

**ALICE OLIVEIRA LISBOA DE FREITAS**

*Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP,  
São Paulo, SP, Brasil.*

**PAOLO RUGGERO ERRANTE**

*Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP,  
São Paulo, SP, Brasil.*

*Recebido em dezembro de 2019.  
Aprovado em agosto de 2020.*

## INTERFERÊNCIA DA BIOTINA EM IMUNOENSAIOS

### RESUMO

**Introdução:** A biotina, também conhecida como vitamina B7 ou H, é uma vitamina do complexo B que auxilia no metabolismo de proteínas, ácidos graxos e carboidratos, sendo encontrada em compostos vitamínicos utilizados para promover a melhora da qualidade da pele, cabelos e unhas. A biotina encontra-se amplamente disponível no mercado, disponível para a população sem a utilização e prescrição de receita médica, sendo também utilizada em diferentes imunoenaios que utilizam o princípio de interação antígeno-anticorpo em fase sólida, com amplificação do sinal através da interação da biotina com a estreptavidina. **Metodologia:** A revisão foi realizada por base de dados bibliográficos obtidos através da pesquisa em LILACS, MEDLINE e PubMed. **Resultados:** A literatura internacional descreve inúmeros relatos de caso sobre pacientes com resultados de testes endócrinos, marcadores de infarto do miocárdio e infecção pelo HIV alterados para alto ou para baixo devido a interferência da biotina no ensaio imunoadsorvente ligado a enzima (ELISA). **Conclusão:** O consumo exagerado de biotina resultou em pessoas sendo expostas a níveis muito superiores aos recomendados e como consequência, laboratórios que utilizam o método ELISA do tipo captura livre e competitivo e amplificação do sinal pela interação biotina-estreptavidina, estão sujeitos a erros de diagnóstico pela interferência da biotina.

**Palavras-Chave:** biotina; suplementação vitamínica; imunoenaios; interferência nos resultados; elisa.

## INTERFERENCE OF BIOTIN IN IMMUNOASSAYS

### ABSTRACT

**Introduction:** Biotin, also known as vitamin B7 or H, is a B-complex vitamin that aids in the metabolism of proteins, fatty acids and carbohydrates, and is found in vitamin compounds used to improve skin, hair and nail quality. Biotin is widely available on the market to the population without prescription and prescription, and is also used in different immunoassays that use the principle of solid-phase antigen-antibody interaction, with signal amplification through the interaction of biotin with streptavidin. **Method:** The review was performed by use of bibliographic database obtained by searching LILACS, MEDLINE and PubMed. **Results:** The international literature describes numerous case reports of patients with endocrine test results, markers of myocardial infarction and HIV infection changed up or down due to biotin interference in the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Conclusion:** Excessive biotin consumption has resulted in people being exposed to much higher levels than recommended, and as a result, laboratories using the free and competitive ELISA method and signal amplification by biotin-streptavidin interaction are subject to misdiagnosis by interference of biotin.

**Keywords:** biotin; vitaminic supplementation; immunoassays; results interference; elisa.

## INTRODUÇÃO

A biotina, vitamina B7 ou H, é uma vitamina hidrossolúvel do complexo B que auxilia no metabolismo de proteínas, ácidos graxos e carboidratos, sendo encontrada em compostos vitamínicos utilizados para promover a melhora da qualidade da pele, cabelos e unhas. A biotina também é prescrita no tratamento de diferentes doenças, como esclerose múltipla, e distúrbios metabólicos hereditários como na deficiência de biotinidase (ZEMPLINI, 2012; PEYRO SAINT PAUL et al., 2016; BATISTA et al., 2017; PATEL, SWINK, CASTELO-SOCCIO, 2017).

A biotina encontra-se amplamente disponível no mercado, disponível para a população sem a utilização e prescrição de receita médica, podendo ser encontrada na forma de comprimidos com doses 100 a 200 vezes maiores que a recomendadas diariamente (BATISTA et al., 2017).

A biotina é utilizada em diferentes imunoenaios que utilizam o princípio de interação antígeno-anticorpo em fase sólida, com amplificação do sinal através da interação da biotina com a estreptavidina. A biotina exógena ingerida em altas doses pode interferir nessa interação, levando ao surgimento de resultados errôneos (BATISTA et al., 2017; CHAKRAVARTHY, RAMANATHAN, 2017; KONSTANTINOU, 2017; Li et al., 2017).

## METODOLOGIA

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica através de busca em bancos de dados online nas línguas portuguesa e inglesa: SCIELO e PUBMED. Os descritores em ciências da saúde utilizados foram: biotina, interferência da biotina em imunoenaios, diagnostico e biotina-estreptavidina.

## BIOTINA

A biotina ou vitamina B7 é uma vitamina hidrossolúvel, que atua como coenzima metabólica na síntese de ácidos graxos e na gliconeogênese (RUBERT et al., 2017), sendo utilizado como suplementação vitamínica para melhora da qualidade da pele, unhas e cabelos, e no tratamento de diferentes doenças como esclerose múltipla; distúrbios metabólicos hereditários como a deficiência de biotinidase; deficiência de biotina durante a gestação; regulação dos níveis séricos de glicose e lipídios; reparo tecidual; aumento da massa muscular em atletas e desportistas; e em pacientes em hemodiálise na melhora dos sintomas por encefalopatia e neuropatia periférica em pacientes com falha renal (PEYRO SAINT PAUL et al., 2016; BATISTA et al., 2017; PATEL, SWINK, CASTELO-SOCCIO, 2017; ONDER et al., 2019).

A dose recomendada de biotina é de 30 microgramas ( $\mu\text{g}$ ) ao dia, via oral. Entretanto, a biotina é amplamente disponível em formulações genéricas, geralmente em comprimidos com até 10 mg, dose 100 a 200 vezes maior que a recomendada para o consumo diário (BATISTA et al., 2017).

A biotina exógena é rapidamente absorvida pela mucosa intestinal, apresentando meia vida plasmática de 110 minutos, sendo excretada na urina de forma intacta ou na forma de seu produto metabólico, a bisnorbiotina. A biotina também é utilizada em vários imunoenaios que utilizam o princípio interação antígeno-anticorpo de fase sólida, cujo sinal é amplificado pela interação da biotina com a estreptavidina (BATISTA et al., 2017).

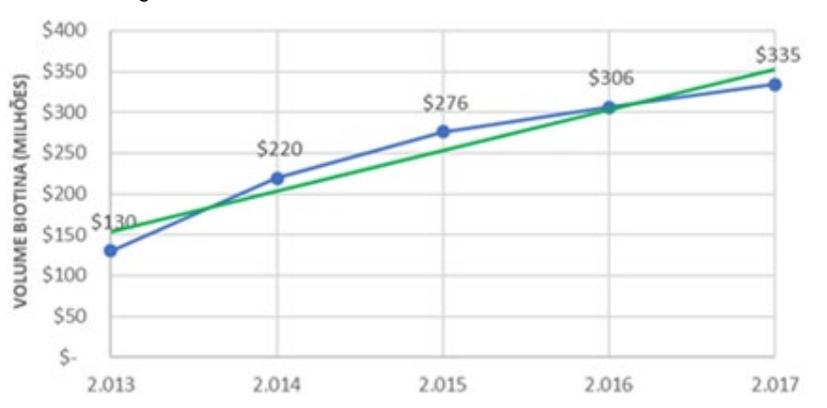
Em novembro de 2017, a agência federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos, FDA (Food and Drug Administration) divulgou uma comunicação de segurança relatando a interferência da biotina sobre determinados ensaios clínicos laboratoriais e seus impactos na área da saúde, solicitando a interações entre laboratórios, médicos e pacientes sobre o relato do uso da biotina para diminuir o risco do surgimento de resultados incorretos nos exames laboratoriais (FDA, 2017).

## CONSUMO DE BIOTINA

Dados de pesquisa de mercado para as vendas da biotina demonstraram o crescimento contínuo de sua utilização indiscriminada pela população em geral como suplemento alimentar para promoção do aumento da qualidade da saúde e da beleza (CORE LABORATORY, 2016).

A venda de biotina quase triplicou no mercado mundial de varejo, cujo valor de U\$ 130 milhões de dólares alcançado em 2013 passou para U\$ 335 milhões de dólares em 2017. Isto correspondeu a um crescimento de 52% nos últimos quatro anos (Figura 1). Também a biotina é considerada a vitamina número um de vendas da plataforma Amazon na categoria de suplementos vitamínicos, sendo vendida principalmente na dose de 10.000 µg, sem a utilização e/ou retenção de receita médica (CORE LABORATORY, 2016).

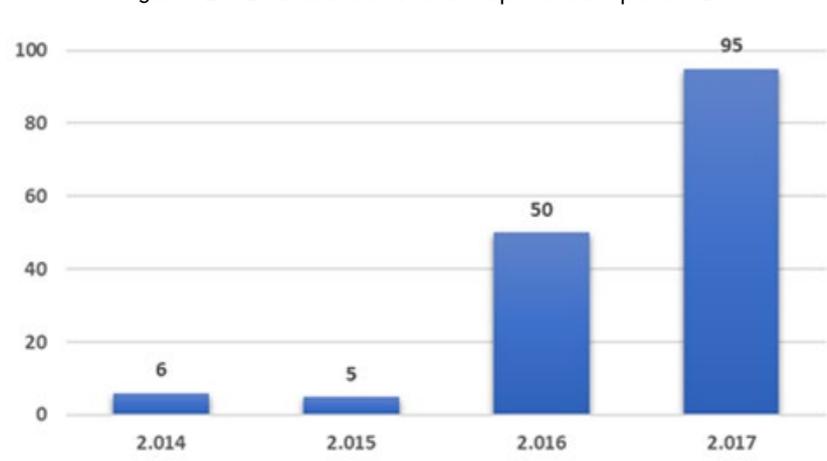
Figura 1. Consumo de biotina entre 2013 e 2017.



Fonte: <https://www.corelaboratory.abbott/us/en/offerings/assays/biotin-information.html>.

Como consequência deste aumento no consumo indiscriminado de biotina pela população em geral na busca de resultados sobre a qualidade da pele, unhas e cabelos, de forma proporcional ocorreu o aumento do número de relatos sobre o surgimento de eventos adversos laboratoriais adversos associados ao surgimento de resultados laboratoriais incorretos, reportados pela FDA entre 2014 a 2017 (Figura 2).

Figura 2. Eventos adversos reportados pela FDA.



Número de eventos adversos laboratoriais adversos associados ao surgimento de resultados laboratoriais incorretos, reportados pela FDA entre 2014 a 2017.

Fonte: <https://www.corelaboratory.abbott/us/en/offerings/assays/biotin-information.html>.

## ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO

O ensaio imunoabsorvente ligado a enzima ou Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), se destaca entre os métodos imunológicos de diagnóstico de doenças que utiliza o princípio interação antígeno anticorpo por conferir maior sensibilidade e especificidade aos resultados (KONSTANTINOU, 2017). Com a necessidade de se diminuir a interferência do erro humano neste teste imunológico, e pela necessidade de resultados em grande velocidade e quantidade, foram desenvolvidos leitores de ELISA automatizados, que aumentaram a eficiência do sistema de leitura e interpretação dos resultados, possibilitando a realização do teste em larga escala (GASPAR et al., 2015; SHAH, MAGHSOUDLOU, 2016).

O ELISA é um imunoenensaio que detecta a presença de antígenos ou anticorpos na amostra (por exemplo, soro) através de sua interação física com o respectivo ligante (anticorpo ou antígeno) fixado em uma fase sólida, no caso no poço de uma placa de 96 poços, feita de polietileno ou policarbonato (KONSTANTINOU, 2017).

Após a adição da amostra e sua incubação em determinada temperatura e período de tempo, são adicionados anticorpos monoclonais marcados com enzima peroxidase de rábano ou fosfatase alcalina, seguido de nova incubação em determinada temperatura e período de tempo. Após a lavagem dos poços para a remoção dos anticorpos em suspensão, é acrescido o respectivo substrato cromogênico; para a peroxidase de rábano é utilizada a água oxigenada (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) como substrato, e como cromógenos são utilizados a ortofenilenodiamina (OPD), tetrametilbenzidina (TMB) e diaminobenzidina (DAB); e para a fosfatase alcalina, o p-nitrofenilfosfato (NPP), 5-bromo-4-cloro-3-indolil-fosfato (BCIP) e nitroblue tetrazólio (NBT) (KONSTANTINOU, 2017).

A interação enzima com o substrato cromogênico leva a geração de produtos coloridos, solúveis ou insolúveis, cuja quantificação é feita através da densidade óptica da solução em espectrofotômetro, ou pela intensidade de cor visual, ou comparação a algum padrão de referência (GASPAR et al., 2015).

### TIPOS DE TESTE DE ELISA

Os tipos de teste ELISA variam conforme o material aderido a placa (antígeno ou anticorpo) e a amostra a ser testado (antígeno ou anticorpo). O número de etapas varia conforme o tipo de ELISA; entretanto, todos os tipos de ELISA envolvem a ligação antígeno-anticorpo, que são mensurados pela mudança de cor resultante da reação da enzima com seu respectivo substrato e cromógeno (GASPAR et al., 2015).

Os tipos de teste ELISA são o direto, indireto, sanduíche e competitivo. O tipo mais simples de ELISA corresponde ao teste direto, no qual o antígeno é absorvido a placa de 96 poços e utiliza-se um conjugado para a revelação da reação (SHAH, MAGHSOUDLOU, 2016).

No teste ELISA indireto, as placas são absorvidas com antígeno, onde se faz a pesquisa de anticorpos específicos no soro (ou fluido corporal), ou sobrenadante de cultura celular. Em seguida, coloca-se o conjugado para reconhecer o anticorpo teste (GASPAR et al., 2015).

No teste ELISA sanduíche, o antígeno presente na amostra a ser testada é capturado por um anticorpo fixado a placa e, posteriormente, o antígeno é reconhecido por um outro anticorpo com especificidade a um epítipo específico e diferente do anticorpo adsorvido a placa, denominado conjugado. Este nome, ELISA sanduíche, é utilizado uma vez que o antígeno corresponde ao “recheio” localizado entre os anticorpos (KOHL, ASCOLI, 2017).

No teste ELISA competitivo existe uma competição entre os antígenos ou anticorpos presentes nas amostras a serem testadas e antígenos ou anticorpos conjugados com enzima, estes previamente preparados em laboratório. Neste tipo de ensaio, ao contrário do que ocorre nos demais, quanto menor a intensidade da cor produzida durante

a reação, mais positivo será o resultado do teste (GASPAR et al., 2015; KOHL, ASCOLI, 2017).

## SISTEMA BIOTINA-ESTREPTAVIDINA

Os sistemas de imunoensaio que utilizam tecnologias avançadas e uma plataforma totalmente automatizada, são os métodos de escolha no laboratório clínico, especialmente para a mensuração de moléculas heterogêneas complexas, presentes no sangue e/ou fluidos biológicos. Entretanto, uma vez que esses ensaios envolvem a reação de reagentes biológicos complexos (como anticorpos) com outros reagentes biológicos complexos (peptídeos e proteínas) em uma matriz biológica variável, existe uma maior suscetibilidade do teste a interferências de diferentes substâncias presentes na amostra (WILLEMAN et al., 2017).

Quando se trata do uso de medicamento que podem interferir com a conduta diagnóstica ou terapêutica do paciente, o médico normalmente realiza um inquérito ao paciente sobre seu histórico farmacológico, podendo identificar se alguma medicação pode interferir do ensaio a ser realizado. Entretanto, no caso da biotina, este inquérito não é comumente realizado (WILLEMAN et al., 2017).

Muitos imunoensaios utilizam anticorpos biotinilados e esferas magnéticas revestidas com estreptavidina para imobilizar complexos antígeno-anticorpo na fase sólida do teste ELISA. Essa técnica oferece muitas vantagens, incluindo a amplificação do sinal com alta sensibilidade; entretanto, isto o torna susceptível a interferência da biotina, pois o excesso de biotina no sangue proveniente do consumo exagerado da vitamina ou suplementos contendo esta vitamina competem com o anticorpo biotinilado utilizado no teste ELISA, alterando o resultado do teste (TRAMBAS et al., 2017).

Clinicamente, os imunoensaios são utilizados para mensurar uma ampla variedade de marcadores fisiológicos, como hormônios esteróides, proteicos, marcadores tumorais e micronutrientes (AYDIN, 2015).

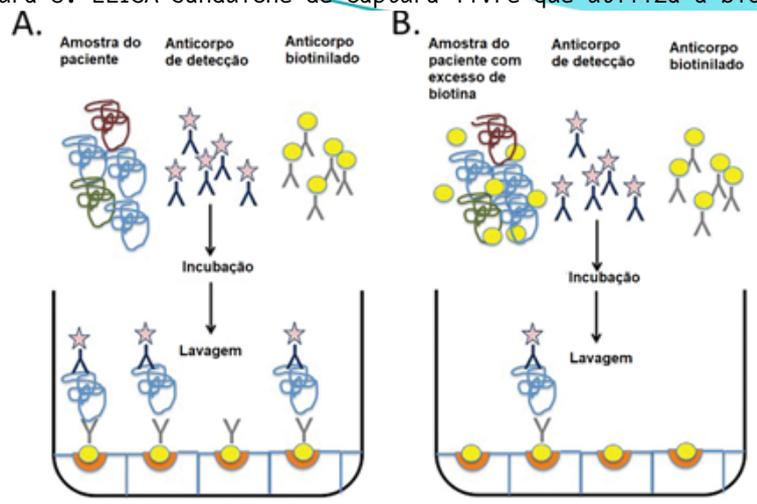
Em geral, os testes ELISA tipo “sanduíche” ou não competitivos são utilizados para mensurar moléculas de tamanho maiores, como o hormônio estimulante da tireóide (TSH) e troponina cardíaca, enquanto os testes ELISA competitivos são utilizados para a dosagem de moléculas menores, como os hormônios esteróides. Ambos os ensaios podem ser projetados para a incorporação da ligação biotina-estreptavidina, e a biotina exógena consumida em doses superiores aos valores recomendados pode interferir nessa interação levando ao surgimento de um resultado falso positivo ou falso negativo (COLON, GREENE, 2018).

Quando a ligação biotina-estreptavidina é usada como parte de um teste ELISA “sanduíche”, o excesso de biotina na amostra pode deslocar os anticorpos biotinilados, resultando em resultados falsamente baixos. Por outro lado, para o teste ELISA competitivo, o excesso de biotina no sangue conseqüentemente na amostra a ser testada pode competir com o análogo biotinilado para os locais de ligação da estreptavidina, resultando em resultados falsamente altos (LUONG, MALE, GLENNON, 2019).

A interferência da biotina consumida em excesso no teste ELISA sanduíche com biotina de captura livre é esquematizada na Figura 3, ao passo que a figura 4 ilustra a interferência da biotina no teste ELISA indireto de captura livre que utiliza o sistema biotina-estreptavidina (COLON, GREENE, 2018; LUONG, MALE, GLENNON, 2019).

Para evitar a interferência da biotina sobre este sistema diagnóstico, alguns laboratórios recomendam a suspensão da biotina ou suplementos que contenham biotina 72 horas antes da coleta de sangue para a realização de exames laboratoriais. Outra opção consiste na utilização de metodologia de captura magnética de micropartículas. Essa técnica conta um sistema magnético de captura da biotina, impedindo que o excesso de biotina não cause interferência sobre os resultados do ensaio (CHAKRAVARTHY, RAMANATHAN, 2017; TRAMBAS et al., 2018).

Figura 3. ELISA sanduíche de captura livre que utiliza a biotina.

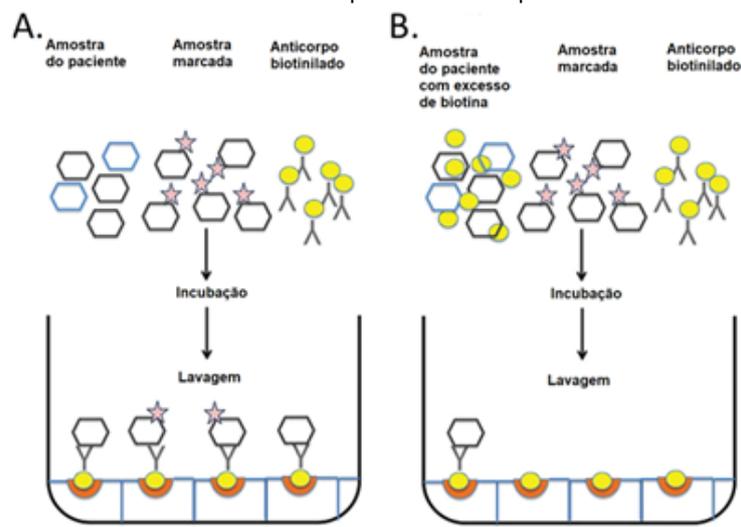


A- Em um ELISA do tipo sanduíche de captura livre, a amostra do paciente, os anticorpos de detecção e anticorpos biotilados são adicionados em um poço revestido com estreptavidina. O anticorpo biotilado se liga à estreptavidina ligada a fase sólida. Os anticorpos da amostra ficam entre o anticorpo biotilado e o de detecção. O sinal é diretamente proporcional a concentração de anticorpos na amostra.

B- Na presença de excesso de biotina na amostra, a biotina se liga a estreptavidina, bloqueando o anticorpo biotilado e, portanto, os anticorpos da amostra. O anticorpo de detecção se liga aos da amostra que não estão presos a fase sólida, que são eliminados após a lavagem, resultando em um sinal e resultado falsamente diminuídos.

Fonte: COLON, GREENE, 2018.

Figura 4. ELISA indireto de captura livre que utiliza a biotina.



A- Em um ELISA indireto de captura livre, a amostra do paciente, e os anticorpos biotilados são adicionados a um poço revestido com estreptavidina. O anticorpo biotilado se liga a estreptavidina, que o fixa a fase sólida. O anticorpo de interesse compete com o anticorpo marcado para ligação aos anticorpos biotilados. O sinal é inversamente proporcional à concentração dos anticorpos da amostra.

B- Na presença de excesso de biotina na amostra, a biotina se liga aos locais da estreptavidina, bloqueando o anticorpo biotilado e o anticorpo da amostra. O anticorpo biotilado se liga ao analito de interesse que não está preso a fase sólida, e após a lavagem, resulta em um sinal falsamente diminuído, o que leva a um aumento do resultado.

Fonte: COLON, GREENE, 2018.

Assim, a interferência da biotina diminui de maneira falsa os resultados nos testes ELISA do tipo sanduíche (Figura 3), e aumenta de maneira falsa os resultados

obtidos no teste ELISA do tipo competitivo (Figura 4) que utilizam o formato biotina-estreptavidina. Como a maioria dos ensaios utilizados para a triagem sorológica de bancos de sangue e para o diagnóstico de doenças infecciosas não são competitivos (sanduíche), a interferência da biotina favorece o surgimento de resultados falso negativos (PIKETTY et al., 2017; SAMARASINGLE et al., 2017; LUONG, MALE, GLENNON, 2019).

## INTERFERÊNCIA DA BIOTINA EM IMUNOENSAIOS

Desde 2012 a literatura científica reporta a interferência da biotina no resultado de diferentes ensaios laboratoriais, em especial na dosagem de determinados hormônios para a avaliação da função tireoidiana, como TSH, T4, T4 livre e T3. Os pacientes que utilizavam altas doses diárias da biotina ou suplementos contendo altas doses de biotina apresentaram valores elevados de T4, T4 livre e T3, e baixos de TSH, compatíveis com o hipertireoidismo, tireotoxicose ou doença de Graves, sem, contudo, apresentarem quadro clínico compatível. Isto se deu pela utilização de ensaios imunométricos ou do tipo sanduíche, onde as dosagens hormonais se tornaram baixas, no caso para a dosagem de TSH; e nos ensaios competitivos estes valores podem se tornar altos, como na dosagem de T4, T4 livre e T3 (KWOK, CHAN, CHAN, 2012; WIJERATNE, DOERY, LU, 2012; BARBESINO, 2016; ELSTON et al., 2016; KUMMER, HERMSEN, DISTELMAIER, 2016; LI et al., 2017; LUONG, MALE, GLENNON, 2019; OSTROWSKA et al., 2019).

A literatura descreve vários relatos de resultados de testes alterados para alto ou para baixo devido a interferência da biotina (BATISTA et al., 2017), incluindo dosagem de hormônios da tireóide (BARBESINO, 2016), gonadotrofina coriônica humana (HCG) (WILLIAMS, CERVINSKI, NERENZ, 2018), troponina (WILLEMANN et al., 2017; SCHARAPP et al., 2018; FRAME et al., 2019; VROEMEN et al., 2019), anticorpos anti-HIV (CHAKRAVARTHY, RAMANATHAN, 2017) e anticorpos anti-HBsAg (NING et al., 2019).

A tabela 1 apresenta quais imunoenaios podem ser afetados pelo uso de altas doses de biotina (Li et al., 2017).

Tabela 1. Potenciais efeitos da biotina exógena sobre imunoenaios.

<b>Marcadores da tireóide</b>	<b>Impacto do uso de altas doses de biotina sobre o resultado</b>
Hormônio estimulante da tireóide, reflexivo	Falsamente diminuído
Hormônio estimulante da tireóide	Falsamente diminuído
T <sub>4</sub> livre	Falsamente aumentado
T <sub>3</sub> livre	Falsamente aumentado
T <sub>4</sub> total	Falsamente aumentado
T <sub>3</sub> total	Falsamente aumentado
Anticorpo antiperoxidase tireóide	Falsamente aumentado
Anticorpo anti-tireoglobulina	Falsamente aumentado
<b>Hormônios</b>	
Hormônio paratireoideano	Falsamente diminuído
Hormônio foliculo estimulante	Falsamente diminuído
Hormônio luteinizante	Falsamente diminuído
Hormônio adrenocorticotrófico	Falsamente diminuído
Prolactina	Falsamente diminuído
Hormônio do crescimento	Falsamente diminuído
Insulina	Falsamente diminuído
Peptídeo-C	Falsamente diminuído
Cortisol	Falsamente diminuído
Estradiol	Falsamente diminuído
Testosterona	Falsamente aumentado
Progesterona	Falsamente aumentado
Sulfato de dehidroepiandrosterona	Falsamente aumentado
<b>Marcadores tumorais</b>	
Alfa fetoproteína (AFP)	Falsamente diminuído
Antígeno de câncer 125 (CA-125)	Falsamente diminuído
Antígeno carcinoembrionário (CEA)	Falsamente diminuído
Antígeno carboidrato 19-9 (CA 19-9)	Falsamente diminuído
Antígeno específico prostático (PSA) total	Falsamente diminuído
Antígeno específico prostático (PSA) screening	Falsamente diminuído
Antígeno específico prostático (PSA) livre	Falsamente diminuído
Marcador tumoral gonadotrofina coriônica humana (HCG)	Falsamente diminuído
<b>Marcadores cardíacos</b>	
Troponina T	Falsamente aumentado
Fragmento N-terminal do peptídeo natriurético tipo B (NT-ProBNP)	Falsamente aumentado
<b>Marcadores nutricionais</b>	
Ferritina	Falsamente diminuído
25-Hidroxivitamina D	Falsamente aumentado
Vitamina B <sub>12</sub>	Falsamente aumentado
Folato	Falsamente aumentado
<b>Marcadores sorológicos de doenças infecciosas</b>	
Antígeno/anticorpo anti-HIV Combo	Falsamente diminuído
Anticorpo anti-HCV	Falsamente diminuído
Anticorpo anti-HAV	Falsamente diminuído
Anticorpo anti-HAV, IgM	Falsamente diminuído
Antígeno de superfície do HBV (HBsAg)	Falsamente diminuído
Anticorpo anti-HBsAg	Falsamente diminuído
Antígeno e do HBV (HBeAg)	Falsamente diminuído
Anticorpo anti-HBcAg, IgM	Falsamente diminuído
Anticorpo anti-HBcAg, Ig Total	Falsamente diminuído
<b>Marcadores de gestação</b>	
<i>Pregnancy screen</i> *, qualitativo	Falsamente diminuído
Gonadotrofina coriônica humana (HCG)	Falsamente diminuído
<b>Fármacos</b>	
Digoxina	Falsamente aumentado
<b>Outras proteínas</b>	
Imunoglobulina E (IgE)	Falsamente diminuído
Mioglobina	Falsamente diminuído
Globulina ligadora de hormônios sexuais (SHBG)	Falsamente diminuído

HBV=Vírus da hepatite B; \* Triagem de proteínas plasmáticas associadas a gravidez (PAPP-A), HCG, AFP, estriol, inibina.

Fonte: Adaptado de Li et al.,2017.

De modo geral, todos os ensaios que utilizam o método biotina-estreptavidina podem ser afetados por qualquer quantidade exógena de biotina, exceto quando se utiliza o método biotina de captura livre. Idealmente, o laboratório deveria ser sinalizado quanto a possibilidade da interferência da biotina na amostra do paciente. Entretanto, a suplementação nem sempre é listada na história clínica do paciente, e a grande maioria

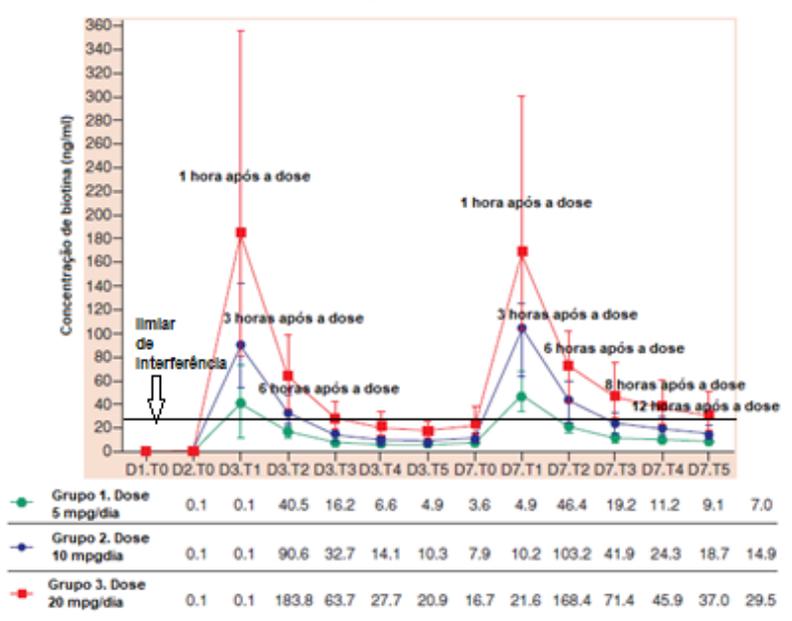
dos testes de triagem são solicitados por médicos de cuidados primários (BATISTA et al., 2017).

Em 2018, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou novas regras para comercialização e fabricação de suplementos vitamínicos, para trazer clareza ao consumidor quanto a composição e consumo racional. Entretanto, é necessário alertar os pacientes, médicos e provedores de saúde quanto a interferência da biotina em imunoenaios e a possibilidade de diagnóstico errôneo (ANVISA, 2018).

Uma das questões que permanece sem resposta é a prevalência do uso de biotina em pacientes no momento em que registram entrada no departamento de emergência, em condições críticas e que dependem de exames laboratoriais para o correto diagnóstico (LUEDKE, 2018). Um estudo realizado pelo laboratório Mayo Clinic para a quantificação da biotina em amostras de plasma coletadas no departamento de emergência indicou que 7,7% dos pacientes acusaram uso de biotina e 7,4% apresentaram concentrações de biotina iguais ou superiores a 10 ng/mL, valor considerado o limiar mais baixo para interferência da biotina nos equipamentos da Roche Diagnostics. Concentrações acima de 30 ng/mL, 50 ng/mL e 100 ng /mL foram relatados em sete, cinco e dois pacientes respectivamente, enquanto 50% dos pacientes do departamento de emergência apresentaram níveis séricos de biotina acima de 5 ng/mL (LUEDKE, 2018).

Atualmente, a maioria dos laboratórios de referência oferecem bioensaios séricos de biotina que foram validados para detectar a deficiência da vitamina, não sendo adequados para medir altas concentrações séricas de biotina, uma vez que o período de depuração sérica da biotina pode variar dependendo da dose e do limiar de interferência no ensaio (Figura 5) (GRIMSEY et al., 2017). Com o consumo diário de altas doses de biotina, o tempo de depuração da vitamina do corpo humano torna-se mais longo, sendo necessários 7 dias para se obter níveis séricos baixos da biotina no sangue, capazes de diminuir a chance de interferência no teste ELISA (COLON, GREENE, 2018). Também, os metabólitos da biotina, bisnorbiotina ou biotina sulfóxido, podem se ligar a estreptavidina, comprometendo o resultado de ensaios susceptíveis a interferência (PIKETTY et al., 2017).

Figura 5. Concentração sérica da biotina e tempo de depuração.



A biotina possui farmacocinética linear no intervalo de doses estudadas (5, 10 e 20 mg), com meia-vida sérica de 15 h. Após administração consecutiva durante vários dias, foi observado acúmulo de biotina em cada grupo de administração; e um estado estacionário é atingido após 3 dias de ingestão de biotina.

Fonte: GRIMSEY et al., 2017.

O desenvolvimento de um ensaio para determinar a concentração sérica de biotina permitiria uma avaliação mais precisa de amostras que podem sofrer interferência e entender melhor as concentrações séricas após a suplementação com doses altas de biotina, e ser utilizada para validação de métodos que utilizam o sistema biotina-estreptavidina (COLON, GREENE, 2018).

No entanto, esses resultados precisam ser comparados com dados *in vivo*, e as autoridades competentes de saúde devem exigir da indústria de diagnóstico *in vitro* estudos do efeito da biotina em seus instrumentos para maior entendimento da interferência da biotina em imunoenaios (WILLEMANN et al., 2017).

As recomendações para minimizar a interferência da biotina em imunoenaios incluem a educação e comunicação com os consumidores sobre o uso excessivo de biotina ou suplementos contendo biotina; de profissionais da área de saúde sobre a investigação do histórico dos pacientes sobre o uso de biotina e sua interferência sobre testes de diagnóstico cardiovascular e hormonais que utilizam tecnologia envolvendo a interação biotina-estreptavidina; profissionais de laboratório que realizam os testes sobre resultados que não correspondem a avaliação clínica e risco de interferência da biotina sobre ensaios que envolvem tecnologia com o uso de biotina; e fabricantes e desenvolvedores de testes de laboratório sobre o risco de interferência da biotina em imunoenaios (LI, WAGAR, MENG, 2018; LUONG, MALE, GLENNON, 2019; GIFFORD, KONING, SADRZADEH, 2019).

## CONSIDERAÇÕES

O consumo exagerado de biotina resultou em pessoas sendo expostas a níveis muito superiores aos recomendados e como consequência, laboratórios que utilizam o método sanduíche biotina de captura livre e competitivo, estão sujeitos a erros de diagnóstico pela interferência da biotina.

Os suplementos vitamínicos contendo altas doses de biotina estão disponíveis no mercado e são comercializadas sem necessidade de receituário ou instruções de um

profissional da área da saúde. Para mitigar o risco da interferência, médicos, laboratórios e pesquisadores de tecnologias na área de diagnóstico precisam trabalhar em conjunto para diminuir os impactos na saúde e gerenciamento do quadro clínico do paciente.

## REFERÊNCIAS

- ABBOTT LABORATORIES LTDA. A real risk: biotin interference with laboratory tests in more than just an inconvenience, it can pose a real risk to patients. Disponível em: <<https://www.corelaboratory.abbott/us/en/offerings/assays/biotin-information.html>>.
- ABBOTT LABORATORIES LTDA. Why are physicians and labs worried about biotin? Disponível em: <[https://beta-static.fishersci.com/content/dam/fishersci/en\\_US/documents/programs/healthcare/brochures-and-catalogs/fliers/abbott-biotin-testing-flier.pdf](https://beta-static.fishersci.com/content/dam/fishersci/en_US/documents/programs/healthcare/brochures-and-catalogs/fliers/abbott-biotin-testing-flier.pdf)>.
- AYDIN, S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides*. v.72, p.4-15, 2015.
- BARBESINO, G. Misdiagnosis of Grave's disease with apparent severe hyperthyroidism in a patient taking biotin megadoses. *Thyroid*. v.26, p.860-863, 2016.
- BEVINS, N.J.; et al. A dilution method to mitigate biotin interference in cardiac troponin testing. *Journal of Applied Laboratory Medicine*. v.4, n.3, p.415-421, 2019.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Publicadas novas regras para suplementos alimentares. Brasília, DF, 2018.
- CHAKRAVARTHY, S.; RAMANATHAN, S. The good, bad and ugly. *Advances in Precision Medicine*. v.2, n.2, p.1-3, 2017.
- COLON, J.P.; GREENE, N.D. Biotin interference in clinical immunoassays. *The Journal of Applied Laboratory Medicine*. v.2, n.6, p.941-951, 2018.
- ELSTON, M.S.; et al. Factitious Grave's disease due to biotin immunoassay interference. A case and review of the literature. *Journal Of Clinical Laboratory Metabolism*. v.101, p.3251-3255, 2016.
- FDA. Food and Drugs Administration. The FDA warns that biotin may interfere with lab tests: FDA safety communication. Washington, DC; 2017.
- FRAME, I.J.; et al. Susceptibility of cardiac troponin assay to biotin interference. *Am J Clin Pathol*. v.151, n.5, p.486-493, 2019.
- GASPAR, E.B.; et al. Diagnóstico veterinário por ensaio imunoabsorvente ligado a enzima: Revisão atualizada. ISSN 1982-5390; p.145. Embrapada Pecuária Sul, 2015.
- GIFFORD, J.L. de KONING, L.; SADRZADEH, S.M.H. Strategies for mitigating risk posed by biotin interference on clinical immunoassays. *Clinical Biochemistry*. v.65, p.61-63, 2019.
- GRIMSEY, P.; et al. Population pharmacokinetics of exogenous biotin and the relationship between biotin serum levels and in vitro immunoassay interference. *Int J Pharmacokinet*. v.2, n.4, p.247-256, 2017.
- HOLMES, W.E.; SAMARASINGHE, S.; MARY, E.; MEAH, F. Biotin interference in clinical immunoassays: A cause for concern. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. v. 141, n.11, p.1459-1460, 2017.
- KOHL, T.O.; ASCOLI, C.A. Direct and indirect cell-based enzyme-linked immunosorbent assay. *Cold Spring Harbour Protocols*. 5 ed. 2017.

- KONSTANTINOU, G.N. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Methods in Molecular Biology*. v.1592, p.79-94, 2017.
- KUMMER, S.; HERMSEN, D.; DISTELMAIER, F. Biotin treatment mimicking Grave's disease. *New England Journal of Medicine*. v.375, p.704-706, 2016.
- KWOK, J.S.; CHAIN, I.H.; CHAN, M.H. Biotin interference on TSH and free thyroid hormone measurement. *Pathology*. v.44, p.278-280, 2012.
- LI, D.; et al. Association of biotin ingestion with performance of hormone and nonhormone assay in health adults. *JAMA*. v.318, p.1150-1160, 2017.
- LI, J.; WAGAR, E.A.; MENG, Q.H. Comprehensive assessment of biotin interference in immunoassays. *Clinical Chemical Acta*. v.487, p.293-298, 2018.
- LUEDKE, K. Biotin interference: answering questions, reducing the risk. 2018. disponível em: <<https://news.mayocliniclabs.com/2018/12/11/nikola-baumann-ph-d-discusses-biotin-interference-in-cap-today/>>. Acesso em 11 nov. 2019.
- LUONG, J.H.T.; MALE, K.B.; GLENNON, J.D. Biotin interference in immunoassays based on biotin-strept(avidin) chemistry: an emerging threat. *Biotechnology*. v.37, n.5, p.634-641, 2019.
- NING, M.; et al. Insignificant interference of Elevit in pregnant women serum samples with HBsAg immunoassays on Sysmex. *J Clin Lab Anal*. v.33, n.3, p.e22725, 2019.
- ONDER, A.B.; et al. Biotin deficiency in hyperemesis gravidarum. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. v.39, n.8, p.1160-1163, 2019.
- OSTROWSKA, M.; et al. The interference on the results of blood hormone assay. *Endokrynol Pol*. v.70, n.1, p.192, 121, 2019.
- PATEL, D.P.; SWINK, S.M.; CASTELO-SOCCIO, L. A review of the use of biotin for hair loss. *Skin Appendage Disorders*. v.3, n.3, p.166-169, 2017.
- PEYRO SAINT PAUL, L.; et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of MD1003 (high-dose biotin) in the treatment of progressive multiple sclerosis. *Expert Opinion Drug Metabolism Toxicology*. v.12, n.3, p.327-344, 2016.
- Piketetty, M.C.; et al. Biotin interference in immunoassays mimicking subclinical Graves' disease and hyperestrogenism: a case series. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. v. 55, n. 6, p. e99-e103, 2017.
- PIKETTY, M.L.; et al. False biochemical diagnosis of hyperthyroidism in streptavidin-biotin-based immunoassays: the problem of biotin intake and related interferences. *Clinical Chemical Laboratory Medicine*. v.55, n.6, p.780-788, 2017.
- RUBERT, A.; et al. Vitaminas do complexo B: uma breve revisão. *Revista Jovens Pesquisadores*. v.7, n.1, p.3045, 2017.
- SAMARASINGHE, S.; et al. Biotin interference with routine clinical immunoassays: understand the causes and mitigate the risks. *Endocrinology Practic*. v.23, n.8, p.989-998, 2017.
- SCHARAPP, A.; et al. Biotin and high-sensitive cardiac troponin T assay. *Biochemical Medicine*. v.28, n.3, p.030901, 2018.
- SHAH, K.; MAGHSOUDLOU, P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): the basics. *British Journal of Hospital Medicine*. v.77, n.7, p.C98-C101, 2016.
- TRAMBAS, C.; et al. Characterization of the scope and magnitude of biotin interference in susceptible Roche Elecsys competitive and sandwich immunoassays. *Annals of Clinical Biochemistry*. v.55, n.2, p. 205-215, 2018.



INTERFERÊNCIA DA BIOTINA EM IMUNOENSAIOS  
INTERFERENCE OF BIOTIN IN IMMUNOASSAYS

VROEMEN, W.H.M.; et al. Biotin interference in high-sensitivity cardiac troponin T testing: a real-world evaluation in acute cardiac care. *Cardiovasc Res.* v.115, n.14, p.1950-1951, 2019.

WIJERATNE, N.G.; DOERY, J.C.; LU, Z.X. Positive and negative interference in immunoassays following biotin ingestion: a pharmacokinetic study. *Pathology.* v.44, p.674-675, 2012.

WILLEMANN, T.; et al. Evaluation of biotin interference on immunoassays: new data for troponin I, digoxin, NT-Pro-BNP, and progesterone. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.* v.55, n.10, p.226-229, 2017.

WILLIAMS, G.R.; CERVINSKI, M.A.; NERENZ, R.D. Assessment of biotin interference with qualitative point-of-care hCG test devices. *Clin Biochem.* v.53, p.168-170, 2018.

ZEMPLINI, J. Biotin. *Advance in Nutrition.* v.3, n.2, p.213-214, 2012.