



UNIVERSITE DE LILLE
FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG
Année : 2019

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Evaluation de l'interférence de la biotine sur certains
immunodosages**

Présentée et soutenue publiquement le 4 juillet 2019 à 16h
au Pôle Formation

Par Stéphanie Degraeve

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Pascal Pigny

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Thierry Brousseau

Monsieur le Professeur Bernard Sablonnière

Directeur de Thèse :

Monsieur le Professeur Gérard Forzy

Avertissement

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Abréviations

ANC : apport nutritionnel conseillé

ANSM : agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

BTD : biotinidase

EDSS : expanded disability status scale

FSH : Follicle stimulating hormone (= hormone folliculo-stimulante)

HCS : holocarboxylase synthetase

IRM : imagerie par résonance magnétique

LOCI : luminescent oxygen channeling immunoassay

NR : non représentatif

PR : primaire progressive

RR : rémittente-récurrente

SEP : sclérose en plaques

SP : secondairement progressive

SMVT : sodium dependent multivitamin transport system

SNC : système nerveux central

TSH : thyroid stimulating hormone (= thyreostimuline)

TW25 : timed 25-foot-walk

Table des matières

Introduction.....	1
I. La biotine	1
a. La molécule.....	1
b. Structure.....	2
II. Physiologie de la biotine.....	2
a. Absorption et transport.....	2
b. Métabolisme.....	3
c. Catabolisme	3
d. Dose recommandée	4
III. Pathologie associée à la biotine	4
a. Déficit en biotinidase.....	4
b. Déficit en holocarboxylase synthétase.....	5
c. Maladie des ganglions de la base sensible à la biotine	5
d. Carence en biotine	6
IV. Sclérose en plaques	6
a. Généralités	6
b. Etude Pilote sur l'administration de la biotine à forte dose	10
c. Compte-rendu de patient sous biotine à forte dose.....	11
V. Cosmétique.....	11
VI. Immunodosage biotine/streptavidine	12
a. Technique LOCI.....	12
b. Interférence.....	13
c. Stratégies d'évitement	13
Objectif de l'étude.....	15
Matériel et Méthode.....	16
I. Le protocole.....	16
II. L'automate et les tubes utilisés.....	16
III. La biotine	17
IV. Le déroulement	17
V. Analyse statistique	17
Résultats.....	19
I. TSH.....	19

II. T3 libre.....	21
III. T4 libre.....	22
IV. Troponine hs.....	23
V. CA 19.9.....	24
VI. CA 15.3.....	25
VII. Ferritine.....	26
VIII. Prolactine.....	27
IX. FSH.....	28
Discussion.....	33
I. Principaux résultats.....	33
II. Limites de l'étude.....	34
Conclusion.....	35
Bibliographie.....	36
Annexes.....	39

Introduction

Madame P. se présente en consultation d'endocrinologie avec un bilan thyroïdien perturbé. Elle a, pour antécédents, une sclérose en plaques depuis 1976 traitée actuellement par Cerenday® 100mg x 3/jour, un syndrome anxio-dépressif stable et une dystrophie thyroïdienne multinodulaire connue depuis 10 ans et traitée par du Lévothyrox® 25µg/jour. Il n'existe pas d'antécédents familiaux de dysthyroïdie. Le bilan en ville montrait une TSH à 1,5 mUI/l avec une T4 libre à 5,65 ng/dl (N = 0,61 - 1,12). L'examen clinique ne retrouve pas d'arguments en faveur d'une dysthyroïdie (pas d'asthénie, de variation pondérale, d'exophtalmie), la palpation thyroïdienne est sans particularité. L'échographie thyroïdienne retrouve un kyste au pôle supérieur du lobe droit et une image nodulaire hypoéchogène et homogène, non hypervascularisée et bien délimitée de 3,9 x 2,4 mm. Un contrôle biologique a été fait avec, pour résultat, TSH 1,3 mUI/l (0,4 à 3,5), fT4 > 60 ng/l (6,6 à 14,7), fT3 27,3 ng/l (2,5 à 3,9), T4 totale 125 ng/ml (45 – 115). Devant cette incohérence clinico-biologique, il a été réalisé le dosage des anticorps, Ac TPO 7 UI/ml (<9) et Ac anti récepteur TSH < 1 UI/l (<1,5). En regardant les fiches techniques, on constate que la fT3 (compétitif), fT4 (compétitif) et Ac TPO (sandwich) utilisent le marquage biotine/streptavidine dans leur réaction (pour les autres paramètres c'est un marquage à la phosphatase alcaline qui est utilisé). Or le Cerenday® est de la biotine pure.

Dans le même temps, des publications portant sur les interférences de la biotine à forte dose apparaissent dans les revues spécialisées (1–3) et l'ANSM publie un communiqué de réactovigilance vis-à-vis de la biotine interférant sur les immunodosages.

I. La biotine

a. La molécule

Découverte en 1931 et synthétisé en 1943, la biotine, aussi appelée vitamine H, B7, B8 ou encore coenzyme R, est une vitamine hydrosoluble méconnue mais indispensable au bon fonctionnement du corps humain.

b. Structure

Dénomination internationale IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry): Acide 5-[(3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl]pentanoïque

Formule : $C_{10}H_{16}N_2O_3S$

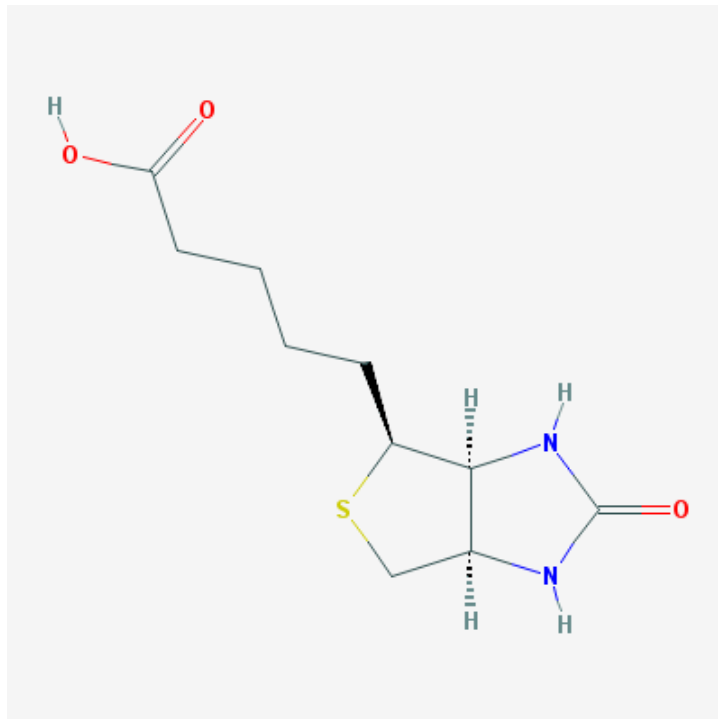


Figure 1 : Structure moléculaire de la biotine (4)

II. Physiologie de la biotine

a. Absorption et transport

De la forme liée aux protéines présente dans les aliments, à la forme libre pouvant être absorbée par la partie proximale de l'intestin, la biotine subit l'action des protéases et peptidases gastro-intestinales et enfin de la biotinidase. Aux concentrations physiologiques, l'absorption par les

entérocytes se fait de manière active via le transporteur SMVT (sodium dependent multivitamin transport system) (5,6). Aux concentrations pharmacologiques, la diffusion passive est utilisée.

Certains médicaments rentrent en compétition avec la biotine pour le transporteur SMVT et inhibent ainsi l'absorption de la biotine, c'est le cas des anti-épileptiques : primidone, carbamazépine, phénytoïne, phénobarbital et le valproate de sodium. L'alcool, quant à lui, diminue le nombre de récepteur présent sur les entérocytes et donc restreint l'absorption de la biotine (6).

La majorité de la biotine (81%) circule dans le plasma sous forme libre, le reste est lié aux protéines de manière réversible ou irréversible (7).

b. Métabolisme

La biotine est le coenzyme de 3 carboxylases alimentant le cycle de Krebs:

- la pyruvate carboxylase qui transforme le pyruvate en oxaloacétate lors de la néoglucogénèse
- la propionyl-CoA carboxylase utile dans le métabolisme des acides aminés branchés (Leucine, Isoleucine et Valine)
- la β -méthylcrotonyl-CoA carboxylase est impliquée dans le métabolisme de la leucine

Et sert de co-facteur aux deux acétyl-CoA carboxylases 1 et 2 (ACC1 et ACC2) qui catalysent la première étape de la synthèse des acides gras à longue chaîne (8,9).

c. Catabolisme

Il existe 2 voies de dégradation de la biotine : l'une par β -oxydation de la chaîne latérale à 5 carbones donnant de la bisnorbiotine et de la tétranorbiotine et l'autre par oxydation du soufre du cycle tétrahydrothiophène donnant de la biotine sulfoxyde et de la biotine sulfone. L'élimination urinaire se fait sous forme de biotine libre et de bisnorbiotine principalement (10).

d. Dose recommandée

L'apport nutritionnel conseillé (ANC) en France est de 100 à 300µg de biotine par jour pour une population de 20 à 64 ans. Pour les personnes > 64 ans, il n'y a pas de données existantes (11).

Concernant les patients sous nutrition parentérale, la dose recommandée est de 60µg/jour (12).

Chez le grand brûlé, il faut multiplier la dose par 5 à 10 (13).

III. Pathologie associée à la biotine

a. Déficit en biotinidase

Avec une prévalence estimée à 1/61 000, le déficit en biotinidase est une pathologie rare. Elle apparaît le plus souvent en période néonatale même si des révélations plus tardives ont été décrites.

Cliniquement, le déficit profond (activité sérique résiduelle de la biotinidase < 10% de l'activité moyenne) se traduit par des convulsions, ataxie, hypotonie, alopecie, éruptions eczématiformes, surdité. Le déficit partiel (activité sérique résiduelle de 10 à 30% de la moyenne) est le plus souvent asymptomatique avec des manifestations durant les périodes de « stress ».

Le gène défaillant est celui de la biotinidase (BTD) situé sur le chromosome 3 (3p25). Il existe plus de 150 mutations responsables du déficit en BTD expliquant la profondeur variable du déficit. C'est une pathologie autosomique récessive (14,15).

Le diagnostic se fait sur la clinique et le dosage de l'activité sérique de la biotinidase.

Le traitement repose sur la supplémentation per os en biotine sous forme libre à vie à raison de 5 à 10 mg/jour (8).

b. Déficit en holocarboxylase synthétase

Le déficit en holocarboxylase synthetase (HCS) appartient à la catégorie des Erreurs Innées du Métabolisme (EIM) et en est un des plus faibles représentants, son incidence annuelle est estimée à 1/200 000 naissances vivantes.

Les symptômes, hypotonie, léthargie anorexie, vomissements, dermatite exfoliative, apparaissent très tôt dans la vie, dans les heures ou les semaines suivant la naissance. Au niveau biologique, on retrouve une acidose lactique avec cétose et une hyperammoniémie.

Ce sont les mutations sur le gène HCS, situées sur le chromosome 21, en position 21q22.1 qui entraînent une diminution de l'activité de l'holocarboxylase synthetase. Le déficit est transmis sur un mode autosomique récessif.

Une supplémentation de 60-80mg de biotine par jour permet de suppléer le déficit (8).

c. Maladie des ganglions de la base sensible à la biotine

C'est une maladie apparaissant vers l'âge de 5 ans (1-12 ans). Des épisodes encéphalitiques subaigus et récurrents associant plus ou moins des troubles de la conscience, des crises d'épilepsie, une ophtalmoplégie, des dystonies, une atteinte pyramidale, des troubles de la déglutition et parfois un coma pouvant mener au décès, en sont les symptômes. Au niveau radiologique à la phase aiguë, on retrouve des lésions du noyau caudé et du putamen, associées à des anomalies du signal du cortex cérébral, cérébelleux et du tronc cérébral. A long terme et sans traitement, une atrophie peut s'y installer. Une mutation transmise sur un mode autosomique récessif du gène SLC19A3 situé sur le chromosome 2 en position 2q36.3, codant un transporteur de la thiamine (hTHTR2, human Thiamine Transporter 2) en est la cause. Le traitement à base de biotine (5-10mg/kg/j) associé à de la thiamine permet une récupération de tout ou une partie des symptômes en quelques jours (8,16).

d. Carence en biotine

La carence en biotine se voit chez les mangeurs de blancs d'œufs crus (riche en avidine) et chez les patients sous nutrition parentérale prolongée, non supplémentée en biotine.

IV. Sclérose en plaques

a. Généralités

La sclérose en plaques ou SEP est la première cause de handicap acquis chez l'adulte jeune, elle est la plus fréquente pathologie inflammatoire et auto-immune démyélinisante du système nerveux central. Son étiologie n'est pas encore totalement connue même si on évoque l'action environnementale (gradient Nord-Sud, infection virale à EBV) ou des susceptibilités génétiques (STK11 ou HLA-DRB1) (17,18).

Physiopathologie : l'axone conduit l'influx électrique du motoneurone jusqu'à la synapse, pour ce faire, il est entouré de myéline qui agit comme une gaine isolante et ainsi augmente la vitesse de conduction de l'information. Dans la SEP, il y a une destruction de la myéline par les cellules immunitaires : lymphocyte T CD4 (via la voie TH1 pro-inflammatoire), lymphocyte T régulateur (via une mutation du gène codant pour FOXP3 inhibant ainsi les lymphocytes T régulateurs), lymphocyte B ou macrophage.

Les symptômes dépendent de la localisation des plaques de démyélinisation et d'inflammation, suivant que, les plaques touchent une ou plusieurs fibres nerveuses préférentielles ou accessoires, d'une fonction motrice, sensorielle... les conséquences ne seront pas les mêmes. La remyélinisation par les oligodendrocytes immatures (précurseurs d'oligodendrocytes) est possible via des facteurs pro-myélinisant comme le FGF2 (fibroblast growth factor 2), le PDGF-A (platelet derived growth factor A), la sémaphorine 3F ou les facteurs de l'inflammation. La myélinisation peut être entravée par des facteurs inhibiteurs comme la sémaphorine 3A, LINGO-

1 (Leucine Rich Repeat And Ig Domain Containing 1) ou encore PSA-NCAM (forme polysialylée de la molécule d'adhérence NCAM, neural cell adhesion molecule). Cette nouvelle gaine de myéline est plus fine (moins d'enroulement du prolongement de l'oligodendrocyte autour de l'axone), plus petite (la distance entre deux nœuds de Ranvier est écourtée), elle apparaît plus pâle (19).

Le handicap s'aggrave au fur et à mesure de nouvelles lésions. (20)

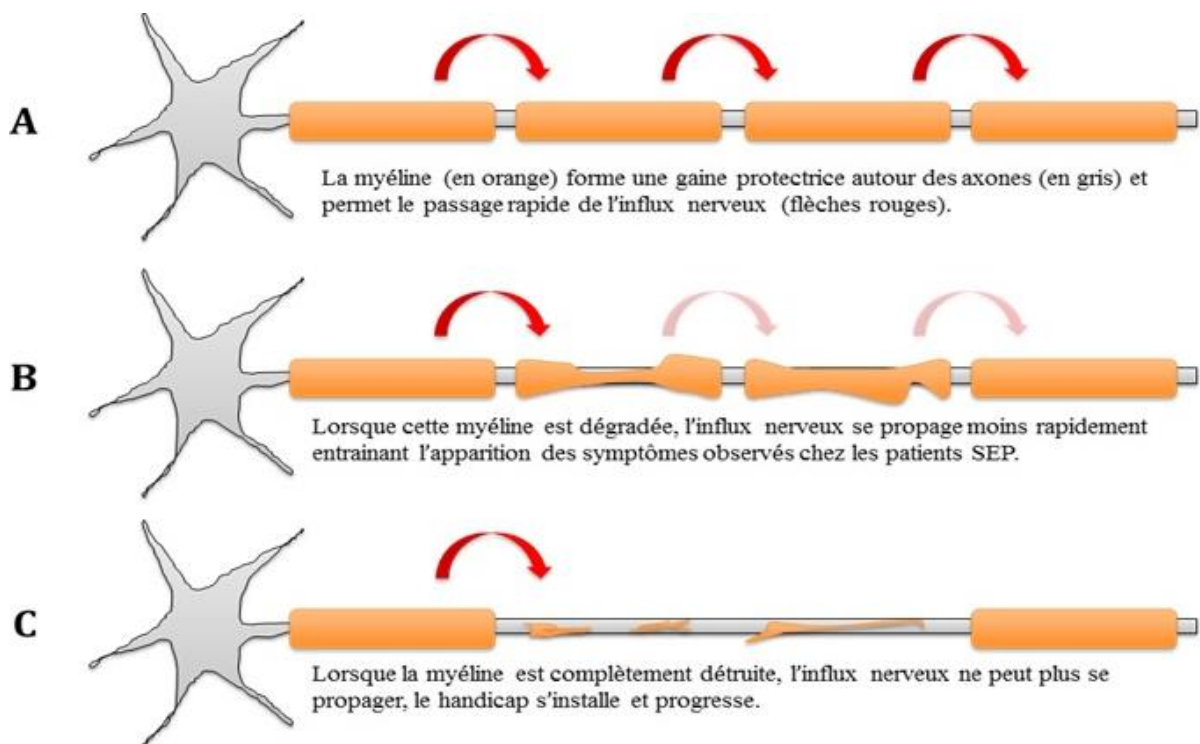


Figure 2 : Physiopathologie de la SEP (21)

Il existe 3 formes de SEP :

- la Rémittente-Récurrente (RR) qui touche 85% des patients au début. Elle évolue par poussées, une poussée se définissant par l'apparition de nouveaux symptômes, la réapparition d'anciens symptômes ou l'aggravation de symptômes préexistants. La poussée doit durer plus de 24 heures, et l'intervalle entre 2 poussées doit être supérieur à 1 mois. Les poussées peuvent régresser totalement ou partiellement (22). Son début se situe vers 30 ans.

- la Secondaire Progressive (SP) est l'évolution naturelle de 50% des formes rémittentes. Elle survient dans les 15-20 ans après le début de la maladie et se caractérise par une progression continue de la maladie, entrecoupée ou non de poussées et entrecoupée ou non de plateau.
- la Primaire Progressive (PP) représente 15% des patients. Une progression continue dès le début de la maladie, avec plus ou moins des phases de plateau et l'absence de poussées la caractérise. L'âge de survenue est plus tardif que pour la forme rémittente, vers 40 ans en moyenne. (22-24)

Les signes cliniques sont variables d'un individu à l'autre :

- la névrite oculaire rétrobulbaire est le symptôme inaugural de la SEP le plus fréquemment retrouvé (25% des cas), elle regroupe une baisse d'acuité visuelle sur quelques heures à quelques jours, associée dans 80% des cas à des douleurs rétrobulbaires à la mobilisation oculaire traduisant le caractère inflammatoire de la pathologie. L'atteinte unilatérale est la règle. Une dyschromatopsie rouge/vert, une papillite (œdème papillaire), un scotome central ou cæocentral peuvent être présents. Une régression des symptômes avec restauration de l'acuité visuelle se fait entre 3 et 6 mois (pour 80% des personnes), une corticothérapie parentérale permet de réduire la durée de la crise mais pas le risque de survenue d'une SEP.

Une réminiscence de la baisse d'acuité visuelle durant quelques minutes peut s'observer dans des situations où une élévation de la température corporelle comme après un effort physique ou un bain chaud est présente. C'est le phénomène d'Uhthoff, s'expliquant par un bloc de conduction transitoire et réversible de fibres nerveuses démyélinisées (22,25,26).

Les autres atteintes ophtalmiques potentiellement retrouvées dans la SEP sont paralysie du VI (nerf abducens), paralysie internucléaire, nystagmus ou encore une périphlébite rétinienne (engainement blanchâtre des veines rétiniennes périphériques) (25).

- troubles moteurs avec une atteinte pyramidale, une monoparésie, une paraparésie ou plus rarement une hémiparésie (27)
- troubles sensitifs retrouvés chez 20% des patients lors de la phase initiale. Cela englobe des paresthésies (sensations désagréables peu douloureuses et non déclenchées par des stimuli extérieurs regroupant fourmillements, picotements, sensation d'eau qui coule...), une allodynie (hypersensibilité au toucher) ou l'inverse, l'hypoesthésie voire l'anesthésie.

Le diagnostic repose sur un faisceau d'arguments, clinique et radiologique, une dissémination spatiale et temporelle des lésions et symptômes est la règle. Les critères révisés de McDonald de 2010 sont la référence actuelle pour diagnostiquer la SEP (22,28).

Tableau 1 : Critères révisés de McDonald de 2010

Dissémination spatiale	Dissémination temporelle
<p>≥ 1 lésion T2 dans, au moins, 2 des 4 territoires du SNC</p> <ul style="list-style-type: none"> • périventriculaire <i>(lésion touchant le ventricule)</i> • juxtacorticale <i>(lésion touchant le cortex)</i> • sous-tentorielle <i>(lésion dans le cervelet ou le tronc cérébral)</i> • médullaire <i>(En cas de syndrome médullaire ou du tronc cérébral, les lésions symptomatiques sont exclues des critères diagnostiques et ne participent pas au compte des lésions.)</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Une nouvelle lésion T2 et/ou prenant le gadolinium sur une IRM de suivi quel que soit le moment de l'IRM initiale • La présence simultanée de lésions asymptomatiques rehaussées et non-rehaussées par le gadolinium à n'importe quel moment.

Tableau 2 : Critères pour le diagnostic de la forme primaire progressive

Progression des symptômes sur 1 an

ET

2 des 3 critères suivants :

- **Dissémination spatiale cérébrale (≥ 1 lésion T2 en périventriculaire, juxtacorticale et/ou sous-tentorielle)**
- **Dissémination spatiale médullaire (≥ 2 lésions T2 médullaires)**
- **LCR positif : bandes oligoclonales et/ou élévation de l'index IgG**

Le traitement de la SEP se décompose en 2 parties.

Le traitement de la poussée par corticoïdes à fortes doses en intraveineux (1g /jour pendant 3 jours de méthylprednisone) si la clinique est symptomatique. Cela permet de réduire la durée de la poussée et de favoriser sa récupération mais cela ne prévaut en rien la survenue d'une nouvelle poussée.

Le traitement de fond, quant à lui, a pour but de réduire la fréquence des poussées et de ralentir la progression du handicap. Il utilise soit un immunomodulateur comme l'interféron β , l'acétate de glatiramère, le diméthyl fumarate ou encore le tériflunomide, ces deux dernières molécules se prenant par voie orale, offrant ainsi un confort par rapport aux autres molécules injectables de façon quotidienne ou hebdomadaire. (27)

b. Etude Pilote sur l'administration de la biotine à forte dose

L'étude MS-SPI, étude pilote comparant le MD1003 (biotine à forte dose) versus placebo dans les SEP secondairement progressives ou d'emblée progressives, est une étude multicentrique française incluant 154 patients. Les deux critères d'inclusion étaient un score EDSS compris entre 4,5 et 7 et une progression du score EDSS au cours des deux années précédant l'inclusion dans

l'étude. Un schéma de 100mg de biotine 3 fois par jour pendant 1 an a été appliqué. Le critère de jugement principal était une amélioration au bout de 9 mois et confirmation de cette amélioration au bout de 12 mois. L'amélioration représentait soit une diminution du score EDSS (d'au moins 1 point pour un score EDSS pré-inclusion $\leq 5,5$ et d'au moins 0,5 point pour un score EDSS ≥ 6), soit une amélioration d'au moins 20% du score au TW25 (test mesurant la vitesse de marche du patient sur une distance de 25 pieds (soit 7.62m)).

Les résultats ont été concluants et significatifs avec une amélioration du score EDSS ou du TW25 pour 12,6% des patients traités par biotine contre aucun patient ayant le placebo (29–31).

c. Compte-rendu de patient sous biotine à forte dose

Certains articles rapportent des effets secondaires positifs à l'utilisation de la biotine à forte dose comme une amélioration d'un trouble respiratoire d'origine mixte (SEP et sclérodémie) par diminution de la fibrose ou encore sur l'amélioration de la vie quotidienne (32–35).

En revanche, certains patients ont vu un rebond d'inflammation de leur SEP secondairement progressive sous biotine à forte dose (36).

V. Cosmétique

De nombreux compléments alimentaires plus ou moins dosés en biotine se trouvent sur le marché. Ils sont en vente libre dans les pharmacies, parapharmacies ou encore sur internet. A ce titre, ils ne sont pas considérés comme des sources potentielles d'interaction avec les dosages biologiques pour les utilisateurs. Car ce ne sont pas des « médicaments », donc rien de néfaste ne peut en découler selon l'usager. La cosmétologie unguéale en fait partie, l'apport quotidien en biotine améliorerait la résistance de l'ongle (37,38). La levure de bière contient aussi de la biotine. L'ongle étant composé de kératine comme les cheveux, il est normal de retrouver de la

biotine dans les cosmétiques capillaires, sous forme de gélules à avaler ou bien incorporé dans les shampoings et autres lotions capillaires (39–41).

La dose journalière la plus souvent prescrite est de 15 mg (42).

VI. Immunodosage biotine/streptavidine

La majorité des laboratoires utilise la technologie biotine-streptavidine pour leurs immunodosages. Une très grande affinité, une bonne stabilité des réactifs et une biotinylation possible de nombreuses molécules en font un procédé apprécié des biologistes et des fournisseurs (43).

a. Technique LOCI

L'avidine est une glycoprotéine extraite du blanc d'œuf. De taille volumineuse (66 000 Daltons), elle comporte 4 sites de fixations ayant une très forte affinité pour la biotine ($K_d = 10^{-15}M$). Sa partie glycosylée induit un bruit de fond non négligeable, de ce fait il lui est préféré la streptavidine, une molécule semblable à l'avidine, issue de *Streptomyces avidinii* et pesant 60 000 daltons. L'absence de chaîne glycosylée sur la streptavidine réduit considérablement le bruit de fond.

La technologie LOCI (Luminescent Oxygen Channeling Immunoassay) utilise deux types de billes en latex : Chemibead et Sensibead et un anticorps biotinylé de la molécule recherchée.

La bille Chemibead est recouverte soit d'anticorps anti-molécule recherchée (méthode sandwich), soit d'antigène (méthode par compétition) et contient un colorant chimiluminescent.

La bille Sensibead est recouverte de streptavidine et contient un colorant photosensibilisateur.

En méthode sandwich, le sérum est incubé avec les Chemibeads et l'anticorps (Ac) biotinylé pour former un sandwich bille/analyte recherché/Ac biotinylé. Dans un second temps, les Sensibeads sont ajoutés et se lient à la biotine via la streptavidine.

Une stimulation lumineuse à 680 nm sur le Sensibeads permet de générer un Oxygène excité (singulet $^1\text{O}_2$). Cet oxygène, qui a une durée de vie très courte, se diffuse au Chemibeads déclenchant ainsi une réaction chimiluminescente à 612 nm qui est mesurée.

Le signal mesuré est proportionnel à la concentration de l'analyte recherché en méthode sandwich.

Pour la méthode par compétition, la bille Chemibeads est recouverte d'un antigène ayant une liaison faible pour l'analyte recherché. Lors de la première incubation, l'échantillon patient est mis en contact avec les anticorps biotinylés, cela permet de saturer une partie des anticorps. Dans un second temps, les Chemibeads sont ajoutés et forment des immunocomplexes Ac biotinylé/bille avec les anticorps biotinylés libres restants. Puis les Sensibeads arrivent et se lient à la biotine via la streptavidine et, grâce à la stimulation lumineuse, l'oxygène excité déclenche une chimiluminescence qui est mesurée.

Le signal mesuré est inversement proportionnel à la concentration de l'analyte recherché. (cf. Annexes)

b. Interférence

La biotine exogène est libre dans le sérum, quand les Sensibeads sont ajoutés à la réaction, la biotine libre se fixe sur la streptavidine, saturant ainsi les billes. Les anticorps biotinylés, liés aux Chemibeads, ne peuvent plus s'accrocher au Sensibeads et donc faire la réaction chimiluminescente.

Cela se traduit par une perte de signal et donc une sous-estimation de la concentration de l'analyte recherché et une sur-estimation en cas de méthode compétitive. (cf. Annexes)

c. Stratégies d'évitement

La méthode la plus simple pour éviter une interférence est d'arrêter temporairement le traitement par la biotine pour laisser le temps à l'organisme d'éliminer la molécule. Cela prend plus ou

moins de temps suivant la posologie et la fonction rénale du patient. Il est recommandé de laisser 24h à 48h pour une prise 10 à 30mg et 1 semaine pour une posologie de 300mg/j comme pour les patients atteints de SEP. Dans le cas de patients insuffisants rénaux, le délai d'abstention sera allongé du fait de l'accumulation de biotine dans l'organisme.

Cette recommandation est valable :

- si le prescripteur est au courant de la prise de biotine (en particulier pour les traitements à visée cosmétique)
- si le patient n'est pas atteint d'une maladie héréditaire ou métabolique nécessitant une prise quotidienne de biotine (ex : déficit en biotinidase)
- si ce n'est pas une situation d'urgence (ex : dosage de troponine dans le cadre d'une suspicion d'infarctus du myocarde)

Dans le cas où l'arrêt du traitement est impossible, il existe des protocoles de neutralisation de biotine exogène.

On peut également utiliser une autre technique de dosage n'utilisant pas la technologie biotine-streptavidine (ce qui peut potentiellement impliquer une sous-traitance de l'analyse et donc augmenter le délai de rendu du résultat). Cela peut se faire si la prise de biotine est connue ou si il y a une discordance clinico-biologique avec une prise de biotine méconnue (9,43,44).

Objectif de l'étude

La biotine, en tant que médicament ou complément alimentaire, interagit avec de nombreuses analyses biochimiques utilisant la technologie biotine-streptavidine notamment le dosage de la TSH. La méconnaissance de la prise de biotine par le biologiste ou le clinicien peut entraîner des retards, voire des erreurs diagnostics.

L'objectif de cette thèse est de tester un panel de 9 analyses avec des concentrations croissantes connues de biotine afin de définir un seuil de biotine au-delà duquel la valeur rendue est erronée.

Matériel et Méthode

Cette étude s'est déroulée au laboratoire de l'hôpital Saint-Philibert de Lomme appartenant au Groupement des Hôpitaux de l'Institut Catholique de Lille (GHICL) au mois d'avril et mai 2018.

I. Le protocole

Les analyses concernées sont :

- TSH (< 0,2 μ UI/ml ; 0,4-4 μ UI/ml et > 10 μ UI/ml)
- T3 libre (< 1 pg/ml et > 4,87 pg/ml)
- T4 libre (< 7 pg/ml et > 20 pg/ml)
- Troponine (< 0,015 ng/ml et > 0,50 ng/ml)
- CA 19-9 (< 37 UI/ml et > 100 UI/ml)
- CA 15-3
- Ferritine (< 350 ng/ml et > 1000 ng/ml)
- Prolactine (< 16 ng/ml et > 18 ng/ml)
- FSH

3-4 patients requis par paramètres et sous-paramètres.

5 paliers de biotine : 250, 500, 750, 1000 et 1500 ng/ml ont été testés pour chaque paramètre.

Dans un souci de reproductibilité, les mesures ont été faites 2 fois sur le même automate avec le même aliquot et dans le même temps.

II. L'automate et les tubes utilisés

Les analyseurs utilisés sont des Dimension Vista® 1500 de la société Siemens avec un système automatisé pour centrifuger, acheminer et reboucher les tubes après l'analyse faite. Les tubes

ainsi rebouchés par une feuille d'aluminium sont disposés dans des portoirs et stockés à température ambiante pendant 48h. Pour les tubes passés en mode manuel (les tubes urgents ou ceux avec une étiquette illisible par exemple), ils sont refermés avec un bouchon et mis sur un portoir avec ceux passés sur l'automate.

Les prélèvements sont faits sur des tubes secs avec gel séparateur (BD Vacutainer®), ils étaient sélectionnés dans les prélèvements datant de 24 à 48h. Après leur sélection, ils étaient soit techniqués dans la foulée, soit conservés au congélateur à -20°C.

III. La biotine

De la biotine pure de la marque Cooper® a été fourni par la pharmacie de l'hôpital. Les dilutions ont été faite dans du sérum physiologique à 37°C afin d'obtenir une concentration à 25 ng/µl.

Une nouvelle solution était préparée à chaque journée de dosages.

IV. Le déroulement

Au vu de la difficulté à trouver certaines valeurs (tel les T3 libre et T4 libre), le nombre de tubes requis a été revu à la baisse et pour ce qui est des valeurs acceptées dans l'étude, les critères ont été assouplis.

Pour pallier à la dégradation éventuelle des analytes dans le temps, tous les tubes ont été ré-analysés sans ajout de biotine en début de manipulation.

V. Analyse statistique

Le tableur Excel a été utilisé pour les calculs de biais d'interférence et le logiciel GraphPad Prism pour les courbes. Les valeurs retenues ont été les moyennes calculées à partir des valeurs brutes des deux passages. Pour rendre les tableaux plus lisibles, les valeurs ont été arrondies au centième

(hormis pour les valeurs très basses). Pour réaliser les calculs et les courbes, les valeurs extrêmes ont été amputés de leur signe < ou >.

L'interférence a été évaluée conformément à la norme CLSI/NCCLS EP7-A2. Un biais représente la différence dans les résultats entre l'échantillon de contrôle (sans la substance interférente) et l'échantillon de test (avec la substance interférente) exprimée en pourcentage. Un biais supérieur à 10 % est considéré comme une « interférence ». (45)

Résultats

Les résultats sont présentés sous forme de tableaux pour chaque paramètre. Les zones de couleur gris clair représentent les paramètres non dosés du fait du seuil limite déjà atteint au palier inférieur. Le gris foncé signale les biais d'interférence > 10%. NR remplace le résultat quand celui-ci est non-représentatif.

I. TSH

Normes :

0,4 – 3,5 mUI/l

Pour un patient hospitalisé : 0.05 – 10 mUI/l

Grossesse 1^{er} trimestre : < 2.5 mUI/l

2^{ème} trimestre 0.2 – 3 mUI/l

3^{ème} trimestre 0.3 – 3 mUI/l

C'est une méthode sandwich il y a donc un risque de sous-estimation, sur la fiche technique, le seuil d'interférence est de 100 ng/ml.

Sur les 13 échantillons, 10 dépassent le seuil des 10% dès le premier palier de biotine (250 ng/ml). Au second palier (500 ng/ml), 100% des échantillons sont biaisés.

Tableau 3 : Dosage de la TSH à des concentrations croissantes de biotine et calcul de l'interférence (en pourcentage)

Biotine (ng/ml) Echantillon	0	250	500	750	1000	1500
1	< 0,005	< 0,0050	0,00695	0,00945	0,00905	0,01
		NR	39,00%	89,00%	81,00%	100,00%
2	0,006	0,0055	0,007	0,0092	bouchage	0,00925
		-8,33%	16,67%	53,33%	NR	54,17%
3	0,0241	0,01675	0,01025	0,0099	0,01105	0,01245
		-30,50%	-57,47%	-58,92%	-54,15%	-48,34%
4	0,06	0,04	0,01	0,01	0,01	0,01
		-34,04%	-81,57%	-82,63%	-80,07%	-78,84%
5	0,13	0,09	0,01	0,01	0,01	0,01
		-35,75%	-91,70%	-93,08%	-93,01%	-91,37%
6	0,56	0,37	0,11	0,01	0,01	0,01
		-33,82%	-79,59%	-97,69%	-98,03%	-98,03%
7	1,82	1,67	0,35	0,02	0,01	0,01
		-7,89%	-80,83%	-99,06%	-99,38%	-99,59%
8	3,92	3,27	0,69	0,04	0,03	0,02
		-16,54%	-82,29%	-98,95%	-99,25%	-99,48%
9	4,06	3,38	1,53	0,04	0,03	0,02
		-16,66%	-62,24%	-98,96%	-99,33%	-99,59%
10	11,27	6,53	0,08	0,04	0,03	0,02
		-42,06%	-99,32%	-99,64%	-99,75%	-99,83%
11	16,60	8,75	0,11	0,06	0,05	0,02
		-47,32%	-99,32%	-99,66%	-99,73%	-99,86%
12	22,64	19,18	4,18	0,24	0,11	0,07
		-15,28%	-81,53%	-98,95%	-99,51%	-99,71%
13	53,50	46,07	10,94	0,44	0,20	0,07
		-13,88%	-79,56%	-99,18%	-99,62%	-99,86%

II. T3 libre

Normes : 2,2 - 4 ng/l

C'est une méthode compétitive il y a donc un risque de sur-estimation, sur la fiche technique, le seuil d'interférence est de 50 ng/ml.

La T3 libre est très vite impactée par la présence de biotine exogène dans son dosage. Dès le palier à 250 ng/ml, le biais positif passe de 71,94% pour des valeurs élevées en T3 libre (échantillon 4) et à 1194% pour l'échantillon 1 qui présentait une valeur faible réelle en T3 libre.

Il n'y a pas de dilution prévue si le résultat est > 30 ng/l.

Les résultats de l'échantillon 5 ne sont pas représentatifs, car la valeur réelle en T3 libre est proche de la limite haute de linéarité de l'automate.

Tableau 4 : Dosage de la T3 libre à des concentrations croissantes de biotine et calcul de l'interférence (en pourcentage)

Biotine (ng/ml) Echantillon	0	250	500	750	1000	1500
1	0,64	8,29	> 30	> 30		
		1194,53%	4587,50%	4587,50%		
2	1,14	4,37	> 30	> 30		
		283,33%	2531,58%	2531,58%		
3	1,4	6,59	> 30	> 30		
		370,36%	2042,86%	2042,86%		
4	10,46	17,99	> 30	> 30		
		71,94%	186,81%	186,81%		
5	27,45	> 30	> 30			
		9,29%	9,29%			

III. T4 libre

Normes : 7,6 – 14,6 ng/l

C'est une méthode compétitive il y a donc un risque de sur-estimation, sur la fiche technique, le seuil d'interférence est de 250 ng/ml.

Idem pour la T3 libre, avec, néanmoins un seuil de tolérance vis-à-vis de la biotine plus haut. L'interférence est déjà visible à 250 ng/ml de biotine (entre 14,15 et 44,42%), mais franchement erronée au palier supérieur (à 500 ng/ml) avec un biais variant de 76,85 à 164,88%. Il n'y a pas de dilution prévue si le résultat est > 80 ng/l.

Pour l'échantillon 6, la valeur entre parenthèse (71,2 pg/ml) était la valeur rendue lors du dosage effectif du patient, quelques heures après le prélèvement. Lorsque le tube a été choisi pour l'étude, il venait de passer entre 24 et 48h à température ambiante ce qui a entraîné une dégradation de l'analyte. Le fait de refaire un dosage sans ajout de biotine au début de la série a permis de constater qu'il était supérieur à la limite de linéarité, il a quand même été décidé de tester avec de la biotine pour parer à un éventuel comportement inhabituel de l'échantillon (cf. échantillon 4 : -2,08% à 250 ng/ml et +139,69% à 500 ng/ml).

Tableau 5 : Dosage de la T4 libre à des concentrations croissantes de biotine et calcul de l'interférence (en pourcentage)

Biotine (ng/ml) Echantillon	0	250	500	750	1000	1500
1	2,42	2,88	5,33	27,68	> 80	> 80
		19,19%	120,26%	1044,91%	3208,52%	3208,52%
2	6,32	7,21	11,18	72,20	> 80	> 80
		14,15%	76,85%	1042,60%	1166,02%	1166,02%
3	8,42	12,16	22,31	> 80		
		44,42%	164,88%	850,01%		
4	10,52	10,30	25,21	> 80		
		-2,08%	139,69%	660,67%		
5	21,08	24,26	46,98	> 80	> 80	
		15,09%	122,81%	279,45%	279,45%	
6	>80 (71,2)	> 80	> 80			
		NR	NR			

IV. Troponine

Norme : < 0,045 ng/ml

C'est une méthode sandwich il y a donc un risque de sous-estimation, sur la fiche technique, le seuil d'interférence est de 100 ng/ml.

Concernant les troponines négatives (échantillons 1 et 2), on ne voit pas d'interférence autre pouvant mimer de la troponine et ainsi rendre un résultat positif. On remarque une baisse rapide de la concentration (> 95%) en troponine dès 500 ng/ml de biotine. Même en démarrant avec une franche élévation de la troponine comme le patient 7, il y a un risque de négativation si le patient est insuffisant rénal.

Tableau 6 : Dosage de la troponine à des concentrations croissantes de biotine et calcul de l'interférence (en pourcentage)

Biotine (ng/ml) Echantillon	0	250	500	750	1000	1500
1	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015		
		NR	NR	NR		
2	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015		
		NR	NR	NR		
3	0,05	< 0,015				
		-68,75%				
4	1,35	0,92	< 0,015	< 0,015	< 0,015	
		-31,52%	-98,89%	-98,89%	-98,89%	
5	5,96	4,12	0,12	0,03	< 0,015	< 0,015
		-30,96%	-97,99%	-99,47%	-99,75%	-99,75%
6	21,4	13,60	0,54	0,21	0,10	0,03
		-36,45%	-97,49%	-99,01%	-99,52%	-99,84%
7	20,6	18,45	0,74	0,23	0,09	< 0,015
		-10,44%	-96,42%	-98,89%	-99,56%	-99,93%

V. CA 19.9

Normes : 2,0 – 37,0 U/ml

C'est une méthode sandwich il y a donc un risque de sous-estimation, sur la fiche technique, le seuil d'interférence est de 500 ng/ml.

Un résultat négatif (< 37 U/ml) reste négatif (échantillons 1 à 5), bien qu'il existe un biais d'interférence dès 250 ng/ml, il faut attendre le palier de 1000 ng/ml pour avoir une valeur divisée par deux, ce qui n'était pas le cas des paramètres ci-dessus. Un échantillon fortement positif au CA 19.9, restera positif avec une concentration en biotine de 1500ng/ml (échantillon 6) même avec un biais de -90,65%.

Il n'y a pas d'explication concernant le rebond positif de l'échantillon 5 au niveau du premier et second paliers (bien qu'ensuite il se négative comme attendu).

Tableau 7 : Dosage du CA 19.9 à des concentrations croissantes de biotine et calcul de l'interférence (en pourcentage)

Biotine (ng/ml) Echantillon	0	250	500	750	1000	1500
1	< 2,00	2,09	< 2,00	< 2,00	< 2,00	
		NR	NR	NR	NR	
2	11,09	9,41	7,51	5,57	3,03	< 2,00
		-15,19%	-32,28%	-49,77%	-72,72%	-81,97%
3	11,86	10,58	8,90	7,21	4,14	< 2,00
		-10,83%	-25,00%	-39,25%	-65,13%	-83,14%
4	14,59	12,83	10,34	7,42	3,68	< 2,00
		-12,10%	-29,13%	-49,14%	-74,78%	-86,29%
5	16,49	21,54	17,62	14,68	9,83	< 2,00
		30,59%	6,82%	-11,01%	-40,42%	-87,87%
6	13704,32	11292,47	9132,53	7047,03	4681,01	1281,17
		-17,60%	-33,36%	-48,58%	-65,84%	-90,65%

VI. CA 15.3

Normes : < 35 U/ml

C'est une méthode sandwich il y a donc un risque de sous-estimation, sur la fiche technique, le seuil d'interférence est de 1500 ng/ml.

Ce paramètre a des problèmes de reproductibilité, les deux passages successifs du même échantillon pouvant avoir jusqu'à 40% de variation (cela s'est fortement vu pour un échantillon).

On remarque que le paramètre est relativement stable, malgré de fortes fluctuations plutôt consécutives au problème de reproductibilité du dosage du paramètre, que du fait de l'apport exogène de biotine.

Tableau 8 : Dosage du CA 15.3 à des concentrations croissantes de biotine et calcul de l'interférence (en pourcentage)

Biotine (ng/ml) Echantillon	0	250	500	750	1000	1500
1	6,78	5,20	6,51	6,21	6,45	6,54
		-23,38%	-3,98%	-8,41%	-4,87%	-3,54%
2	9,48	8,35	8,36	7,9	9,17	9,68
		-11,92%	-11,81%	-16,67%	-3,27%	2,11%
3	13,59	11,28	17,29	16,86	17,54	18,86
		-17,03%	27,19%	24,03%	29,07%	38,78%
4	17,08	15,73	17,65	18,75	17,59	16,74
		-7,93%	3,31%	9,75%	2,99%	-1,99%

VII. Ferritine

Normes :

Femme : 8 – 252 µg/l

Homme : 26 – 388 µg/l

C'est une méthode sandwich il y a donc un risque de sous-estimation, sur la fiche technique, le seuil d'interférence est de 500 ng/ml.

Les résultats sont assez disparates, pour les échantillons 3 à 5, on observe un (faux) rebond de ferritine avec des concentrations en biotine pouvant aller jusque 750 ng/ml puis on observe la décroissance attendue. Pour les autres échantillons, le seuil d'interférence se situe le plus souvent entre 500 et 750 ng/ml, comme notifié sur la fiche technique du fournisseur.

Tableau 9 : Dosage de la ferritine à des concentrations croissantes de biotine et calcul de l'interférence (en pourcentage)

Biotine (ng/ml) Echantillon	0	250	500	750	1000	1500
1	42,6	38,15	37,5	35,05	32	20,3
		-10,45%	-11,97%	-17,72%	-24,88%	-52,35%
2	96,5	94,9	88,3	83,65	78,35	33,95
		-1,66%	-8,50%	-13,32%	-18,81%	-64,82%
3	155,8	188,05	182,25	168,5	151,2	82,5
		20,70%	16,98%	8,15%	-2,95%	-47,05%
4	312,9	318,2	309,55	282,85	258,75	59,7
		1,69%	-1,07%	-9,60%	-17,31%	-80,92%
5	1021,9	1184,95	1133,9	1047,8	971,35	313,5
		15,96%	10,96%	2,53%	-4,95%	-69,32%
6	1890,3	1813,2	1636,05	1401,3	923,15	103,75
		-4,08%	-13,45%	-25,87%	-51,16%	-94,51%
7	> 2000	> 2000	1936,7	1521,45	685,5	93,25
		NR	-3,17%	-23,93%	-65,73%	-95,34%
8	9837,8	9400,75	9022,7	8748,95	8273,65	6969,95
		-4,44%	-8,29%	-11,07%	-15,90%	-29,15%

VIII. Prolactine

Normes :

Femme < 50 ans : 2.8 – 20.9 µg/l

Femme > 50 ans : 1.8 à 20.3 µg/l

Homme : 2.1 – 17 µg/l

C'est une méthode sandwich il y a donc un risque de sous-estimation, sur la fiche technique, le seuil d'interférence est de 500 ng/ml.

Le seuil d'interférence retrouvé se situe entre 250 et 500 ng/ml, indépendamment du taux de base de l'analyte.

Tableau 10 : Dosage de la prolactine à des concentrations croissantes de biotine et calcul de l'interférence (en pourcentage)

Biotine (ng/ml) Echantillon	0	250	500	750	1000	1500
1	5,92	4,02	3,67	3,20	2,56	0,99
		-31,97%	-37,93%	-45,85%	-56,75%	-83,21%
2	8,22	7,83	7,07	6,09	4,88	1,32
		-4,70%	-13,90%	-25,93%	-40,64%	-83,96%
3	16,23	15,20	13,96	11,71	7,97	0,91
		-6,35%	-13,95%	-27,83%	-50,90%	-94,39%
4	45,27	40,49	36,94	31,49	24,34	6,17
		-10,56%	-18,41%	-30,44%	-46,24%	-86,38%

IX. FSH

Normes :

Phase lutéale : 1.7 – 10.8 UI/l

Phase folliculaire : 2.3 – 12.6 UI/l

Ovulation : 5.2 – 17.5 UI/l

Ménopause 12.7 – 132 UI/l

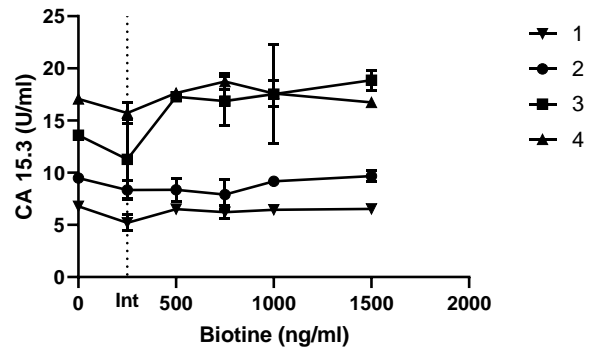
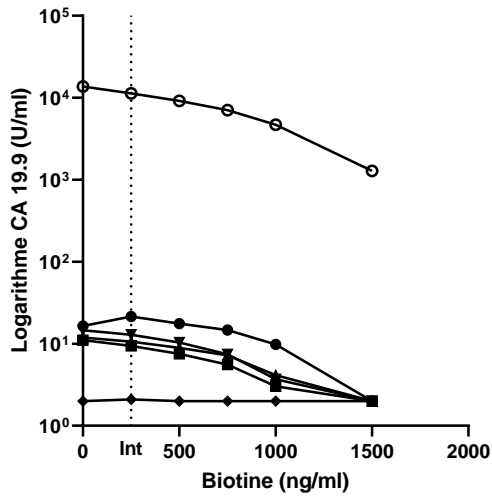
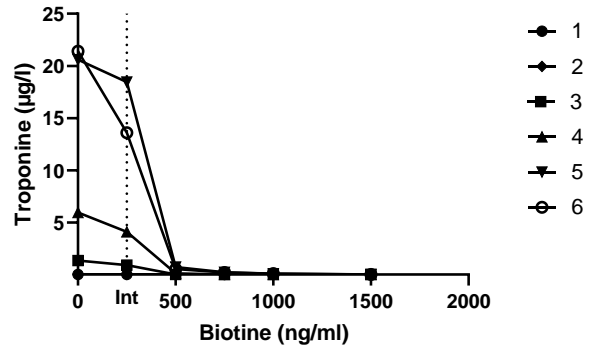
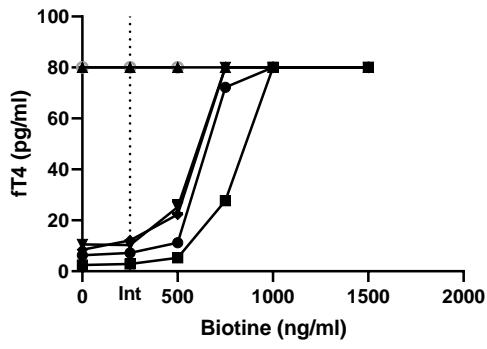
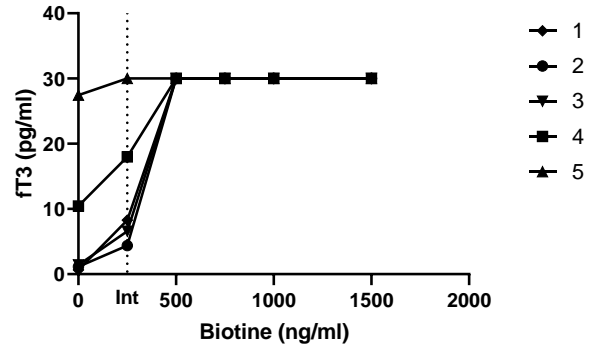
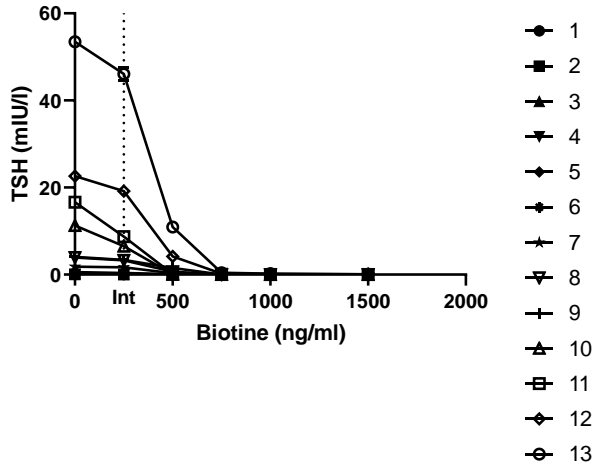
Homme : 0.7 - 10.8 UI/l

C'est une méthode sandwich il y a donc un risque de sous-estimation, sur la fiche technique, le seuil d'interférence est de 500 ng/ml.

Cela ressemble au tableau de la prolactine cité ci-dessus, avec un seuil d'interférence entre 250 et 750 ng/ml. L'échantillon 1 est non représentatif à cause de sa proximité avec le seuil limite de détection de la FSH.

Tableau 11 : Dosage de la FSH à des concentrations croissantes de biotine et calcul de l'interférence (en pourcentage)

Biotine (ng/ml) Echantillon	0	250	500	750	1000	1500
1	0,21	0,28	0,26	0,21	< 0,20	< 0,20
		33,33%	24,05%	-1,43%	-4,76%	-4,76%
2	2,61	2,55	2,42	2,01	1,51	< 0,20
		-2,43%	-7,50%	-23,07%	-42,29%	-92,35%
3	19,03	19,58	18,44	16,37	13,32	2,27
		2,92%	-3,09%	-13,97%	-29,97%	-88,05%
4	46,47	38,99	36,27	31,96	21,79	0,58
		-16,09%	-21,96%	-31,22%	-53,11%	-98,76%



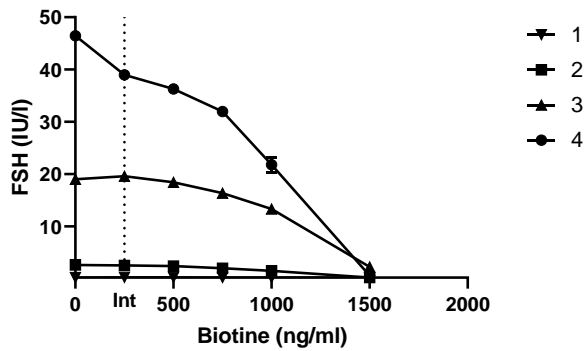
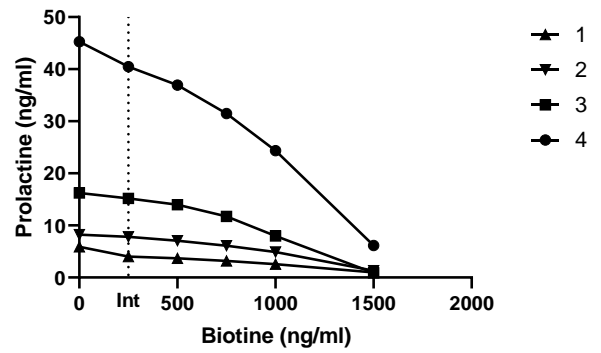
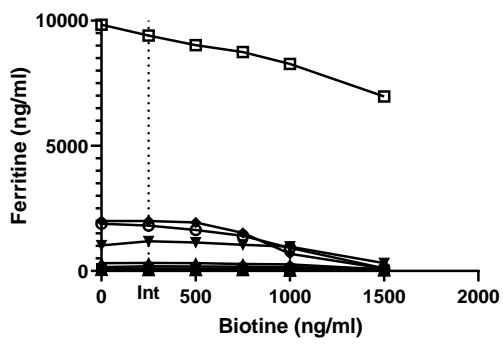


Figure 3 : Dosage des analytes en fonction de la concentration en biotine

Int : seuil d'interférence à partir de laquelle une interférence est observée pour, au moins une des concentrations de l'analyte testé.

Discussion

I. Principaux résultats

Le pic plasmatique moyen, 1.5 à 2h après une prise unique de 100 mg de biotine, est de 500 ng/ml avec une demi-vie d'environ 7h pour une personne avec une fonction rénale non altérée. (46)

En pratique, il a été retrouvé des concentrations sanguines de 20 -30 ng/ml (voire 50 ng/ml) pour une prise de biotine de 5 ou 10 mg x 3/jour (cosmétique). Pour les patients ayant une SEP, en fonction du moment de prélèvement, des concentrations comprises entre 160 et 700 ng/ml ont été retrouvées. Un patient ayant pris 300 mg de biotine en une prise, avait une concentration plasmatique à 1 000ng/ml. (43)

On peut aisément remarquer qu'avec une insuffisance rénale (a fortiori terminale), les concentrations plasmatiques/sériques en biotine des patients ayant une SEP, peuvent très vite atteindre 1000-1500 ng/ml et ainsi fausser des paramètres comme rendre une troponine négative alors qu'une nécrose myocardique est en cours.

Pour tous les paramètres, on constate qu'il n'existe pas de corrélation entre la concentration de biotine et la concentration en analyte (le fait de doubler la concentration en biotine ne fait pas multiplier ou diviser par deux la concentration de l'analyte). Au niveau des analyses intra-séries, la biotine n'a pas forcément le même comportement suivant les échantillons (cf. dosage de la troponine à une concentration en biotine à 250 ng/ml, l'échantillon 7 présente un biais négatif à 7,89% tandis que le numéro 11 à un biais positif à 47,32%). Aucune prédiction n'est possible pour connaître la valeur réelle de l'analyte dosée.

Au niveau du bilan thyroïdien, ces résultats confirment la tendance au niveau mondial qui montre que la biotine prise à fortes doses peut rapidement perturber des analyses. Le fait que les deux techniques (sandwich et compétitive) soient utilisées dans le bilan n'arrange pas les choses et

miment une hyperthyroïdie. Le bilan thyroïdien a été le marqueur le plus précoce et le plus fourni au niveau des publications de l'interférence de la biotine. Néanmoins la troponine faussement négative peut conduire à des situations dramatiques. C'est un paramètre d'urgence, le patient ne peut pas suspendre sa prise (le temps d'éliminer la biotine par voie urinaire), n'a peut-être pas la possibilité de dire quel est son traitement et l'urgentiste se doit d'être informé que, si le patient est atteint de la SEP, il est potentiellement sous biotine à forte dose et donc, d'avoir des troponines faussement négatives.

Pour les autres paramètres, ils sont moins soumis à un degré d'urgence. Une suspension de prise, quand cela est possible, est à préconiser. Sinon le recours d'une technique d'analyse n'utilisant pas la biotine dans ses réactions est possible.

II. Limites de l'étude

- Le faible nombre d'échantillons pour certains paramètres et surtout la difficulté de trouver certains seuils inscrits dans le protocole
- La concentration en biotine de la préparation n'a pas été vérifiée par un dosage
- Les limites de détection étaient fournies par le fournisseur mais les limites de quantification étaient absentes des données à disposition d'où une certaine fluctuation des résultats dans les valeurs très basses
- Si le premier dosage (sans la biotine) a bien été réalisé sur 1 ml de sérum, les dosages suivants (analyse double et volume mort) n'ont pas été compensés par un ajout de sérum. Ce qui fait que les concentrations en biotine sont plus ou moins égales à 250, 500, 750, 1000 et 1500ng/ml.

Conclusion

L'interférence à la biotine ne doit pas être sous-estimée, un décès suite à une troponine rendue faussement normale aux USA le rappelle (47). Dans d'autres cas, cela peut conduire à la réalisation d'examens potentiellement inutiles, ou plus gênant, à leur non-réalisation. Le dialogue clinicien/biologiste est indispensable pour ne pas rendre des résultats erronés, pour cela l'information des médecins par le laboratoire sur les différentes interférences et les renseignements fournis par les médecins sur les traitements en cours de leurs patients sont primordiaux.

Bibliographie

1. Denimal D, Nguyen A, Fromont A, Moreau T, Vergès B, Duvillard L. Interférences des traitements par biotine avec les immunodosages : il est temps de trouver une solution à long terme ! [Httpwwwem-Premiumcomdoc-Distantuniv-Lille2frdatarevues07554982unassignS075549821730461X](http://www.em-premium.com/doc-distant.univ-lille2.fr/data/revues/07554982/unassign/S075549821730461X) [Internet]. 22 déc 2017 [cité 14 janv 2018]; Disponible sur: [http://www.em-premium.com.doc-distant.univ-lille2.fr/article/1190230/resultatrecherche/11](http://www.em-premium.com/doc-distant.univ-lille2.fr/article/1190230/resultatrecherche/11)
2. Gilly O, Brauwer DPD, Cosma V, Guintrand R, Taillard V, Chambert B, et al. Interférence biologique par surdosage en biotine mimant une maladie de Basedow : à propos de 3 cas. [Httpwwwem-Premiumcomdoc-Distantuniv-Lille2frdatarevues00034266v78i4S0003426617302366](http://www.em-premium.com/doc-distant.univ-lille2.fr/data/revues/00034266v78i4S0003426617302366) [Internet]. 17 sept 2017 [cité 14 janv 2018]; Disponible sur: <http://www.em-premium.com.doc-distant.univ-lille2.fr/article/1142663/resultatrecherche/30>
3. Decoudier B, Delemer B, Maarouf A, Tourbah A, Marot D. Une hyperthyroïdie énigmatique... de l'importance des interférences dans les dosages hormonaux. [Httpwwwem-Premiumcomdoc-Distantuniv-Lille2frdatarevues00034266v76i4S0003426615005570](http://www.em-premium.com/doc-distant.univ-lille2.fr/data/revues/00034266v76i4S0003426615005570) [Internet]. 9 oct 2015 [cité 7 janv 2018]; Disponible sur: <http://www.em-premium.com.doc-distant.univ-lille2.fr/article/1000527/resultatrecherche/9>
4. PubChem. Biotin [Internet]. [cité 8 juin 2019]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/171548>
5. Guillaud J-C, Lequeu B. Encyclopédie des vitamines: du nutriment au médicament. Données fondamentales. Tec & Doc; 2009. 847 p.
6. Bonnefond-Ortega M, Goudable J, Chambrier C, Bétry C. L'absorption intestinale des vitamines hydrosolubles et liposolubles en pratique clinique. *Nutr Clin Métabolisme*. 1 févr 2018;32(1):57- 66.
7. Mock DM, Malik MI. Distribution of biotin in human plasma: most of the biotin is not bound to protein. *Am J Clin Nutr*. 1 août 1992;56(2):427- 32.
8. Elrefai S, Wolf B. Disorders of Biotin Metabolism. In: Rosenberg's Molecular and Genetic Basis of Neurological and Psychiatric Disease. Elsevier; 2015. p. 531-539.
9. Hay-Lombardie A, Debarre V, Bigot-Corbel É. Interférences liées à la biotine sur les paramètres d'urgence. *Rev Francoph Lab*. 2019;2019(510):44-52.
10. Mock DM, Lankford GL, Cazin J. Biotin and Biotin Analogs in Human Urine: Biotin Accounts for only Half of the Total. *J Nutr*. 1 nov 1993;123(11):1844- 51.
11. Cynober L, Alix E, Arnaud-Battandier F, Bonnefoy M, Brocker P, Cals M-J, et al. Apports nutritionnels conseillés chez la personne âgée. *Nutr Clin Métabolisme*. 1 sept 2000;14:3- 60.
12. Dall'Osto H, Simard M, Delmont N, Mann G, Hermitte M, Cabrit R, et al. Nutrition parentérale : indications, modalités et complications. *EMC - Hépatogastroentérologie*. 1 juill 2005;2(3):223- 48.
13. Cynober L, Bargues L, Berger MM, Carsin H, Chioléro RL, Garrel D, et al. Recommandations nutritionnelles chez le grand brûlé: Nutritional recommendations for severe burn victims. *Nutr Clin Métabolisme*. 1 sept 2005;19(3):166- 94.
14. Reference GH. Biotinidase deficiency [Internet]. Genetics Home Reference. [cité 27 août 2018]. Disponible sur: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/biotinidase-deficiency>
15. Orphanet: Deficit en biotinidase [Internet]. [cité 26 août 2018]. Disponible sur: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=FR&data_id=11267&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=deficit-

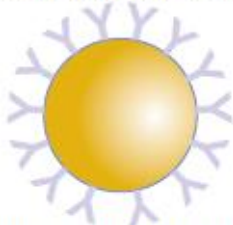
en-
biotinidase&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Maladie(s)/groupes%20de%20maladies=Deficit-en-biotinidase&title=Deficit-en-biotinidase&search=Disease_Search_Simple

16. Isapof A, Heron B, DoummAr D, Garel C, De Villemeur T Bi. Les maladies neurologiques traitables: aspects cliniques et thérapeutiques.
17. Michiels Y. Connaissances actuelles sur la sclérose en plaques. *Actual Pharm.* 1 févr 2018;57(573):24- 5.
18. Boullerne AI, Skias D, Hartman EM, Testai FD, Kalinin S, Polak PE, et al. A Single-Nucleotide Polymorphism in Serine-Threonine Kinase 11, the Gene Encoding Liver Kinase B1, Is a Risk Factor for Multiple Sclerosis. *ASN Neuro.* 1 févr 2015;7(1):1759091415568914.
19. Lubetzki C. La sclérose en plaques : quelles possibilités de régénération ? [Internet]. Académie nationale de médecine | Une institution dans son temps. 2008 [cité 3 avr 2019]. Disponible sur: <http://www.academie-medecine.fr/la-sclerose-en-plaques-queelles-possibilites-de-regeneration/>
20. Dupuis, Gudmundson, Pedrini, Peidis. La Sclérose en plaques - PDF [Internet]. [cité 8 juin 2019]. Disponible sur: http://www.medecine.unige.ch/enseignement/apprentissage/module4/immersion/archives/2009_2010/travaux/10_r_sep.pdf
21. Damotte V. Sclérose en plaques: une partie de la composante génétique de la maladie identifiée [Internet]. *Le Huffington Post.* 2014 [cité 8 juin 2019]. Disponible sur: https://www.huffingtonpost.fr/vincent-damotte/recherche-sclerose-en-plaques_b_4635797.html
22. Sclérose en plaques [Internet]. Collège des Enseignants de Neurologie. 2016 [cité 3 avr 2019]. Disponible sur: <https://www.cen-neurologie.fr/deuxieme-cycle%20/sclerose-plaques>
23. Magy L. La sclérose en plaques. *Actual Pharm Hosp.* 2009;5(19):14–19.
24. Gallien P, Nicolas B, Guichet A. Le point sur la sclérose en plaques. *Kinésithérapie Rev.* mai 2012;12(125):17- 22.
25. Oeil et sclérose en plaques [Internet]. Collège des Ophtalmologistes Universitaires de France. [cité 3 avr 2019]. Disponible sur: <http://couf.fr/wp-content/uploads/2016/03/Chapitre-19.pdf>
26. Fromont A, Bénatru I, Gignoux L, Couvreur G, Confavreux C, Moreau T. Phénomène d’Uhthoff lié à l’effort, isolé, précédant une sclérose en plaques. *Rev Neurol (Paris).* janv 2010;166(1):61 - 5.
27. MS Treatments | Multiple Sclerosis [Internet]. MS International Federation. [cité 8 juin 2019]. Disponible sur: <https://www.msif.org/living-with-ms/treatments/>
28. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol.* févr 2011;69(2):292- 302.
29. Tourbah A, Lebrun-Frenay C, Edan G, Clanet M, Papeix C, Vukusic S, et al. MD1003 (high-dose biotin) for the treatment of progressive multiple sclerosis: A randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl.* nov 2016;22(13):1719- 31.
30. Sedel F, Papeix C, Bellanger A, Touitou V, Lebrun-Frenay C, Galanaud D, et al. High doses of biotin in chronic progressive multiple sclerosis: A pilot study. *Mult Scler Relat Disord.* 1 mars 2015;4(2):159- 69.

31. Tourbah A. Le MD1003 (biotine à fortes doses) : Un espoir dans les formes progressives de SEP ? [Internet]. Neurologies. 2015 [cité 30 mai 2019]. Disponible sur: <https://neurologies.fr/le-md1003-biotine-a-fortes-doses-un-espoir-dans-les-formes-progressives-de-sep/>
32. Imène T, Massot C, Khenioui H, Hautecoeur P, Kwiatkowski A, Donzé C. Sclérose2 : le Qizenday® une solution ? Rev Neurol (Paris). 1 avr 2018;174:S144.
33. Donzé C, Guyot M-A, Massot C, Lenne B, Kwiatkowski A, Hautecoeur P. Amélioration des troubles cognitifs et de l'impact sur la vie quotidienne après 12 mois de traitement par Qizenday®. Rev Neurol (Paris). 1 avr 2018;174:S102.
34. Oerthel A, Martin G, Vaillant M, Casez O. Évaluation fonctionnelle en vie réelle d'un traitement par biotine à hautes doses chez des patients présentant une sclérose en plaques progressive au CHU de Grenoble. Rev Neurol (Paris). 1 avr 2019;175:S78- 9.
35. Fromont A, Romain G, Audry D, Moreau T. Cohorte dijonnaise des 50 premières scléroses en plaques progressives traitées par biotine. Rev Neurol (Paris). 1 mars 2017;173:S123.
36. Fromont A, Audry D, Arjmand R, Moreau T. Rebond d'inflammation sous biotine. Rev Neurol (Paris). 1 avr 2018;174:S95.
37. Pillon F, Allaert F-A. Conseiller une supplémentation orale destinée à renforcer les ongles. Actual Pharm. 1 avr 2015;54(545):47- 8.
38. Hochman LG, Scher RK, Meyerson MS. Brittle nails: response to daily biotin supplementation. Cutis. avr 1993;51(4):303- 5.
39. Beylot G. La chute des cheveux. Actual Pharm. 1 juin 2012;51(517):51- 4.
40. Clere N. La chute des cheveux, comment la prévenir ou la ralentir? Actual Pharm. 2010;49(500):32-34.
41. Pillon F, Allaert F-A. Rôle de la complémentation orale pour lutter contre la chute de cheveux. Actual Pharm. 1 oct 2011;50(509):39- 40.
42. Vitamine B8 (biotine) - EurekaSanté par VIDAL [Internet]. EurekaSanté. [cité 3 avr 2019]. Disponible sur: <https://eurekasante.vidal.fr/parapharmacie/complements-alimentaires/vitamine-b8-h-b7-biotine.html>
43. Emile C. Interférence de la biotine dans les immunodosages. Option/Bio. 2018;29(573- 574):26-28.
44. Masri W, Blondé-Cynober F, Becker P-H, Cosson C, Trabado S, Therond P. Évaluation in vitro et in vivo de l'interférence de la biotine sur les dosages immunologiques réalisés sur Cobas 8000 e602®. Rev Francoph Lab. 2018;2018(507):22-31.
45. EP07 | Interference Testing in Clinical Chemistry [Internet]. Clinical & Laboratory Standards Institute. [cité 11 juin 2019]. Disponible sur: <https://clsi.org/standards/products/method-evaluation/documents/ep07/>
46. QIZENDAY 100 mg gél [ATUc] - VIDAL eVIDAL [Internet]. [cité 8 juin 2019]. Disponible sur: https://evidal.vidal.fr/medicament/qizenday_100_mg_gel_atuc-172182-pharmacocinetique.html
47. Biotin Supplements Can Interfere With Cardiac Troponin Tests: FDA [Internet]. TCTMD.com. [cité 8 juin 2019]. Disponible sur: <https://www.tctmd.com/news/biotin-supplements-can-interfere-cardiac-troponin-tests-fda>

Technique de dosage avec marqueur chimiluminescent LOCI : Luminescent Oxygen Channeling Immunoassay

Le système utilise deux types de billes de latex « CHEMIBEAD » et « SENSIBEAD » :



Bille de latex « **CHEMIBEAD** »

Elle est recouverte :

- d'anticorps anti-molécule recherchée (méthode sandwich)
- ou d'antigène (méthode par compétition)

Elle est imprégnée de molécules d'oléfine qui produisent une chimiluminescence à 612 nm en présence d'oxygène excité (singulet 1O_2)



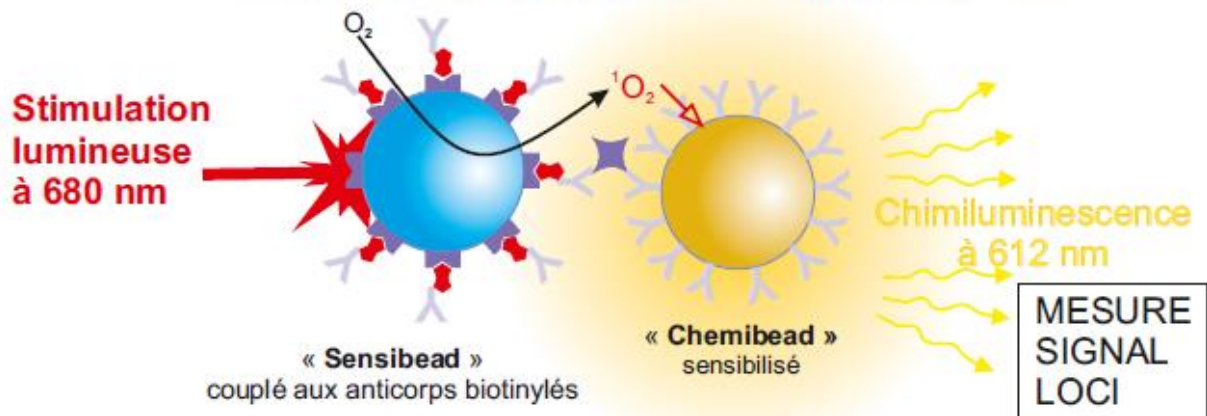
Bille de latex « **SENSIBEAD** »

elles est recouverte de streptavidine qui fixera la biotine de l'anticorps biotinylé

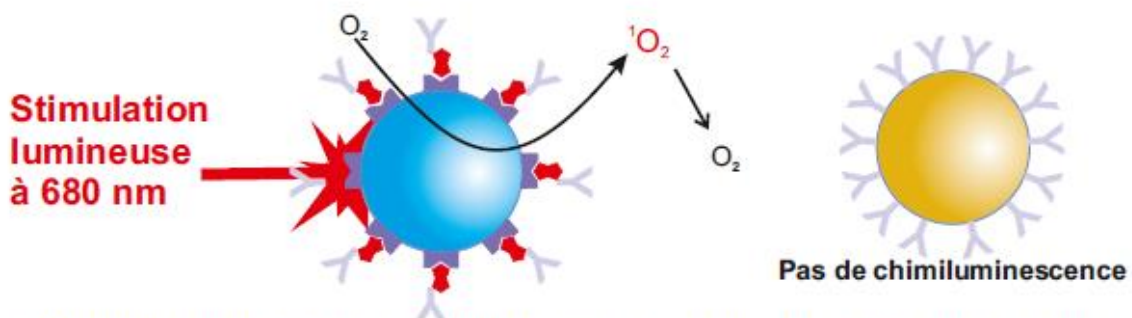
Elle est imprégnée de phtalocyanine qui excitée à 680 nm génère de l'oxygène excité (singulet 1O_2)

L'oxygène excité (1O_2) a une durée de vie très courte dans l'eau (4 μ s), la chimiluminescence ne se produira que si le sensibead est proche du chimibead donc lors de la formation d'immuncomplexe.

Exemple du dosage d'une molécule = analyte recherché



Molécule recherchée présente = formation d'immuncomplexe



Molécule recherchée absente = pas d'immuncomplexe = chemibead et sensibead trop éloignés

Bibliographie : documentation Siemens Dimension EXL 200 | Immunoanalyse: De la théorie aux critères de choix en biologie clinique - Catherine Massart (EDP sciences - ACOMEN) | www.researchgate.net article sur l'AlphaScreen assays

Rémi Moreda - Lycée Docteur Lacroix - Narbonne - Juin 2017



Tableau 1. Liste non exhaustive des paramètres d'urgence (violet), par une technique d'immunodosage utilisant le système streptavidine biotine

paramètre	Roche diagnostic			Siemens					
	Cobas 6000/8 000 -module e			ADVIA Centaur / Atellica IM (Atellica Solution)			IMMULITE 2000		
	système streptavidine-biotine	technique	risque d'erreur par	système streptavidine-biotine	technique	risque d'erreur par	système streptavidine-biotine	technique	risque d'erreur par
CK-MB	oui	sandwich	sous-estimation	non			oui		
Myoglobine	oui	sandwich	sous-estimation	non			oui		*
NT-proBNP	oui	sandwich	sous-estimation	oui	sandwich	sous-estimation	oui		*
BNP				oui	sandwich	sous-estimation			
Troponine Ic normale ou hs	oui	sandwich	sous-estimation	oui	sandwich	sous-estimation	oui		*
Troponine Tchs	oui	sandwich	sous-estimation						
HCG	oui	sandwich	sous-estimation	non			oui		*
bHCG	oui	sandwich	sous-estimation	non			oui		*
S100	oui	sandwich	sous-estimation						
Procalcitonine	oui	sandwich	sous-estimation	non					
TSH	oui	sandwich	sous-estimation	non			oui		*
Cortisol	oui	compétition	sur-estimation	non			oui		*
PTH	oui	sandwich	sous-estimation	oui	sandwich	*	oui		*
Insuline	oui	sandwich	sous-estimation	non			oui		*
Peptide C	oui	sandwich	sous-estimation	non			oui		*
Ag HBs	oui	sandwich	sous-estimation	oui	sandwich	sous-estimation			
anti HbS	oui	sandwich	sous-estimation	oui	sandwich	*	non		
anti HCV2	oui	sandwich	sous-estimation	oui	sandwich	*			
CMV IgG, IgM	oui	sandwich	sous-estimation	oui	sandwich	*	non		
HIV Ag p24	oui	sandwich	sous-estimation						
HSV 1/2 IgG	oui	sandwich	sous-estimation				non		
Syphilis	oui	sandwich	sous-estimation	oui	sandwich	*	oui		*
Toxo IgG, IgM	oui	sandwich	sous-estimation	non			oui		*
anti HBc	oui	compétition	sur-estimation	oui	sandwich	*	oui		*

* Liaison streptavidine-biotine formée dès la fabrication du réactif en usine --> pas d'interférence par de la biotine circulante potentiellement présente dans l'échantillon testé

** sans interférence jusqu'à 2000 ng/mL de biotine selon le fournisseur



Dossier scientifique Difficultés d'interprétation, pièges diagnostiques

ou potentiellement urgent (mauve pâle et blanc) pouvant être dosés selon les fournisseurs et les automates (mise à jour en décembre 2018).

Beckmann			Ortho Clinical Diagnostic			BioMérieux			Abbott		
AU/Unicel			Vitros 5600			VIDAS			Architect		
système streptavidine-biotine	technique	risque d'erreur	système streptavidine-biotine	technique	risque d'erreur par	système streptavidine-biotine	technique	risque d'erreur par	système streptavidine-biotine	technique	risque d'erreur par
oui	sandwich	non	oui	Sandwich	sous-estimation	non					
non	sandwich	non	oui	Sandwich	sous-estimation	non					
			oui	Sandwich	sous-estimation	non					
non	sandwich	non									
non	sandwich	non	oui	Sandwich	sous-estimation	Normale: non hs: oui					
non	non	non				non					
non	sandwich	non	oui	Sandwich	sous-estimation						
non	non	non									
						non					
non	sandwich	non	oui	Sandwich	sous-estimation	non					
non	compétition	non	oui	compétition	sur-estimation	non					
oui	sandwich	non Jusque biotine à 100ng/mL	oui	Sandwich	sous-estimation						
non	non	non									
non	non	non	non								
oui	sandwich	non	oui	Sandwich	sous-estimation	oui		**			
non	sandwich	non	non			oui		**			
non	Indirecte	non	non			non					
non	sandwich	non	non (IgG) / oui (IgM)	Sandwich	NA / sous-estimation	non					
non	non	non	non			oui		**			
non	non	non									
non	non	non	oui	Sandwich	sous-estimation						
non	sandwich	non	non (IgG) / oui (IgM)	Sandwich	NA / sous-estimation	non					
non	sandwich	non	non			non					

NON pour tout

Exception: seuls 5 dosages sont théoriquement concernés, dont Ac anti-CCP. Et sur ce dosage, aucun impact noté par Abbott dans ses études internes pour des doses de biotine jusqu'à 20 fois supérieures à la dose thérapeutique habituelle (risque théorique: sous-estimation car dosage sandwich)

Mise à jour en décembre 2018 incluant des paramètres d'urgence (violet), ou potentiellement urgent (mauve pâle et blanc) pouvant être dosés par une technique d'immunodosage utilisant le système streptavidine biotine selon les fournisseurs et les automates.

Les cases non renseignées correspondent aux données non fournies. Les cases grises signifient que le paramètre n'est pas dosé par méthode immunologique sur l'automate. Le type d'interférence (sur ou sous-estimation) est ensuite précisée selon la nature du dosage (compétition ou sandwich).

Annexe 4 : Carte informative incluse dans la boîte du médicament Qizenday®

LA BIOTINE INTERFERE AVEC CERTAINES ANALYSES DE LABORATOIRE (liste non exhaustive)				
ANEMIE	PIGF	Anti-Hbe	Phénytoïne	CA 72-4
Ferritine	Progestérone	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	Testostérone	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	sFit-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	Carbamazepine	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	Mycophenolate	CA 15-3	Transferrine
PAPP-A	Anti-HBc IgM	Phenobarbital	CA 19.9	

60754

AUTEUR : Nom : Degraeve

Prénom : Stéphanie

Date de Soutenance : Jeudi 4 juillet 2019

Titre de la Thèse : Evaluation de l'interférence de la biotine sur certains immunodosages

Thèse - Médecine - Lille 2019

Cadre de classement : *Biologie médicale biochimie*

DES + spécialité : *Biologie médicale*

Mots-clés : biotine, interférence, sclérose en plaques, fausses hyperthyroïdies

Résumé :

Introduction : De fausses hyperthyroïdies pullulent dans la littérature, cela est dû à une interférence de la biotine prise à forte dose (3 x 100mg/jour) dans le cadre d'un traitement de la sclérose en plaques avec les réactifs de l'automate utilisant de la biotine-streptavidine. Les immunodosages compétitifs et sandwichs sont impactés par sur-estimations ou sous-estimations. L'objectif de cette étude est de définir un seuil de biotine au-delà duquel la valeur rendue est erronée pour un certain nombre de paramètres.

Méthode : Un panel de 9 analyses (TSH, fT3, fT4, troponine, CA 15.3, CA 19.9, ferritine, prolactine et FSH) a été testé avec des concentrations croissantes connues de biotine (250, 500, 750, 1000 et 1500 ng/ml). Un biais supérieur à 10% avec le dosage sans biotine signifiait une interférence.

Résultats : L'interférence est visible dès 250ng/ml de biotine, pour l'ensemble des paramètres étudiés avec des biais supérieurs à 90% pour des doses de biotine à 500ng/ml pour le bilan thyroïdien et la troponine.

Conclusion : 500ng/ml étant le pic plasmatique retrouvé après une prise unique de 100mg de biotine, le risque de rendre des valeurs erronées notamment des fausses hyperthyroïdies ou des troponines faussement négatives est majeur avec des conséquences pouvant être désastreuses. Une connaissance de l'interférence par la biotine à la fois par le biologiste mais aussi par le clinicien est indispensable pour soigner plus efficacement le patient.

Composition du Jury :

Président :

Monsieur le Professeur Pascal Pigny

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Thierry Brousseau

Monsieur le Professeur Bernard Sablonnière

Monsieur le Professeur Gérard Forzy