire (Probioqual®). Pour la troponine I cardiaque, deux niveaux d'incertitude de mesure ont été utilisés, 27,6 % (valeurs sous le seuil de 0,1 µg/L ;  $n = 7$ ) et 9,87 % (valeurs supérieures au seuil,  $n = 21$ ). Concernant la vitamine D totale ( $D_2 + D_3$ ), valeurs de référence [30-100 ng/mL], deux niveaux d'incertitude de mesure sont également définis pour

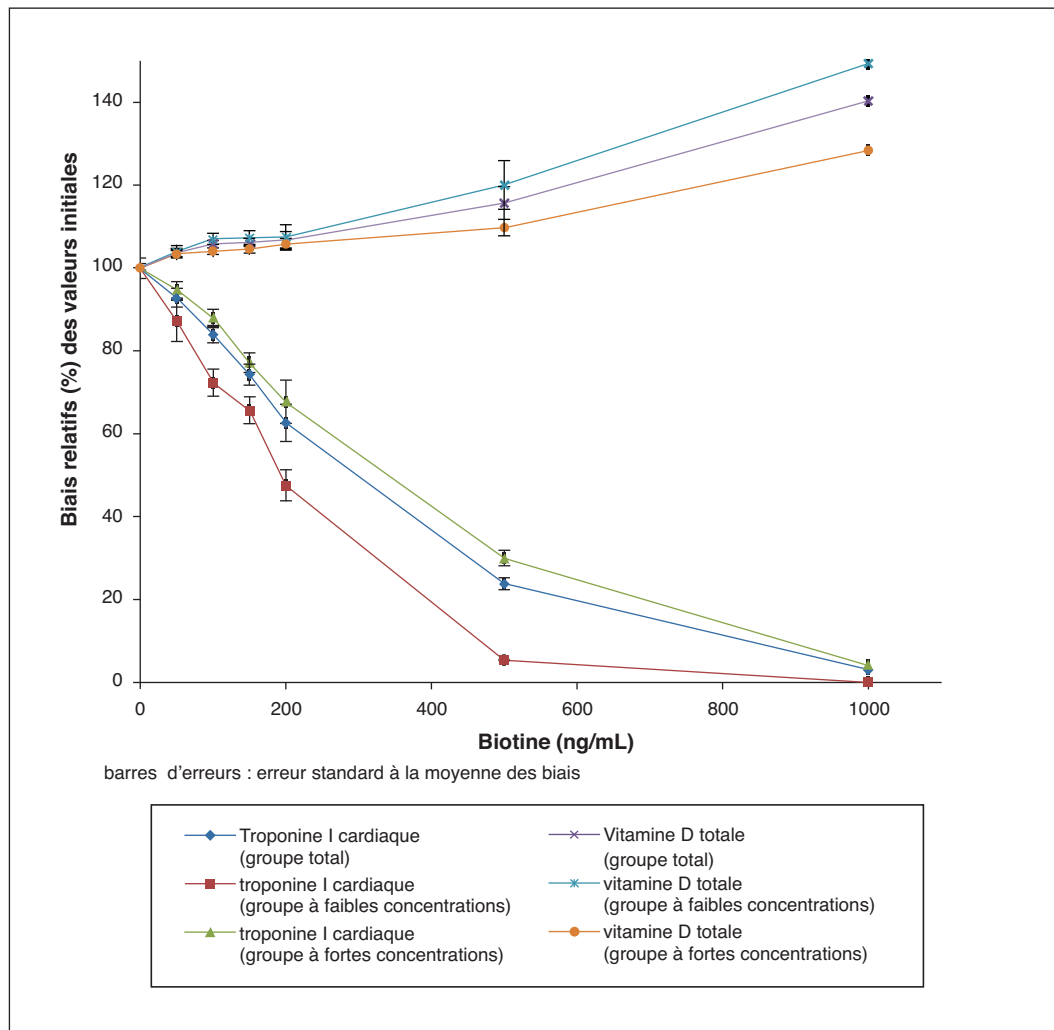
ce paramètre (seuil = 20 ng/mL), 33,32 % ( $n = 16$  patients) et 15,19 % ( $n = 12$  patients). Le test statistique utilisé pour les comparaisons était le test exact de Fisher avec un seuil de significativité à  $p = 0,05$ .

### Résultats

Les résultats obtenus pour la troponine I cardiaque et la vitamine D totale ( $D_2 + D_3$ ) en fonction de la dose de biotine sont illustrés dans la *figure 1* et le *tableau 1*. On considère qu'il y a une interférence dès lors que l'effet d'une dose donnée (biais engendré) est supérieur à l'incertitude de mesure. Les résultats montrent une baisse des concentrations mesurées de troponine I cardiaque d'autant plus importante que les concentrations en biotine sont plus élevées. Les biais sont supérieurs à l'incertitude de mesure à partir de l'ajout de 100 ng/mL de biotine ( $p < 0,05$  ; test exact de Fisher). L'effet persiste si l'on individualise les groupes à faible et forte concentration. Lorsqu'on individualise les valeurs basses de troponine (valeurs en dessous de 0,1 µg/L ;  $n = 7$  patients), l'effet de la biotine est significatif pour des concentrations supérieures ou égales à 150 ng/mL. L'effet est significatif dès 100 ng/mL pour le groupe à fortes concentrations (valeurs au-dessus de 0,1 µg/L,  $n = 21$  patients). À noter qu'à la dose de 150 ng/mL, un nombre significatif de résultats (7/28) passe sous le seuil de décision de 0,056 µg/L ( $p < 0,05$ ). Pour l'ajout de 1 000 ng/mL de biotine, les résultats deviennent inférieurs au seuil de décision pour 26 des 28 patients ; valeurs indétectables pour 15 des 28 patients. Pour la vitamine D totale ( $D_2 + D_3$ ), la comparaison des augmentations apparentes des concentrations de vitamine D obtenues dans chaque groupe ne montre une différence significative (biais supérieur à l'incertitude de mesure) que pour la concentration de 1 000 ng/mL ( $p < 0,05$ ). À noter qu'à la dose de 1 000 ng/mL de biotine, 4 patients passent d'un dosage inférieur à 30 ng/mL à un dosage supérieur à 30 ng/mL ( $p < 0,05$ , test non robuste). Pour les deux paramètres, troponine I cardiaque et vitamine D totale ( $D_2 + D_3$ ), les biais obtenus sont plus importants dans les groupes à faibles concentrations.

### Discussion

L'impact le plus probant de l'interférence de la biotine dans les immunodosages évalués ici est celui mis en évidence sur la troponine I cardiaque. Pour cette interférence minorant le résultat apparent, en adéquation avec des observations semblables [4], nous mettons en évidence un biais pouvant atteindre -100 % lors de l'ajout de 1 000 ng/mL de biotine chez ces patients ayant présenté un accident coronarien aigu. L'interprétation biologique des résultats



**Figure 1.** Interférence de la biotine sur la troponine I cardiaque et la vitamine D totale ( $D_2+D_3$ ). Dosage de la troponine I cardiaque et de la vitamine D totale ( $D_2+D_3$ ) chez 56 patients en fonction des concentrations de biotine ajoutées. Les résultats sont exprimés en biais relatifs (%) des valeurs initiales (sans ajout de biotine). Les différents groupes (totaux, faibles et fortes concentrations) sont représentés. Pour la troponine I cardiaque, la diminution est significative ( $p < 0,05$ ) dès l'ajout de 100 ng/mL de biotine. Les biais diminuent progressivement en fonction des concentrations de biotine ajoutées pouvant atteindre une valeur de -100 % pour un ajout de 1 000 ng/mL. L'augmentation des taux de vitamine D totale ( $D_2+D_3$ ) n'est significative ( $p < 0,05$ ) que pour la concentration de 1 000 ng/mL de biotine. Pour les deux paramètres, troponine I cardiaque et vitamine D totale ( $D_2+D_3$ ), les biais obtenus sont plus importants dans les groupes à faibles concentrations.

obtenus peut, à tort, conclure à l'absence de syndrome coronarien aigu et donc une abstention thérapeutique inappropriée, aux conséquences potentiellement dramatiques. Les niveaux de biotine à partir desquels une interférence a été constatée sont en adéquation avec les travaux de Gantt *et al.* [5] sur les systèmes Roche Elecsys. À l'inverse, comme déjà décrit dans la littérature [1], pour la vitamine D totale ( $D_2+D_3$ ), une interférence majorant le résultat initial et pouvant atteindre +113 % de biais est observée ici, mais seulement pour l'ajout des plus fortes doses de biotine. Cette interférence reste tout de même mineure pour la prise en charge médicale, les taux de vitamine D totale ( $D_2+D_3$ )

ne se normalisant que pour les concentrations initialement proches de l'intervalle bas des valeurs de référence (une valeur effondrée aura beaucoup de mal à se normaliser même aux plus fortes concentrations de biotine). L'impact analytique engendré n'est cependant pas négligeable. De même, un faux surdosage en vitamine D totale ( $D_2+D_3$ ) (cas n'ayant pas été traité ici) pourrait être observé avec des taux de vitamine D totale ( $D_2+D_3$ ) proches de l'intervalle haut des valeurs de référence. D'un point de vue mécanistique, nous expliquons cette différence d'impact sur nos résultats entre les deux paramètres par l'excès relatif de réactif (volumes de Sensibeads et de Chimibeads) dans les

**Tableau 1.** Interférence de la biotine sur la troponine I cardiaque et la vitamine D totale (D<sub>2</sub>+D<sub>3</sub>).

	Concentrations additionnelles finales en biotine (ng/mL)						
	0	50	100	150	200	500	1 000
<b>Troponine I cardiaque (groupe total)</b>							
Biais (%) ± SEM	0	-7,17 ± 1,03	-16,00 ± 2,31*	-25,71 ± 2,04*	-37,34 ± 2,54*	-76,17 ± 4,48*	-96,93 ± 1,42*
<b>Troponine I cardiaque (groupe à faibles concentrations ; valeurs &lt; 0,1 µg/L)</b>							
Biais (%) ± SEM	0	-12,77 ± 2,46	-27,67 ± 4,97	-34,34 ± 3,27*	-52,4 ± 3,28*	-94,61 ± 3,71*	-100*
<b>Troponine I cardiaque (groupe à fortes concentrations ; valeurs &gt; 0,1 µg/L)</b>							
Biais (%) ± SEM	0	-5,31 ± 0,79	-12,11 ± 2,03*	-22,83 ± 2,19*	-32,32 ± 2,36*	-70,03 ± 5,22*	-95,91 ± 1,85*
<b>Vitamine D totale (groupe total)</b>							
Biais (%) ± SEM	0	+3,69 ± 0,49	+5,75 ± 0,96	+6,18 ± 0,85	+6,78 ± 1,01	+14,82 ± 1,99	+40,35 ± 3,94*
<b>Vitamine D totale (groupe à faibles concentrations ; valeurs &lt; 20 ng/mL)</b>							
Biais (%) ± SEM	0	+3,91 ± 0,52	+7,01 ± 1,51	+7,37 ± 1,34	+7,52 ± 1,61	+20,05 ± 2,91	+49,31 ± 5,86*
<b>Vitamine D totale (groupe à fortes concentrations ; valeurs &gt; 20 ng/mL)</b>							
Biais (%) ± SEM	0	+3,41 ± 0,94	+4,06 ± 0,84	+4,58 ± 0,71	+5,79 ± 1,00	+9,75 ± 1,39	+28,4 ± 1,94*

SEM : erreur standard à la moyenne des biais ; Biais (%) : moyenne des biais par groupe de patients ; \*effet significatif (p < 0,05).

immunodosages type compétition (vitamine D totale (D<sub>2</sub>+D<sub>3</sub>) dans notre cas). Le volume d'échantillon prélevé, le volume d'anticorps biotinylé utilisé, la conception du dosage en une seule ou plusieurs étapes et la présence ou non d'une étape de lavage ont également été décrits comme étant des facteurs majorant ou minorant l'interférence [3]. Les métabolites de la biotine (bisorbiotine) revêtent également une importance particulière. Des études de dopage ont démontré une interférence plus importante de la biotine *in vitro* que *in vivo* [6]. Leur présence serait aussi liée à la chronicité de la prise, des concentrations de bisnorbiotine beaucoup plus élevées ont été retrouvées suite à des prises chroniques de biotine [7]. Même si cela est en contradiction avec les travaux de Trambas *et al.* [8], nous avons obtenu pour les deux paramètres des biais plus importants avec les groupes à faibles concentrations.

L'arrêt de la prise de biotine 2 à 5 jours [9] avant le dosage est inapplicable dans le contexte des accidents coronariens aigus. Cependant, dans le cas d'une incohérence clinico-biologique, la dilution des échantillons est une possibilité. Une alternative est l'utilisation d'une autre méthode n'utilisant pas la liaison biotine-streptavidine. Par ailleurs, Piketty *et al.* ont démontré que l'on pouvait s'affranchir de l'interférence en utilisant un réactif à base de microparticules recouvertes de streptavidine dont le mélange avec le plasma ou sérum du patient permet de capturer la biotine circulante [10]. Alerter les cliniciens de l'utilisation d'une méthode biotine-streptavidine et de l'interférence avec les traitements dans les comptes rendus d'analyse est indispensable.

**Liens d'intérêts :** les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêts en rapport avec cet article.

## Références

1. Piketty ML, Souberbielle JC. La biotine, une interférence analytique émergente. *Ann Biol Clin* 2017 ; 75(4) : 366-8.
2. Cuvelier I. Vitamine B8. In : Cahier de formation en biologie médicale. *Bioforma* 2007 ; 38 : 141-50.
3. Piketty M, Polak M, Flechtner I, Gonzales-Briceno L, Souberbielle J-C. False biochemical diagnosis of hyperthyroidism in streptavidin-biotin-based immunoassays: the problem of biotin intake and related interferences. *Clin Chem Lab Med* 2017 ; 55(6) : 780-8.
4. Frame JJ, Joshi PH, Mwangi C, Gunsolus I, de Lemos JA, Das SR, *et al.* Susceptibility of cardiac troponin assays to biotin interference. *Am J Clin Pathol* 2019 ; 151 : 486-93.
5. Gantt K, Muthukumar A. Systematic analysis of biotin interference in Roche chemistry assays [abstract]. *Am J Clin Pathol* 2018 ; 149(Suppl. 1) : S7-12.
6. Willeman T, Casez O, Faure P, Gauchez AS. Evaluation of biotin interference on immunoassays: new data for troponin I, digoxin, NT-Pro-BNP, and progesterone. *Clin Chem Lab Med* 2017 ; 55(10) : e226-9.
7. Li D, Radulescu A, Shrestha RT, Root M, Karger AB, Killeen AA, *et al.* Association of biotin ingestion with performance of hormone and nonhormone assays in healthy adults. *JAMA* 2017 ; 318(12) : 1150-60.
8. Trambas C, Lu Z, Yen T, Sikaris K. Characterization of the scope and magnitude of biotin interference in susceptible Roche Elecsys competitive and sandwich immunoassays. *Ann Clin Biochem* 2018 ; 55 : 205-15.
9. Minkovsky A, Lee MN, Dowlathshahi M, Angell TE, Mahrokhian LS, Petrides AK, *et al.* High-dose biotin treatment for secondary progressive multiple sclerosis may interfere with thyroid assays. *AACE Clin Case Rep* 2016 ; 2(4) : e370-3.
10. Piketty ML, Polak M, Flechtner I, Gonzales-Briceño L, Souberbielle JC. High-dose biotin therapy leading to false biochemical endocrine profiles: validation of a simple method to overcome biotin interference. *Clin Chem Lab Med* 2017 ; 55(6) : 780-8.