

Referenties

1. Nakashima T, Yasumatsu R, Kuratomi Y, Masuda M, Kuwano T, Toh S, et al. Role of squamous cell carcinoma antigen 1 expression in the invasive potential of head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2006; 28: 24-30.
2. Torre GC. SCC antigen in malignant and nonmalignant squamous lesions. *Tumour Biol* 1998; 19: 517-526.
3. Indinnimeo M, Reale MG, Cicchini C, Stazi A, Fiori E, Izzo P. CEA, TPA, CA 19-9, SCC and CYFRA at diagnosis and in the follow-up of anal canal tumors. *Int Surg* 1997; 82: 275-279.
4. Ruvoletto MG, Tono N, Carollo D, Vilei T, Trentin L, Muraca M, et al. Surface expression of squamous cell carcinoma antigen (SCCA) can be increased by the preS1 (21-47) sequence of hepatitis B virus. *J Gen Virol* 2004; 85 (Pt 3): 621-624.
5. Hussein MM, Ibrahim AA, Abdella HM, Montasser IF, Hassan MI. Evaluation of serum squamous cell carcinoma antigen as a novel biomarker for diagnosis of hepatocellular carcinoma in Egyptian patients. *Indian J Cancer* 2008; 45: 167-172.
6. Guido M, Roskams T, Pontisso P, Fassan M, Thung SN, Giacomelli L, et al. Squamous cell carcinoma antigen in human liver carcinogenesis. *J Clin Pathol* 2008; 61: 445-447.
7. Roijer E, de Bruijn HW, Dahlen U, ten Hoor K, Lundin M, Nilsson K, et al. Squamous cell carcinoma antigen isoforms in serum from cervical cancer patients. *Tumour Biol* 2006; 27: 142-152.
8. Nustad K, Dowell BL, Davis GJ, Stewart K, Nilsson O, Roijer E, et al. Characterization of monoclonal antibodies directed against squamous cell carcinoma antigens: report of the TD-10 Workshop. *Tumour Biol* 2004; 25: 69-90.

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2010; 35: 27-30

De immunochemische fecaaloccultbloedtest in een screeningsstudie naar colorectaal carcinoom

A.J. van VUUREN¹, A.H.C. van ROON¹, F.M. VERHEIJEN², J. FRANCKE¹, E.J. KUIPERS¹ en J.G. BOONSTRA³

In november 2009 heeft de Gezondheidsraad geadviseerd een nationaal screeningsprogramma voor colorectaal carcinoom (CRC) in Nederland op te zetten. Het was reeds bekend dat screening voor deze aandoening met de guaiac-fecaaloccultbloedtest (gFOBT) het sterftepercentage vermindert, en recent zijn tevens ervaringen opgedaan met de immunologische FOBT (iFOBT). De gFOBT en iFOBT verschillen niet in hun detectiegraad voor CRC, echter met de iFOBT wordt een groter aantal patiënten met geavanceerde adenomen opgespoord. De kwantitatieve opzet van de gebruikte iFOBT maakt het mogelijk verschillende afkapwaarden te kiezen. Zowel klinisch als analytisch lijkt 75 ng/ml een goede afkapwaarde, mits voldoende capaciteit voor vervolgonderzoek (colonoscopie) beschikbaar is.

Colorectaal carcinoom (CRC) is een groot gezondheidsprobleem in de westerse wereld. Voor zowel vrouwen als mannen is CRC het derde meest voorkomende type kanker. Opsporing van vroege carcinomen en verwijdering van adenomen (mogelijke voorstadia van carcinomen) kunnen het sterftepercentage sterk verminderen. Ondanks aanbevelingen van de Europese Raad om personen boven de 50 jaar met een gemiddeld risico te onderzoeken voor CRC, is er in Nederland nog geen nationaal programma voor screening in de bevolking naar CRC.

Maag, Darm en Leverziekten¹, Afdeling Klinische Chemie³, Erasmus MC, Rotterdam, Geïntegreerd Klinisch Chemisch Laboratorium², Albert Schweitzer ziekenhuis, Dordrecht

Correspondentie: dr. H. van Vuuren, Afdeling Maag-, darm en leverziekten, Erasmus MC, Postbus 2040, 3000 CA Rotterdam
E-mail: a.vanvuuren@erasmusmc.nl

In het verleden is in grote gerandomiseerde studies aangetoond dat met screening middels een guaiac-fecaaloccultbloedtest (gFOBT) het CRC-sterftepercentage daalt (1-3). gFOBT is echter niet specifiek voor humaan hemoglobine (Hb) en er is voor een goede interpretatie van de test een dieetrestrictie voor de deelnemers nodig. Daarbij komt dat aankleuring van het Hb in het monster soms moeilijk te beoordelen is en ook snel verdwijnt (4), en dat automatisering van de test niet haalbaar is.

De immunochemische FOBT (iFOBT) is een veelbelovend alternatief, waarbij gebruik wordt gemaakt van polyklonale antilichamen tegen humaan HbA₀. Er bestaan diverse kwalitatieve iFOBT-testen met een vaste afkapwaarde welke gebaseerd zijn op immunochromatografische technieken. Er worden aanzienlijke verschillen gevonden in de verhouding tussen sensitiviteit en specificiteit voor deze testuitvoering (5). Daarnaast zijn er een aantal kwantitatieve geautomatiseerde iFOBT-testen voor handen. Deze beschikken niet alleen over een betere reproduceerbaarheid en geven meer mogelijkheden voor gedegen kwaliteitscontrole, maar bieden tevens de mogelijkheid om de meest optimale afkapwaarde voor een bevolkingsonderzoek te onderzoeken (4, 6). Er is echter nog weinig bekend over de analytische prestaties van iFOBT-testen zoals gebruikt in lopende studies naar screening op dikke darmtumoren. Inzicht in de precisie van de test rondom beslisgrenzen is essentieel voor een zuivere inclusie van patiënten voor de vervolgdagnostiek. In veel studies wordt momenteel een afkapwaarde van rond de 100 ng Hb/ml feces gehanteerd. Echter, lagere afkapwaarden worden ook beschreven (7).

Dit artikel beschrijft kort een pilotscreeningsstudie in Nederland naar colorectaal carcinoom en de eerste

resultaten daarvan. Gezien de discussie omtrent de juiste afkapwaarden hebben wij tevens de functionele sensitiviteit van de iFOBT onderzocht.

gFOBT en iFOBT

Recent zijn in Nederland verschillende studies uitgevoerd waarbij de gFOBT en de kwantitatieve iFOBT met elkaar vergeleken zijn bij screening van een bevolkingsgroep van 50-74 jaar (8, 9). In deze screeningsstudies is gekozen voor de kwantitatieve iFOBT van de firma Eiken, omdat dit systeem aan de start van de studie CE-gemarkeerd was, in tegenstelling tot het Magstream-systeem van Fujirebio.

In de studie uitgevoerd in het Erasmus MC werden de personen vooraf gerandomiseerd naar leeftijd, geslacht en sociaal-economische status. De gFOBT-groep (5004 uitnodigingen) ontving 3 testkaarten met elk 2 panelen (Hemocult II, Beckman Coulter, Duitsland). De testkaarten werden gebruikt bij 3 opeenvolgende ontlastingen. Er waren geen dieetrestricties of medicatiebeperkingen om de deelnamegraad niet te beïnvloeden t.o.v. de iFOBT-groep. Deelnemers stuurden de testkaarten per post naar een centraal laboratorium. De uitslag was positief als 1 of meer van de 6 panelen positief aankleurden na analyse.

De iFOBT-groep (5007 uitnodigingen) ontving een testbuis (OC-microverzamelbuis, Eiken, Japan) om 1 ontlastingsmonster in te verzamelen. Deze testbuis bevatte een buffer om hemoglobine te stabiliseren. De testbuizen werden per post geretourneerd, waarna een kwantitatieve beoordeling plaats vond in een OC Sensor Micro instrument (Eiken, Japan). Het principe van de kwantitatieve meting is dat humaan Hb uit de ontlasting gebonden wordt door anti-Hb-antilichamen aan latexbolletjes en door middel van nefelometrie wordt gemeten. Het resultaat werd weergegeven als ng Hb/ml. De uitslag werd als positief beschouwd als het Hb-niveau ≥ 50 ng/ml was, wat correspondeerde met 10 μ g Hb/gram feces.

Vervolgdiagnostiek

Alle uitslagen werden zowel naar de deelnemer als de huisarts verstuurd. Bij een positieve uitslag werd de deelnemer door de eigen huisarts geïnformeerd en doorverwezen voor een colonoscopie. Deze werden door ervaren endoscopisten uitgevoerd. De bipten welke waren afgenomen tijdens colonoscopie werden beoordeeld door gastro-intestinale pathologen en de resultaten vervolgens ingedeeld in niet neoplastische polypen, niet geavanceerde adenomen, geavanceerde adenomen (adenomen ≥ 10 mm, vlokkige component $\geq 25\%$ of hooggradige dysplasie) en colorectaal kanker volgens internationale gehanteerde classificatiecriteria.

Participatie en resultaten

De participatie aan de Rotterdamse studie was 50% (n=2375) in de gFOBT-groep versus 62% (n=2979) in de iFOBT-groep. De deelname kwam overeen met het aantal deelnemers in een andere Nederlandse studie (uitgevoerd in Amsterdam en Nijmegen) met vergelijkbare opzet (47% gFOBT- versus 60% iFOBT-groep) (8).

In totaal hadden 65 deelnemers (2,8%) in de gFOBT-groep een positieve testuitslag. In de iFOBT-groep waren 241 deelnemers positief (8,1%) bij een afkapwaarde van 50 ng/ml. Alle deelnemers met een positief resultaat kregen een colonoscopiaadvies. Indien de afkapwaarde van iFOBT wordt verhoogd, zijn er minder deelnemers met een positieve testuitslag (zie tabel 1).

Ruim 94% van de deelnemers met een positieve gFOBT- of een positieve iFOBT-uitslag onderging een colonoscopie. Bij de iFOBT-groep werd een hoger percentage deelnemers gevonden met geavanceerde adenomen in vergelijking tot de gFOBT-groep. Afhankelijk van de afkapwaarde is de detectiegraad voor geavanceerde adenomen 3,2% (bij 50 ng/ml) tot 2,1% (bij 200 ng/ml) tegenover 1,2% in de gFOBT-groep. De detectiegraad voor CRC was vergelijkbaar in gFOBT- en iFOBT-groep 0,3% versus 0,5% en niet significant verschillend (9).

De uitkomsten van de colonoscopieën na een positieve iFOBT, waarbij deze zijn onderverdeeld naar verschillende Hb-concentraties, worden weergegeven in tabel 2. Het aantal patiënten met een positieve iFOBT-uitslag en een negatieve colonoscopie daalt naarmate de Hb-concentratie hoger is. Het aantal fout-negatieve iFOBT-uitslagen is uit deze studie niet bekend, omdat bij deze groep geen colonoscopie werd uitgevoerd.

Het aantal colonoscopieën dat moet worden uitgevoerd om 1 deelnemer met CRC of geavanceerd adenoom te vinden is afhankelijk van de afkapwaarden. Bij 50 ng/ml moeten 2,4 deelnemers een colonoscopie ondergaan; bij 75 ng/ml zijn dit 2 deelnemers; en bij 100

Tabel 1. Aantal positief geteste deelnemers in de iFOBT-groep bij verschillende afkapwaarden

Afkap ng/ml	Positief n	%
50	241	8,1
75	170	5,7
100	143	4,8
125	128	4,1
150	120	4,0
175	107	3,6
200	103	3,5

Tabel 2. Colonoscopie-uitslagen gerelateerd aan Hb-concentratie bij een positieve iFOBT

Hb ng/ml	50-100 n (%)	100-150 n (%)	150-200 n (%)	≥ 200 n (%)
Totaal aantal colonoscopieën	89 (100)	22 (100)	17 (100)	98 (100)
Negatieve colonoscopie	37 (42)	11 (50)	4 (24)	19 (19)
Polypen en niet geavanceerde adenomen	30 (33)	7 (32)	5 (29)	18 (18)
Geavanceerde adenomen en CRC	22 (25)	4 (18)	8 (47)	61 (62)

ng/ml zijn dit 1,9 deelnemers (10). De detectiegraad bij een afkapwaarde van 50 ng/ml (3,2%) daalt als de afkapwaarde wordt verhoogd: bij 75 ng/ml is detectiegraad 2,7%, bij 100 ng/ml 2,5%, bij 150 ng/ml 2,3% en bij 200 ng/ml 2,1%. Omgekeerd neemt het aantal gemiste CRC en/of geavanceerde adenomen toe met het verhogen van de afkapwaarde: bij 75 ng/ml wordt 3,6% gemist, bij ≥ 100 ng/ml is dit echter 14,3% t.o.v. afkapwaarde 50 ng/ml (9, 10).

Functionele sensitiviteit iFOBT

Om meer inzicht te krijgen in de werkelijke variatie rondom de afkapwaarde van de iFOBT is een studie naar de functionele sensitiviteit uitgevoerd. De functionele sensitiviteit is gedefinieerd als de laagst meetbare concentratie met een variatiecoëfficiënt van maximaal 20%. De firma geeft in haar bijsluiters een eigen meetbereik aan van 50-1000 ng/ml met een variatiecoëfficiënt van minder dan 10%.

Fecesmonsters zijn verzameld met initiële iFOBT-uitslagen verspreid over het gehele meetbereik van de test. De tussenrunvariatie werd bepaald door de monsters gedurende een aantal dagen meerdere malen te meten (variërend van 7 tot 11 maal) en de gegevens te verwerken met het statistiekprogramma EP-evaluator (DC Rhoads Associates, Inc). De functionele sensitiviteit zoals door ons gevonden is 62 ng/ml (figuur 1). Deze waarde ligt hoger dan de waarde van 50 ng/ml zoals door de firma is aangegeven.

Kosten van de FOBT-testen in de screeningsstudie

Van gFOBT is bekend dat de reagenskosten laag zijn. Echter de test moet op een laboratorium handmatig geanalyseerd worden door ervaren personeel, waarbij de kleuring snel weer kan verdwijnen. Dit betekent dat er niet veel monsters tegelijkertijd geanalyseerd kunnen worden en er nauwelijks kwaliteitscontrole mogelijk is. Voor de analyse van iFOBT is extra reagens nodig (o.a. latex, buffer, controles en standaarden) en een OC Sensor Micro instrument. Er is echter minder inzet van personeel nodig bij de automatische iFOBT-analyse. De gemiddelde kosten in deze screeningsstudie zijn voor gFOBT € 8,86 en voor iFOBT € 9,72. Hierin zijn meegenomen de druk- en verzendkosten, uitnodigingen, de testkits, analysereagens, personeelskosten en de OC Sensor Micro voor iFOBT-analyse. Het verschil in kosten tussen beide testen is erg klein en zal in een bevolkingsonderzoek maar een klein deel uitmaken van de totale kosten. De kosten voor colonoscopie van de deelnemers met een positieve uitslag zal vele malen hoger zijn. Echter, het preventief verwijderen van voorloperstadia van kanker- of het in een vroeg stadium verwijderen van darmtumoren zal daarentegen veel kosten besparen. Deze kosteneffectiviteitsberekeningen worden momenteel verwerkt in een rapport voor de gezondheidsraad.

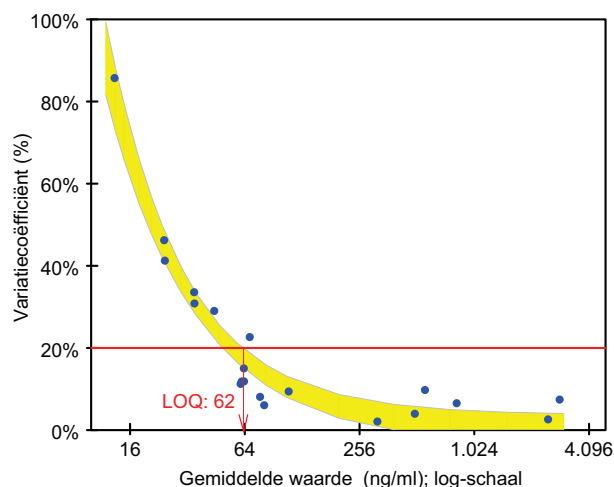
Bevolkingsonderzoek

De functionele sensitiviteit van de iFOBT-test laat zien dat een afkapwaarde hoger dan 62 ng/ml zou moeten liggen. Uit klinisch vervolgonderzoek bij de deelnemers met een positieve iFOBT-uitslag is gebleken dat een afkapwaarde van 75 ng/ml relevant is. Het aantal

deelnemers met een positieve iFOBT daalt dan van 8,1% (bij 50 ng/ml) naar 5,7%, en dit vermindert het aantal uit te voeren colonoscopies. Een afkapwaarde van 75 ng/ml laat een hoge detectiegraad voor CRC en geavanceerde adenomen zien (2,7%), waarbij 1 op de 2 colonoscopies daadwerkelijk positief is, terwijl het aantal gemiste CRC's beperkt blijft. Een afkapwaarde van 75 ng/ml lijkt daarom zowel analytisch als klinisch gezien een verantwoorde keuze om te hanteren in een bevolkingsonderzoek als er voldoende colonoscopie capaciteit beschikbaar is. Dit wordt ook in andere studies beschreven (7, 11).

Uit de Erasmus-MC-studie blijkt dat het gebruik van iFOBT in een bevolkingsonderzoek tot een hogere participatiegraad leidt dan met de gFOBT. Tevens heeft de iFOBT voldoende functionele sensitiviteit en zijn variabele afkapwaarden mogelijk. In de iFOBT-groep worden duidelijk meer CRC en geavanceerde adenomen gevonden dan in de gFOBT-groep, terwijl de kosten voor iFOBT-screening vergelijkbaar zijn met de kosten voor gFOBT-screening.

Naast de iFOBT en gFOBT is nog een derde screeningsstrategie mogelijk, namelijk flexibele sigmoidoscopie (FS), waarbij de darm van binnen tot aan het sigmoïd wordt bekeken m.b.v. een endoscoop. Er is met FS een beduidend lagere deelnamegraad (32%) t.o.v. de beide FOBT-testen, maar de opbrengst van gevonden CRC's en geavanceerde adenomen is veel hoger (7,4%) (12). Het slagen van een bevolkingsonderzoek naar colorectaal carcinoom hangt van veel verschillende factoren af, bijvoorbeeld van de participatiegraad van de deelnemers en de uiteindelijke opbrengst (het preventief verwijderen van voorstadia of in vroeg stadium detecteren van een darmtumor). De belasting voor de deelnemers speelt ook een belangrijke rol, zowel de belasting van de screeningstest op zichzelf, als de frequentie waarmee de screening plaats moet vinden. FOBT-screening moet elke 2 jaar herhaald worden en flexibele sigmoidoscopie elke 5 jaar. Andere factoren welke meewegen in een beslissing zijn de



Figuur 1. iFOBT met een gemiddelde concentratie tussen 13,3 en 2873,9 ng/ml werden in de curve uitgezet om de relatie tussen gemiddelde waarde en CV te berekenen. Hieruit is de 'limit of quantitation' (LOQ) afgeleid. Dit is het punt waarde de bovenste 95% CI voor de curve een CV van 20% heeft.

● gemeten variatiecoëfficiënt; ■ 95% CI

totale kosten voor een landelijk bevolkingsonderzoek t.o.v. het aantal gewonnen levensjaren en de colonoscopiecapaciteit in Nederland om deelnemers met een positieve uitslag te kunnen vervolgen.

De gezondheidsraad (GR) heeft op 17 november 2009 een advies uitgebracht aan de minister van Volksgezondheid, Welzijn en Sport. De GR stelt hierin dat er voldoende bewijs is voor een bevolkingsonderzoek naar darmkanker en dat de iFOBT hiervoor de geëigende methode is. Het onderzoek zou iedere twee jaar moeten plaatsvinden bij personen tussen de 55 en 75 jaar. De reactie van de minister op het advies wordt begin 2010 verwacht.

Referenties

1. Mandel JS, Bond JH, Church TR, Snover DC, Bradley GM, Schuman LM, et al. Reducing mortality from colorectal cancer by screening for fecal occult blood. Minnesota Colon Cancer Control Study. *N Engl J Med* 1993; 328: 1365-1371.
2. Hardcastle JD, Chamberlain JO, Robinson MH, Moss SM, Amar SS, Balfour TW, et al. Randomised controlled trial of faecal-occult-blood screening for colorectal cancer. *Lancet* 1996; 348: 1472-1477.
3. Kronborg O, Fenger C, Olsen J, Jorgensen OD, Sondergaard O. Randomised study of screening for colorectal cancer with faecal-occult-blood test. *Lancet* 1996; 348:1467-1471.
4. Young GP, St John DJ, Winawar SJ, Rozen P. Choice of fecal occult blood tests for colorectal cancer screening: recommendations based on performance characteristics in population studies: a WHO (World Health Organisation) and OMED (World Organisation for Digestive Endoscopy) report. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2499-2507.
5. Hundt S, Haug U, Brenner H. Comparative evaluation of immunochemical fecal occult blood test for colorectal adenoma detection. *Annals Int Med* 2009; 150: 162-169.
6. Levi Z, Hazazi R, Rozen P, Vilkin A, Waked A, Niv Y. A quantitative immunochemical faecal occult blood test is more efficient for detecting significant colorectal neoplasia than a sensitive guaiac test. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23: 1359-1364.
7. Levi Z, Rozen P, Hazazi R, Vilkin A, Waked A, Maoz E, Birkenfeld S, Leshono M, Niv Y. A quantitative immunochemical fecal occult blood test for colorectal neoplasia. *Ann Intern Med* 2007; 146: 244-255.
8. Rossum LG van, Rijn AF van, Laheij RJ, Oijen MG van, Fockens P, Krieken HH van, et al. Random comparison of guaiac and immunochemical fecal occult blood tests for colorectal cancer in a screening population. *Gastroenterology* 2008; 135: 82-90.
9. Hol L, Wilschut JA, Ballegooijen M van, Vuuren AJ van, Valk H van der, Reijerink JCIY, et al. Screening for colorectal cancer: random comparison of guaiac and immunochemical faecal occult blood testing at different cut-off levels. *British J Cancer* 2009; 100: 1103-1110.
10. Rossum LG van, Rijn AF van, Laheij RJ, Oijen MG van, Fockens P, Jansen JB, Verbeek AL, Dekker E. Cutoff value determines the performance of a semi-quantitative immunochemical faecal occult blood test in a colorectal cancer screening programme. *Br J Cancer*. 2009; 101: 1274-81.
11. Castiglione G, Zappa M, Grazzini G, Rubeca T, Turco P, Sani C, Ciatto S. Screening for colorectal cancer by faecal occult blood test: comparison of immunochemical tests. *J Med Screen* 2000; 4: 142-146.
12. Hol L, Leerdam ME van, Ballegooijen M van, Vuuren AJ van, Dekken H van, Reijerink JCIY, et al. Screening for colorectal cancer; randomised trial comparing guaiac-based and immunochemical faecal occult blood testing and flexible sigmoidoscopy. *Gut* 2009; in press.

Summary

Vuuren AJ van, Roon AHC van, Verheijen FM, Francke J, Kuipers EJ, Boonstra JG. Immunochemical fecal occult blood test in a screening program for colorectal cancer. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2010; 35: 27-30.

The Health Council of the Netherlands advised on a national screening program for colorectal cancer (CRC) in November last year. Studies have already shown that screening for CRC using the guaiac based fecal occult blood test (gFOBT) reduces mortality, and more recently, results have been published using the immunological FOBT (iFOBT). The gFOBT and iFOBT do not differ in their CRC-detection rate, however, more advanced adenomas are found using the iFOBT. While the iFOBT is a quantitative test, it offers the possibility of choosing different cut-off points. It appears that, both clinical and analytical, a cut-off point of 75 ng/ml can be used, if adequate capacity for colonoscopy is available.