



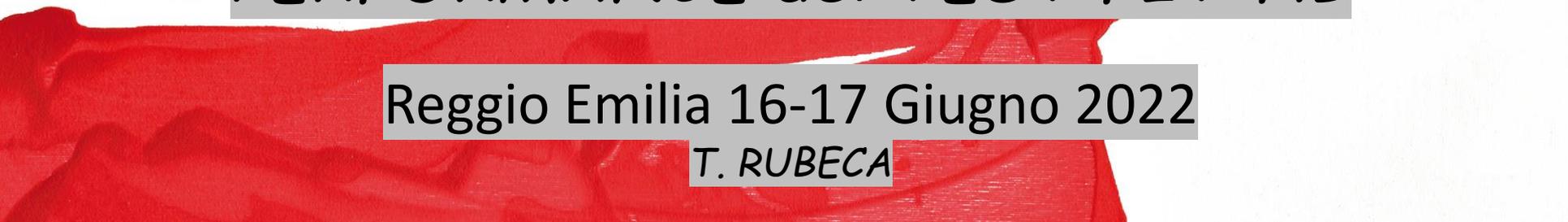
GISCoR²²



PERFORMANCE dei TEST FIT-HB

Reggio Emilia 16-17 Giugno 2022

T. RUBECA





La sottoscritta TIZIANA RUBECA

*ai sensi dell'art. 3.3 sul Conflitto di Interessi, pag. 17
del Reg. Applicativo dell'Accordo Stato-Regione del 5
novembre 2009,*

dichiara

*che negli ultimi due anni NON ha avuto rapporti
diretti di finanziamento con soggetti portatori di
interessi commerciali in campo sanitario*



Clinica Chimica Acta 517 (2020) 60–66

Contents lists available at ScienceDirect

Clinica Chimica Acta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/cca



Faecal immunochemical tests for haemoglobin: Analytical challenges and potential solutions

Sally C Benton^a, Erin Symonds^{b,c}, Natasha Djedovic^d, Samantha Jones^e, Liesbet Deprez^f, Petr Kocna^g, Josep Maria Auge^h, on behalf of the International Federation of Clinical Chemistry Faecal Immunochemical Test Working Group (IFCC FIT-WG)

^a Clinical Biochemistry, Royal Surrey County Hospital/NHS Royal Surrey Health, Guildford and Surrey Pathology Services, Guildford, Surrey, UK
^b Royal North Shore, Flanders Medical Centre, Sydney Park, South Australia, Australia
^c Cancer Research, Flanders Health and Medical Research, Flanders University, Ghent Park, South Australia, Australia
^d Clinical Biochemistry, NHS Royal Surrey Health, Guildford, Surrey Pathology Services, Guildford, Surrey, UK
^e Faculty, Charingford State University, Health Board, Charingford, UK
^f European Commission, Joint Research Centre (JRC), Geel, Belgium
^g Laboratory of Microbiology, Institute of Medical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, Lithuanian Faculty of Clinical University and General University Hospital, Vilnius, Lithuania
^h Clinical Chemistry and Molecular Genetics Department, Hospital Clinic Barcelona, Catalonia, Spain

ARTICLE INFO

Keywords:
Faecal immunochemical test
FIT
Colorectal cancer
Cancer screening
Bowel cancer
Hemoglobin
Hemoglobin
Pre-analytical
External quality assurance
Internal quality assurance

ABSTRACT

Quantitative faecal immunochemical tests for haemoglobin (FIT) are being used increasingly around the world in colorectal cancer screening programmes, and in patients presenting with lower bowel symptoms to determine who should proceed to further bowel visualisation investigations, usually colonoscopy. The clinical utility of FIT is well reported, there are a number of analytical challenges including pre-analytical variation, difficulty setting up external quality assessment schemes, access to third party internal quality control material and a lack of standardisation or harmonisation of FIT methods. Here we report the work of the International Federation of Clinical Chemistry FIT Working Group. We provide an overview of the main pre-analytical variables; discuss different approaches to external quality assurance of FIT; propose a solution to third party internal quality assurance materials and summarise the challenges of standardisation and harmonisation of FIT.

1. Background

Colorectal cancer (CRC) is one of the most prevalent cancers worldwide [1]. Early detection of neoplastic lesions can provide the best opportunity for treatment and prevention. CRC and adenomas (sometimes neoplastic precursors of CRC) can shed blood, and therefore examining faecal samples for occult blood can indicate an increased likelihood of CRC or adenoma being present. This can be achieved with faecal immunochemical tests for haemoglobin (FIT) which utilise antibodies that bind to the globin moiety of haemoglobin (Hb) to detect Hb in faeces.

Quantitative FIT is used in screening programmes around the world [1,2] with a positive result, i.e. a faecal Hb concentration (f-Hb) above a

defined threshold, determining who should proceed to further bowel visualisation investigations, usually colonoscopy. Different thresholds are used to define a positive result, often decided by the available colonoscopy resources. Thresholds used in screening programmes usually range from 15 µg Hb/g faeces to 150 µg Hb/g faeces [2].

More recently, a growing body of evidence has supported the use of FIT alongside clinical signs and symptoms and the full blood count, for triaging patients presenting in primary care with lower bowel symptoms to bowel visualisation [3,4]. England has incorporated the use of FIT into the NICE guidelines to guide referral for suspected CRC [5], at least for patients at low risk of CRC, with a low threshold for positivity at 10 µg Hb/g faeces.

Evidence also suggests that f-Hb can be used to assess future risk for

^{***}Abbreviations: FIT, Faecal Immunochemical test for haemoglobin; IFCC FIT-WG, International Federation of Clinical Chemistry faecal immunochemical test for haemoglobin working group; f-Hb, faecal haemoglobin; EQA, external quality assessment; IQC, Internal quality control.

<https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.01.004>

Received 1 December 2020; Received in revised form 14 January 2021; Accepted 27 January 2021

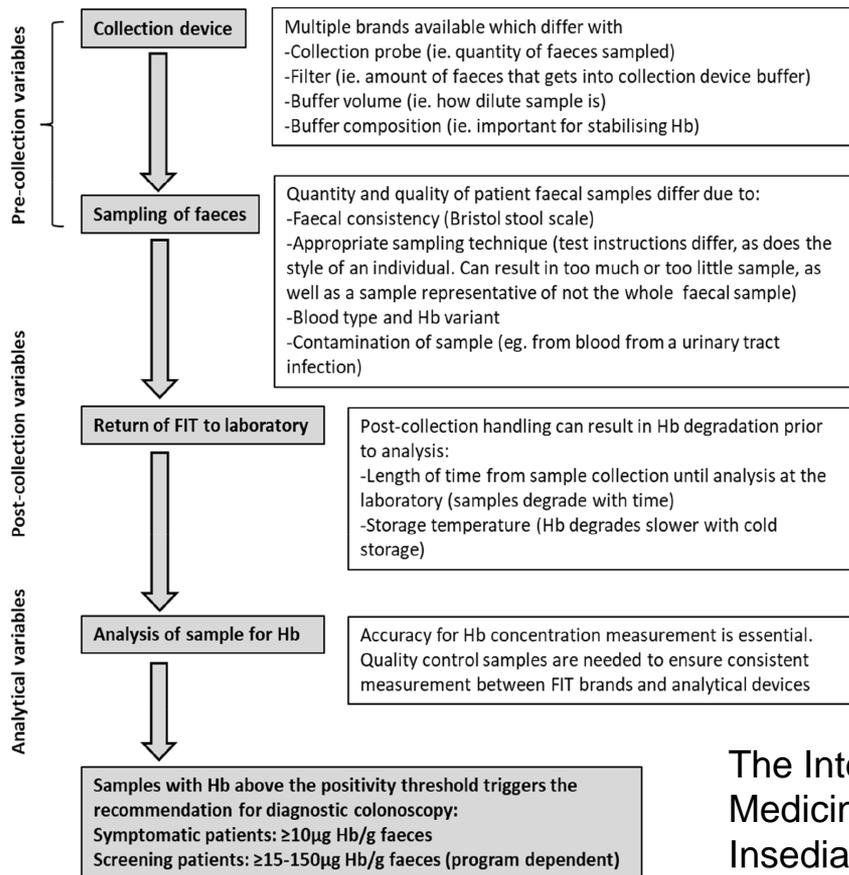
Available online 9 February 2021

0959-2688/© 2021 Published by Elsevier B.V.

Sempre più in tutto il mondo nei programmi di screening del CCR vengono utilizzati i FIT quantitativi con limite decisionale, di Hb (f-Hb) al di sopra di una soglia definita x determinare chi indirizzare ad ulteriori approfondimenti di solito colonscopia.

Soglie diverse per definire un risultato positivo, spesso deciso in funzione della risorsa colonscopia disponibile.

Limiti decisionali; da 15 µg Hb/g feci a 150 µg Hb/g feci



Restano una serie di sfide analitiche

- Variabilità pre-analitica
- Difficoltà impostazione schemi VEQ
- Accesso al materiale di Cqi di 3° parte
- Mancanza standardizzazione o armonizzazione dei metodi FIT.

The International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Scientific Division, Working Group on FIT (IFCC FIT-WG) Insediato nel 2017 per cercare di risolvere le problematiche tecniche



L'Utilità Clinica del FIT-HB è ormai univocamente riconosciuta

I FIT quantitativi vengono utilizzati

- Nei programmi di screening
- Per il triage dei pazienti che si presentano per colonscopia con segni e sintomi clinici e l'emocromo completo.
- L'Inghilterra ha incorporato l'uso di FIT nelle linee guida NICE per guidare il rinvio di sospetto CRC almeno per i pazienti a basso rischio di CRC, con soglia $<10 \mu\text{g Hb/g feci}$.
- L'evidenza suggerisce anche che il FIT-HB può essere utilizzato per valutare il rischio futuro di neoplasia. Infatti gli individui con FIT-HB al di sopra del limite di rilevazione del metodo, ma al di sotto della soglia di positività presentano un rischio maggiore di neoplasia avanzata rispetto a quelli con un FIT-HB inferiore al limite di rilevabilità



Metodi quantitativi in uso

- HM-JACKarc, Hitachi Chemical Diagnostics Systems Co., Ltd, Tokyo, Japan.
- NS-Prime, Alfresa Pharma Corporation, Osaka, Japan.
- OC-Sensor PLEDIA, Eiken Chemical Co. Ltd, Tokyo, Japan.
- FOB Gold, Sentinel Diagnostics, Milan, Italy.

**Tutti i metodi soddisfano i requisiti clinici e sono in
linea con le dichiarazioni dei produttori**



Target del Working Group on FIT (IFCC FIT-WG)

1. Armonizzare e/o standardizzare l'analisi dell'emoglobina nei campioni fecali mediante immunochimica (FIT)
2. Standardizzare la fase pre-analitica
3. Stabilità dell'HB nel campione.
4. Variante HB presente nelle feci
5. Stabilire programmi di Cqi di terza parte
6. Programmi di EQA
7. Determinare la fattibilità dello sviluppo di calibratori (materiali riferimento e/o commutabili) .



1. Armonizzare e/o standardizzare l'analisi dell'emoglobina nei campioni fecali mediante immunochimica (FIT)

- I sistemi danno risultati clinici simili in relazione alla positività /effetto del cutoff) ma non della concentrazione di FIT-HB.
- Si ottengono valori di concentrazione diversi con i diversi metodi sia su campioni di pazienti che con campioni di controllo (campioni omogenei su più strumenti).
- Viene confermato l'uso di $\mu\text{g Hb/g di feci}$ come unità di misura perché ormai condivisa ed in grado di eliminare la variabilità della massa delle feci raccolte nel volume di tampone.
- Si riconosce che l'unità di misura corretta sarebbe $\mu\text{g Hb/mL di feci}$ (26) perché i dispositivi raccolgono la massa di feci in base alla loro geometria



2. Standardizzare la fase pre-analitica

- L'assenza di standardizzazione della fase pre-analitica porta l'incertezza relativa tra il 16 e il 31% per i diversi Sistemi FIT che utilizzano dispositivi di campionamento commerciali (27).
- L'incertezza relativa influenza in modo significativo l'incertezza estesa (U) del metodo FIT che invece dovrebbe essere minima per ridurre la variazione tra i risultati.



Attività del GdL del 1° livello

Valori sperimentali di incertezza da un gruppo di 6 strumenti

	CV pooled	u cref	RMS bias	u imp	u bias	u C	U (k=2)
range metodo	6-12,6	0,5-2,8	4,2-21,8	4,5-12,6	4,4-22	10,6-31,6	21,1-50,6

3. Stabilità dell'Hb nel campione

La stabilità dell'Hb nel campione raccolto nel dispositivo è influenzata dalle temperature di stoccaggio e di transito [34,35]. Ciò è presumibilmente mitigato dai buffer utilizzati dai produttori, ma la loro composizione, inclusi conservanti e stabilizzanti, varia [24,36 37] e l'esatta composizione di ciascun buffer non è disponibile al pubblico. A 5 °C, quasi tutti i FIT hanno mostrato risultati Hb abbastanza stabili per 7gg. A 20 °C, la maggior parte di FIT mostrava ancora risultati abbastanza stabili per 4giorni, mentre i tassi di positività sono diminuiti significativamente dal giorno 4 in poi per la maggior parte FIT a 35 °C. **La degradazione dell'Hb a causa delle temperature più elevate può portare il f-Hb misurato al di sotto della soglia di positività.**



4. Variante HB presente nelle feci

- Un'ulteriore variabile riguarda la variante Hb presente nelle feci. I produttori utilizzano diversi anticorpi policlonali dell'Hb.
- Non si sa esattamente cosa rileva il sistema anticorpale di ciascun produttore in termini della frazione globinica.
- Non si sa esattamente se questi prodotti stanno tutti misurando l'Hb umana, tutte le sue varianti e i prodotti di degradazione.



- Il Controllo di qualità interno (IQC) per il FIT, nonostante i requisiti ISO, che vorrebbe un materiale IQC di terza parte in realtà ancora non c'è [45].
- Ogni singolo produttore fornisce il proprio IQC da utilizzare sul proprio sistema.
- Uno studio recente, ha dimostrato che il materiale IQC di ciascuno dei quattro produttori in realtà è compatibile con gli altri tre sistemi FIT [20], però i valori assegnati di ciascuno di questi materiali sono diversi quando viene esaminato su un sistema FIT diverso da quello del produttore che lo ha fornito.
- Questo è prevedibile per la mancanza di standardizzazione.
- Se i produttori fossero disposti a commercializzare i loro IQC indipendentemente dai loro sistemi forse ci sarebbe il potenziale per avere dei materiali IQC di terza parte.



6. Programmi di EQA



- In tutto il mondo esistono schemi di EQA, tutti diversi, programmi che variano in termini di tipo di campione, frequenza, nel n° di campioni e di concentrazione di HB.
- Il Workin group suggerisce che il materiale EQA «ideale» fosse ottenuto da campioni reali o molto simile alla matrice fecale.
- Ovviamente per il FIT l'omogeneità può essere difficile da garantire perché la stabilità avrebbe un ruolo molto difficile.
- Forse l'utilizzo di materiale fecale liofilizzato addizionato con l'HB potrebbe potenzialmente superare la questione stabilità

7. Determinare la fattibilità dello sviluppo di calibratori (materiali riferimento e/o commutabili)

- Uno degli obiettivi del IFCC-WG è quello di riuscire a migliorare la comparabilità dei risultati generati utilizzando i Sistemi FIT. L'obiettivo è quello di armonizzare i risultati ottenuti sui diversi sistemi piuttosto che armonizzare le procedure.
- Purtroppo la misurazione di riferimento richiesta non è disponibile.
- L'IFCC-WG prevede di arrivare alla comparabilità dei risultati introducendo 1 unico riferimento metrologico per la calibrazione dei sistemi.
- Se la comparabilità è statisticamente e clinicamente accettabile, i risultati dei Sistemi FIT sono considerati armonizzati (50)



In sintesi

L'IFCC Fit-WG ha riconsiderato le problematiche evidenziate fino ad oggi focalizzando l'attenzione sull'introduzione di uno standard di riferimento di calibrazione.

Lo standard unico dovrebbe consentire anche la produzione di materiali di controllo commutabili (risposte comparabili con tutti i metodi) per le Valutazioni Esterne Qualità e per il CQi.

Contribuendo in maniera significativa all'armonizzazione dei risultati



Grazie
dell'attenzione

tiziana.rubeca@gmail.com