

SERVIZIO SANITARIO REGIONALE
EMILIA-ROMAGNA

Bologna, 20 aprile 2017

**La sorveglianza epidemiologica
dello screening dei tumori del colon-retto nella Regione Emilia-Romagna**

Nuove metodiche e variazioni del tasso di positività al FIT



Le cinque raccomandazioni

1

Non prescrivere la ricerca del sangue occulto fecale (SOF), in alcun contesto al di fuori del programma di screening del cancro del colon-retto.

Il SOF è un test di screening, riservato a soggetti asintomatici che rientrano nella fascia di rischio stabilita dal programma nazionale o regionale. Non è un test diagnostico e pertanto non deve essere eseguito in soggetti che presentano segni o sintomi di possibile patologia del colon: il 26-35% dei SOF è eseguito in maniera inappropriata, con aumento del numero di colonscopie non appropriate e del rischio di complicanze endoscopiche.

1

1. Powell AA et al. Rates and correlates of potentially inappropriate colorectal cancer screening in the Veterans Health Administration. *J Gen Intern Med.* 2015 Jun;30(6):732-41.
2. Narula N et al. Fecal occult blood testing as a diagnostic test in symptomatic patients is not useful: a retrospective chart review. *Can J Gastroenterol Hepatol.* 2014 Sep;28(8):421-6. Epub 2014 Jul 11.
3. Van Rijn AF et al. Inappropriate use of the faecal occult blood test in a university hospital in the Netherlands. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2012 Nov;24(11):1266-9.

Considerazioni sul Fit

- Il test per la ricerca del sangue occulto eseguito con metodica immunochimica è assolutamente confermato nella sua validità di indagine di primo livello
- Risponde in modo adeguato alla esigenza primaria di coniugare sensibilità e specificità con la compliance della popolazione in termini di adesione

In RER circa 300 000 test / anno → colonscopie 10000/anno

date le ricadute sul percorso successivo è evidente la necessità di presidiare in modo costante la qualità preanalitica e analitico / strumentale associandola periodicamente alla valutazione degli indicatori quali la % di positività, Dr e VPP

Note sui metodi immunochimici

- Standardizzazione della raccolta del materiale fecale (proposta di un dispositivo unico(prototipo) che superi la presenza di diversi rapporti campione/ tampone)
- miglioramento della preanalitica (tampone di conservazione)
- necessità di confrontabilità tra metodi :
 - proposta di unità di misura riferita a gr.feci e non a volume tampone
 - applicazione di un fattore di conversione

ng/ml tampone
CONVENZIONALE



µg/g feci

	OC Sensor	FobGold	NS Plus
Fattore di conversione ng/ ml tampone vs µg/g feci	0,20	0,17	0,19
Cut off utilizzato			
80 ng/ml tampone	16 µg/g feci	13,6 µg/g feci	15,2 µg/g feci
100 ng/ml tampone	20 µg/g feci	17 µg/g feci	19 µg/g feci

Tabella di conversione Halloran e c.

Unità di misura e fattori di conversione



Le ditte riportano come
unità di misura della
concentrazione di Hb
fecale

ng Hb/ mL buffer



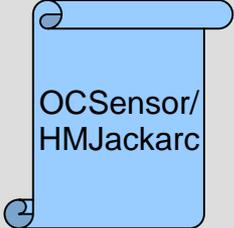
$$\mu\text{g Hb/g faeces} = \frac{(\text{ng Hb/mL} \times \text{mL of buffer})}{(\text{mass of faecal sample in mg})}$$

	Sample weight (mg)	Buffer volume (mL)	Conversion factor
HM-JACKarc	2	2.0	1.00
NS-PLUS C15	10	1.9	0.19
OC-SENSOR DIANA	10	2.0	0.20
FOB Gold/BioMajesty	10	1.7	0.17

“Cio che conta è la performance del test in un contesto di screening “

Confrontabilità fra Test immunochimici

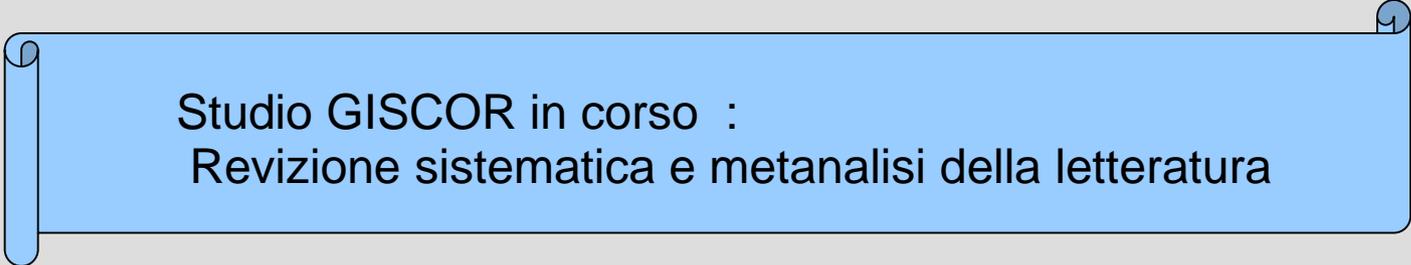
- “A comparative effectiveness trial of two faecal immunochemical tests for haemoglobin (FIT). Assessment of test performance and adherence in a single round of a population-based screening programme for colorectal cancer” .
B.Passamonti et al.Gut 2016
- “A randomised comparison of two faecal immunochemical tests in population-based colorectal cancer screening” .
EJGrobbee et al.Gut 2016



OCSensor/
HMJackarc



OCSensor/
Fob Gold



Studio GISCOR in corso :
Revisione sistematica e metanalisi della letteratura

Indagini non invasive alternative al FIT

- **Dna fecale**
- **M2PK**

- **metodi "a pacchetto": due test complementari tra loro**

- × **M2-PK +Fit (sanguinamento)**

- × **DNA fecale +FIT (sanguinamento)**

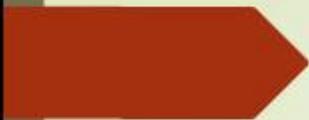
M2-PK represents the dimeric form of pyruvate kinase that is commonly expressed in cancer cells and can be detected in plasma in many cancers, including those of breast, lung, kidney, and in faeces of patients with gastrointestinal cancers



Marcatore fecale “ideale”

Un marcatore fecale ideale (o un pannello di marcatori) dovrebbe avere queste caratteristiche:

-  essere sempre presente nei soggetti con neoplasia rilevanti per lo screening (SENSIBILITA')
-  non essere presente nei soggetti senza neoplasia (SPECIFICITA')
-  essere stabile nel materiale fecale
-  recuperabile in adeguata quantità dalle feci
-  e dosato in modo riproducibile



Classificazione in base al meccanismo di ingresso nel colon

Table 1. Fecal Markers: A Classification Based on the Mechanism of Luminal Marker Entry

Mechanism	Example	Source	Release	Discriminant Potential
Leaked	Hemoglobin	Circulation	Intermittent	Low
Secreted	Abnormal mucin	Neoplasm	Continuous	Low
Exfoliated	Altered DNA	Neoplasm	Continuous	High

Marcatori che trapelano (leaked markers) es. EMOGLOBINA

- Derivano dal sangue circolante o dalla linfa e passano nel lume attraverso lesioni dei vasi che si trovano alla superficie del tumore
- Limiti:
 - il sanguinamento dal tumore può essere assente o intermittente;
 - il sanguinamento può venire da una lesione non neoplastica (poco discriminante)

Marcatori secreti es. MUCINE

- CRC producono mucine anormalmente glicosilate
- Limiti:
 - non sono specifiche
 - rapidamente degradate

Marcatori esfoliati es. DNA fecale

L'esfoliazione ha due vantaggi

- maggiore **sensibilità** perché il rilascio è continuo
- maggiore **specificità** perché origina dalla neoplasia in sé

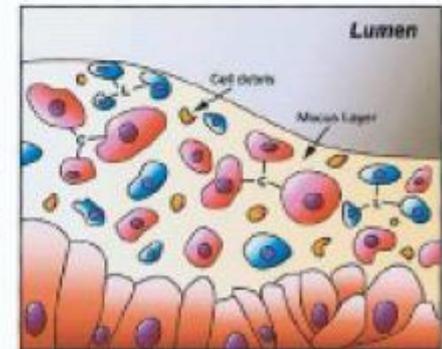
La sfida è identificare dei **marcatori** che siano al tempo stesso **ampiamente e unicamente espressi dalle cellule displastiche.**

A

Colorectal Cancer

Exfoliation

- Abundant
- Viable colonocytes (C) shed
- Mucus layer densely populated with colonocytes (C), leucocytes (L), and cell debris



B

Normal Colon

Exfoliation

- Sparse
- Apoptotic cells (AC)

Epithelial Recycling

- Macrophages (M) in lamina propria phagocytize effete colonocytes

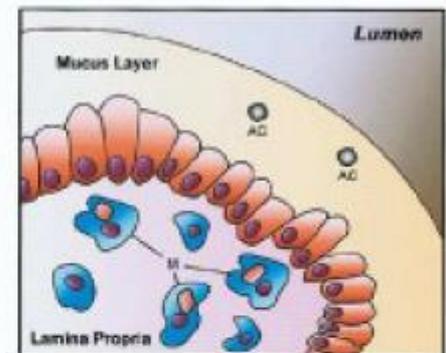
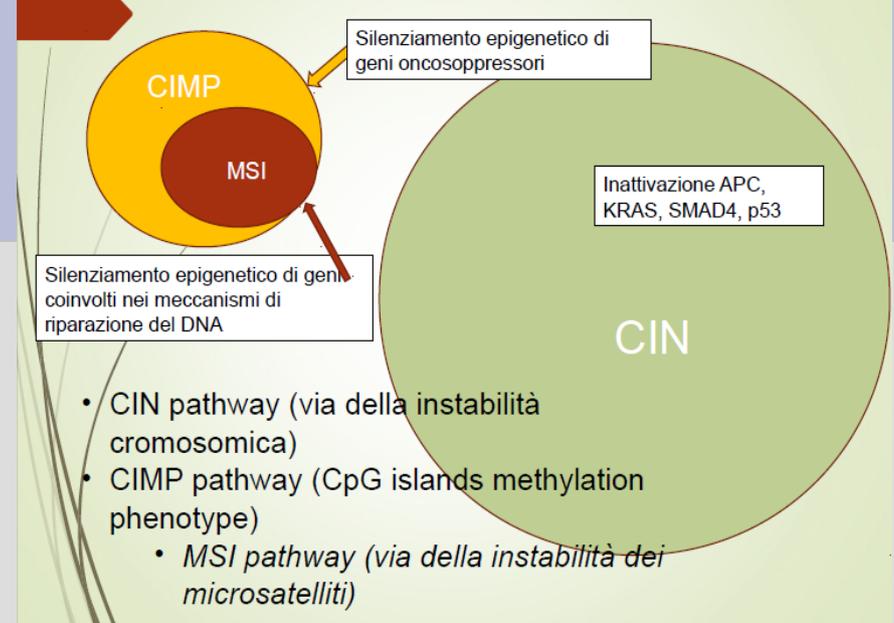


Figure 6. Schematic of cellular fluxes at the surface of (A) colorectal cancer and (B) normal colorectal epithelium.

ALTERAZIONI DEL DNA SPECIFICHE della neoplasia

- Le alterazioni tumore specifiche del DNA sono dovute ad eventi genetici o epigenetici.
- Non esiste un singolo universale marcatore molecolare di CRC o di lesione precancerosa**
- I CRC sono geneticamente eterogenei: si può ovviare alla eterogeneità genetica utilizzando dei pannelli di marcatori altamente informativi.

Principali vie molecolari patologiche

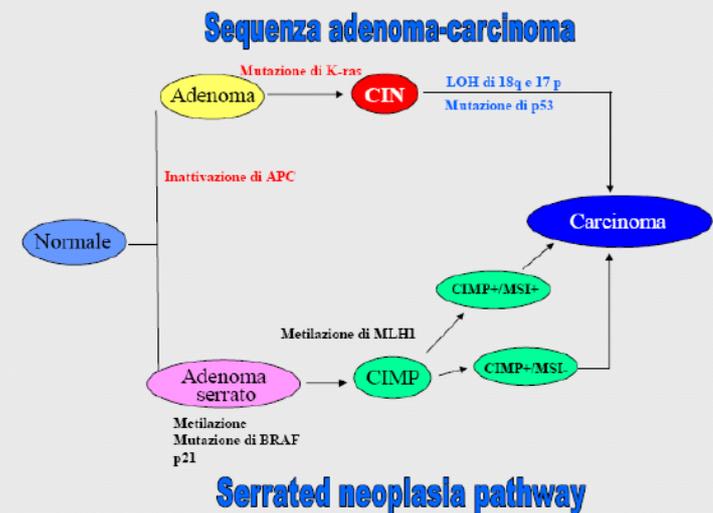


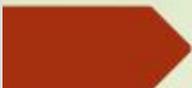
- CIN pathway (via della instabilità cromosomica)
- CIMP pathway (CpG islands methylation phenotype)
 - MSI pathway (via della instabilità dei microsatelliti)

Marcatori molecolari del CRC

- CIN markers (mutazioni di APC, KRAS, etc)
 - PCR allele specifica, sequenziamento
- CIMP markers (non c'è un pannello universale approvato di marcatori CIMP)
 - Methylation specific PCR
- MSI markers (Pannello standard di microsatelliti da indagare per valutare il grado di MSI di una neoplasia)
 - Metodi basati sulla PCR
- «DNA lungo non frammentato»
 - Il long DNA riflette il passaggio nelle feci di cellule epiteliali displastiche non in apoptosi
 - Il long DNA viene dosato quantificando i frammenti di DNA di lunghezza maggiore di 200 paia di basi (DIA = DNA integrity assay)

Lesioni preneoplastiche evolventi in CRC





DNA FECALE per test di screening: considerazioni generali

- Le feci sono una matrice complessa da cui isolare DNA.
 - Il DNA umano è presente in concentrazioni mediamente di 100 ng / g, che rappresenta circa lo 0,01% del DNA totale delle feci.
 - Inoltre le feci contengono inibitori della PCR.
- diverse sfide tecniche devono essere affrontate per creare un test di screening basato sul DNA fecale clinicamente utile
 - *Sistema di raccolta agevole per il paziente*
 - Inattivazione delle DNAsi (tampone di conservazione)
 - *Campione rappresentativo e omogeneizzato*
 - Ottimizzazione del recupero dei marcatori
 - **ELEVATA SENSIBILITA' ANALITICA**
 - possibilmente **AUTOMAZIONE** della procedura analitica
 - **PANNELLO DI MARCATORI**

Stool Dna Test

un test basato sul DNA fecale (sDNA) per lo screening del CRC

Cocktail di marcatori "ibrido"; comprende

- 2 marcatori di metilazione (NDRG4 e BMP3)
- 7 mutazioni puntiformi di KRAS
- un test immunochimico per l'emoglobina (FIT)

L'unico studio condotto in ambito di screening che ha valutato un FIT combinato con uno sDNA test riguarda il ColoGuard

The **NEW ENGLAND**
JOURNAL of MEDICINE

ESTABLISHED IN 1812

APRIL 3, 2014

VOL. 370 NO. 14

Multitarget Stool DNA Testing for Colorectal-Cancer Screening

Thomas F. Imperiale, M.D., David F. Ransohoff, M.D., Steven H. Itzkowitz, M.D., Theodore R. Levin, M.D., Philip Lavin, Ph.D., Graham P. Lidgard, Ph.D., David A. Ahlquist, M.D., and Barry M. Berger, M.D.

I risultati ottenuti dal Dna e dal Fit vengono combinati a dare un punteggio da cui origina un cutoff di positività

Table 1. Sensitivity and Specificity of the Multitarget Stool DNA Test and the Fecal Immunochemical Test (FIT) for the Most Advanced Findings on Colonoscopy.

Most Advanced Finding	Colonoscopy (N=9989)		Multitarget DNA Test (N=9989)		FIT (N=9989)	
	no.	Positive Results	Sensitivity (95% CI)	Positive Results	Sensitivity (95% CI)	
		no.	%	no.	%	
Colorectal cancer						
Any	65	60	92.3 (83.0–97.5)	48	73.8 (61.5–84.0)	
Stage I to III*	60	56	93.3 (83.8–98.2)	44	73.3 (60.3–83.9)	
Colorectal cancer and high-grade dysplasia	104	87	83.7 (75.1–90.2)	66	63.5 (53.5–72.7)	
Advanced precancerous lesions†	757	321	42.4 (38.9–46.0)	180	23.8 (20.8–27.0)	
Nonadvanced adenoma	2893	498	17.2 (15.9–18.6)	220	7.6 (6.7–8.6)	

sensibilità

* These stages of colorectal cancer, as defined by the system recommended by the American Joint Committee on Cancer, are associated with an increased rate of cure.

† Advanced precancerous lesions include advanced adenomas and sessile serrated polyps measured at least 1.0 cm.

Confronto sensibilità Multitarget sDNAtest - FIT commerciale per tipo di lesioni precancerose avanzate

C Higher-Risk Types among Advanced Precancerous Lesions

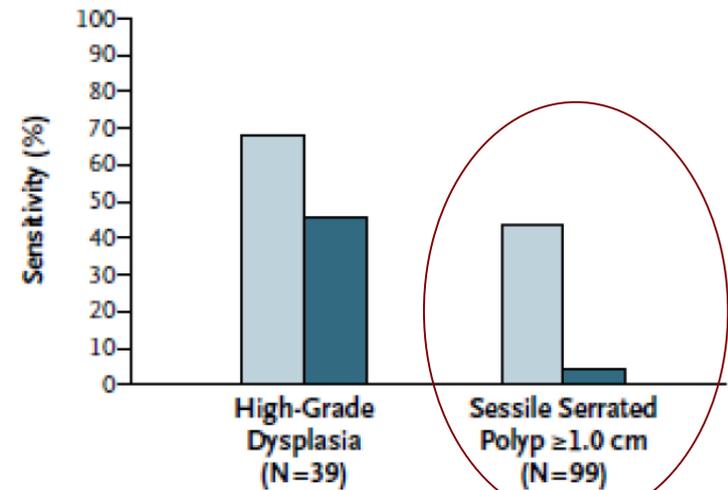


Table 1. Sensitivity and Specificity of the Multitarget Stool DNA Test and the Fecal Immunochemical Test (FIT) for the Most Advanced Findings on Colonoscopy.

Most Advanced Finding	Colonoscopy (N=9989)	Multitarget DNA Test (N=9989)	FIT (N=9989)	
Specificità				
			Specificity (95% CI)	Specificity (95% CI)
All nonadvanced adenomas, non-neoplastic findings, and negative results on colonoscopy	9167	1231	86.6 (85.9–87.2)	472 94.9 (94.4–95.3)
Negative results on colonoscopy	4457	455	89.8 (88.9–90.7)	162 96.4 (95.8–96.9)

* These stages of colorectal cancer, as defined by the system recommended by the American Joint Committee on Cancer, are associated with an increased rate of cure.

† Advanced precancerous lesions include advanced adenomas and sessile serrated polyps measuring 1 cm or more.

Problemi :
Costi
Periodicità ?

Marcatori fecali di CRC: non solo sDNA

Citation: *Clinical and Translational Gastroenterology* (2016) 7, e175; doi:10.1038/ctg.2016.26
© 2016 the American College of Gastroenterology. All rights reserved. 2155-384X/16
www.nature.com/ctg

CLINICAL AND SYSTEMATIC REVIEWS

Fecal Immunochemical Tests Combined With Other Stool Tests for Colorectal Cancer and Advanced Adenoma Detection: A Systematic Review

Tobias Niedermaier, MPH¹, Korbinian Weigl, MPH¹, Michael Hoffmeister, PhD¹ and Hermann Brenner, MD, MPH^{1,2,3}

- Valutazione della performance diagnostica della combinazione di FIT con altri marcatori fecali rispetto al FIT singolo (18 articoli)
 - sDNA (mutazioni di geni rilevanti, markers di metilazione, DNA integrity assay): un solo studio (Imperiale 2014) condotto in ambito di screening!
 - Analisi di espressione miRNA
 - Proteine fecali (transferrina, Calgranulina C, Calprotectina, M2-PK)
 - Cellule epiteliali estratte dal campione fecale

WHAT IS NEW HERE

- ✓ Several investigated stool markers, mainly DNA, RNA, and tissue based tests, might lead to clinically relevant improvements in FIT performance when combined with the latter, but thorough evaluation in screening settings is limited.
- ✓ Stool proteins generally did not lead to clinically relevant performance improvements of FIT.
- ✓ Further large studies conducted in true screening settings are required to evaluate performance of promising combinations of FIT with other stool tests.

Conclusioni

Un test diagnostico multimarker basato sul DNA fecale rappresenta un approccio biologicamente razionale allo screening dei tumori del colon – retto.

APPLICAZIONI POSSIBILI DEI TEST molecolari nello Screening del CRC

- screening della popolazione generale?
- complemento allo screening basato sulla colonscopia?
- complemento allo screening basato sul FIT?
- screening di soggetti ad alto rischio?
(pazienti con malattie infiammatorie intestinali)

... DA VERIFICARE

Il tampone che cambia

Condizione preanalitica nota :

- instabilità del campione (tempo e temperatura)
- parziale incapacità del tampone di conservazione a contrastare efficacemente l'effetto delle temperature (elevate)

→ raccomandazioni rigorose sulle modalità di raccolta e conservazione del campione

In attesa del tampone più stabile
preannunciato dalla ditta

Effetto del nuovo tampone in RER ?

2013-2014

- Segnali di un aumento % di FIT positivi con maggior afflusso alle colonscopie , a macchia di leopardo , in particolare Ferrara, Modena, Piacenza
- Attivazione del Gruppo Lab. Regionale :assenza di problemi dei Controlli di qualità (QCI e QCE) in laboratorio
- approfondimento a Modena conferma il fenomeno dell' aumento dei campioni Fit positivi con DR invariate e un VPP solo minimamente modificato

La ditta conferma la avvenuta distribuzione in Italia del nuovo Tampone (provetta) il cui utilizzo da parte delle diverse aziende è avvenuto in modo non contemporaneo ma ad esaurimento delle proprie scorte (non è stato possibile verificare le date esatte)

Impact of a new sampling buffer on faecal haemoglobin stability in a colorectal cancer screening programme by faecal immunochemical test (FIT)

Giscor 2014

anticipazione studio sperimentale Grazzini et al (pubblicato nel 2016):

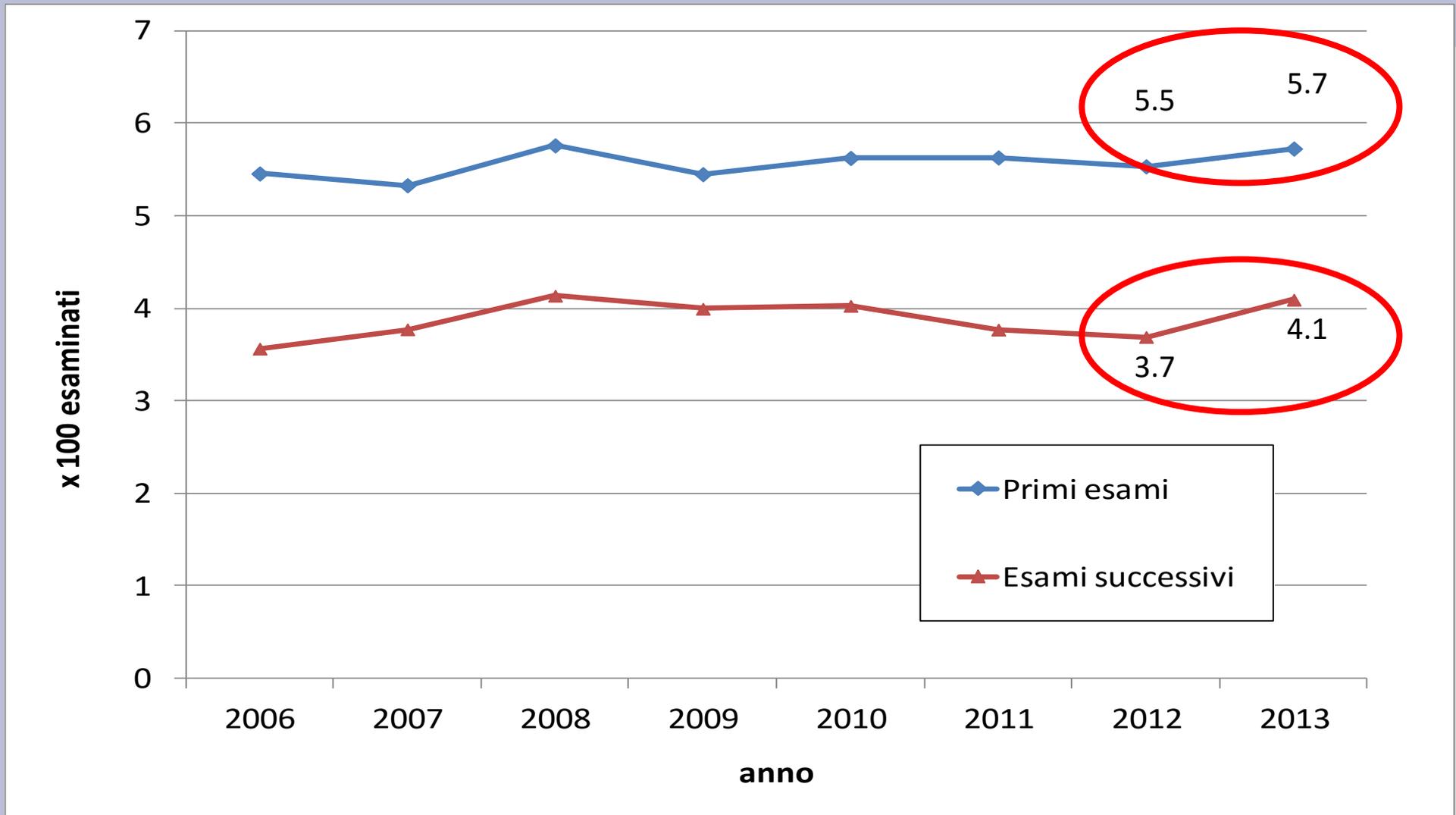
- maggiore stabilità in laboratorio

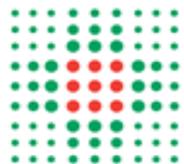
- differenze non significative sulla popolazione aderente nei fit positivi

In table 2 the mean values of f-Hb in the two SCDs, according to different cut-off of haemoglobin in the old one, were also displayed. For f-Hb values under 20 µg Hb/g faeces, the new method found higher f-Hb than the old one (statistically significant difference). For f-Hb values over 20 µg Hb/g faeces, no significant difference was found between the two methods, showing that most of the haemoglobin gain provided by the new collection device occurred in samples with a small quantity of f-Hb, whose results were negative.

The mean interval between the sampling and laboratory acceptance was 2.5 days (90th percentile = 5 days).

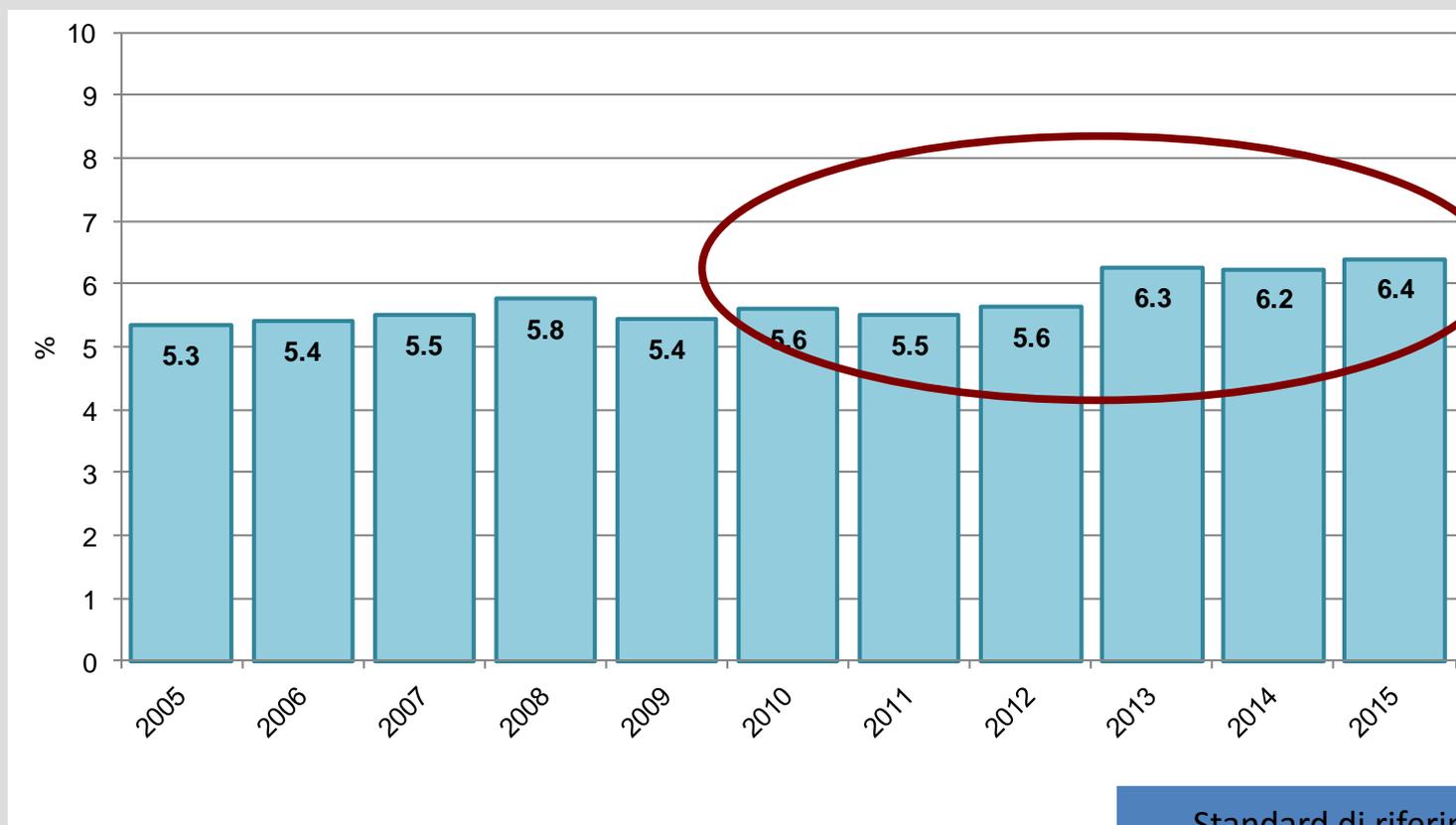
Tassi standardizzati di positività al SOF confermano a livello nazionale un moderato incremento (quanti programmi avevano iniziato ad usare il nuovo tampone ?)





Test positivi 2005-2015

Proporzione standardizzata* per età e sesso delle persone con test positivo specifica per AUSL, primi esami RER

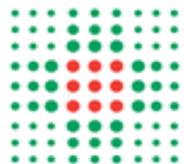


Standard di riferimento

Accettabile < 6%

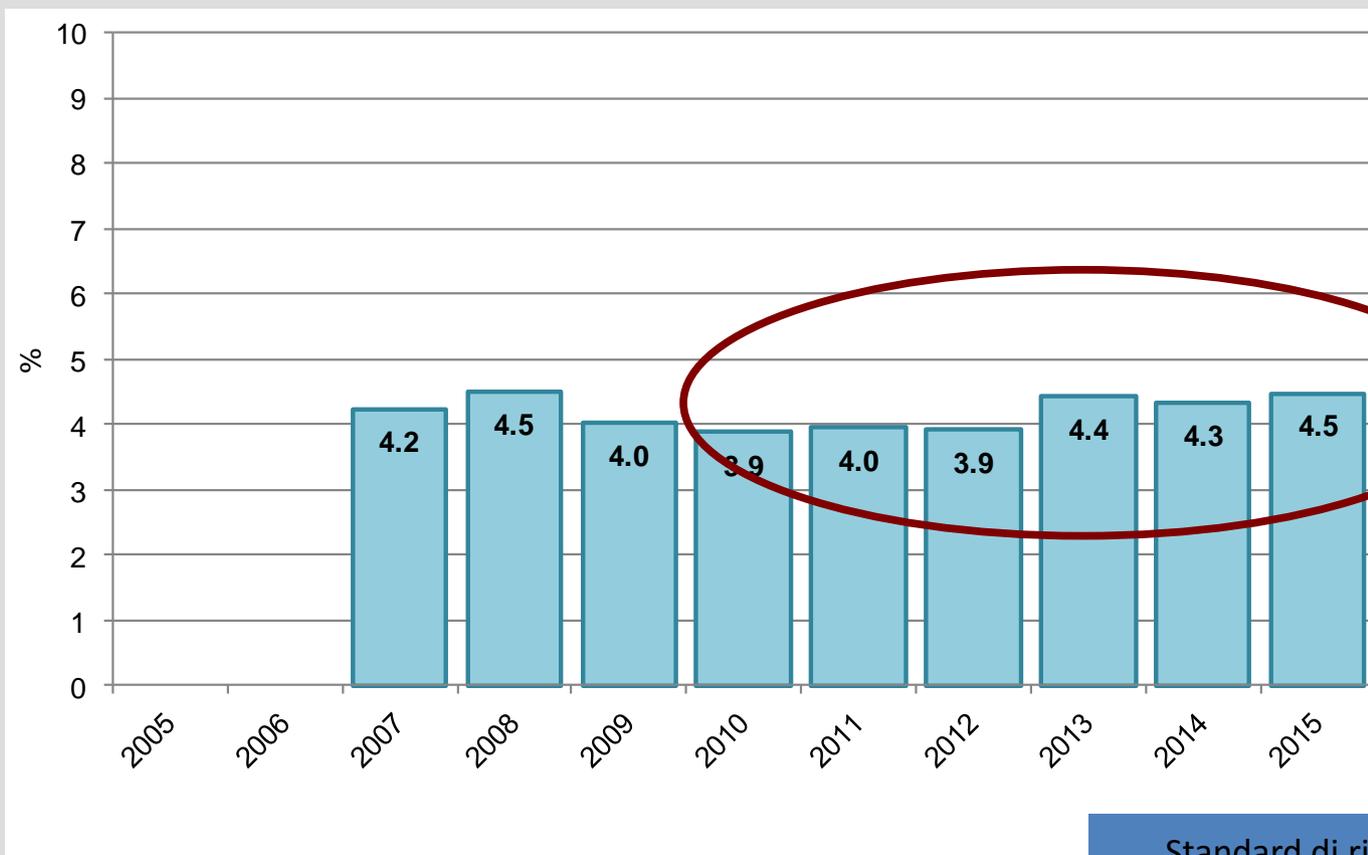
Desiderabile < 5%

* Popolazione standard: media 2005-2015 popolazione regionale screenata



Test positivi 2005-2015

Proporzione standardizzata* per età e sesso delle persone con test positivo specifica per AUSL, esami successivi RER

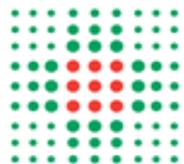


Standard di riferimento

Accettabile < 4.5%

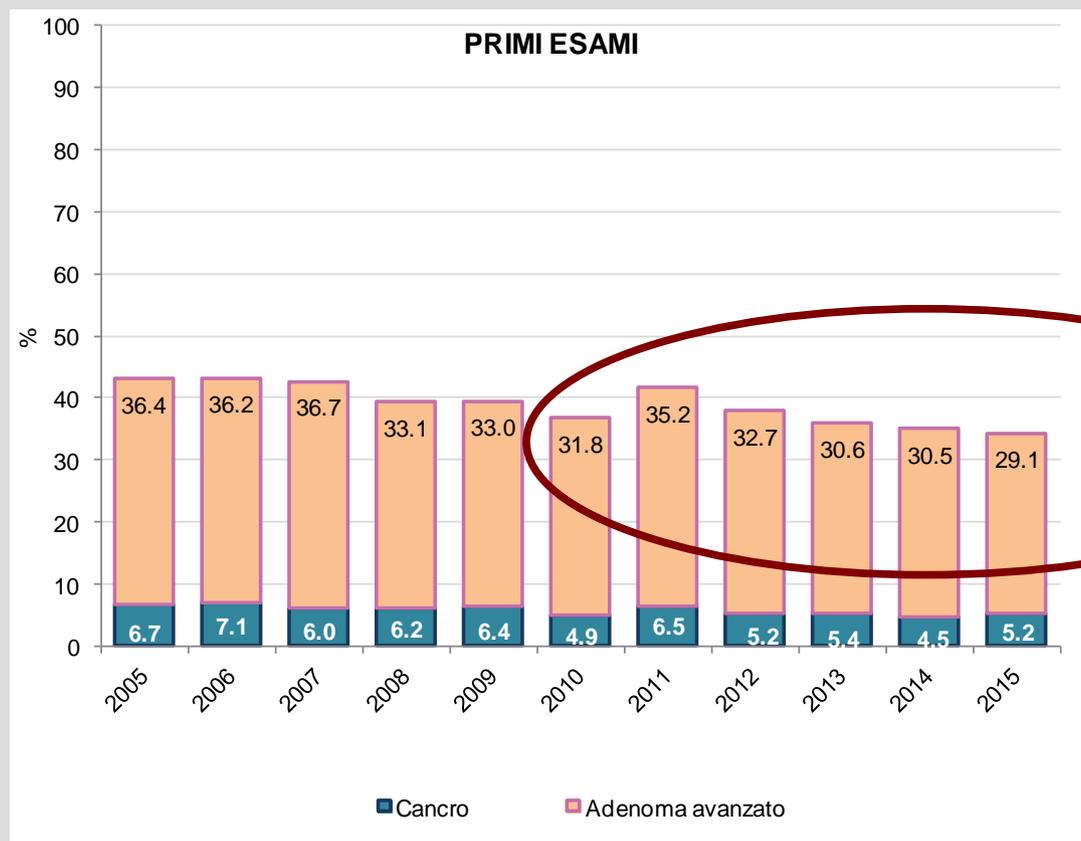
Desiderabile < 3.5%

* Popolazione standard: media 2005-2015 popolazione regionale screenata



Valore predittivo positivo 2005-2015

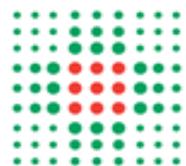
Valore predittivo positivo standardizzato* per età e sesso specifico per AUSL, primi esami RER



* Popolazione standard: media 2005-2015 popolazione regionale aderente alla cln

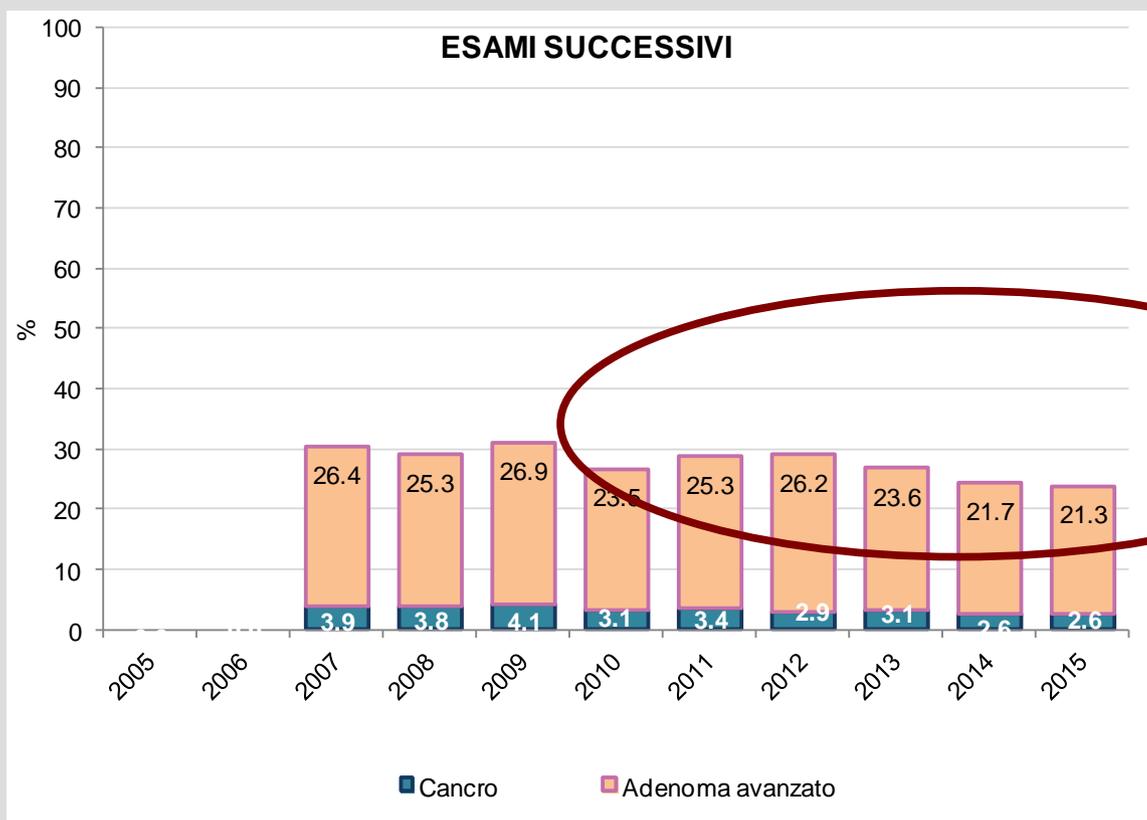
(*persone con diagnosi finale di cancro o adenoma avanzato/persone che effettuano la colonscopia*)%

Standard	Carcinoma e adenomi avanzati
Accettabile	> 25%
Desiderabile	25 > 30%



Valore predittivo positivo 2005-2015

Valore predittivo positivo standardizzato* per età e sesso specifico per AUSL, esami successivi
RER

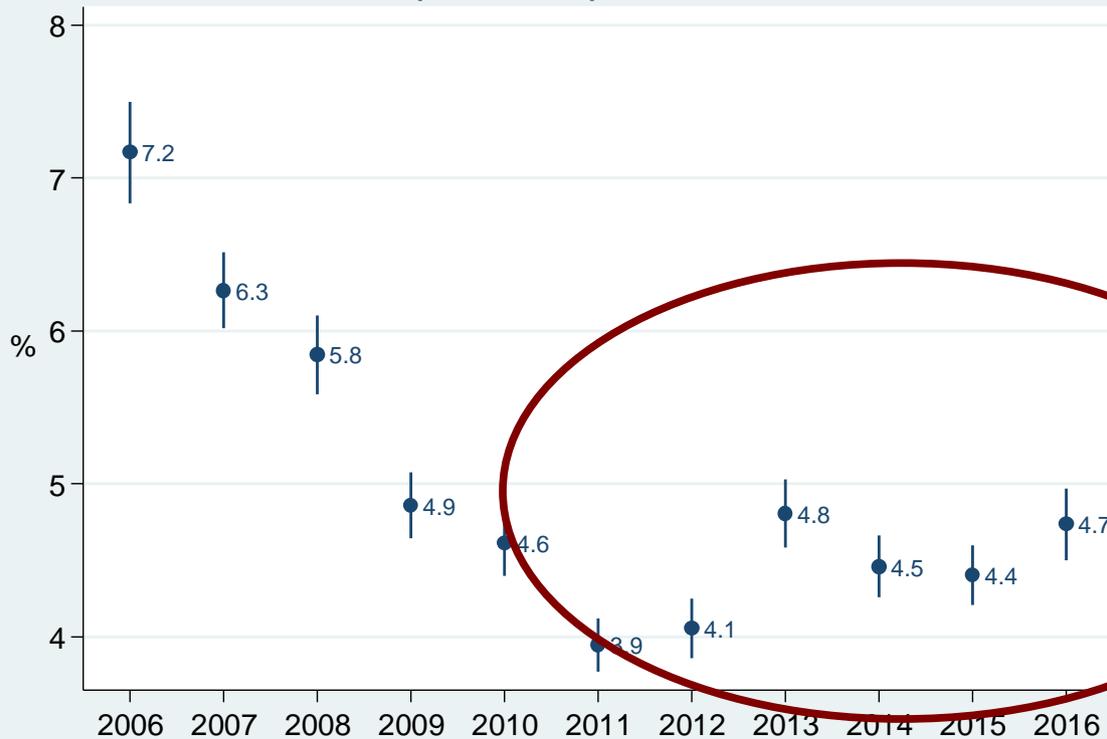


* Popolazione standard: media 2005-2015 popolazione regionale aderente alla clin

(persone con diagnosi finale di cancro o adenoma avanzato/persone che effettuano la colonscopia)%

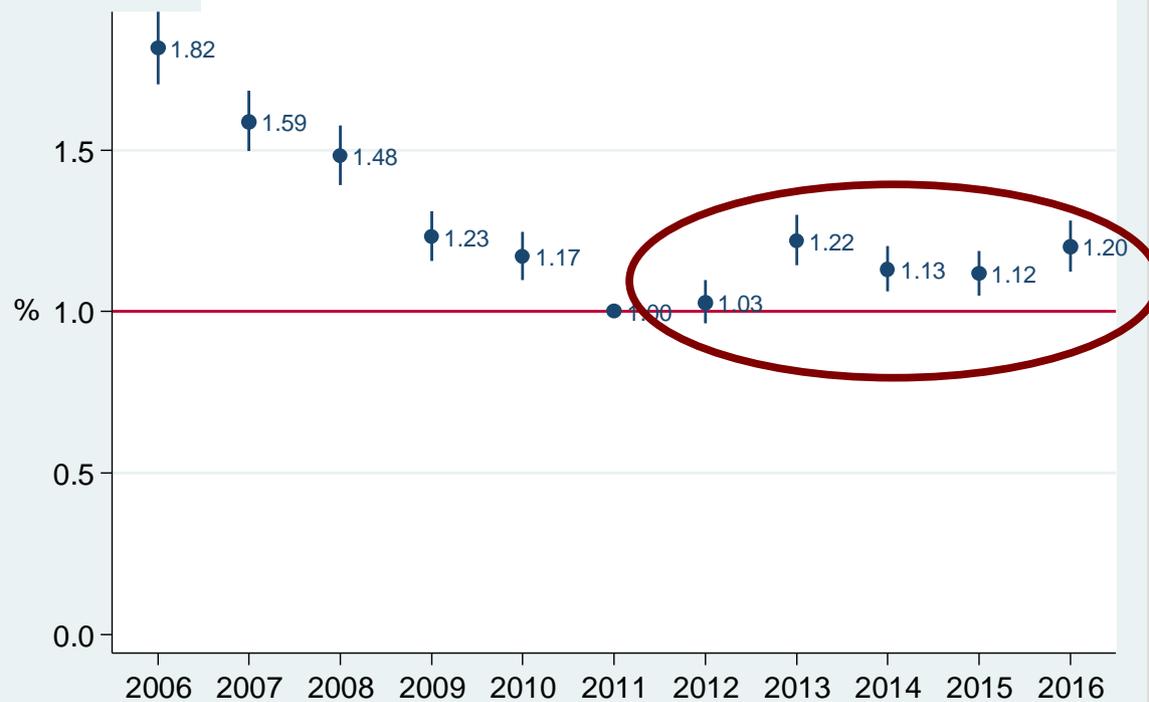
Standard	Carcinoma e adenomi avanzati
Accettabile	> 15%
Desiderabile	26 > 20%

Fobt positività per anno referto



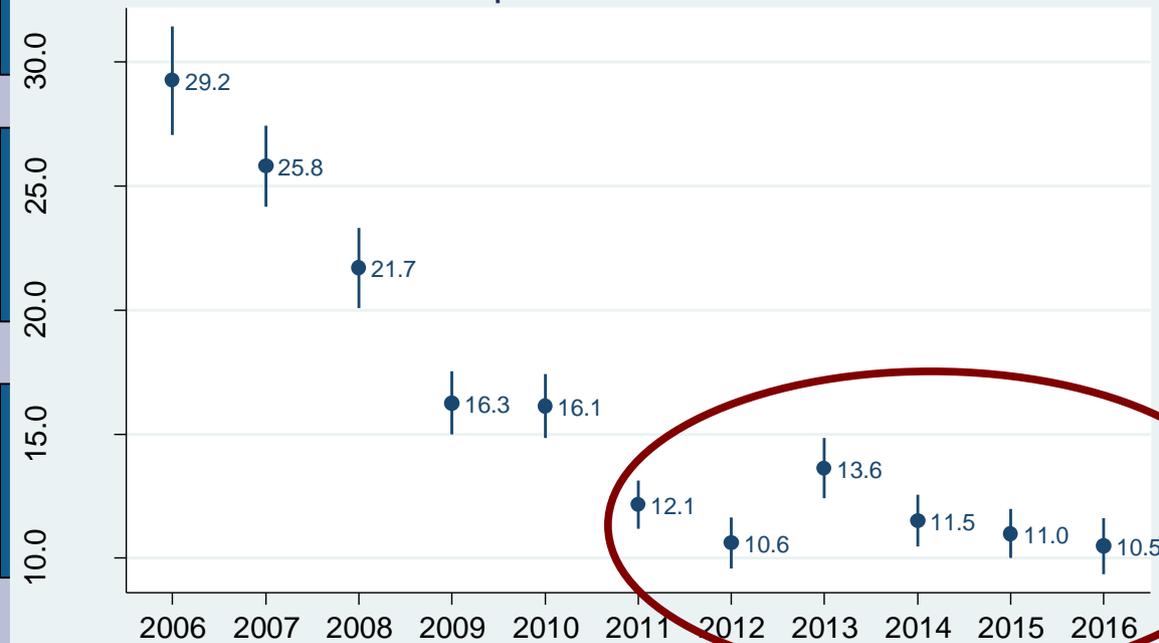
AUSL Modena

Rischio relativo grezzo di FIT+ per anno referto



Le raccomandazioni sulla modalità di raccolta e conservazione del campione NON sono state modificate

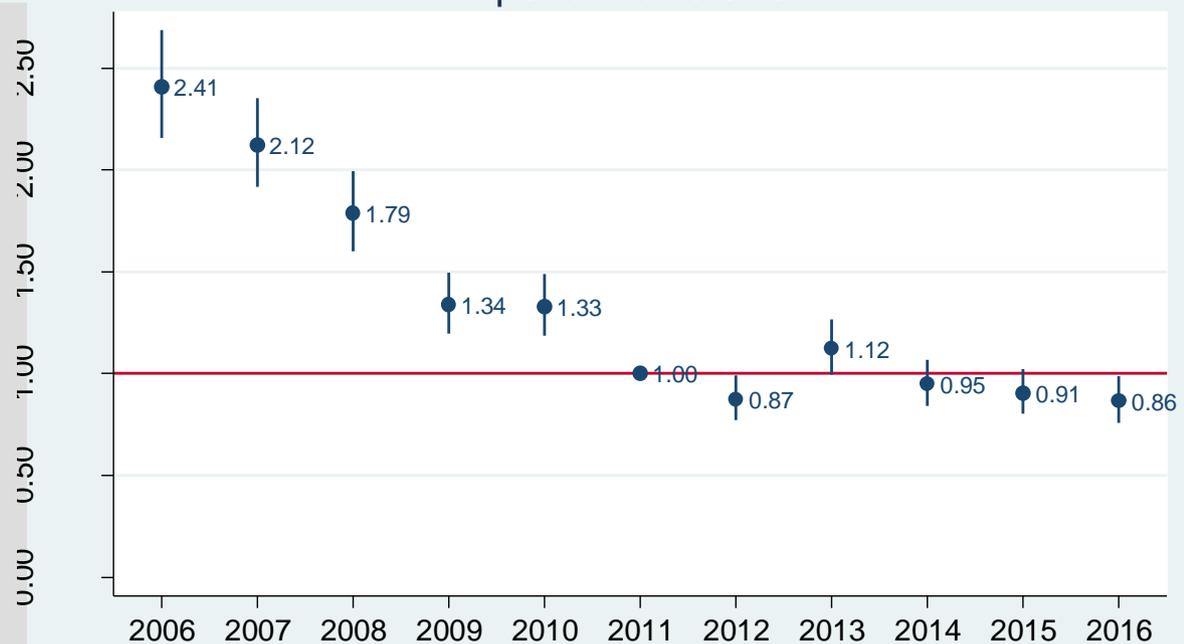
DR per cancro o adenoma avanzato per anno referto



tasso grezzo

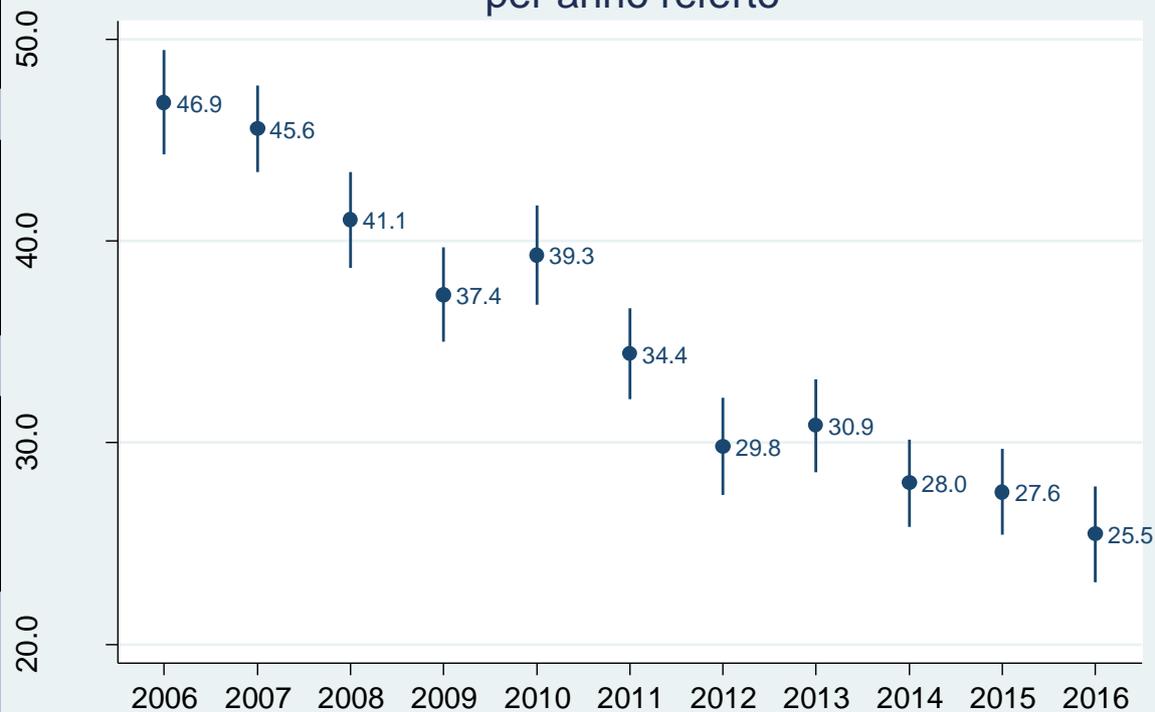
AUSL Modena

DR ratio per cancro o adenoma avanzato per anno referto



stima grezza

VPP per cancro o adenoma avanzato per anno referto

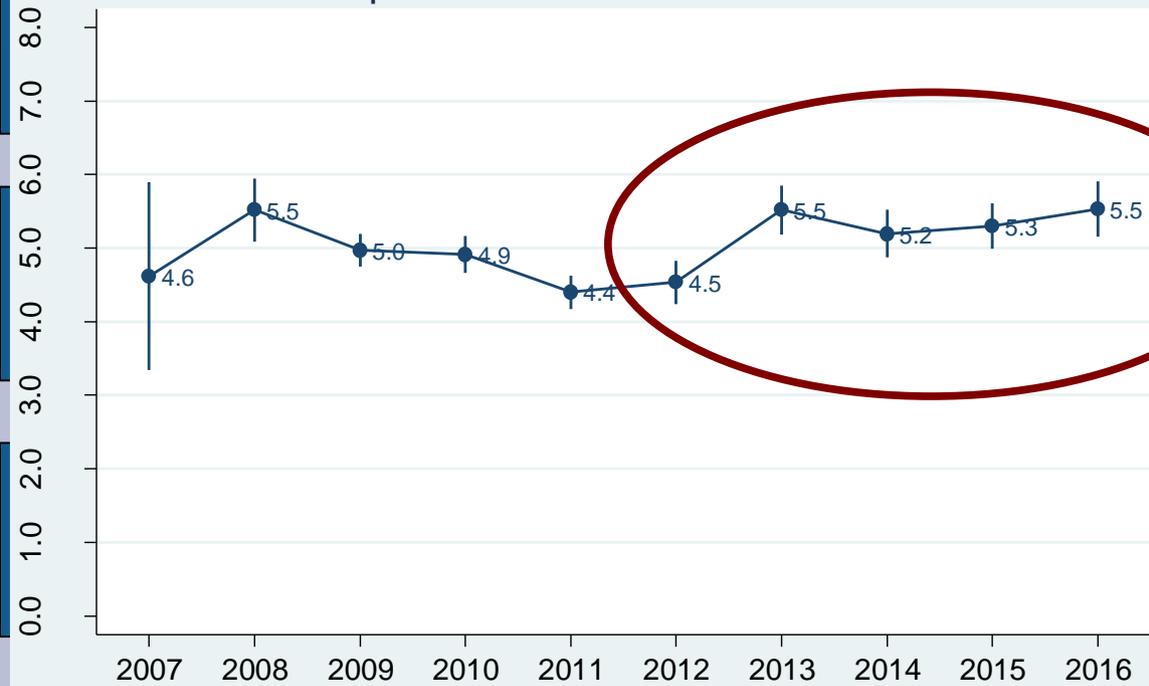


AUSL Modena

VPP ratio* per cancro o adenoma avanzato per anno referto



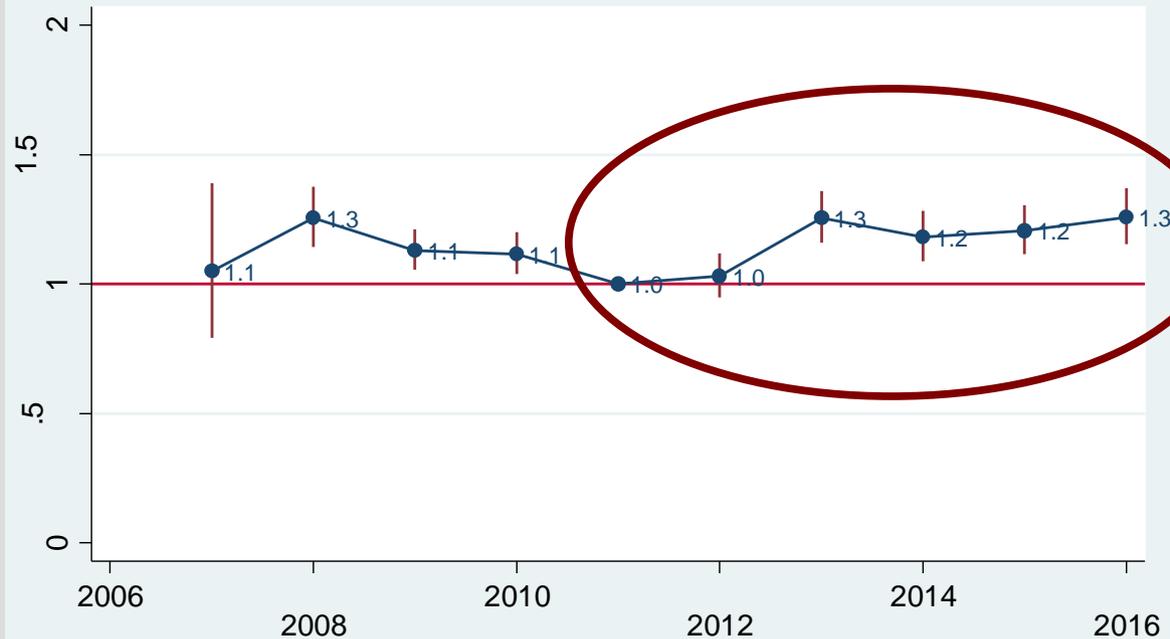
Trend percentuale standardizzata di FIT+



stand. per classe di età, sesso e tipo esame. Pop. stand.: tot. screenati

AUSL Modena

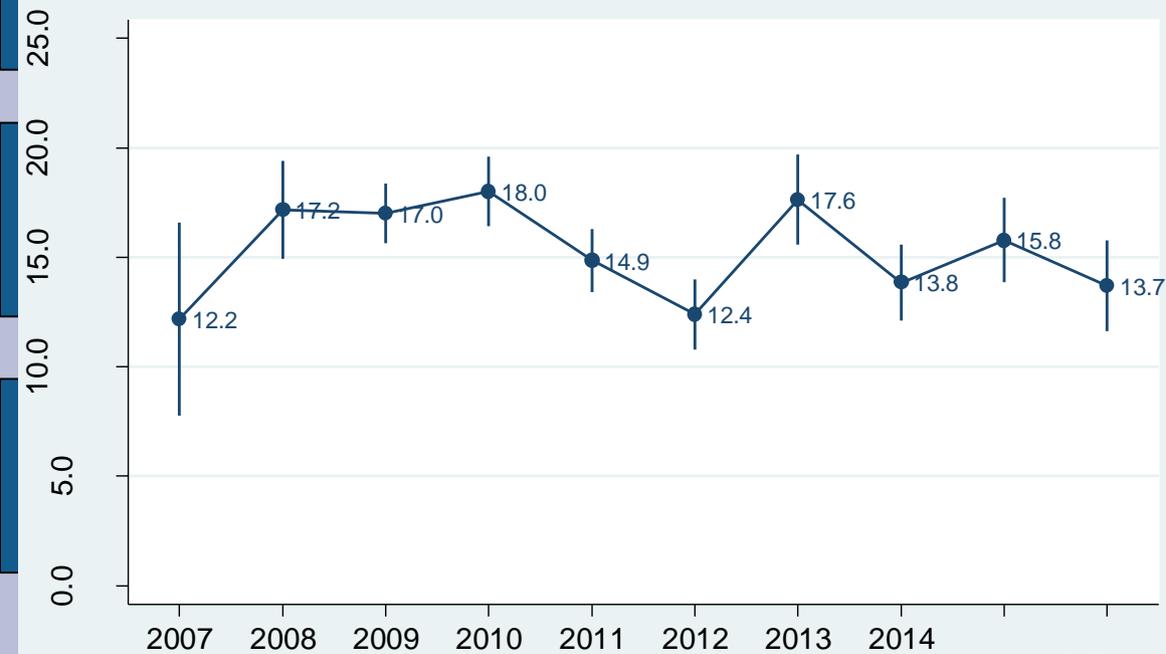
RR standardizzato per FIT+



stand. per tipo di esame, classe di età e sesso. Pop. stand.: tot. screenati

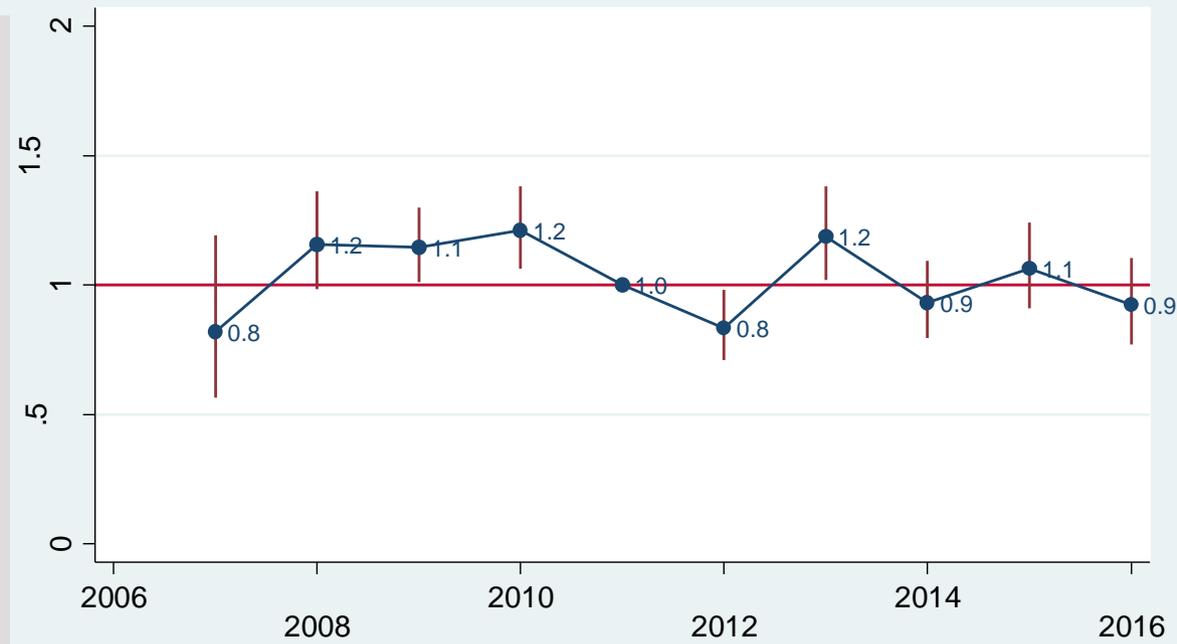
Trend DR standardizzato per cancro o adenoma avanzato

AUSL Modena



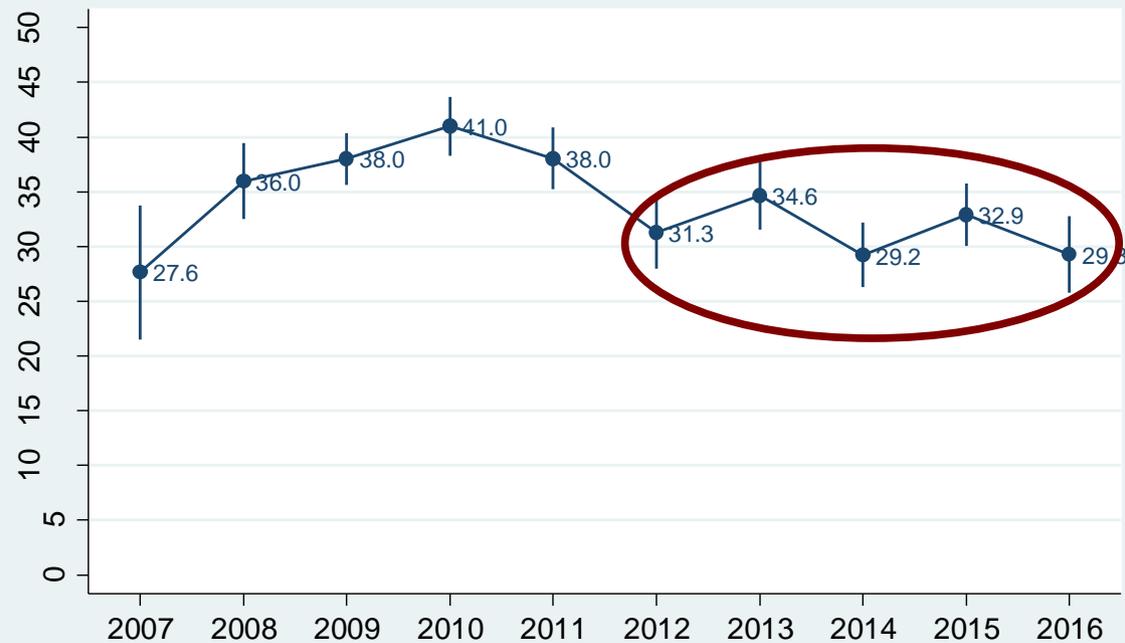
stand. per tipo esame, classe di età e sesso. Pop. stand.: tot. screenati

DR ratio standardizzato per cancro o adenoma avanzato



stand. per tipo di esame, classe di età e sesso. Pop. stand.: tot. screenati

Trend VPP standardizzato per cancro o adenoma avanzato

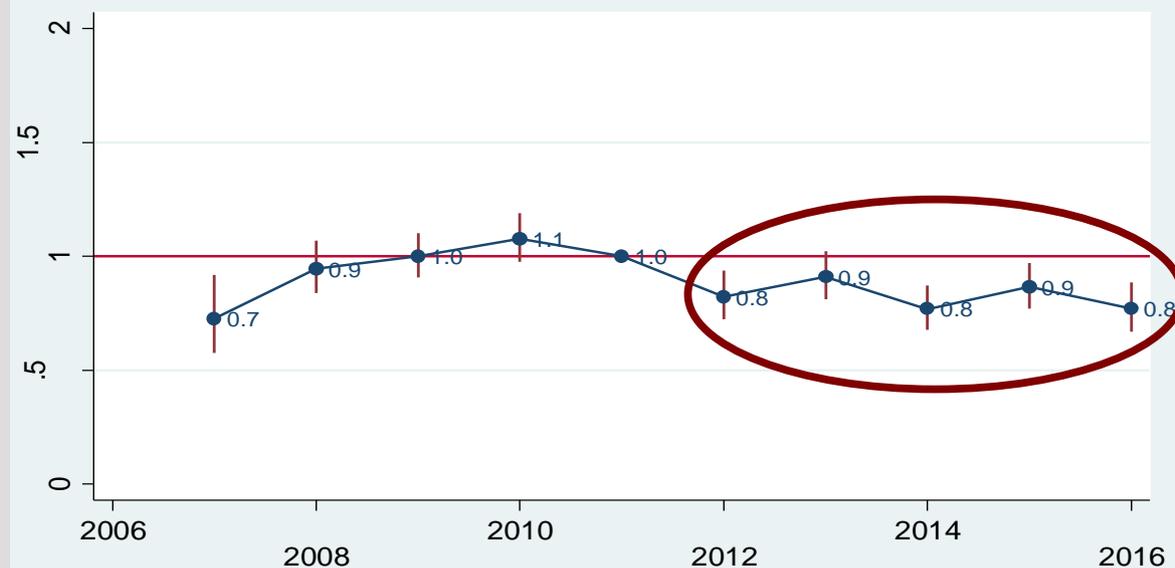


stand. per tipo esame, classe di età e sesso. Pop. stand.: tot. positivi con colon

AUSL Modena

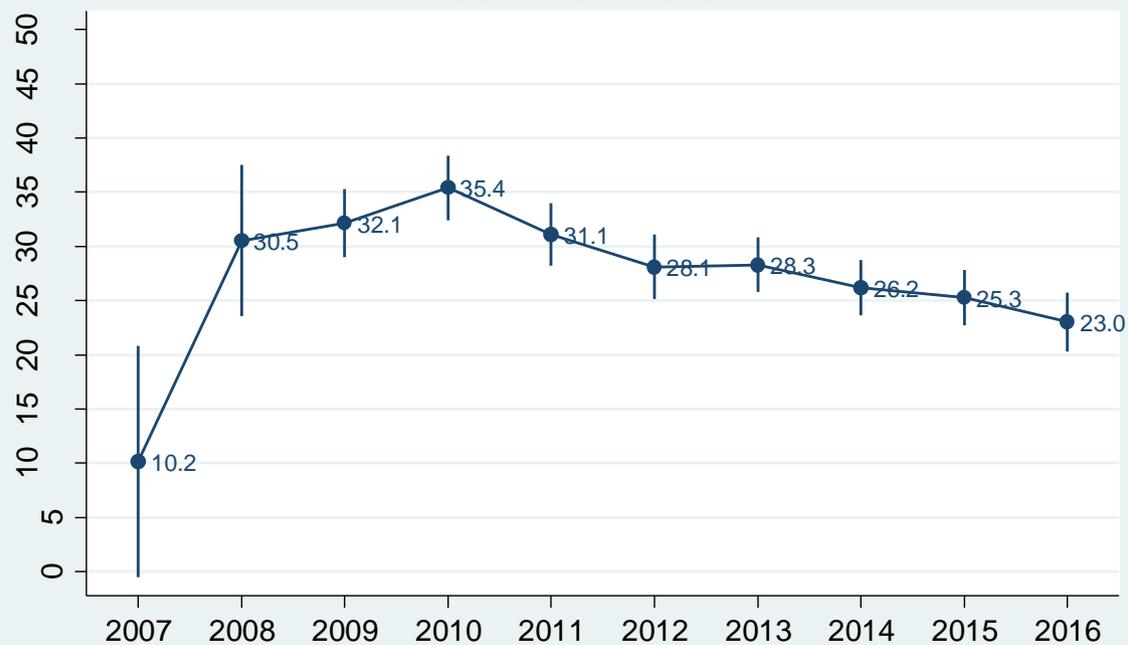
Trend VPP atteso ?????

VPP ratio standardizzato per cancro o adenoma avanzato



stand. per classe di età e sesso. Pop. stand.: tot. fit+ con colon

Trend VPP standardizzato per cancro o adenoma avanzato esami successivi

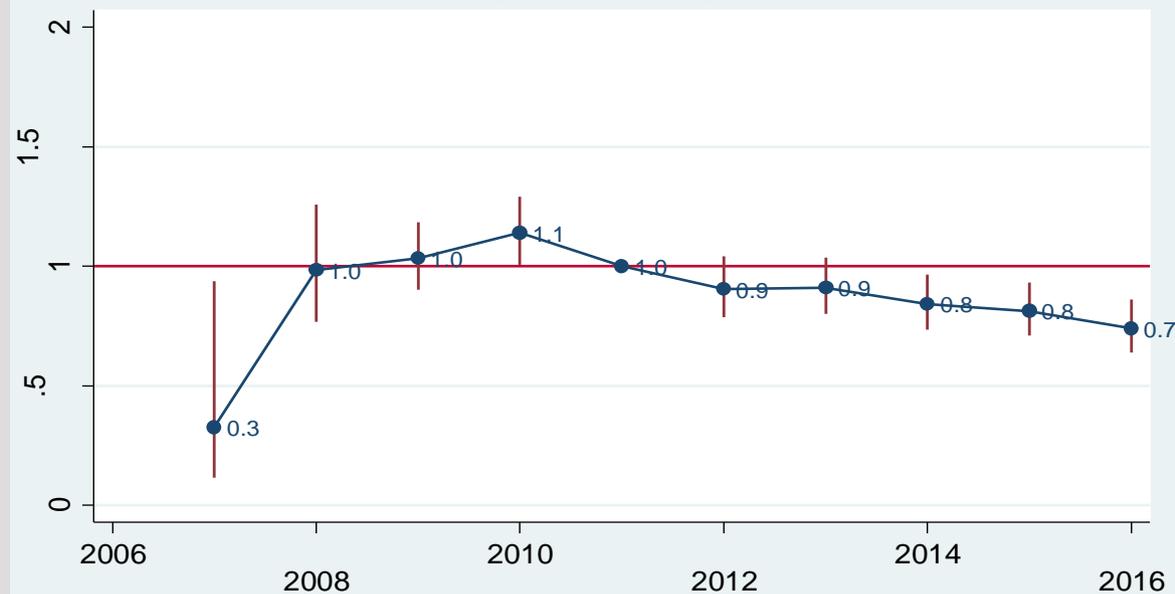


stand. per classe di età e sesso. Pop. stand.: tot. positivi con colon

AUSL Modena

La riduzione del vpp è più evidente negli esami successivi

VPP ratio standardizzato per cancro o adenoma avanzato esami successivi



stand. per classe di età e sesso. Pop. stand.: tot. fit+ con colon

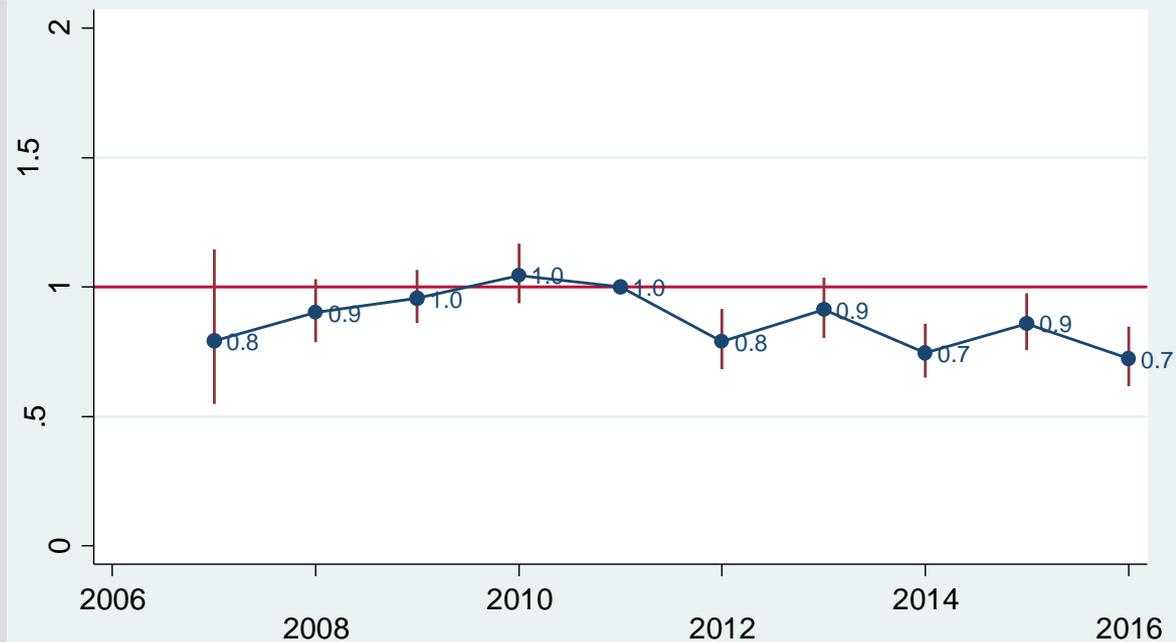
Trend VPP standardizzato per adenoma avanzato



stand. per tipo esame, età (continua) e sesso. Pop. stand.: tot. positivi con colo

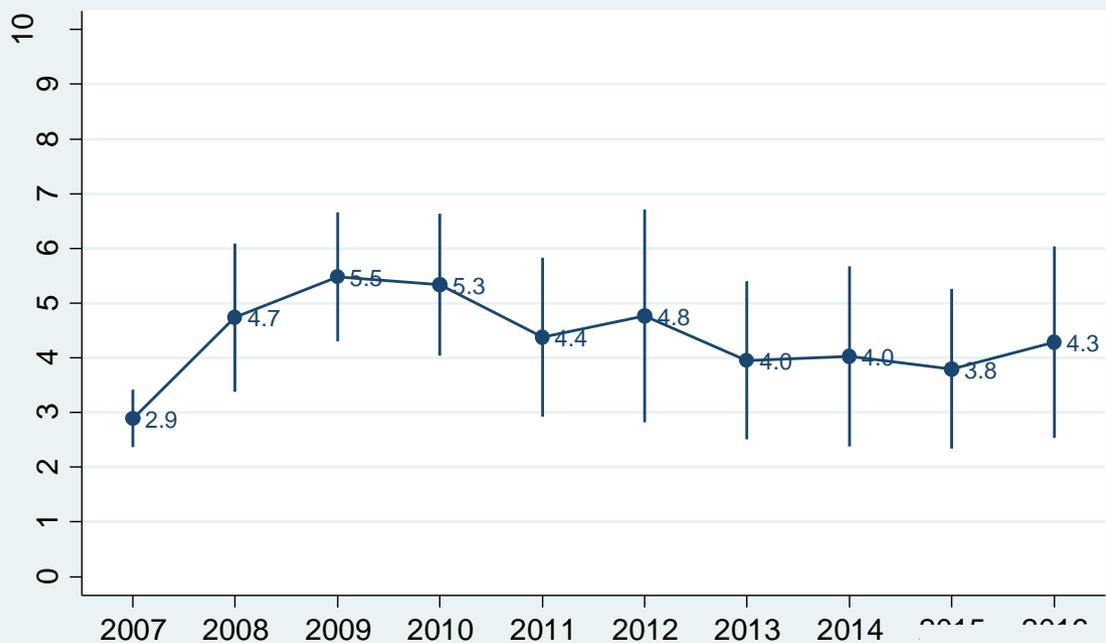
AUSL Modena

VPP ratio standardizzato per adenoma avanzato



stand. per tipo esame, età (continua) e sesso. Pop. stand.: tot. fit+ con colon

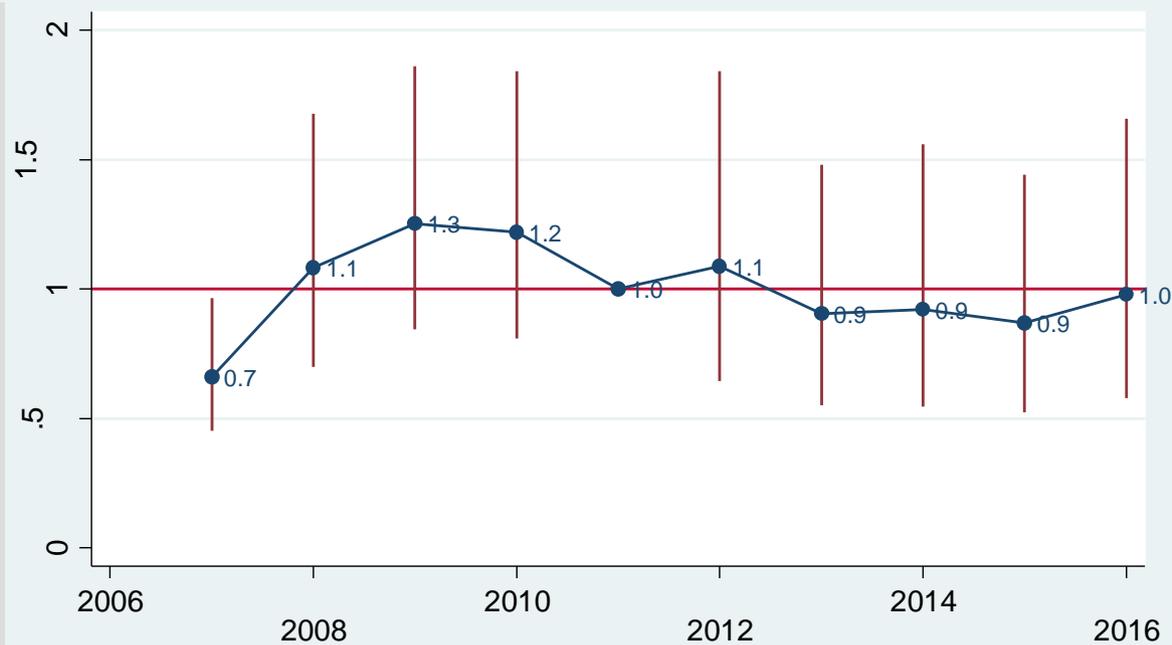
Trend VPP standardizzato per cancro



stand. per tipo esame, età (continua) e sesso. Pop. stand.: tot. positivi con colon

AUSL Modena

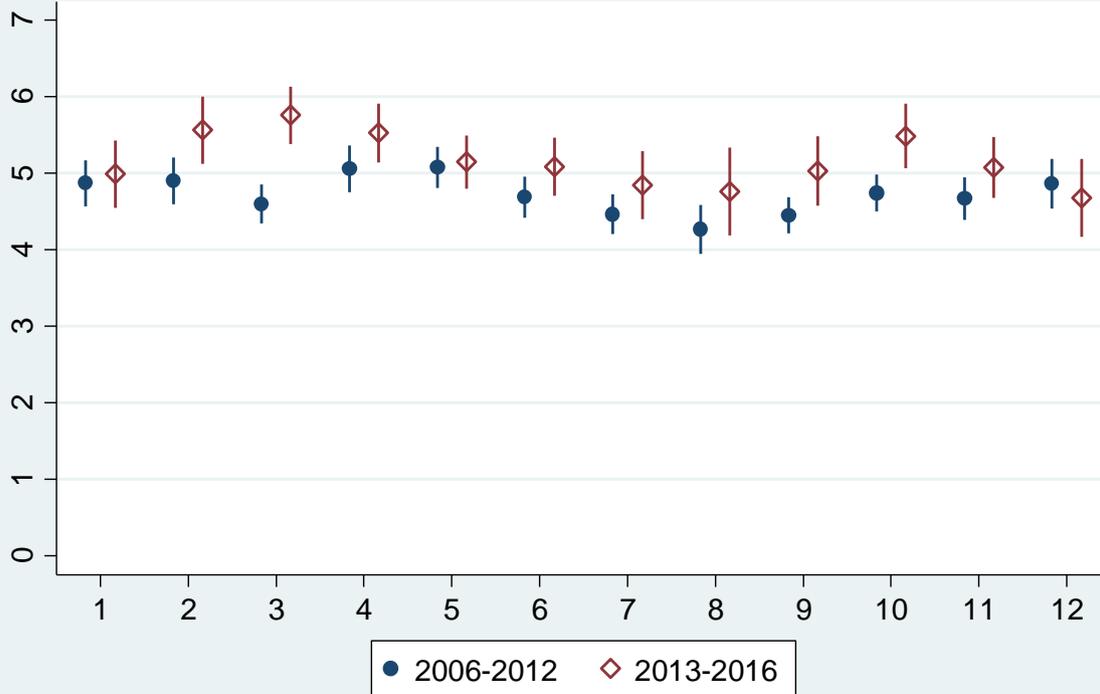
VPP ratio standardizzato per cancro



stand. per tipo di esame, età (continua) e sesso. Pop. stand.: tot. fit+ con colon

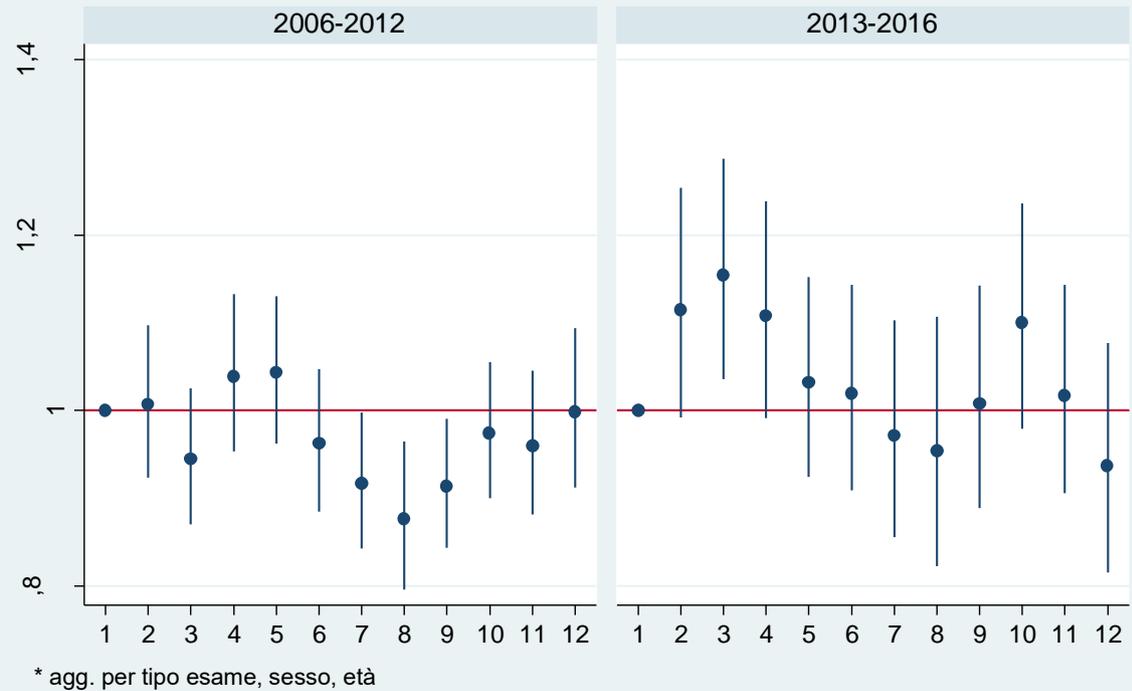
AUSL Modena

FIT positività aggiustata*, per mese referto e periodo

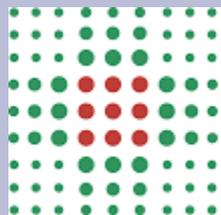


* agg. per tipo esame, sesso, età

Rischio relativo aggiustato* di FIT positivo per mese referto e periodo



* agg. per tipo esame, sesso, età



SERVIZIO SANITARIO REGIONALE
EMILIA-ROMAGNA

Bologna, 20 aprile 2017

**La sorveglianza epidemiologica
dello screening dei tumori del colon-retto nella Regione Emilia-Romagna**

Grazie per l'attenzione