



Leids Universitair  
Medisch Centrum

# Hoe goed doen verschillende anti-HBs testen het? En hoe goed moet het?

Ann C.T.M. Vossen

LUMC

NOTHING TO DISCLOSE



# Diagnostische performance van anti-HBs testen

- SKML rondzending “ anti-HBs screen” – 3 rondes in 2013
- Monsters:
  - Een gepoold anti-HBs positief serum in een verdunningsreeks (1:512, 128, 64, 8 en 4)
  - Anti-HBs negatief serum
- Analyse van 494 anti-HBs metingen van 42 laboratoria
- 6 verschillende anti-HBs testen zijn vergeleken
- Resultaten uitgedrukt in IU/l
- Analyse van resultaten rondom 10 en 100 IU/l

# Waarom keuze 10 IU/l ?

Actieve immunisatie:

- een anti-HBs-titer 4 tot 6 weken na de laatste hepatitis B-vaccinatie  $\geq 10$  IE/l leidt tot langdurige (waarschijnlijk levenslange) bescherming. Revaccinatie is niet geïndiceerd.

Titer controle is AAN TE RADEN

1) als blootstelling mogelijk al heeft plaatsgevonden vóór vaccinatie:

- a) bij zuigelingen van HBsAg positieve moeders
- b) bij sekspartners van dragers

2) Om maatschappelijke redenen:

- a) vaccinatie vanwege een beroepsgebonden risico
- b) wens van gevaccineerde



# Waarom keuze 100 IU/l ?

Preventie iatrogene hepatitis B:

- Beleid ten aanzien van **risicovormers** in de gezondheidszorg
- Na volledige HBV-vaccinatie:
  - Anti-HBs > **100 IU/l**: langdurige bescherming, revaccinatie niet nodig
  - Anti-HBs 10-99 IU/l: hypo-responder, HBV-infectie uitsluiten, boostervaccinatie na 5 jaar
  - Anti-HBs < 10 IU/l: non-responder

# De anti-HBs testen

**Table 1**

Source and type of antigen used as a reagent (human/recombinant) in anti-HBs assays.

Anti-HBs assay <sup>a</sup>	Antigen	No. of laboratories <sup>b</sup> /no. of assays
Access (Beckman-Coulter)	Human (ad/ay)	3/3
ADVIA Centaur (Siemens Healthcare Diagnostics)	Human (ad/ay)	3/3
Elecsys —Cobas —Modular (Roche Diagnostics)	Human (ad/ay)	10/10
Architect (Abbott Laboratories)	Recombinant; E. coli (ad/ay)	20/22
AxSYM (Abbott Laboratories)	Recombinant; L. mouse cell (ad/ay)	6/6
Vidas (Biomerieux)	Inactivated plasma (ad) and recombinant (ay)	2/2

<sup>a</sup> All assays were calibrated against the 1<sup>st</sup> International Reference Preparation WHO 1977.

<sup>b</sup> The same laboratory could use more than one assay, resulting in 44 laboratories representing only 42 unique laboratories.



# SKML rondzending “ anti-HBs screen” – 3 rondes in 2013

Table 1: Frequency of anti-HBs test assay use for six sample dilutions in three test rounds in 2013\*

Test assay	<u>negative sample</u>			<u>dilution</u> 1:512			<u>dilution</u> 1:128			<u>dilution</u> 1:64			<u>dilution</u> 1:8			<u>dilution</u> 1:4				
	<u>test round</u>			<u>test round</u>			<u>test round</u>			<u>test round</u>			<u>test round</u>			<u>test round</u>				
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
	<u>No. of assays</u>			<u>No. of assays</u>			<u>No. of assays</u>			<u>No. of assays</u>			<u>No. of assays</u>			<u>No. of assays</u>				
Architect	18	18	20	18	-	20	18	-	21	18	18	-	-	18	-	18	-	18	-	22
<u>Vidas</u>	2	2	2	2	-	2	2	-	2	2	2	-	-	2	-	2	-	2	-	2
Centaur	3	3	3	3	-	3	3	-	3	3	3	-	-	3	-	3	-	3	-	3
Roche	10	10	9	10	-	9	10	-	10	10	10	-	-	9	-	9	-	9	-	10
<u>AxSYM</u>	5	4	5	5	-	5	4	-	5	5	4	-	-	4	-	5	-	5	-	5
Access	3	3	3	3	-	3	3	-	3	3	2	-	-	3	-	3	-	3	-	3

\* Not every laboratory participated in each test round

# De overeenstemming tussen de verschillende assays

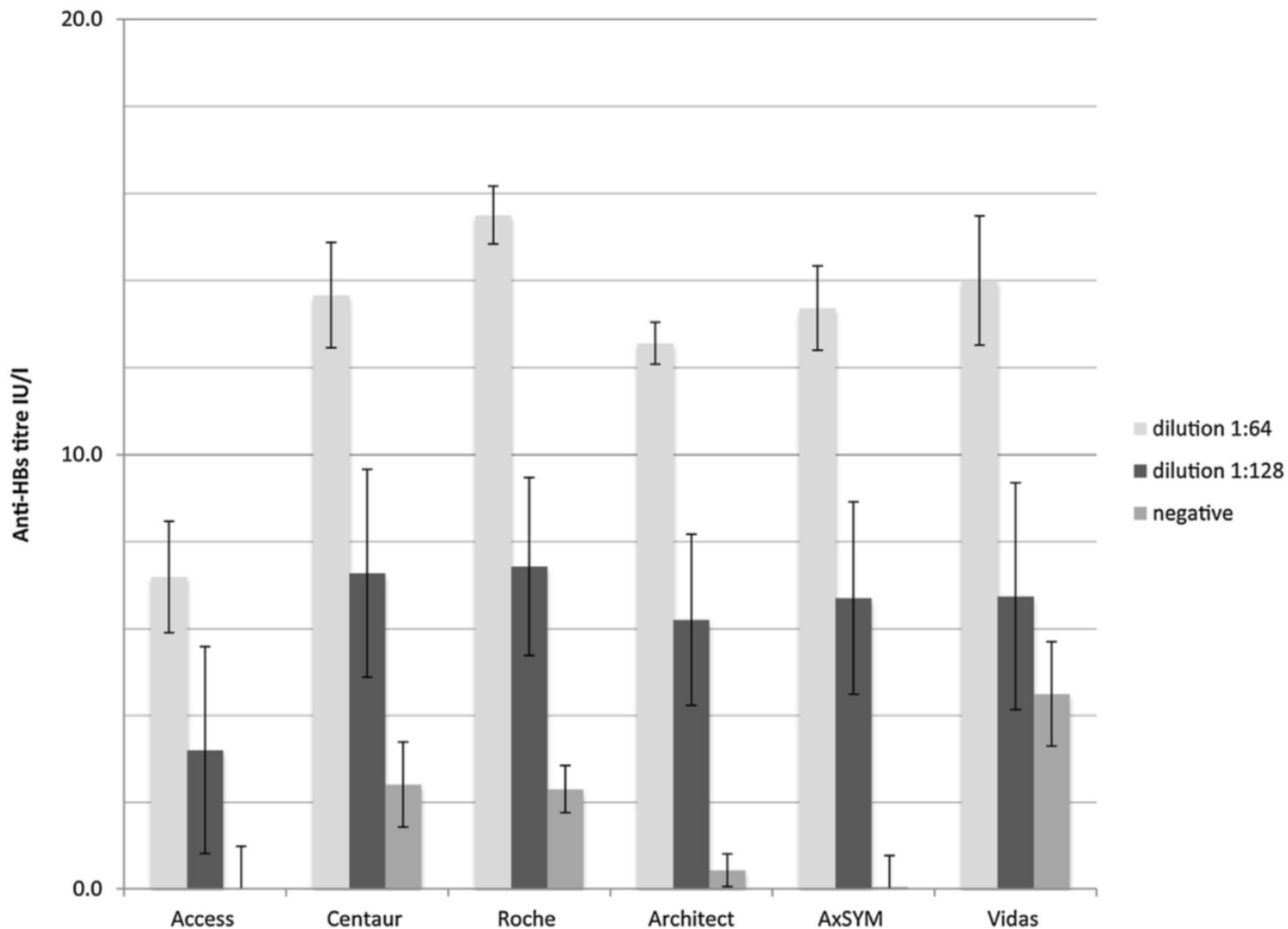
Table 2: Number of assays per dilution providing results in categories of anti-HBs titres based on cutoff values of 10 (IU/l) and 100 (IU/l) with the corresponding percentage agreement.

Sample	1-9 (IU/l)	≥10 -99 (IU/l)	≥100 (IU/l)	Agreement*
<u>Negative</u>	123	0	-	100%
1:512	83	0	-	100%
1:128	83	1	-	99%
1:64	6	74	-	93%
1:8	-	22	17	44%‡
1:4	-	0	85	100%‡

\*percentage agreement compared to the true positive or negative value in sample negative, 1:512, 1:128 and 1:64 with an anti-HBs titre cutoff of 10 (IU/l)

‡ percentage agreement compared to the true positive or negative value in sample 1:8 and 1:4 with an anti-HBs titre cutoff ≥100(IU/l)

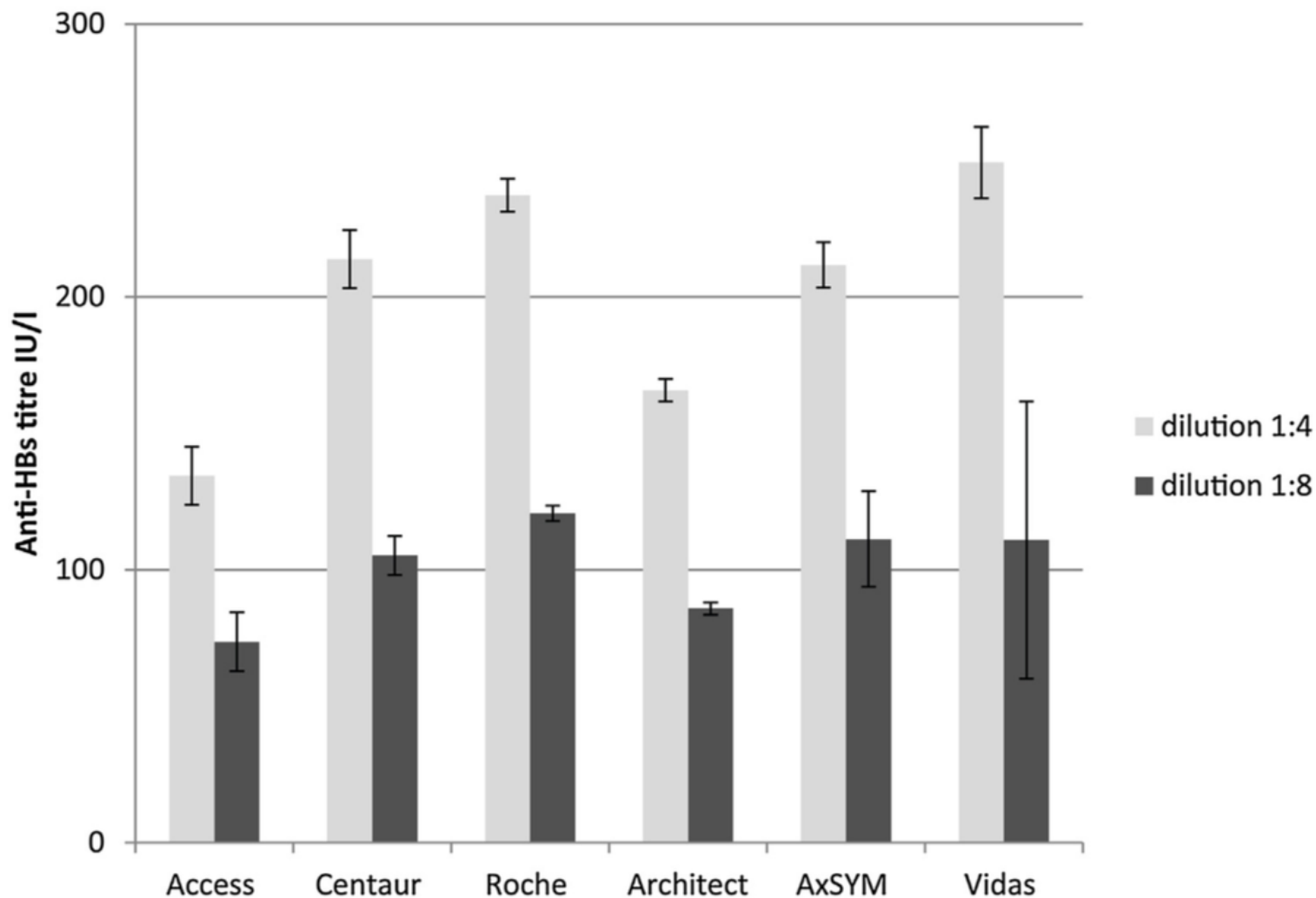
# Resultaten rondom de cut-off van 10 IU/l (1:128 < 10 IU/l, 1:64 10-100 IU/l)



**Fig. 1.** Mean anti-HBs results (95% CI) of different dilutions repeatedly analysed with different test methods.



# Resultaten rondom de cut-off van 100 IU/l (1:4 > 100 IU/l, 1:8 rondom 100 IU/l)



**Fig. 2.** Mean anti-HBs results (95% CI) of diluted sample 1:4 and 1:8 repeatedly analysed with different test methods.

# Resultaten rondom de cut-off van 100 IU/l (1:8 rondom 100 IU/l)

**Table 3**

Number of assays providing results in categories of anti-HBs titres based on cutoff value of 100 (IU/l) with dilution 1:8 (N = 39).

Test assay	1-9 (IU/l)	≥10-99 (IU/l)	≥100 (IU/l)	Agreement <sup>a</sup>
Architect	-	18	0	0%
Vidas	-	0	2	100%
ADVIA Centaur	-	0	3	100%
Roche	-	0	9	100%
AxSYM	-	1	3	75%
Access	-	3	0	0%

<sup>a</sup> percentage agreement compared to the true positive value in sample 1:8 with an anti-HBs titre cutoff  $\geq 100$ (IU/l).

## Resultaten rondom de cut-off van 10 IU/l en 100 IU/l

**Table 2**

sensitivity and specificity calculated for different assays compared to an anti-HBs titre cutoff of 10 IU/l and 100 IU/l.

Test assay	Sensitivity% <sup>(a)</sup>		Specificity% <sup>(b)</sup>	
	10 IU/l	100IU/l	10 IU/l	100 IU/l
Architect	99 (1/94)	69 (18/58)	100 (0/133)	100 (0/169)
Vidas	100 (0/10)	100 (0/6)	100 (0/14)	100 (0/18)
ADVIA Centaur	100 (0/15)	100 (0/9)	95 (1/21)	100 (0/27)
Roche	100 (0/48)	100 (0/28)	100 (0/68)	100 (0/88)
AxSYM	100 (0/23)	93 (1/14)	100 (0/33)	100 (0/42)
Access	64 (5/14)	67 (3/9)	100 (0/21)	100 (0/26)

<sup>a</sup>  $100 - (\text{No. false-negative} / \text{total no. of true positive samples (at least 4 of 6 assays anti-HBs} \geq 10 \text{ IU/l or } \geq 100 \text{ IU/l)}) \times 100$ .

<sup>b</sup>  $100 - (\text{No. false-positive} / \text{total no. of true negative samples (at least 4 of 6 assays anti-HBs} < 10 \text{ IU/l or } < 100 \text{ IU/l)}) \times 100$ .

# Mixed-model repeated measures analysis

**Table 4**

Descriptive statistics of all anti-HBs results per dilution and results of mixed-model repeated measures with test round and test method as fixed effects (N=494).

Sample (N)	Anti- HBs Mean (SD) (IU/l)	Anti- HBs Range (IU/l)	Coefficient of variation (%)	Fixed effect P- value	
				test method	test round
Negative	123	1.1 (1.5)	0.0–5.0	–	0.60
1:512	83	2.1 (1.2)	0.0–5.0	57%	0.69
1:128	84	6.4 (1.9)	0.0–10.8	30%	0.81
1:64	80	13.2 (2.3)	6.0–18.1	17%	0.19
1:8	39	98.4 (17.5)	71.0–126	17%	n.a.*
1:4	85	192 (37.7)	127–263	20%	0.58

SD: standard deviation. Range: Range of anti-HBs measurements are minimum and maximum values.

\* n.a.: not applicable, measurements available of one test round and therefore not suitable for a mixed model.

Alleen test-methode had significant effect op variatie in test-resultaten.



## Conclusie “hoe goed doen verschillende anti-HBs testen het?”

- Kwantitatieve anti-HBs resultaten zijn afhankelijk van de gebruikte test, ondanks kalibratie tegen dezelfde WHO anti-HBs standaard
- Rond de cut-off van 10 IU/l kan Access gebruik leiden tot fout-negatieve resultaten
- Rond de cut-off van 100 IU/l kunnen Architect en Access leiden tot fout-negatieve resultaten

# Hoe goed moet het?

In de praktijk:

• Tussen 2012-2014 (3 jaar) vaccinatie titers LUMC - BGD (Architect):

- Totaal: 1308
- Anti-HBs > 1000 IU/l: 900
- Anti-HBs < 10 IU/l 57 (4.4 %)
- Anti-HBs 10-100 IU/l 86 (6.6 %)
- Anti-HBs 100-200 IU/l 56

Is de bevinding van deze studie “een probleem”?

• Bij risico-lopers: Nee >> kan leiden tot extra vaccinatie, maar niet tot ten onrechte als beschermd afgeven

• Bij risico-vormers: Voor werknemer: onrust, extra bepalingen, extra vaccinaties.

Voor patienten: geen risico

OVERALL:

De harmonisatie kan zeker beter, maar 100 % specificiteit is van grootste belang!

Bedankt voor uw aandacht!  
Vragen?