

Continguts: www.acclc.cat/ivv_docs.php?any=2015*In vitro veritas*Pàgina web de la revista: www.acclc.cat/ivv.php

Revisió

Determinació quantitativa d'hemoglobina en la femta mitjançant procediments immunoquímics

Associació Catalana de Ciències de Laboratori Clínic
Secció de Biomarcadors Oncològics

Josep Maria Augé Fradera ^a, Catrina Colomé Mallolas ^b, Xavier Filella Pla ^a, Maria Luisa Granada Ybern ^c, Marta de Ramon Amat ^d, Jaume Trapé Pujol ^e

^a Servei de Bioquímica i Genètica Molecular (CDB), Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona

^b Bioquímica, CATLAB, Terrassa

^c Servei de Bioquímica, Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona

^d Laboratori de Referència de Catalunya. El Prat de Llobregat

^e Servei de Bioquímica Clínica, Departament de Diagnòstic Biològic, Althaia Xarxa Assistencial Universitària de Manresa, Manresa

2015 © Publicat per l'Associació catalana de ciències de Laboratori Clínic

Introducció

El càncer de còlon i recte (d'ara endavant CCR), amb aproximadament 5 000 nous casos cada any, és el més habitual a Catalunya. És el segon tumor més freqüent en les dones, després del de mama, i el tercer en els homes, després dels de pròstata i pulmó. En la majoria de casos es tracta de càncers esporàdics, representant aproximadament el 15 % de tots els càncers diagnosticats en la població catalana. La seva incidència augmenta amb l'edat, sobretot a partir dels 50 anys (1).

Es tracta d'una malaltia molt prevalent, en la que el grup principal de risc són els homes i les dones de més de 50 anys, col·lectiu en el qual la detecció precoç ha demostrat ser beneficiosa. El CCR s'origina majoritàriament a partir de pòlips benignes o adenomes que creixen dins del budell gruixut, i, en el decurs del temps, alguns poden malignitzar, sobretot els que presenten unes característiques histològiques i de mida que els defineixen com a avançats (≥ 10 mm, presència de component vellós, o de displàsia d'alt grau) o que es presentin en quantitat superior a dos. La detecció i extirpació d'aquestes lesions premalignes evita la progressió i, en el cas de ser malignes, la supervivència millora de forma considerable si s'aplica tractament en estadis inicials. Totes aquestes propietats converteixen el CCR en un excel·lent candidat per incloure'l en un programa de cribratge.

La colonoscòpia és l'examen d'elecció per la detecció i extirpació d'aquestes lesions, però és car i invasiu i, per tant, no

està exempt de complicacions o efectes secundaris que poden derivar de l'exploració o la sedació. La presència d'una determinada quantitat d'hemoglobina en la femta ha demostrat seleccionar de forma eficient la població a la que cal practicar aquesta exploració. Hi ha evidència que la possibilitat de curació augmenta i la mortalitat per aquest tumor disminueix entre el 15 i el 33 % (2-4). Aquest és el motiu pel que actualment la majoria de societats científiques recomanen la determinació d'hemoglobina en la femta¹ en el cribratge del CCR (5-8).

¹ La determinació d'hemoglobina en la femta fa referència indistintament a tres magnituds biològiques:

- La fracció de massa d'hemoglobina en la femta. És una magnitud escalar que presenta valors *quantitatius* numèrics. Se sol expressar en μg d'hemoglobina per g de femta (p.ex.: 30 $\mu\text{g/g}$).
- La concentració de massa d'hemoglobina en la femta. És una magnitud escalar que presenta valors *quantitatius* numèrics. Se sol expressar en μg d'hemoglobina per L de solució conservadora que conté la mostra de femta (p.ex.: 30 $\mu\text{g/L}$ que equival a 60 ng d'hemoglobina en 2 mL de solució conservadora).
- El contingut arbitrari d'hemoglobina en la femta. És una magnitud ordinal que presenta valors ordinals o *semiquantitatius*. Se sol expressar com la presència (positiu) o absència (negatiu) d'hemoglobina en la femta. El mètode clàssic del guaiac pertany a aquest apartat.

Clàssicament, la determinació d'hemoglobina en la femta es realitzava mitjançant el mètode del guaiac, basat en la reacció de la peroxidasa pròpia del grup *hem* de l'hemoglobina. Actualment, aquesta determinació es realitza fent servir procediments immunoquímics —coneguts pel seu acrònim en anglès FIT (*faecal immunochemical test*)— basats en mètodes immunocromatogràfics, immunoturbidimètrics o d'ELISA, on anticossos monoclonals i policlonals, reconeixen de forma específica la fracció *globina* de l'hemoglobina humana.

La determinació d'hemoglobina en la femta es pot realitzar de dues maneres: semi-quantitativament —*prova qualitativa* (en realitat *semi-quantitativa*)—, basada en mètodes immunocromatogràfics i dissenyada per a un valor discriminant concret; i quantitativament —*prova quantitativa*— basada, en la majoria dels casos, en mètodes immunoturbidimètrics, en els que s'obté un valor d'hemoglobina que permet escollir el valor discriminant òptim per seleccionar la població que serà sotmesa a una colonoscòpia.

Catalunya, amb la posada en funcionament l'any 2000 a l'Hospitalet de Llobregat d'un programa pilot basat en la determinació *semi-quantitativa* d'hemoglobina mitjançant el mètode del guaiac (9), va ser la primera comunitat autònoma de l'Estat espanyol en iniciar un programa de cribratge de CCR. A la ciutat de Barcelona, en una primera etapa que comprenia una població diana de 197 795 persones entre 50 i 69 anys, el programa es va iniciar l'any 2009 i des del primer moment es va utilitzar pel cribratge la determinació *quantitativa* d'hemoglobina mitjançant procediments immunoquímics. El valor discriminant es va fixar a 100 ng d'hemoglobina per mL de solució conservadora, equivalent a 20 µg d'hemoglobina per gram de femta. En aquesta primera ronda va participar el 43,6 % de la població, dels quals el 6,2 % (4 973 persones) varen presentar un resultat positiu, i d'aquests últims es van confirmar per colonoscòpia 1 734 adenomes d'alt risc i 251 càncers invasius (10).

En el moment de redactar aquest document el programa de detecció precoç de CCR de Catalunya s'està estenent a diferents àrees del territori, i s'espera que, abans de l'any 2017, la cobertura s'hagi completat. Això vol dir que els laboratoris clínics s'hauran d'adaptar a les necessitats d'aquests programes i hauran de conèixer, almenys de forma general, les principals característiques d'aquesta determinació. L'objectiu d'aquesta revisió és posar en coneixement les peculiaritats de la determinació *quantitativa* d'hemoglobina en la femta mitjançant procediments immunoquímics i proporcionar bibliografia que permeti ampliar-ne la informació.

Diferències amb el mètode del guaiac

La determinació *quantitativa* d'hemoglobina en la femta fent servir procediments immunoquímics és molt més específica que la determinació *semi-quantitativa* basada en el mètode clàssic del guaiac i no està subjecta a tantes interferències (11). Detecta majoritàriament i gairebé de forma exclusiva el sagnat del tracte digestiu inferior, ja que la fracció *globina* de l'hemoglobina humana provinent del tracte digestiu superior és degradada pels enzims proteolítics (12). A més, detecta concentracions molt baixes de globina.

La determinació *quantitativa* ofereix avantatges davant la *semi-quantitativa*, com l'objectivitat en el resultat obtingut, la facilitat en la lectura del resultat (habitualment a través d'un analitzador), la possibilitat d'utilitzar criteris de qualitat analítica quantitativa i en definitiva, la possibilitat d'automatització la fa molt adient pels programes de cribratge poblacionals.

Característiques relacionades amb la recollida de mostres

Els tubs de recollida de les mostres de femta consten generalment d'un bastonet de plàstic dissenyat per recollir la mostra fecal i un tub amb una solució conservadora al seu interior, el volum de la qual difereix entre fabricants. Actualment no existeix una estandardització en el disseny del tub; els dispositius poden recollir quantitats diferents de femta i contenir volums de solució conservadora diferents depenent del fabricant. Aquest és un punt d'especial interès, doncs els resultats obtinguts per una mateixa quantitat d'hemoglobina en la femta poden variar en funció del fabricant.

Per aquest motiu, l'Organització Mundial de l'Endoscòpia (*World Endoscopy Organization*) recomana indicar la quantitat d'hemoglobina en relació a la massa fecal (µg/g) i no al volum de solució conservadora continguda al tub (13), ja que així es minimitzen les diferències entre mètodes. De tota manera, hi ha estudis que indiquen que tot i ajustar la quantitat d'hemoglobina a la massa fecal, continuen existint diferències en l'eficiència diagnòstica depenent de quin sigui el mètode utilitzat pel fabricant (14).

Diferències poblacionals

S'ha observat que la distribució dels valors de la concentració de l'hemoglobina en la femta és diferent en homes i en dones, amb concentracions més elevades en els homes, que varia amb l'edat, augmentant la seva concentració a mida que la població envella i s'han observat també diferències en funció d'àrees geogràfiques (15, 16), situacions que no són res més que un reflex de l'epidemiologia de les lesions a nivell del budell gruixut i probablement de diferències fisiològiques. Es tracta d'un tema controvertit, existint defensors de fixar diferents valors discriminats en funció de l'edat i el sexe, però en la pràctica, s'utilitza un valor únic per a tota la població. De tota manera és aconsellable conèixer el comportament d'un procediment i mètode concret en una població determinada abans d'iniciar un programa de cribratge i fixar el valor discriminat òptim, evitant d'aquesta manera que la taxa de resultats positius i, en conseqüència, el nombre de colonoscòpies, no sigui l'esperat.

Valor discriminant

La determinació *quantitativa* d'hemoglobina permet triar un valor discriminant concret per ajustar la sensibilitat i l'especificitat diagnòstica a les necessitats dels programes de cribratge i, en definitiva, ajustar la càrrega de treball de les unitats d'endoscòpia. Els primers estudis realitzats per Rozen i col·laboradors (17) varen concloure que utilitzant una sola mostra per participant i un valor discriminant de 20 µg d'hemoglobina per gram de femta, s'assolia una especificitat i sensibilitat per al diagnòstic del càncer de còlon del 95 % i del 65 %, respectivament. Mentre que quan s'avaluaven en conjunt càncer i adenomes avançats, l'especificitat i la sensibilitat eren del 96 % i del 31 %, respectivament.

Eficiència diagnòstica

Malgrat que la determinació *quantitativa* d'hemoglobina en la femta fent servir procediments immunoquímics presenta una escassa sensibilitat diagnòstica en la identificació de pòlips perquè el sagnat no els hi és exclusiu, aquesta és superior a la determinació *semi-quantitativa* basada en el mètode clàssic del guaiac. Tant la sensibilitat com l'especificitat diagnòstica varien en funció del valor discriminant utilitzat. Per un valor de 20 µg/g, la sensibilitat pel CCR per a la determinació *quantitativa* és superior a la de la determinació *semi-quantitativa* (87,1 - 92,3 % *versus* 30,8 - 74,2 %); mentre que l'especificitat és inferior (90,0 - 94,2 % *versus* 92,4 - 95,7 %). Ajustant el valor discriminant de

la determinació *quantitativa* per assolir el mateix percentatge de resultats positius que la determinació *semi-quantitativa*, el valor predictiu positiu obtingut és superior per a la determinació *quantitativa*. En relació a la detecció d'adenomes avançats, la determinació *quantitativa* utilitzant un valor discriminat de 20 µg/g, és entre dues i tres vegades més sensible que la *semi-quantitativa* (33,9 - 35,6 % *versus* 13,6 - 18 %), mentre que les especificitats diagnòstiques oscil·len entre el 90,6 % i el 94,2 % per a la determinació *quantitativa* i entre el 92,4 % i el 97,4 % per a la *semi-quantitativa*. De tota manera, cal remarcar que tant la sensibilitat com l'especificitat diagnòstiques poden arribar a variar molt depenent del valor discriminat elegit (18-20).

Estabilitat de l'hemoglobina fecal

En els programes de detecció precoç del CCR, el procés preanalític relacionat amb la recollida de les mostres constitueix una fase crítica, ja que bona part d'aquest succeeix lluny del laboratori, i és el propi individu qui se'n fa càrrec. Això obliga a facilitar als participants una informació clara que garanteixi la correcta conservació i estabilitat de la mostra.

Estudis diversos han demostrat que l'hemoglobina es degrada tant a conseqüència del pas del temps com a conseqüència de la temperatura (21-25). Per aquest motiu es recomana mantenir la mostra refrigerada i processar-la en els primers quinze dies després de la seva recollida. Caldrà doncs garantir la conservació refrigerada i processar la mostra de femta el més aviat possible. D'aquesta manera s'assegurarà la qualitat del resultat i es minimitzarà l'aparició de resultats falsos negatius.

Nombre de mostres per pacient

Així com la sensibilitat diagnòstica varia en funció del valor discriminat utilitzat, també ho fa en funció del nombre de mostres processades per participant. Actualment hi ha la tendència a utilitzar més d'una mostra, probablement seguint les indicacions de la determinació basada en el mètode clàssic del guaiac, guanyant en sensibilitat però disminuint en especificitat. Aquest aspecte també ha estat estudiat, arribant a la conclusió que s'assoleix la mateixa eficiència diagnòstica utilitzant dues mostres o una de sola amb valors discriminants més baixos (26, 27). És per això que, en l'actualitat, es recomana fer servir una sola mostra per pacient.

Valor afegit de la determinació *quantitativa*

Una de les darreres aportacions de la determinació *quantitativa* és la possibilitat de calcular riscos individuals de presentar determinades lesions combinant variables clíniques, demogràfiques i bioquímiques (els valors de la concentració d'hemoglobina en la femta) (28-30).

Aquest és un aspecte d'especial interès a l'hora d'organitzar les citacions dels pacients a les unitats d'endoscòpia i permet prioritzar aquells participants amb un risc més elevat de presentar lesions amb alta probabilitat de malignitzar. Un estudi, realitzat a la ciutat de Barcelona durant la primera ronda del programa de detecció precoç de CCR, va concloure que combinant els valors de la concentració d'hemoglobina en la femta amb l'edat i el sexe dels participants, era possible determinar el risc de detectar adenomes avançats o càncer durant la colonoscòpia. Es va observar que els homes entre 60 i 69 anys amb una concentració d'hemoglobina superior a 177 µg/g de femta presentaven un risc aproximadament 12 vegades superior al del grup de dones entre 50 i 69 anys amb concentracions d'hemoglobina en la femta inferiors a 65 µg/g (31).

Conclusions

La recent introducció de la determinació *quantitativa* d'hemoglobina en la femta mitjançant procediments immunoquímics ha representat un canvi important en l'organització dels programes de detecció precoç del CCR. En l'actualitat, aquesta determinació *quantitativa*, es considera l'eina diagnòstica d'elecció per seleccionar els pacients que seran sotmesos a una colonoscòpia en un programa de cribratge. A més, amb aquest tipus de determinació, és possible establir un valor discriminat concret i així adequar-ho a les necessitats dels programes.

A continuació i com a conclusió, s'exposen els principals aspectes a tenir en compte sobre la determinació *quantitativa* d'hemoglobina en la femta:

- La seva eficiència és superior a la determinació *semi-quantitativa* basada en el mètode clàssic del guaiac, tant pel que fa a la seva eficiència diagnòstica com pel fet de no estar afectada per les interferències que ocasionaven sovint resultats falsament positius.
- Permet detectar l'hemoglobina humana de forma específica i principalment del sagnat que s'origina a nivell del budell gruixut. Per tant, aquesta determinació, no es considera adequada per detectar pèrdues de sang gàstriques o a nivell del budell prim.
- Existeix variabilitat de resultats entre els diferents fabricants de reactius, ja que els sistemes de recollida de mostres no estan estandarditzats i els resultats obtinguts —referits al volum de solució conservadora dels tubs— no són equivalents entre fabricants. Per això, es recomana expressar els resultats en relació a la massa de femta: micrograms d'hemoglobina per gram de femta (µg/g).
- L'hemoglobina és làbil i més quan està en contacte amb la femta, per tant, és necessari processar les mostres el més aviat possible, sempre en els primers 10-15 dies després de la seva recollida i conservar sempre els tubs refrigerats fins el moment del seu processament.
- Els valors de la concentració d'hemoglobina en la femta varien segons sigui la població estudiada. Els principals factors que els afecten són l'edat, el sexe, tot i que també s'han observat diferències en funció de zones geogràfiques.
- No existeix un valor discriminat d'àmbit universal concret i habitualment s'estableix en funció a la càrrega de treball de les unitats d'endoscòpia, però en general els valors discriminants dels programes de cribratge se situen entre 15 i 25 µg/g.
- Majoritàriament s'utilitza una sola mostra per participant, ja que s'assoleix la mateixa eficiència diagnòstica amb una sola mostra i un valor discriminat baix que utilitzant dues o més mostres amb un valor discriminat més alt.
- La utilització dels valors de la concentració de l'hemoglobina en la femta, juntament amb l'edat i el sexe dels participants en un programa de cribratge, permet l'estimació del risc de presentar determinades lesions a nivell de còlon.

Bibliografia

- (1) Generalitat de Catalunya. Departament de Salut. El càncer a Catalunya 1993-2020. <http://cancer.gencat.cat/web/.content/mery/banners_home/dades_cancer.pdf> (accés 2015-10-08).
- (2) Hardcastle JD, Thomas WM, Chamberlain J, Pye G, Sheffield J, James PD, et al. Randomised, controlled trial of faecal occult blood screening for colorectal cancer. Results for first 107,349 subjects. *Lancet* 1989;1:1160-4.

- (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;348:1467-71.
- (4) Mandel JS, Church TR, Ederer F, Bond JH. Colorectal cancer mortality: effectiveness of biennial screening for fecal occult blood. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:434-7.
- (5) Duffy MJ, van Rossum LG, van Turenhout ST, Malminiemi O, Sturgeon C, Lamerz R, *et al.* Use of faecal markers in screening for colorectal neoplasia: a European group on tumor markers position paper. *Int J Cancer* 2011;128:3-11.
- (6) Labianca R, Nordlinger B, Beretta GD, Mosconi S, Mandala M, Cervantes A, *et al.* Early colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2013;24 (Suppl 6):vi64-vi72. doi: 10.1093/annonc/mdt354.
- (7) Rex DK, Johnson DA, Anderson JC, Schoenfeld PS, Burke CA, Inadomi JM. American College of Gastroenterology guidelines for colorectal cancer screening 2009 [corrected]. *Am J Gastroenterol* 2009;104:739-50.
- (8) Sturgeon CM, Duffy MJ, Stenman UH, Lilja H, Brunner N, Chan DW, *et al.* National Academy of Clinical Biochemistry laboratory medicine practice guidelines for use of tumor markers in testicular, prostate, colorectal, breast, and ovarian cancers. *Clin Chem* 2008;54:e11-e79.
- (9) Peris M, Espinas JA, Munoz L, Navarro M, Binefa G, Borrás JM. Lessons learnt from a population-based pilot programme for colorectal cancer screening in Catalonia (Spain). *J Med Screen* 2007;14:81-6.
- (10) Buron A, Grau J, Andreu M, Auge JM, Guayta-Escolies R, Barau M, *et al.* [Colorectal Cancer Early Screening Program of Barcelona: Indicators of the first round of a program with participation of community pharmacies.]. *Med Clin (Barc)* 2015;145(4):141-6. doi: 10.1016.
- (11) Young GP, Macrae FA, St John DJ. Clinical methods of early detection: basis, use and evaluation. A: Young GP, Rozen P, Levin B, dirs. *Prevention and Early Detection of Colorectal Cancer*. London: Saunders, 1996. p. 241-270.
- (12) Young GP, St John DJ, Rose IS, Blake D. Haem in the gut. Part II. Faecal excretion of haem and haem-derived porphyrins and their detection. *J Gastroenterol Hepatol* 1990;5:194-203.
- (13) Fraser CG, Allison JE, Halloran SP, Young GP. A proposal to standardize reporting units for fecal immunochemical tests for hemoglobin. *J Natl Cancer Inst* 2012;104:810-4.
- (14) Chiang TH, Chuang SL, Chen SL, Chiu HM, Yen AM, Chiu SY, *et al.* Difference in performance of fecal immunochemical tests with the same hemoglobin cutoff concentration in a nationwide colorectal cancer screening program. *Gastroenterology* 2014;147:1317-26.
- (15) Fraser CG, Rubeca T, Rapi S, Chen LS, Chen HH. Faecal haemoglobin concentrations vary with sex and age, but data are not transferable across geography for colorectal cancer screening. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:1211-6.
- (16) Fraser CG, Auge JM. Faecal haemoglobin concentrations do vary across geography as well as with age and sex: ramifications for colorectal cancer screening. *Clin Chem Lab Med* 2015;53(9):e235-7. doi: 10.1515.
- (17) Rozen P, Comaneshter D, Levi Z, Hazazi R, Vilkin A, Maoz E, *et al.* Cumulative evaluation of a quantitative immunochemical fecal occult blood test to determine its optimal clinical use. *Cancer* 2010;116:2115-25.
- (18) Oort FA, Terhaar sive Droste JS, van der Hulst RW, van Heukelem HA, Loffeld RJ, Wesdorp IC, *et al.* Colonoscopy-controlled intra-individual comparisons to screen relevant neoplasia: faecal immunochemical test vs. guaiac-based faecal occult blood test. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31:432-9.
- (19) Park DI, Ryu S, Kim YH, Lee SH, Lee CK, Eun CS, *et al.* Comparison of guaiac-based and quantitative immunochemical fecal occult blood testing in a population at average risk undergoing colorectal cancer screening. *Am J Gastroenterol* 2010;105:2017-25.
- (20) Brenner H, Tao S. Superior diagnostic performance of faecal immunochemical tests for haemoglobin in a head-to-head comparison with guaiac based faecal occult blood test among 2235 participants of screening colonoscopy. *Eur J Cancer* 2013;49:3049-54.
- (21) Brown LF, Fraser CG. Effect of delay in sampling on haemoglobin determined by faecal immunochemical tests. *Ann Clin Biochem* 2008; 45(6):604-5. doi:10.1258.
- (22) Gonzalo N, Binefa G, Milà N, Muñoz C, Clopés A. Avaluació de l'estabilitat de l'hemoglobina en els tests de sang oculta en femta immunològics dins del programa de cribratge de càncer colorectal de l'ICO: podem estar tranquils? *Circular Farmacèutica* 2014;72:12-8.
- (23) Guittet L, Guillaume E, Levillain R, Beley P, Tichet J, Lantieri O, *et al.* Analytical comparison of three quantitative immunochemical fecal occult blood tests for colorectal cancer screening. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20:1492-501.
- (24) van Rossum LG, van Rijn AF, van Oijen MG, Fockens P, Laheij RJ, Verbeek AL, *et al.* False negative fecal occult blood tests due to delayed sample return in colorectal cancer screening. *Int J Cancer* 2009; 125:746-50.
- (25) Vilkin A, Rozen P, Levi Z, Waked A, Maoz E, Birkenfeld S, *et al.* Performance characteristics and evaluation of an automated-developed and quantitative, immunochemical, fecal occult blood screening test. *Am J Gastroenterol* 2005;100:2519-25.
- (26) Hernández V, Cubiella J, Gonzalez-Mao MC, Iglesias F, Rivera C, Iglesias MB, *et al.* Fecal immunochemical test accuracy in average-risk colorectal cancer screening. *World J Gastroenterol* 2014;20:1038-47.
- (27) Auge JM, Fraser CG, Rodriguez C, Roset A, Lopez-Ceron M, Grau J, *et al.* Clinical utility of one versus two fecal immunochemical test samples in the detection of advanced colorectal neoplasia in symptomatic patients. *Clin Chem Lab Med* 2015; en premsa. doi: 10.1515.
- (28) Driver JA, Gaziano JM, Gelber RP, Lee IM, Buring JE, Kurth T. Development of a risk score for colorectal cancer in men. *Am J Med* 2007;120:257-63.
- (29) Freedman AN, Slattery ML, Ballard-Barbash R, Willis G, Cann BJ, Pee D, *et al.* Colorectal cancer risk prediction tool for white men and women without known susceptibility. *J Clin Oncol* 2009;27:686-93.
- (30) Omata F, Shintani A, Isozaki M, Masuda K, Fujita Y, Fukui T. Diagnostic performance of quantitative fecal immunochemical test and multivariate prediction model for colorectal neoplasms in asymptomatic individuals. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011;23:1036-41.
- (31) Auge JM, Pellise M, Escudero JM, Hernandez C, Andreu M, Grau J, *et al.* Risk stratification for advanced colorectal neoplasia according to fecal hemoglobin concentration in a colorectal cancer screening program. *Gastroenterology* 2014;147:628-36.