



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

## Personalització del cribratge del càncer colorectal

Gemma Ibáñez Sanz

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) i a través del Dipòsit Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) y a través del Repositorio Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service and by the UB Digital Repository ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

## Personalització del cribratge del càncer colorectal

---

Tesi presentada per Gemma Ibáñez Sanz per  
optar al grau de Doctora en Medicina

**Gemma Ibáñez Sanz**

Directors de la Tesi

Dr. Victor Moreno Aguado

Dra. Montse Garcia Martínez

Programa de Doctorat en Medicina i Recerca Translacional

Universitat de Barcelona

Barcelona, 2017







*“El secret de l'èxit és ser constant en el propòsit”.*

Benjamin Franklin



## **AGRAÏMENTS**

Són moltes les persones que m'han ajudat a arribar fins aquí i a totes elles els vull donar les gràcies.

A en Víctor Moreno, per donar-me l'oportunitat de treballar en el teu equip d'investigació, donar-me projectes d'investigació tan apassionants com COLSCREEN i GENRISK. Per ajudar-me tant a millorar els articles que he escrit o estic escrivint i per deixar-me seguir fent de digestòloga. Gràcies per la teva ajuda constant, per estar sempre quan ho necessito i per compartir amb mi el teu talent.

A la Montse Garcia per la teva infatigable dedicació en els dos primers articles i per llegir i corregir tot el necessari per fer que aquesta tesi tingués cara i ulls. També t'agreixo molt com em vas acollir en els meus primers dies a l'ICO.

A en Francisco Rodríguez per ser un referent a seguir no només com a persona sinó com a gran professional. M'has fet de germà gran en moltes ocasions, per dubtes professionals i per mil i un dubtes de pacients que sempre m'has resolt amb un gran somriure.

A en Joan Gornals perquè gràcies a tu vaig fer les meves primeres passes en el món d'investigació. Vas tenir la paciència d'explicar-me com escriure el meu primer article i vas aconseguir transmetre'm el teu incansable neguit per investigar.

A la Claudia Consiglieri, per ser tan bona persona i encara millor amiga. Has estat en el meu costat sempre que t'he necessitat no només com a companya de treball sinó també com a amiga.



A la meva resident petitona preferida, la Luisa, gràcies per ajudar-me en el nou article de càncer colorectal.

Al Dr. Xiol, el meu interconsultor d'hepatologia i professor de facultat, per haver estat tant bona persona, metge i professor de digestiu. A la Carme Baliellas, la meva tutora, per acompanyar-me en la meva residència i ajudar-me en aquesta etapa tan difícil. A en Jordi Guardiola per donar-me l'oportunitat de treballar a un servei de digestiu tan bo com el Bellvitge i alhora deixar-me seguir investigant a l'altra banda de la Granvia.

Als meus adjunts del servei, perquè en quatre anys he après moltíssimes coses de vosaltres, ja sigui a planta de tub o de fetge, a endoscòpies o de guàrdia.

Als residents grans i petits per fer que els dies al despatx fossin més divertits i agradables. A tots i cadascun d'ells gràcies per fer-me riure i fer que la residència fos una etapa inoblidable.

A les infermeres d'endoscòpies, de planta i d'urgències que et somriuen quan et veuen i que t'ajuden quan més ho necessites. A més, vull agrair el suport incondicional a les infermeres de l'ambulatori, en especial a la Carme, que permeten que els estudis GENRISK i RAID4 siguin una realitat.

Gràcies a tots els companys i companyes del Programa de Prevenció i Control del Càncer de l'ICO. Gràcies al seu constant treball en el programa de cribratge i en la seva recerca de nous biomarcadors he pogut realitzar aquesta tesi en tan poc temps. Gràcies a tots els coautors que formen part d'aquesta tesi, en especial gràcies a la Núria i l'Anna pel suport estadístic que m'han donat. Gràcies a l'Eli i la Carmen per ajudar-me a mantenir viu l'estudi COLSCREEN. També vull agrair als meus companys i companyes de Biomarcadors amb els

que he coincidit al llarg d'aquests dos anys. És impossible citar a totes les persones que m'ajuden en el meu dia a dia, però a totes elles gràcies.

Gràcies als meus companys de l'*Academia de Estudios AMIR*, en especial a en Borja i Carlos. A en Borja, moltes gràcies per donar-me l'oportunitat des de ben petita de donar classes de digestiu per tota Espanya. He conegut moltes ciutats noves, aeroports, hotels i les diferents peculiaritats de cada seu. Però, encara més important, donar classes m'ha ajudat a aprendre molt de digestiu i, a més, m'ha permès desenvolupar noves habilitats comunicatives.

Per últim, però no menys important, vull donar les gràcies a la meva família i als meus amics. A la Laura, als meus avis, les meves cosines i cosí, als meus tiets, a la meva quasi família ("Friends with Kids"), a la Montse Caldú, a les meves amigues del BàsquetFo i al Nus.

Als meus pares, perquè no sé que faria sense ells. Per estimar-me, recolzar-me, animar-me, cuidar-me i com diu el papa "donar-me les eines necessàries" per arribar fins aquí.

A l'Alfons per ser l'amor de la meva vida i el meu millor amic, per entendre totes les hores que dedico al meu treball i per ajudar-me en els moments difícils.

Moltes gràcies a tots!



## ÍNDIX

1. RESUM DEL PROJECTE .....	17
2. INTRODUCCIÓ .....	25
2.1. Epidemiologia del càncer colorectal .....	27
2.2. Història natural del càncer colorectal. Pòlips colorectals .....	28
2.3. Prevenció del càncer colorectal.....	31
2.3.1. Prevenció primària del càncer colorectal.....	31
2.3.2. Prevenció secundària o cribratge del càncer colorectal .....	36
2.3.2.1. Programes poblacionals de cribratge de càncer colorectal.....	37
2.3.2.2. Proves utilitzades en el cribratge del càncer colorectal .....	40
2.3.2.3. Altres proves de cribratge en el càncer colorectal .....	45
2.3.2.4. Beneficis i riscos del programa de cribratge de càncer colorectal ...	47
2.3.2.5. Models de risc per la detecció precoç de càncer colorectal .....	56
3. HIPÒTESIS I OBJECTIUS .....	59
4. METODOLOGIA .....	63
4.1. Programa poblacional de detecció precoç de càncer colorectal - ICO ...	65
4.2. Estudi MCC-Spain .....	69
5. RESULTATS .....	71
ARTICLE 1: Prescription drugs associated with false-positive results when using faecal immunochemical tests for colorectal cancer screening .....	73
ARTICLE 2: False-negative rate cannot be reduced by lowering the haemoglobin concentration cut-off in colorectal cancer screening using faecal immunochemical test.....	81

ARTICLE 3: Risk model for colorectal cancer in Spanish population using environmental and genetic factors: results from the MCC-Spain study .....	87
6. DISCUSSIÓ CONJUNTA D'ARTICLES .....	101
7. CONCLUSIONS .....	117
8. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES .....	121
9. ANNEXOS .....	131
ANNEX 1: Material suplementari article 1 .....	133
ANNEX 2: Material suplementari article 3 .....	139
ANNEX 3: Procés editorial i correspondència dels articles .....	149
ANNEX 4: Comunicacions a congressos .....	173

## **ABREVIATURES**

ADN: àcid desoxiribonucleic

AINEs: antiinflamatoris no esteroïdals

ARN: àcid ribonucleic

CCR: càncer colorectal

GWAS: estudis d'associació de genoma complet

IBP: inhibidors de la bomba de protons

ICO: Institut Català d'Oncologia

IMC: índex de massa corporal

MCC-Spain: estudi multicas-control de base poblacional espanyola

PDSOF: prova de detecció de sang oculta en femta

PDSOFg: prova de detecció de sang oculta en femta basada en guaiac

PDSOFi: prova de detecció de sang oculta en femta immunològica

SNPs: polimorfismes comuns de nucleòtid únic

SRG: puntuació (score) de risc genètic



## **AJUDA PERSONAL REBUDA**

El període de formació del doctorand ha estat realitzat amb el suport de la següent ajuda personal a la investigació:

- Ajut per **iniciació a la recerca**, convocatòria 2016, per part de la Fundació Privada: Acadèmia de Ciències Mèdiques de Catalunya i Balears- Societat Catalana de Digestologia.





## 1. RESUM DEL PROYECTE

---



## **Resum**

---

**Introducció:** La prova de detecció de sang oculta en femta és la prova de cribratge de càncer colorectal (CCR) més implementada a Europa. Tot i que aquesta ha demostrat reduir la mortalitat per CCR, encara dista de ser una prova perfecta donat el seu risc de resultats falsos positius i falsos negatius. Els efectes adversos del cribratge podrien reduir-se si coneguéssim els determinants associats a resultats falsos positius i negatius. A més, la identificació de polimorfismes genètics, en combinació amb altres biomarcadors moleculars i factors ambientals podria permetre personalitzar el cribratge poblacional.

**Objectius:** 1) Identificar els factors associats a un resultat fals positiu de la prova de detecció de sang oculta en femta immunològica (PDSOFi). 2) Determinar la proporció de resultats falsos negatius de la PDSOFi i explorar els seus determinants. 3) Elaborar un model de predicció de risc de CCR basat en població espanyola que combini la predisposició genètica juntament amb factors ambientals i antecedents familiars per estratificar la població en grups de risc de CCR.

**Metodologia:** Per respondre als primers dos objectius es van utilitzar dades del programa poblacional de cribratge de CCR que coordina l'Institut Català d'Oncologia. Es realitzaren dos estudis transversals amb participants en el cribratge que van obtenir un resultat positiu ( $n = 427$ ) o negatiu ( $n = 218$ ) en la PDSOFi i als que posteriorment se'ls va realitzar una colonoscòpia i un qüestionari. Finalment, per respondre al tercer objectiu s'aprofitaren les dades de l'estudi MCC-Spain, que és un estudi de casos i controls multicèntric que va recollir 1.336 casos de CCR i 2.744 controls. De tots ells disposàvem d'un qüestionari epidemiològic i un array d'exoma que contenia 21 polimorfismes de nucleòtid simple associats a risc de CCR. Amb aquestes dades vàrem desenvolupar un model de predicció de risc per estratificar la població en grups de risc de CCR.

**Resultats:** Estudi 1: Mitjançant l'estudi que avaluà el risc de resultats falsos positius en la PDSOFi, s'observà que les variables que van resultar ser determinants de fals positiu foren: ser dona, haver participat prèviament en el cribratge, la presència d'hemorroides i/o fissura anal, així com prendre fàrmacs inhibidors de la bomba de protons. Estudi 2: A l'avaluar el risc de resultats falsos negatius en la PDSOFi, la proporció de falsos negatius observada va ser del 15,6%. L'hemoglobina fecal va ser indetectable en un 45,5% dels resultats i va ser inferior a 4µg Hb/g en un 94,0% d'individus amb un resultat fals negatiu. Estudi 3: Vam observar que les variables (ajustades pel model basal) que es van associar de forma independent a CCR van ser: el nombre d'al·lels de risc, antecedents familiars de CCR, l'obesitat, l'activitat física, la ingesta de carn vermella i vegetals, i el no consum d'antiinflamatoris no esteroïdals. Els individus del amb més de 25 al·lels de risc tenien un 82% més de risc que els individus amb menys de 19 al·lels de risc.

**Conclusions:**

1. L'ús d'inhibidors de la bomba de protons durant la realització de la PDSOFi podria incrementar la probabilitat d'un resultat fals positiu.
2. Disminuir el llindar de positivitat de la PDSOFi no detectaria més neoplàsia avançada i augmentaria els costos i els riscos innecessaris per als pacients.
3. El model de predicció del risc de CCR basat en població espanyola que combina la predisposició genètica amb factors ambientals i antecedents familiars podria ser útil per estratificar individus de risc.

## **Resumen**

---

**Introducción:** La prueba de detección de sangre oculta en heces es la prueba de cribado de cáncer colorrectal (CCR) más implementada en Europa. Aunque ésta ha demostrado reducir la mortalidad por CCR, dista de ser una prueba perfecta dado su riesgo de resultados falsos positivos y falsos negativos. Los efectos adversos del cribado podrían reducirse si conociéramos los determinantes asociados a resultados falsos positivos y negativos. Además, la identificación de polimorfismos genéticos, en combinación con otros biomarcadores moleculares y factores ambientales podría permitir personalizar el cribado poblacional.

**Objetivos:** 1) Identificar los factores asociados a un resultado falso positivo de la prueba de detección de sangre oculta en heces inmunológica (PDSOHi). 2) Determinar la proporción de resultados falsos negativos de la PDSOHi y explorar sus determinantes. 3) Elaborar un modelo de predicción de riesgo de CCR basado en población española que combine la predisposición genética junto con factores ambientales y antecedentes familiares para estratificar la población en grupos de riesgo de CCR.

**Metodología:** Para responder a los primeros dos objetivos se utilizaron datos del programa poblacional de cribado de CCR que coordina el Instituto Catalán de Oncología. Se realizaron dos estudios transversales con participantes en el cribado que obtuvieron un resultado positivo (n = 427) o negativo (n = 218) en la PDSOHi y a quienes posteriormente se les realizó una colonoscopia y un cuestionario. Finalmente, para responder al tercer objetivo se aprovecharon los datos del estudio MCC-Spain, que es un estudio de casos y controles multicéntrico que recogió 1.336 casos de CCR y 2.744 controles. De todos ellos disponíamos de un cuestionario epidemiológico y un array de exoma que contenía 21 polimorfismos de nucleótido simple asociados a riesgo de CCR. Con estos datos pudimos desarrollar un modelo de predicción de riesgo para estratificar la población en grupos de riesgo de CCR.

**Resultados:** Estudio 1: Mediante el estudio que evaluó el riesgo de resultados falsos positivos en la PDSOHi, se observó que las variables que resultaron ser determinantes de falso positivo fueron: ser mujer, haber participado previamente en el cribado, la presencia de hemorroides y/o fisura anal, así como tomar fármacos inhibidores de la bomba de protones. Estudio 2: Al evaluar el riesgo de resultados falsos negativos en la PDSOHi, la proporción de falsos negativos observada fue del 15,6%. La hemoglobina fecal fue indetectable en un 45,5% de los resultados y fue inferior a 4µg Hb/g en un 94,0% de individuos con un resultado falso negativo. Estudio 3: Se observó que las variables (ajustadas por el modelo basal) que se asociaron de forma independiente a CCR fueron: el número de alelos de riesgo, antecedentes familiares de CCR, la obesidad, la actividad física, la ingesta de carne roja y vegetales, y el no consumo de antiinflamatorios no esteroideos. Los individuos con más de 25 alelos de riesgo tenían un 82% más de riesgo que los individuos con menos de 19 alelos de riesgo.

**Conclusiones:**

1. El uso de inhibidores de la bomba de protones durante la realización de la PDSOHi podría incrementar la probabilidad de un resultado falso positivo.
2. Disminuir el umbral de positividad de la PDSOHi no detectaría más neoplasia avanzada y aumentaría los costes y los riesgos innecesarios para los pacientes.
3. El modelo de predicción del riesgo de CCR basado en población española que combina la predisposición genética con factores ambientales y antecedentes familiares podría ser útil para estratificar individuos de riesgo.

## **Abstract**

---

**Introduction:** In Europe, the most commonly implemented test to screen colorectal cancer (CCR) is the faecal occult blood test. Although it has shown to reduce CRC mortality, it is far from perfect because of its false positive and false negative results. The adverse effects of screening could be reduced if we knew the determinants associated with false positive and negative results. In addition, the identification of genetic polymorphisms in combination with other molecular biomarkers and environmental factors could allow personalizing population screening.

**Objectives:** 1) To identify the factors associated with a false positive result of the faecal immunochemical test (FIT). 2) To determine the false negative proportion in and to explore its determinants. 3) To develop a risk stratification model that combined environmental factors with family history and genetic susceptibility to stratify the population in risk groups of CRC.

**Methodology:** In order to respond to the first two objectives, the population of the CRC screening program coordinated by the Catalan Institute of Oncology was used. Two cross-sectional studies were performed with screening participants who had a positive (n = 427) or negative (n = 218) FIT result and who subsequently underwent a colonoscopy and a questionnaire. Finally, in order to respond to the third objective, data from the MCC-Spain study was used. This multicentre case-control study recollected an epidemiological questionnaire and an exoma array containing 21 simple nucleotide polymorphisms associated with CRC risk of 1,336 cases of CRC and 2,744 controls. With these data we developed a risk stratification model to stratify the population in groups at risk of CRC.

**Results:** Study 1: While evaluating factors associated with false-positive results in a CRC screening, the variables associated with a false-positive result were: women, successive screening, haemorrhoids and/or anal fissure and the use of proton pump inhibitors. Study 2: When analysing the risk of false negative results in the FIT, the false negative rate observed was 15.6%. Faecal



haemoglobin was undetected in 45.5% and it was below 4 µg Hb/g in 94.0% of the individuals with a FN result. Study 3: The variables (adjusted by the baseline model) that were independently associated with CRC were: the number of risk alleles, family history of CRC, alcohol consumption, obesity, physical activity, red meat and vegetable intake, and nonsteroidal anti-inflammatory drug use. The risk of subjects with more than 25 risk alleles was 82% higher than subjects with less than 19 alleles.

**Conclusions:**

1. Concurrent use of proton pump inhibitors at the time of FIT might increase the likelihood of a false-positive result.
2. Decreasing the positivity threshold of FIT does not increase the detection rate of advanced neoplasia, but may increase the costs and potential adverse effects.
3. A Spanish population-based CRC risk prediction model that combines genetic predisposition with environmental factors and family history may be useful for stratifying at-risk individuals.

## 2. INTRODUCCIÓ

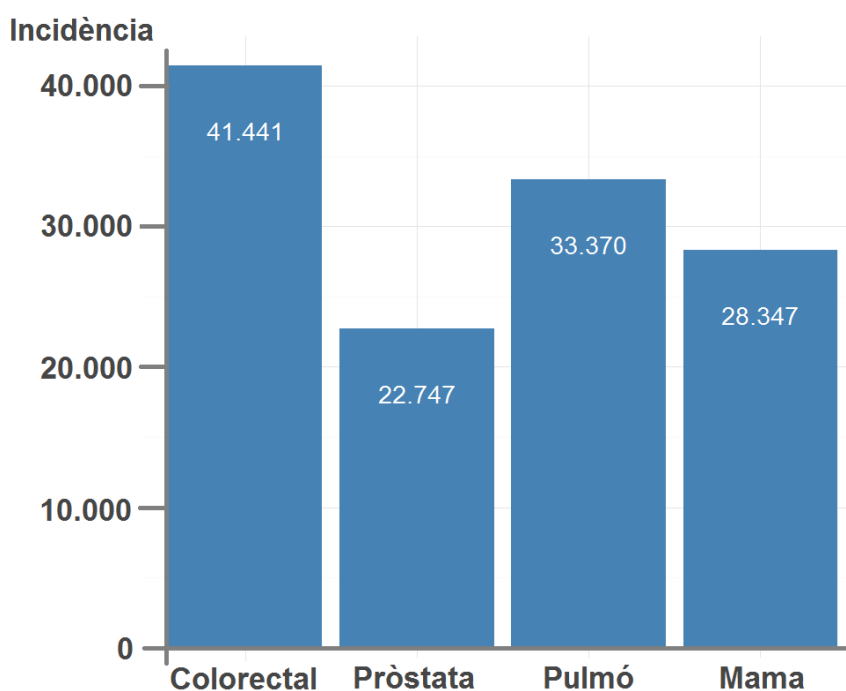
---



## 2.1. Epidemiologia del càncer colorectal

El càncer colorectal (CCR) és una de les neoplàsies més freqüents en els països occidentals. A Espanya, és la segona causa de mort per càncer en homes, després del càncer de pulmó, i la segona en dones, després del càncer de mama.<sup>1, 2</sup> Tal i com mostra la Figura 1, considerant ambdós sexes, el CCR és el tumor amb més incidència, amb 41.441 nous casos estimats a l'any 2015 (24.764 homes i 16.677 dones).<sup>1</sup> A més, es preveu que en el nostre país, com a d'altres països de l'Europa de l'est, augmentarà la incidència i mortalitat en els pròxims anys.<sup>3</sup>

Figura 1. Incidència estimada dels tumors més freqüents a Espanya al 2015 (ambdós sexes)



Font: Galceran et al, 2016.

Des d'un punt de vista epidemiològic, la major proporció de CCR correspon a formes esporàdiques, que esdevenen habitualment en individus de risc mig (homes i dones majors de 50 anys, sense antecedents personals ni familiars d'aquesta neoplàsia). En un percentatge limitat (3-5%), el CCR es desenvolupa en el context de formes hereditàries (poliposi colorectal i síndrome de Lynch)

on la causa genètica està ben establerta i, només un percentatge molt limitat (<1%) són en context d'una malaltia inflamatòria intestinal de llarga evolució. Finalment, en un 25-30% de pacients existeixen antecedents familiars de CCR, encara que sense arribar a complir els criteris diagnòstics de les formes hereditàries, el denominat CCR familiar.<sup>4</sup>

## **2.2. Història natural del càncer colorectal. Pòlips colorectals**

La clàssica seqüència adenoma-carcinoma descriu l'acumulació d'una sèrie de mutacions genètiques que permet la progressió a adenoma avançat i a càncer invasiu.<sup>5</sup> Durant els darrers 30 anys, aquest model s'ha utilitzat com a marc essencial per entendre la patogènia del CCR. Més recentment, gràcies a la caracterització molecular i fenotípica s'ha demostrat heterogeneïtat patogènica i vies alternatives de carcinogènesi. És important destacar que aquestes vies alternatives al model adenoma-carcinoma convencional representen el 15%-30% dels casos de CCR. Així, diverses línies d'evidència suggereixen que alguns subtipus de pòlips serrats són lesions precursors per a càncers d'origen no adenomatós, la denominada "via serrada".<sup>6</sup>

La gran majoria dels CCR es desenvolupen a partir d'un pòlip però en canvi, només un petit nombre de pòlips (5-10%) esdevenen càncers.<sup>7</sup> Els pòlips corresponen a tota aquella lesió que protueix des de la paret cap a la llum intestinal. Segons la classificació de Paris, els pòlips del còlon els dividim en funció de la base de sustentació es divideixen en polipoides i no polipoides.<sup>8</sup> Segons les seves característiques histopatològiques es divideixen en 3 grups; els pòlips adenomatosos que representen el grup més freqüent (70%), els pòlips serrats (10-25%) i un grup heterogeni (10-20%) format per pòlips

inflamatoris i hamartomatosos (veure Taula 1). En funció del grau de displàsia es divideixen en displàsia d'alt i baix grau. La presència d'adenomes avançats (definites com tenir un adenoma  $\geq 1$  cm i/o presència d'histologia vellosa i/o presència de displàsia d'alt grau) i la presència de múltiples adenomes són els factors que contribueixen a un major risc de desenvolupar CCR.<sup>9-11</sup> En els casos de displàsia d'alt grau, denominat també carcinoma "in situ", les cèl·lules neoplàsiques estan confinades a la mucosa i, per tant, el risc de disseminació es nul, a diferència del càncer invasiu on ja hi ha àrees d'invasió de la capa muscular de la mucosa de la paret intestinal. Així, parlem de CCR quan les cèl·lules neoplàsiques han sobrepassat la muscularis mucosa i infiltrin la capa submucosa de la paret intestinal.

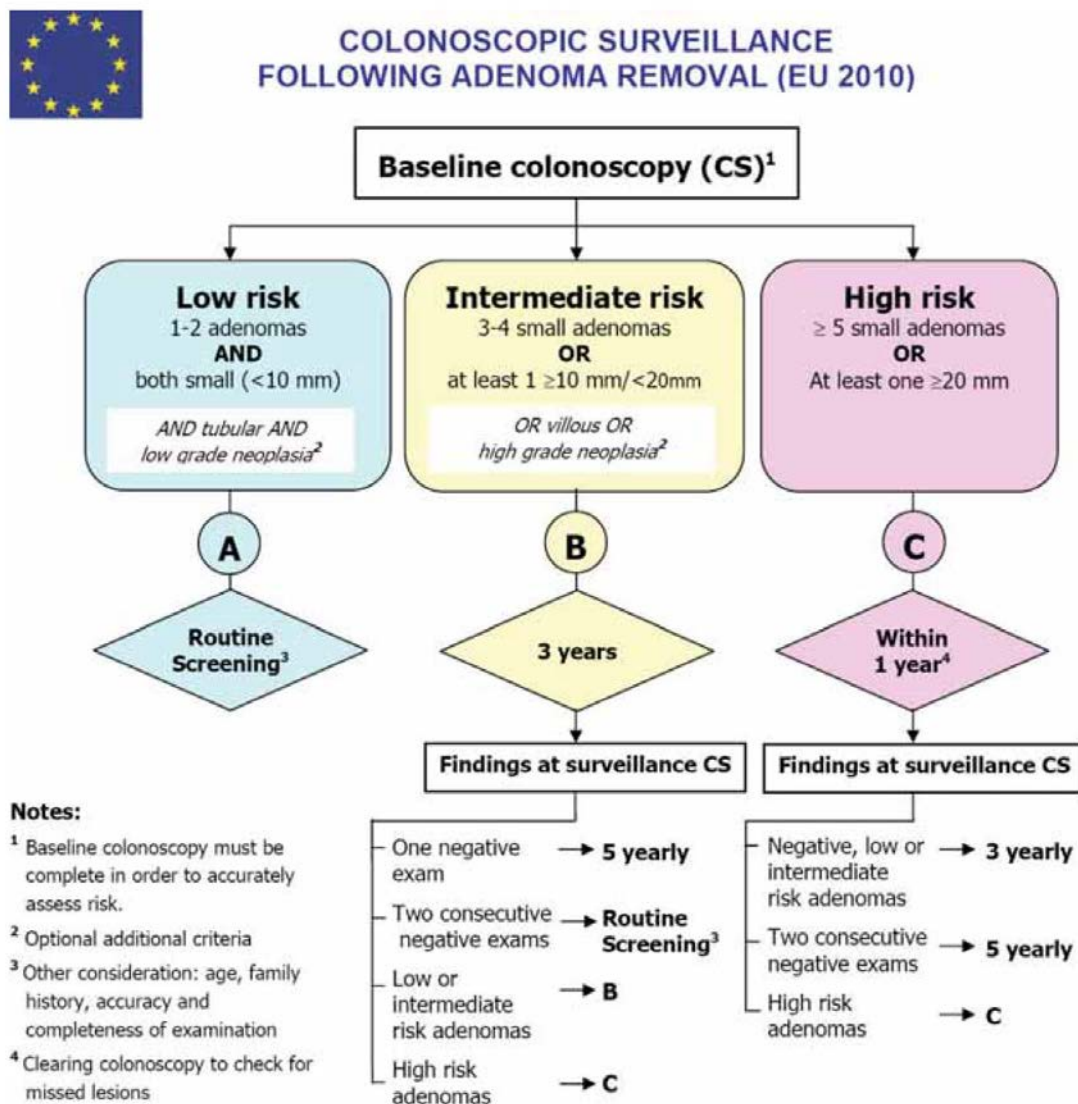
Taula 1. Tipus de pòlips colorectals

Tipus de pòlips colorectals
<b>Pòlips neoplàsics</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Adenomes <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Tubulars</li> <li>○ Tubulovelloso</li> <li>○ Velloso</li> </ul> </li> <li>• Pòlips serrats amb displàsia <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Pòlip o adenoma serrat sèssil amb displàsia</li> <li>○ Adenoma serrat tradicional</li> </ul> </li> </ul>
<b>Pòlips no neoplàsics</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pòlips serrats sense displàsia: pòlips hiperplàstics, pòlip/adenoma serrat sèssil sense displàsia</li> <li>• Pòlips inflamatoris</li> <li>• Pòlips hamartomatosos</li> </ul>

Les mesures de vigilància dels pòlips colorectals després de la seva resecció varien en funció del nombre, mida i histologia dels pòlips ressecats en un pacient. L'algoritme de vigilància més utilitzat al nostre entorn és el proposat per la Guia Europea de qualitat dels programes de cribratge i diagnòstic de CCR (Figura 2).<sup>12</sup>

En general, en el cas de pacients amb un o dos adenomes tubulars amb displàsia de baix grau i menors a 10mm es recomana retornar al programa de cribratge. La colonoscòpia de control als 3 anys es recomana per aquells pacients amb lesions de risc intermedi (tenir tres o quatre adenomes; o un adenoma de 10-19mm; o component vellós; o displàsia d'alt grau). I, als pacients amb cinc o més adenomes menors a 10mm o amb un adenoma major o igual a 20mm es recomana colonoscòpia en un any.

Figura 2. Classificació dels resultats de la colonoscòpia i recomanacions de seguiment



Font: von Karsa et al., 2013.

### **2.3. Prevenció del càncer colorectal**

Tot i que el CCR suposa la segona causa de mort per càncer, és un dels tumors amb més possibilitats de prevenció. Per a això, cal intensificar els esforços en els diferents nivells d'actuació (prevenció primària, secundària, terciària). La prevenció primària té com a objectiu evitar l'aparició del CCR a la població general mitjançant la modificació d'hàbits dietètics i el seguiment d'estils de vida saludables. La prevenció secundària o cribratge té com a objectiu detectar el càncer o els pòlips en una fase precoç, abans que apareguin símptomes, en pacients identificats amb una major probabilitat de CCR. La prevenció terciària fa referència a tots els procediments o tractaments que es realitzen en els pacients amb la malaltia per tal d'evitar les complicacions clíniques i les recaigudes.

#### **2.3.1. Prevenció primària del càncer colorectal**

La dieta i els estils de vida juguen un paper important en la carcinogènesi del CCR (Taula 2). En els darrers anys, estudis epidemiològics i experimentals han associat la ingesta d'alguns aliments i nutrients amb el risc de CCR.<sup>13, 14</sup> Així, els vegetals<sup>15</sup> i la fruita<sup>15</sup> són els aliments amb major evidència de disminuir el risc d'aquest càncer. En canvi, el consum de carn vermella i processada<sup>16</sup> està associat a un augment de risc de CCR. A més, hi ha evidència substancial que el calci<sup>17</sup> podria tenir un potencial efecte quimiopreventiu. Pel que fa a altres suplementes (la vitamina A, la vitamina C, la vitamina D, la vitamina E i l'àcid fòlic), ara per ara els estudis mostren una associació inconsistent amb el CCR.<sup>17</sup>



No obstant, en realitat les persones no prenem nutrients de forma separada sinó que consumim menjars que combinen aliments i nutrients. Per això, els patrons de dieta també s'han analitzat i s'ha vist que la dieta occidental ("western") és la que podria augmentar el risc de CCR mentre que la dieta mediterrània resultaria protectora.<sup>18</sup>

En la carcinogènesi del CCR s'ha vist que no només és important la dieta sinó també l'estil de vida. S'ha demostrat que tenir un pes saludable,<sup>19</sup> una elevada activitat física,<sup>20</sup> no fumar<sup>21</sup> i tenir un consum d'alcohol limitat<sup>22</sup> s'associen amb una menor incidència de CCR. Així, també s'ha evidenciat una possible associació amb la síndrome metabòlica, síndrome en augment en països occidentals, a través del probable estrès oxidatiu i l'estat d'insulinorresistència que aquesta comporta.<sup>23, 24</sup> De fet, és la combinació d'un estil de vida i dieta no saludable el que explicaria part de l'augment d'incidència de CCR a Europa.<sup>3, 25</sup> Totes aquestes evidències han quedat reflectides en el darrer informe del World Cancer Research Fund i al Codi Europeu Contra el Càncer on es fa èmfasi de la importància de consumir cereals integrals, llegums, fruites i verdures i evitar la carn processada i limitar el consum de carn vermella.<sup>26</sup> L'adherència a aquestes recomanacions podrien reduir un 25% el risc de CCR.<sup>27</sup>

La quimioprevenió es defineix com la utilització d'un component químic específic per prevenir, inhibir o revertir la carcinogènesi abans del seu desenvolupament clínic. Aquesta intervenció pot ser iniciada abans del desenvolupament de lesions precursors o durant l'acumulació d'alteracions moleculars, cel·lulars i histopatològiques prèvies al desenvolupament d'una malaltia invasiva. En relació a fàrmacs, no hi ha cap agent quimiopreventiu

segur i efectiu per reduir la incidència de pòlips i/o CCR. Des de ja fa dècades, l'acumulació d'evidències a partir d'estudis observacionals i assaigs aleatoris<sup>28-32</sup> suggereix que l'aspirina i altres fàrmacs antiinflamatoris no esteroïdals (AINE) protegeixen contra el desenvolupament d'adenomes del còlon i el CCR i redueixen la recurrència de la malaltia.<sup>30, 31, 33, 34</sup> Tot i així, la United States Preventive Services Task Force<sup>35</sup> recentment només recomana l'ús d'àcid acetilsalicílic per reduir el CCR en adults d'entre 50 a 69 anys amb elevat risc cardiovascular. No es recomana l'ús d'aquest principi actiu de forma generalitzada a individus més joves o sense malaltia cardiovascular donat el risc d'hemorràgia digestiva o intracerebral. Altres fàrmacs com les estatines<sup>36</sup> i altres suplementes (esmentats ja en l'apartat de dieta) han estat estudiats però sense prou seguretat i/o evidència per ser utilitzat com agents quimiopreventius en la població general.

Taula 2. Riscs relatius de cada factor respecte el risc de càncer colorectal

Variable	Nivell	RR (IC 95%)
<b>Vegetals</b>	Ingesta més alta versus ingesta més baixa ( $\geq 284,5$ vs. $\leq 95,1$ g/dia)	0,91 (0,86-0,96) <sup>15</sup>
<b>Fruita</b>	Ingesta més alta versus ingesta més baixa ( $\geq 342,7$ vs. $\leq 92,8$ g/dia)	0,90 (0,83-0,98) <sup>15</sup>
<b>Carn vermella</b>	Ingesta més alta versus ingesta més baixa ( $>45$ vs. 0-22g/dia)	1,11 (1,01-1,22) <sup>16</sup>
<b>Calci</b>	Ingesta més alta versus ingesta més baixa (0 vs. $\geq 200$ mg/dia)	0,80 (0,70-0,92) <sup>17</sup>
<b>Vitamina D</b>	Ús versus no ús (0 vs. $>0-400$ UI/dia)	0,92 (0,78-1,09) <sup>17</sup>
<b>Pes</b>	IMC $\geq 30$ kg/m <sup>2</sup> versus IMC $< 25$ kg/m <sup>2</sup> Circumferència abdominal augmentada (Homes $\geq 102$ cm; dones $\geq 88$ cm) versus normal	1,33 (1,25-1,42) <sup>19</sup> 1,46 (1,33-1,60) <sup>19</sup>
<b>Activitat física</b>	Quartils d'activitat física en el temps lliure	0,81 (0,75-0,88) <sup>20</sup>
<b>Tabac</b>	5 versus 0 paquets/any 30 versus 0 paquets/any	1,06 (1,03-1,08) <sup>14</sup> 1,26 (1,17-1,36) <sup>14</sup>
<b>Alcohol</b>	$\geq 50$ g/dia versus 0g/dia	1,52 (1,27-1,81) <sup>22</sup>
<b>Síndrome metabòlica</b>	Tenir síndrome metabòlic versus no tenir-ne	1,33 (1,18-1,50) <sup>23</sup>
<b>Antecedents familiars</b>	Tenir un antecedent familiar de primer grau versus no tenir cap antecedent	1,88 (1,72-1,93) <sup>4</sup>
<b>Àcid acetilsalicílic</b>	Ús regular versus placebo a assaigs clínics aleatoritzats	0,58 (0,44-0,78) <sup>37</sup>
<b>Antiinflamatoris no esteroïdals</b>	Antiinflamatoris no esteroïdals versus placebo en la recurrència d'adenoma a l'any a assaigs clínics aleatoritzats	0,68 (0,63-0,73) <sup>32</sup>
<b>Estatines</b>	Estatines versus placebo a assaigs clínics aleatoritzats	0,89 (0,74-1,07) <sup>36</sup>

IMC: índex de massa corporal

La World Cancer Research Fund global network (<http://www.wcrf.org>) en el seu darrer informe ha reportat que disminuiria un 47% la incidència de CCR aproximadament al Regne Unit si es mengés millor, es begués amb moderació, es realitzés activitat física i es mantingués un pes saludable (Taula 3).

Taula 3. Possibilitat de prevenció amb canvis d'estils de vida i cribratge en el CCR en països desenvolupats.

	<b>Càncers previnguts per 100.000 habitants<sup>a</sup></b>	<b>Estimació del càncer previngut (%)</b>
<b>Canvi estils de vida<sup>b</sup></b>	1.530	45
<b>Cribratge</b>	867	26
<b>Canvis estils de vida i cribratge</b>	2.007	59

<sup>a</sup>Incidència acumulada (0-74 anys) en països amb ingressos elevats és de 3.400 per 100.000 habitants (Globocan 2012)

<sup>b</sup>Estimacions de càncer previngut seguint una apropiada dieta, nutrició, activitat física i aconseguint pes saludable.

Font: <http://www.wcrf.org>

Malgrat que molts estudis afirmen que la modificació de l'estil de vida provocaria una gran reducció del càncer, estudis aleatoritzats no han demostrat que canvis en la dieta influeixin en la recurrència d'adenomes.<sup>38-40</sup> De fet, s'ha vist que tot i la recomanació general de la importància de millorar els estils de vida, la prevalença dels factors de risc associats a CCR no ha disminuït a la població occidental, ni als supervivents d'un CCR.<sup>41-43</sup>

En algunes poblacions de menor nivell sociocultural, això es podria atribuir a desconeixement però en la major part dels casos es produeix perquè implica canvis profunds de comportament, i no només això sinó que posteriorment s'ha de mantenir l'hàbit saludable. Per aquesta raó, a la nostra població l'aplicació d'un cribratge de qualitat és la forma més efectiva de disminuir el risc de CCR.

### 2.3.2. Prevenció secundària o cribratge del càncer colorectal

El cribratge és la recerca sistemàtica, mitjançant una prova o exploració, d'una malaltia en fase precoç o de lesions precursors a aquesta, en una població asimptomàtica.

Wilson i Junger<sup>44</sup> van definir els principis necessaris per implantar un programa de cribratge i, posteriorment, la Organització Mundial de la Salut al 2008 va presentar una revisió de criteris adaptats als avenços tecnològics.<sup>45</sup> Aquests principis modificats es mostren a la Taula 4.

Taula 4: Principis d'un programa de cribratge segons l'Organització Mundial de la Salut

- El programa de cribratge ha de respondre a una necessitat reconeguda.
- Els objectius de detecció han de ser definits des del principi.
- Hi ha d'haver una població definida.
- Hi ha d'haver evidència científica de l'eficàcia del programa de cribratge.
- El programa ha d'integrar l'educació, les proves, els serveis clínics i de gestió dels programes.
- Ha d'haver garantia de qualitat, amb mecanismes per minimitzar els riscos potencials del cribratge.
- El programa ha d'assegurar l'elecció informada, la confidencialitat i el respecte per l'autonomia.
- El programa ha de promoure l'equitat i l'accés a la detecció de tota la població diana.
- L'avaluació del programa s'ha de planificar des del principi.
- Els beneficis generals de cribratge han de compensar el danys.

Font: Andermann et al., 2008

El CCR és una entitat susceptible de cribratge, atès que constitueix un problema de salut important per la seva elevada incidència i morbimortalitat

associada, es coneix la seva història natural, es disposa de mètodes diagnòstics que permeten detectar la malaltia en fases inicials i el seu tractament és més efectiu quan es diagnostica en un estadi precoç. A més, el cribratge de CCR ha demostrat ser més cost-efectiu que el cribratge de càncer de mama i el de cèrvix.<sup>46</sup>

L'objectiu d'aquest cribratge és reduir la mortalitat per CCR. A més, a diferència d'altres cribratges, donat que en alguns casos es pot detectar la lesió preneoplàstica i actuar sobre ella, en el cribratge de CCR pot disminuir-se la incidència encara que d'una forma limitada.

#### **2.3.2.1. Programes poblacionals de cribratge de càncer colorectal**

Des del punt de vista organitzatiu, el cribratge del càncer es pot oferir a la població com un programa organitzat (dirigit al conjunt de la població) o com a cribratge oportunista (realitzat a una persona quan es presenta en un servei sanitari) (Taula 5). L'evidència disponible indica que els programes organitzats permeten aconseguir una cobertura més àmplia i equitat en el seu accés.<sup>47</sup>

Taula 5. Diferències entre cribratge organitzat i cribratge oportunista

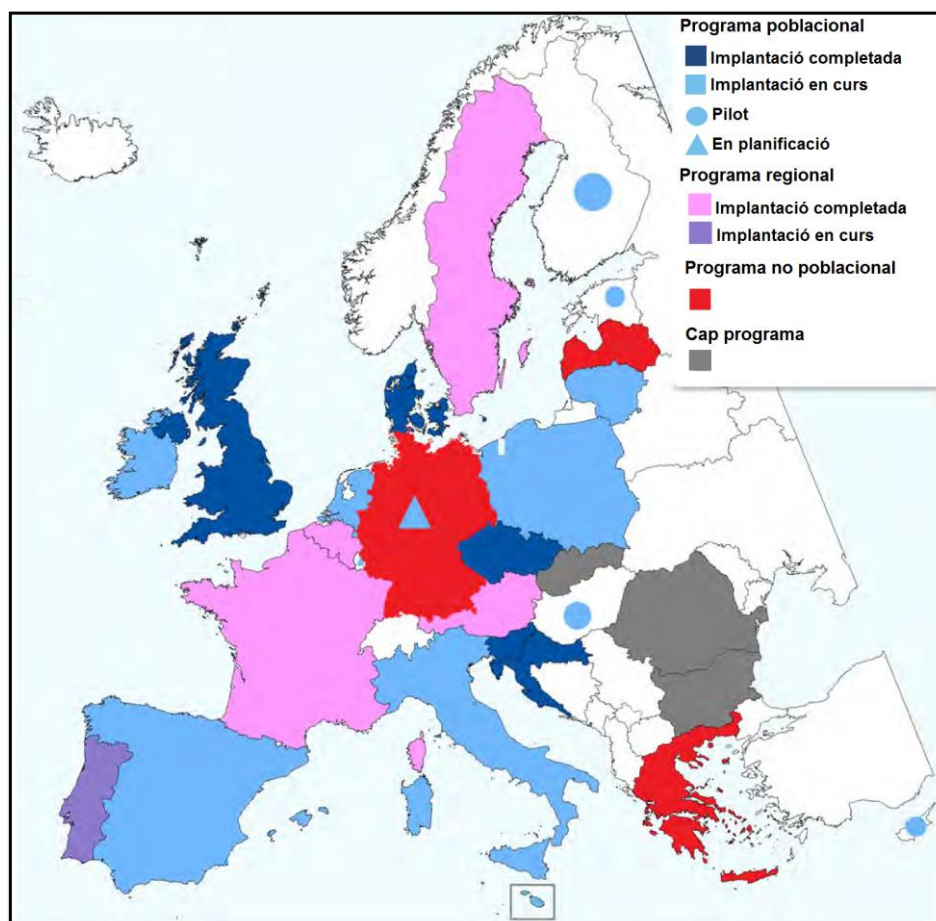
Aspecte del cribratge	Cribratge organitzat	Cribratge oportunista
<b>Mètode de cribratge (Ex: PDSOF, colonoscòpia, etc.)</b>	Fixat i escollit pel govern	Variable: escollit per l'individu o el proveïdor
<b>Població diana</b>	Conjunt de la població amb una edat específica (equitat)	Variable: per recomanació mèdica o sol·licitud de l'individu
<b>Estratègia d'invitació</b>	Activa: qualsevol persona dins la població diana	Passiva: no hi ha estratègia consistent
<b>Objectiu</b>	Reduir la mortalitat +/- incidència a nivell poblacional	Reduir la mortalitat +/- incidència a nivell individual
<b>Sensibilitat de la prova</b>	No es busca la prova més sensible per usar-la a nivell poblacional.	S'usa la prova amb més sensibilitat.
<b>Especificitat de la prova</b>	Important l'elevada especificitat per evitar el cost de falsos positius i efectes adversos	Menys important
<b>Interval de cribratge</b>	Fixat per maximitzar el benefici poblacional a un cost raonable	Variable. Normalment més freqüent per maximitzar la protecció de l'individu
<b>Recursos sanitaris disponibles</b>	Limitats a la població segons política de salut	Limitat a nivell individual. Sobretot depèn dels ingressos i assegurances privades.
<b>Valoració de la tecnologia sanitària</b>	Ha demostrat ser millor el benefici que el risc	No és necessari que es demostrï eficàcia
<b>Garantia de qualitat</b>	Els objectius establerts s'han d'aconseguir i monitoritzar	Els objectius s'estableixen però pot ser que es monitoritzin o no
<b>Percentatge de participació</b>	Especificada, monitoritzada i una baixa participació resultarà en un esforç organitzatiu per millorar-ho	Pot o no ser especificada, monitoritzada. Poca oportunitat per una millora a nivell poblacional
<b>Avaluació i monitorització</b>	Cobertura Resultats Qualitat	Difícil d'avaluar i monitoritzar
<b>Relació amb el risc de càncer</b>	No necessàriament les persones d'alt risc, però sí el grup d'edat que rebrà més benefici del cribratge	No necessàriament les persones d'alt risc, pot portar al cribratge excessiu de persones de baix risc i al no cribratge de persones d'alt risc
<b>Beneficis</b>	Maximitzats per la població dins dels possibles recursos	Maximitzats per l'individu
<b>Riscos</b>	Minimitzats per la població dins dels possibles recursos	No necessàriament minimitzats

PDSOFi: prova de detecció de sang oculta en femta immunològica.

La Unió Europea fomenta la implementació de cribratge organitzat versus oportunista i proposa indicadors<sup>48</sup> clau de rendiment per a l'assegurament de la qualitat, i per a monitoritzar i comparar els resultats dels programes de

cribratge. Actualment, 20 dels 28 estats de la Unió Europea estan iniciant o implementant un programa organitzat de cribratge de CCR (Figura 3).<sup>49</sup>

Figura 3. Distribució dels programes de cribratge de CCR a la Unió Europea



Font: Ponti et al, 2017.

Els requisits per a un cribratge de càncer organitzat segons la International Agency for Research on Cancer són: a) llei o una notificació oficial que especifica la població objectiu, proves de detecció i intervals de cribratge; b) el finançament públic; c) planificació ben definida per convidar els homes i les dones elegibles; d) un equip de gestió responsable de l'execució del programa; e) una estructura robusta per assegurar la garantia de qualitat.<sup>49</sup> A més, per fer un correcte seguiment dels resultats del cribratge cal seguir uns indicadors ja establerts. Atès que els programes de cribratge conviden a persones sanes, sense símptomes, és fonamental aconseguir un efectiu control de qualitat per



garantir que els beneficis del cribratge (major supervivència i qualitat de vida) superin els danys (resultats falsos negatius i falsos positius, les complicacions relacionades). A aquest efecte, els programes de detecció tenen la responsabilitat de garantir que la qualitat s'ha optimitzat en tots els sentits: alta qualitat, procediment segur i una experiència satisfactòria. A més, aconseguir una implementació amb èxit d'un programa de cribratge requereix una acceptació social acompanyat del seguiment de les millors evidències i la verificació d'una adequada actuació en cada fase de la implementació del cribratge.<sup>50</sup>

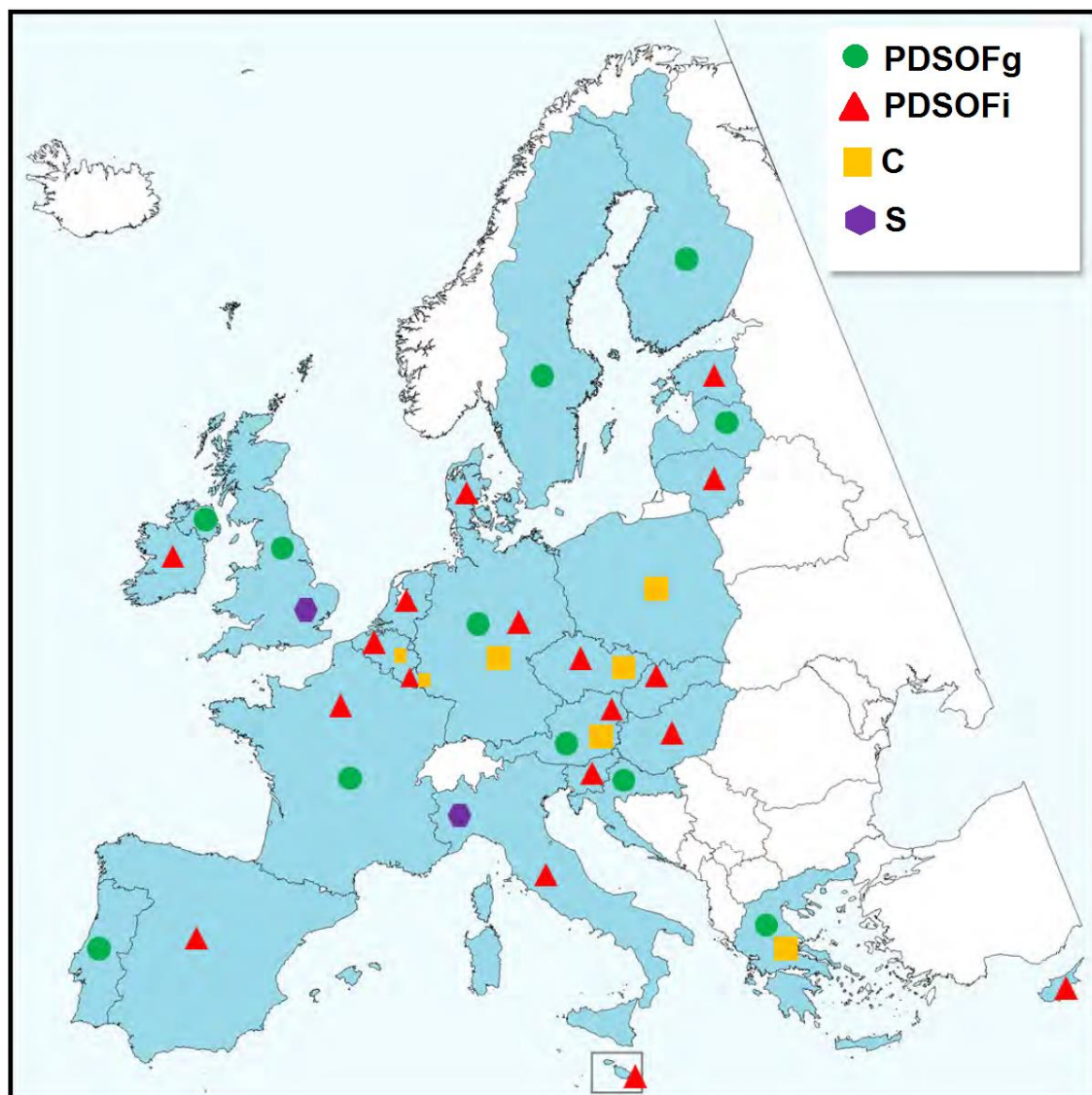
### **2.3.2.2. Proves utilitzades en el cribratge del càncer colorectal**

En la valoració del risc individual de CCR s'ha de considerar l'edat i els antecedents personals i familiars d'adenomes colorectals i CCR. En absència d'antecedents personals o familiars, l'edat és el factor més important identificat per risc de càncer. Per això, actualment l'estratègia de cribratge poblacional es basa en l'edat (dels 50 als 69 anys) per la seva implantació. No s'ha definit quina és la "millor" estratègia pel cribratge de CCR però les guies posen de manifest la necessitat de realitzar el cribratge, independentment de l'estratègia utilitzada, donat que el màxim benefici obtingut en la reducció de mortalitat prové precisament del fet de participar, més que de l'estratègia utilitzada amb aquest fi.<sup>49, 51, 52</sup> Les estratègies més emprades en el cribratge poblacional inclouen una prova de detecció de sang oculta en femta (PDSOF), la sigmoidoscòpia (en combinació o no amb una PDSOF) i la colonoscòpia.

A Europa la majoria de programes realitzen cribratge entre els 50 i 74 anys, cada 2 anys si el cribratge és amb una PDSOF, o cada 10 i 5-10 anys si es realitza amb colonoscòpia o sigmoidoscòpia, respectivament (veure Figura 4).

Actualment a Espanya, es realitza cribratge a homes i dones d'entre 50 i 69 anys sense antecedents personals ni familiars de CCR i es realitza amb la PDSOFi amb una periodicitat biennal. Catalunya, a través de l'Institut Català d'Oncologia, va ser la pionera en la implementació d'un programa de cribratge poblacional a Espanya a través d'un estudi pilot amb la ciutat de l'Hospitalet de Llobregat.

Figura 4. Proves utilitzades en el cribratge de càncer colorectal a la Unió Europea

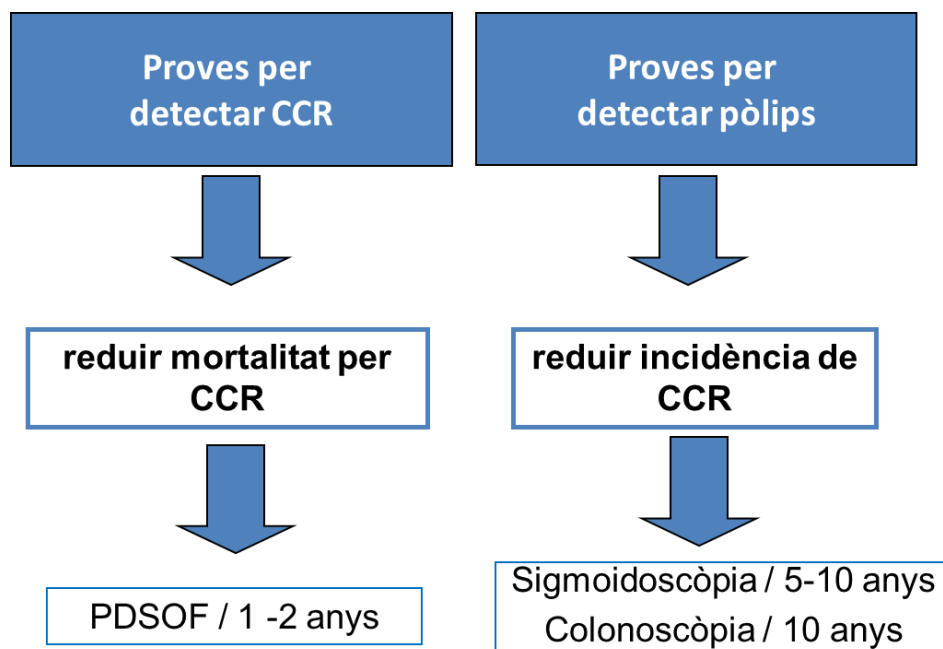


C: colonoscòpia; PDSOFi: prova de detecció de sang oculta en femta immunològica; PDSOFg: prova de detecció de sang oculta en femta basada en guaiac; S: sigmoidoscòpia.  
Font: Ponti et al, 2017.

Les proves utilitzades en el cribratge de CCR actualment a Europa són de dos tipus (Figura 5).<sup>51</sup>

- PDSOF (basada en guaiac o immunoquímica): aquestes proves són efectives en identificar CCR precoçment i, per tant, poden disminuir la mortalitat per CCR. Alguns pòlips preneoplàstics poden ser detectats, oferint la possibilitat per la polipectomia i per evitar un càncer, però aquesta oportunitat per la prevenció és limitada i no és l'objectiu primari d'aquestes proves de cribratge.<sup>53</sup>
- Proves endoscòpiques (sigmoidoscòpia o colonoscòpia): són les proves capaces de detectar CCR i lesions preneoplàstiques. Si són realitzades adequadament poden disminuir no només la mortalitat per CCR sinó també la incidència de CCR gràcies a la polipectomia de les lesions preneoplàstiques detectades.<sup>51, 54, 55</sup>

Figura 5. Tipus de proves de cribratge



CCR: càncer colorectal; PDSOF: prova de detecció de sang oculta en femta.

#### **2.3.2.2.1. Proves de detecció de sang oculta en femta**

La prova de detecció de sang oculta en femta basada en guaiac (PDSOFg) i la prova de detecció immunològica de sang oculta en femta (PDSOFi) es basen en la detecció de sang que prové de la mucosa del còlon o recte ulcerada.

Múltiples assaigs clínics aleatoritzats han demostrat una reducció de la mortalitat per CCR en un 16% amb cribratge basat en PDSOFg.<sup>56</sup> Malgrat l'absència d'assaigs clínics aleatoritzats amb la PDSOFi, dades prospectives donen suport a la seva eficàcia com una eina de cribratge.<sup>56-59</sup> A més, en comparació amb la PDSOFg, la PDSOFi té una millor sensibilitat, especificitat, adherència i, a més, és automatitzada, objectiva i no requereix d'una dieta especial abans de la seva realització.<sup>60</sup>

La PDSOFi detecta sang a la femta a través d'anticossos contra la globina humana. S'usen PDSOFi qualitatives, quantitatives, de diferents marques i amb diferents llindars de detecció d'hemoglobina. La PDSOFi més freqüentment utilitzada és OC-Sensor (Eiken Chemical Co., Japan) amb un llindar de 20µg Hb/g (100ng Hb/mL). En un context de cribratge poblacional, s'ha descrit que OC-Sensor té una sensibilitat del 79% i una especificitat del 91% per detectar un CCR<sup>61</sup> i una sensibilitat del 29% i una especificitat del 97% per detectar un adenoma avançat.<sup>62</sup>

#### **2.3.2.2.2. Proves endoscòpiques**

La sigmoidoscòpia és l'exploració endoscòpica des del recte fins a 60 cm de marge anal (angle esplènic). Assaigs clínics aleatoritzats han demostrat que el cribratge amb sigmoidoscòpia, seguits d'una colonoscòpia si es detecten pòlips preneoplàstics, disminueix la mortalitat per CCR en un 73% respecte a no fer

cribratge.<sup>54, 63</sup> Només requereix preparació amb ènemes rectals, dura poc i es pot fer sense sedació. No obstant, a Espanya aquesta tècnica no s'utilitza i, a més, el benefici d'aquesta tècnica està limitada al còlon distal (recte, sigma i còlon descendent). Tenir pòlips distals està associat amb un augment de la prevalença de neoplàsia proximal sincrònica però un 2-5% de pacients poden tenir lesions preneoplàstiques proximals aïllades.<sup>64</sup>

La colonoscòpia és la prova patró or per la detecció precoç i prevenció del CCR tant distal com proximal. Es considera la primera tècnica diagnòstica a realitzar després d'una prova de cribratge, ja sigui una PDSOF o la sigmoidoscòpia o una prova d'imatge.<sup>12, 53</sup> El problema de la colonoscòpia és el major cost i necessitat de recursos i la menor acceptabilitat<sup>65</sup> per la població donat que pot provocar més complicacions com dolor abdominal, hemorràgia i perforació; la preparació pot ser mal tolerada; i precisa sedació per evitar el malestar i dolor abdominal que pot aparèixer durant el procediment.<sup>51, 66, 67</sup>

Tot i que manquen dades d'assaigs clínics avaluant l'efecte sobre la taxa de mortalitat, aquesta prova també és adequada com una possible estratègia de cribratge en base a estudis epidemiològics que han demostrat la disminució de la mortalitat amb el cribratge amb colonoscòpia.<sup>55, 68-70</sup> Hi ha varis assaigs clínics actualment en curs per comparar una estratègia de cribratge mitjançant colonoscòpia completa amb la PDSOFi utilitzant com a objectiu primari la mortalitat per CCR.<sup>71-74</sup> Un dels 3 estudis (COLONPREV) va publicar una anàlisi intermèdia després de la primera ronda de cribratge.<sup>71</sup> En aquest estudi, els individus eren convidats a una colonoscòpia de cribratge (n=26.703) o a una PDSOFi biennal (n=26.599) utilitzant el dispositiu OC-Sensor amb un punt de tall de 15 µg Hb/g. La participació va ser més gran en el grup de la PDSOFi

(34,2% enfront de 24,6%), sense diferència en la detecció de CCR. La detecció de neoplàsia avançada va ser major en els individus aleatoritzats a colonoscòpia (1,9% enfront de 0,9%) però l'efectivitat comparativa a llarg termini està pendent de determinar.

### **2.3.2.3. Altres proves de cribratge en el càncer colorectal**

La colonoscòpia virtual o colonografia mitjançant tomografia computada (TC) és una tècnica d'imatge que permet visualitzar el còlon mitjançant una reconstrucció tridimensional. S'ha descrit una sensibilitat del 67-94% i una especificitat del 86-97% per detectar adenomes majors o iguals a 1 cm.<sup>63</sup> Tot i així, no es disposen dades que avaluin l'ús d'aquesta tècnica com a primera prova de cribratge. Tot i que podria ser una prova amb una major acceptació i adherència per part de la població, aquesta tècnica té un cost elevat, requereix d'una preparació del còlon, pot detectar troballes extraintestinals comportant la necessitat de noves proves i implica radiació corporal.

La càpsula endoscòpica és una tècnica d'imatge que consisteix en la ingesta d'una càpsula amb una càmera en cada extrem que a mesura que circula pel tub digestiu va captant imatges de la mucosa intestinal. Concretament, actualment s'està utilitzant la càpsula endoscòpica de segona generació que ha demostrat en una metaanàlisi una sensibilitat i especificitat per pòlips majors o iguals a 6 mm 84% i 64%, respectivament.<sup>75</sup> Actualment no està aprovada per la FDA per realitzar cribratge poblacional. Basant-se en aquests resultats, podria ser una alternativa adequada a la colonoscòpia en els pacients que no volen ser sotmesos a colonoscòpia o per a aquells en què no és tècnicament factible.

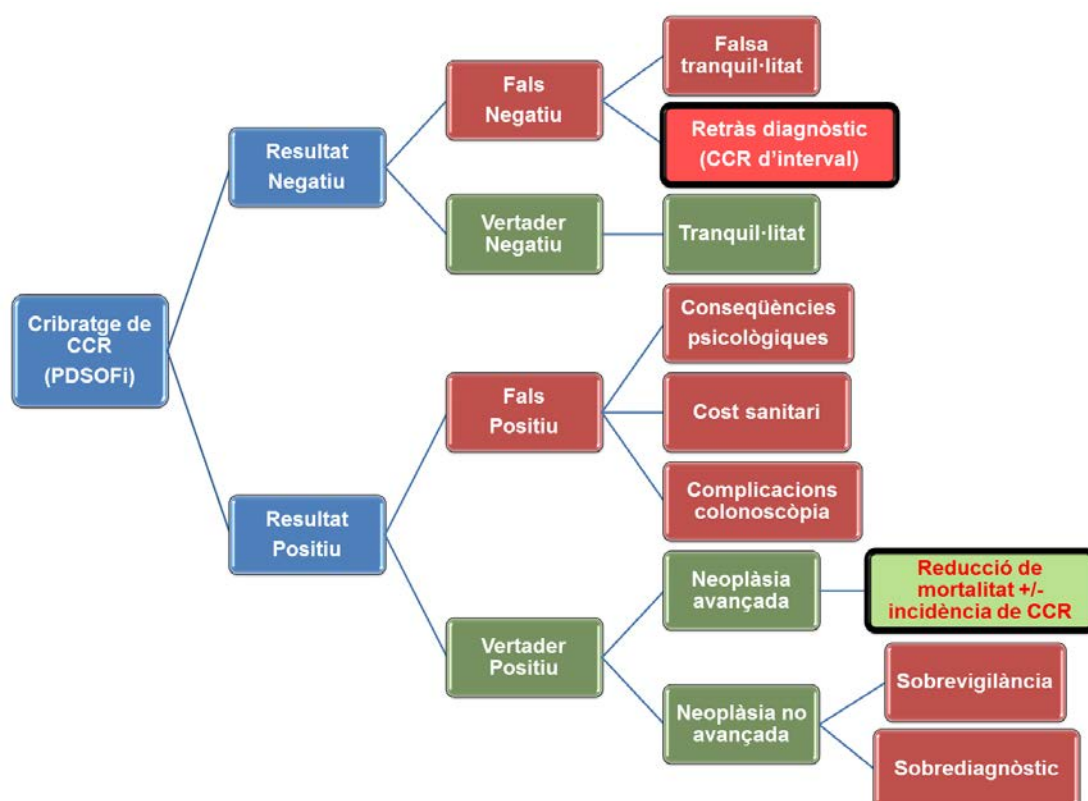
En els darrers anys, l'ús de marcadors d'ADN, ARN i proteïnes en teixits biològics per la detecció precoç del CCR ha incrementat exponencialment. La detecció en femta de marcadors moleculars de l'ADN alterat procedent de cèl·lules tumorals es basa en la capacitat d'exfoliació de les cèl·lules de la neoplàsia i de mantenir el seu ADN estable en femta. Així, es poden analitzar mutacions, inestabilitat de microsatèl·lits i canvis epigenètics en diversos gens.<sup>76</sup> No obstant, de moment només les proves de detecció d'ADN han estat sotmesos a totes les proves de desenvolupament i clíniques necessàries per valorar la seva utilitat en la pràctica clínica. Recentment, una prova de detecció de sang oculta i ADN en femta (Cologuard® Multitarget Stool DNA, Exact Sciences, Madison) ha demostrat una major sensibilitat (92%), tot i que amb una menor especificitat (87%) que la PDSOFi per la detecció de CCR precoç i adenomes avançats.<sup>77</sup> La PDSOFi anual és més efectiva que realitzar la PDSOF amb ADN cada 3 anys,<sup>78</sup> de manera que aquesta nova prova és poc probable que reemplaci la PDSOFi en programes organitzats de cribratge.

Una línia paral·lela és el descobriment de nous marcadors de la metilació de l'ADN tumoral en plasma. Entre aquests, la FDA aprovà una prova que detecta la metilació en el gen *SEPT9* en sang (Epigenomics, Seattle). Manquen estudis que avaluïn el seu impacte en la reducció de la mortalitat per CCR. En un estudi prospectiu realitzat en població de cribratge, *SEPT9* ADN va mostrar una baixa sensibilitat (48%) tot i una elevada especificitat (92%) per la detecció de CCR.<sup>79</sup> Donat que és una tècnica inferior a la PDSOFi, la United States Multi-Society Task Force no recomana el seu ús pel cribratge.

### 2.3.2.4. Beneficis i riscos del programa de cribratge de càncer colorectal

Si bé l'objectiu de la detecció precoç d'un càncer és principalment reduir la mortalitat per aquesta causa, abans de recomanar un cribratge cal tenir en compte que la seva implementació obtindrà un beneficis però també efectes adversos (Figura 6).

Figura 6. Riscos i beneficis del cribratge de CCR

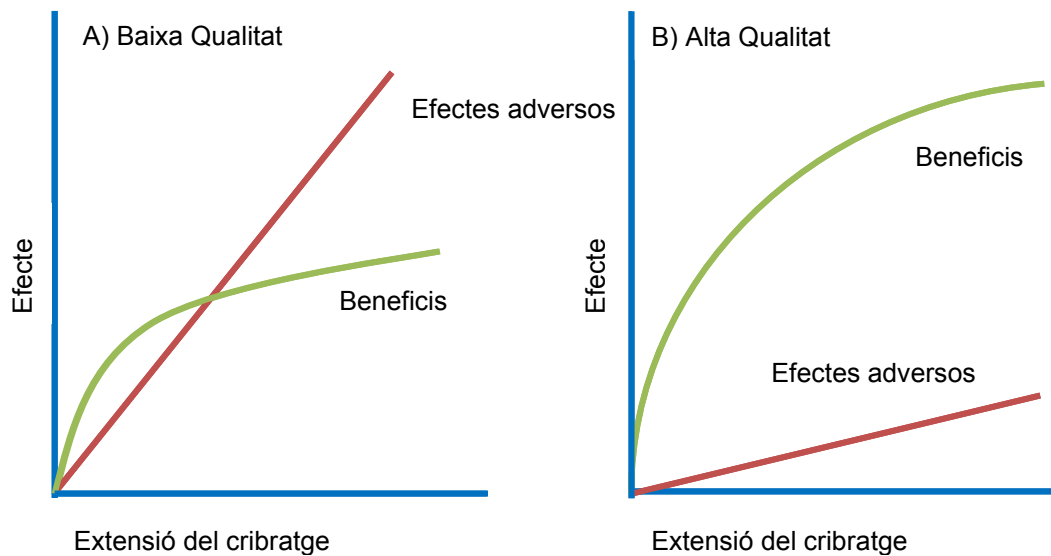


CCR: càncer colorectal; PDSOF: prova de detecció de sang oculta en femta.

La qualitat d'un programa de cribratge és molt important a l'hora de determinar la corba tant dels beneficis com dels efectes adversos i la relació entre recursos emprats i efectes adversos.<sup>80</sup> Quan la qualitat del cribratge és baixa, la relació entre benefici i risc, a qualsevol intensitat de cribratge, canvia, com mostra la Figura 7, i és possible que els efectes adversos siguin superiors al benefici del cribratge.



Figura 7. Efectes adversos i beneficis en funció de la qualitat del cribratge



Font: Gray et al, 1998.

Un cribratge s'hauria d'oferir sempre dins d'un context d'un programa organitzat amb un rigorós sistema d'avaluació del procés i dels resultats. Les activitats d'avaluació i control dels programes permeten conèixer el grau d'assoliment dels objectius del cribratge i emprendre les accions correctores que es considerin necessàries per desenvolupar una gestió adequada del programa i propiciar una utilització adequada i eficient dels recursos.

Els programes de cribratge de CCR han de garantir el compliment dels requisits de qualitat establerts per la guia Europea,<sup>12</sup> entre els quals cal destacar que les colonoscòpies siguin efectuades per professionals específicament acreditats i mitjançant procediments objecte de validació continuada per assolir el màxim grau possible de seguretat.

Com ja hem esmentat abans el cribratge té un clar benefici donat que s'ha demostrat que la detecció precoç del CCR es eficaç per reduir la mortalitat i, en alguns casos, també la incidència de CCR.

### **2.3.2.4.1. Efectes adversos**

#### **2.3.2.4.1.1. Falsos positius**

Pel que fa als riscos derivats del cribratge, l'efecte advers més freqüent és el nombre de falsos positius. La definició de fals positiu està en debat, però en general, es defineix fals positiu l'obtenir una PDSOFi positiva ( $\geq 20$   $\mu\text{g}$  Hb/g) seguida d'una colonoscòpia sense lesions de risc intermedi o alt o CCR. Segons la guia Europea<sup>12</sup> (veure Figura 2). Un fals positiu pot comportar una angoixa pel pacient,<sup>81-83</sup> un cost addicional per la sanitat pública<sup>84</sup> i la realització de colonoscòpies no indicades amb els seus potencials riscos. De fet, és la realització d'una colonoscòpia, tècnica diagnòstica realitzada posterior a una PDSOF positiva, el que comporta les complicacions més greus del cribratge, com són l'hemorràgia i la perforació. La taxa de complicacions és de 4 perforacions i 8 hemorràgies greus per 10.000 procediments.<sup>51</sup>

Reduir el nombre de falsos positius vol dir millorar la balança risc-benefici del cribratge. Ara per ara, hi ha alguns estudis que han analitzat els factors associats a un resultat fals positiu amb la PDSOFi.<sup>85-89</sup> Wong et al.<sup>85</sup> reportà que un 81% i Stegeman<sup>86</sup> un 65% dels pacients que van obtenir un positiu a la PDSOFi i no tenien neoplàsia avançada (absència d'un adenoma  $\geq 10\text{mm}$ , component vellós o displàsia d'alt grau a la colonoscòpia). S'ha descrit que l'edat,<sup>85, 86</sup> el tabac,<sup>85</sup> el sexe,<sup>86</sup> els antiinflamatoris no esteroïdals,<sup>86</sup> els antiagregants<sup>90</sup> i les hemorroides,<sup>87</sup> s'associen a un fals positiu de la PDSOFi. El nostre grup d'investigació<sup>91</sup> va analitzar el cribratge a la població d'Hospitalet de Llobregat entre els anys 2000 i 2010 basat en PDSOFg. En aquell moment es va descriure una taxa de resultats positius del 55,2% i els factors associats a un fals positiu van ser el sexe femení, la primera ronda de cribratge del

programa, el cribratge successiu i el diagnòstic de fissura anal o hemorroides. A més, cal tenir en compte que si la colonoscòpia no es realitza seguint els criteris de qualitat necessaris,<sup>92</sup> una lesió que havia estat detectada per la PDSOFi podria passar desapercebuda en la colonoscòpia i ser definida erròniament com a fals positiu. Per últim, la presència d'una lesió al tracte gastrointestinal alt sembla no estar associat amb la positivitat de una PDSOFi per la degradació de la globina per proteases durant el pas gastrointestinal.<sup>88, 93</sup>

#### **2.3.2.4.1.2. Falsos negatius**

Tot i que la PDSOFi té una elevada sensibilitat, el fet que el risc de CCR al llarg de la vida (0-74 anys) sigui aproximadament un 4%,<sup>2</sup> provoca que el benefici individual sigui petit. A més, aquesta relativa baixa sensibilitat comporta la presència de resultats falsos negatius. Es defineix fals negatiu obtenir una PDSOFi negativa (<20 µg Hb/g) seguida d'una colonoscòpia amb lesions de risc intermedi o alt o CCR. La presència de resultats falsos negatius confereix falsa seguretat als participants del cribratge i genera un retard en la detecció de la neoplàsia amb el conseqüent augment del nombre de CCR d'interval (CCR detectat després d'una PDSOF i abans de que s'hagi realitzat la següent invitació al programa de cribratge).<sup>94</sup> Estudis previs han descrit una proporció de resultats falsos negatius del 6,4%<sup>95</sup> i 7,7%.<sup>86</sup> Els factors que s'han descrit associats a un possible fals negatiu amb la PDSOFi són: la localització proximal,<sup>96</sup> la mida i la severitat de la lesió,<sup>97</sup> la morfologia no polipoide (Classificació de París:<sup>8</sup> 0-IIb, 0-IIc,0-III),<sup>98</sup> el retràs en l'anàlisi<sup>99</sup> i la temperatura ambiental.<sup>100</sup>

Alguns han examinat el CCR d'interval després d'una PDSOF negativa.<sup>101-105</sup>

En una avaluació del Programa de detecció de càncer d'intestí del Servei Nacional de Salut a Anglaterra, un 14% de CCR identificats van ser d'interval, tots ells seguint d'una PDSOFg negativa.<sup>104</sup> Més recentment, van der Vlugt et al.<sup>105</sup> ha descrit un 23% de CCR d'interval després de tres rondes de cribratge amb PDSOFi (llindar de 10 µg Hb/g).

Tot i així, cal destacar que s'ha demostrat que el cribratge successiu cada 1 o 2 anys permet la detecció de lesions prèviament no detectades i, així, es disminueix el risc del CCR d'interval.<sup>106</sup>

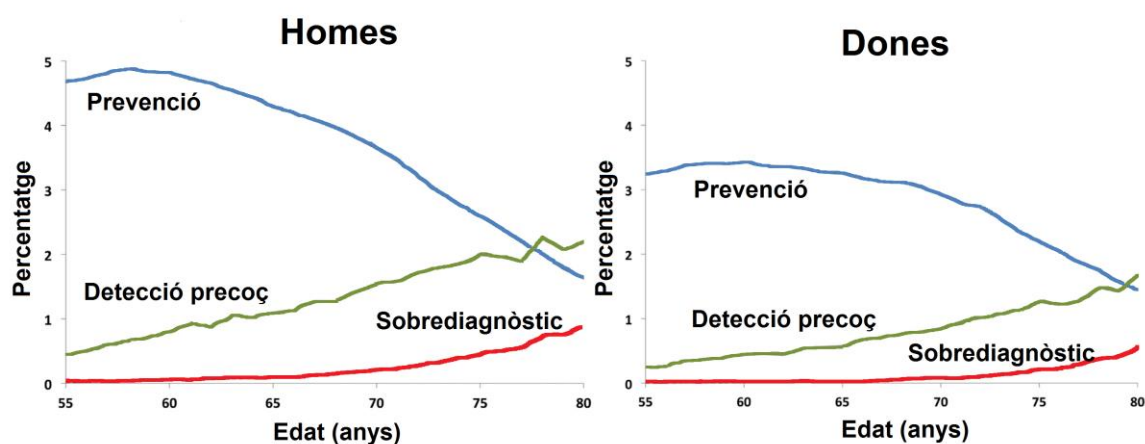
#### **2.3.2.4.1.3. Sobrediagnòstic i seguiment inadequat**

Un altre efecte advers del cribratge és el sobrediagnòstic que es defineix com el fet de diagnosticar un càncer que mai hagués esdevingut simptomàtic ni hagués reduït l'esperança de vida d'un individu. Aquest terme s'utilitza per referir-se a lesions petites de lent creixement que romandrien asimptomàtiques durant tota la vida del pacient; diagnòstic en pacients amb expectativa de vida curta, per la seva edat o la seva morbiditat; tumor de creixement ràpid però en pacient que mor per una altra causa; o casos en què el tractament pal·lia els símptomes però no retarda la mort.<sup>107</sup> Aquest risc és major quan usem proves de cribratge més sensibles com la colonoscòpia, que detecta pòlips de molt petita mida. Tenint en compte que en el moment de la colonoscòpia no podem identificar quins pòlips són els que en un futur més o menys llunyà evolucionaran a càncer invasiu, actualment es realitza polipectomia de tots els pòlips (excepte pòlips d'aspecte hiperplàstic localitzats a sigma i recte). Així, tot

i que la polipectomia és un procediment terapèutic de baix risc, hi ha pacients que rebran el tractament i mai no desenvoluparan càncer.

Actualment Luo et al.<sup>108</sup> ha reportat entorn a un 7% de sobrediagnòstic amb el cribratge amb PDSOFg biennal entre els 50-74 anys. Brenner et al.<sup>109</sup> va quantificar l'efecte del sobrediagnòstic en el cribratge de CCR analitzant aproximadament 4 milions de colonoscòpies de cribratge realitzades al llarg de 10 anys. Tal i com s'observa a la Figura 8, la probabilitat de que un CCR es detecti precoçment augmenta amb l'edat, així van descriure una probabilitat del 0,5% als 55 anys i entorn un 2% als 80 anys en homes i des de quasi 0,3% als 55 anys i entorn un 1,7% als 80 anys en dones. La probabilitat de sobrediagnòstic és inferior al 0,1% als 65 anys entre els homes i als 71 anys en dones, i aquesta augmenta gradualment a 0,9% i 0,6% als 80 anys, en homes i dones, respectivament. Van estimar una proporció de sobrediagnòstic en individus de 55-79 anys del 11% en homes i 8% en dones. Mentre que en pacients majors de 75 anys es produïa un 28% de sobrediagnòstic. Les probabilitats de prevenció eren majors si usaven la colonoscòpia de cribratge al voltant dels 60 anys (prop del 5% en homes, 3,5% en dones) i més baixes en edat més avançada (< 2% als 80 anys en homes i dones). Tot i que el potencial risc de sobrediagnòstic s'utilitza sovint com un argument en contra de les diferents possibilitats de cribratge, Brenner et al.<sup>109</sup> conclou que el nombre de casos amb sobrediagnòstic és molt petit en comparació amb el nombre de càncers previnguts i detectats precoçment.

Figura 8. Probabilitat de tenir un CCR previngut o detectat precoçment i de tenir sobrediagnòstic de CCR d'acord a sexe i l'edat en el moment de la colonoscòpia de cribratge



Font: Brenner et al., 2015.

D'altra banda, una major detecció de pòlips genera un nou problema, i és que en molts casos la detecció de pòlips obligarà a la realització de colonoscòpies de seguiment.<sup>110</sup> Actualment, la Guia Europea de qualitat dels programes de cribratge de CCR,<sup>12</sup> limita el seguiment endoscòpic només a pacients amb lesions d'intermedi o alt risc, retornant a cribratge als pacients amb lesions de baix risc. Un tipus de vigilància inadequada seria repetir massa precoçment una prova de cribratge en no seguir les recomanacions de les guies vigents. Un exemple d'aquesta vigilància inadequada s'observa en el treball de Zorzi et al.<sup>111</sup> que va observar un seguiment endoscòpic inadequat en el 67% i el 7% dels pacients amb lesions de baix risc o sense adenoma, respectivament, provocant un gran augment de la demanda endoscòpica. Així mateix, altres autors<sup>112-115</sup> també han reportat que no només hi ha un augment innecessari de colonoscòpies de seguiment després d'una polipectomia de pacients amb lesions de baix risc, sinó que, el que és més preocupant, és que s'està

realitzant un ús a la baixa de les colonoscòpies de seguiment necessàries en el subgrup de pacients amb lesions de risc intermedi i alt risc.

Finalment, podríem estar fent recomanacions de seguiment inadequades per falta d'estudis longitudinals especialment en les lesions serrades (que actualment fem seguiment similar als adenomes quan la via de carcinogènesi és diferent) i perquè la periodicitat de la colonoscòpia es basa únicament en el tipus i característiques de les lesions, sense tenir en compte factors de risc personals com la diabetis mellitus, el tabac o la predisposició genètica, entre d'altres.

#### **2.3.2.4.1.4. Ús inadequat**

Un altre efecte advers del cribratge de CCR és l'ús excessiu de proves de cribratge. Cal abordar aquest problema perquè innecessàriament pot augmentar el dany al pacient generat per un sobrediagnòstic (incloent les complicacions de la colonoscòpia), l'augment de la càrrega de treball de la unitat d'endoscòpia i el consum de recursos de la sanitat pública.

Pot produir-se un ús excessiu, en primer lloc perquè, com hem dit abans, aproximadament el 96% d'individus<sup>2</sup> no desenvoluparan un CCR independentment de si realitzem cribratge o no. Per tant, molts individus hauran de ser sotmesos a proves de cribratge per aconseguir un benefici en una minoria. De fet, s'ha vist en estudis aleatoritzats que la reducció en la mortalitat només podrà ser reproduïda si la participació és adequada.<sup>116</sup>

Per una altra banda, cal tenir en compte un altre tipus d'ús excessiu del cribratge que consistiria en la implementació d'una prova de cribratge en individus que tenen una comorbiditat important o una edat que limita

l'esperança de vida i que, per tant, no es beneficiarien d'una detecció precoç de càncer. En pacients que tenen l'edat de cribratge però comorbiditat importants, caldria que d'alguna manera s'evités que el pacient participés en la següent ronda de cribratge. Les comorbiditats i estat general basal del pacient són determinants extremadament importants dels beneficis i riscos del cribratge.<sup>117</sup>

Un altre aspecte en discussió és fins quin edat ha de prolongar-se la recomanació de cribratge. A Catalunya, s'implementa dels 50 als 69 anys ambdós inclosos, mentre que a d'altres països europeus és dels 50 als 74 anys. En el grup de 75 a 85 anys, es recomana individualitzar en funció del sexe, raça, comorbiditats, la història prèvia de participació en el cribratge i l'esperança de vida, entre d'altres.<sup>118, 119</sup> Pel contrari, existeix consens en contra de fer detecció precoç en individus amb edats superiors als 85 anys amb una esperança de vida inferior als 10 anys.<sup>52</sup>

Recentment, la United States Multi-Society Task Force ha reportat que el cribratge pot ser beneficiós en persones de fins 86 anys sense cribratge previ però que cal valorar-ho individualment segons les comorbiditats i l'esperança de vida. Mentre que persones amb proves de cribratge prèviament realitzades, sobretot en el cas de tenir una colonoscòpia normal prèvia, es podria aturar el cribratge als 75 anys o quan la seva esperança de vida sigui menor a 10 anys.<sup>120</sup>

Així, la decisió sobre si recomanar o no el cribratge en un pacient ancià requereix una avaluació individualitzada que va més enllà de la presa de decisions basades únicament en l'edat sinó del balanç entre els riscos i beneficis en funció de la seva salut i preferències en general. La detecció de



CCR podria ser més eficaç i cost-efectiva si es consideressin els factors individuals de cada pacient d'edat avançada.<sup>119</sup>

### **2.3.2.5. Models de risc per la detecció precoç de càncer colorectal**

Donats aquests efectes adversos, s'ha començat a pensar en estratègies de cribratge més personalitzades basades en el risc individual de càncer. L'objectiu d'aquesta personalització és potenciar els beneficis i, per tant, reduir la probabilitat de possibles efectes adversos escurçant l'interval entre proves en aquells individus amb més risc i allargant l'interval de cribratge en aquells amb un menor risc. L'estratègia actual de realitzar el cribratge tenint en compte només l'edat major a 50 anys per aplicar un mateix tipus de cribratge poblacional sense tenir en compte el risc individual de CCR té varies conseqüències. En primer lloc, pacients de baix risc estan sent sotmesos a riscos innecessaris i generant una despesa sanitària evitable. Per altra banda, a pacients d'alt risc se'ls està indicant l'ús d'una PDSOF sent potser una estratègia diagnòstica subòptima en aquest subgrup d'individus. A més, el fet de no conèixer el risc individual de CCR probablement disminueix la participació i adherència al cribratge.

Tot això ha fet que s'hagin començat a crear models de predicció<sup>121</sup> de lesions preneoplàstiques o CCR per aconseguir una certa personalització del cribratge de CCR. En la població general, entre els factors de risc pel CCR es troben els antecedents personals o familiars de pòlips i/o CCR i els factors ambientals.<sup>122</sup>

A banda de les formes hereditàries, la major part del risc familiar de CCR sembla ser conseqüència de l'efecte conjunt de múltiples variants genètiques de baix risc o baixa penetrància. Els estudis d'associació de genoma complet

(GWAS)<sup>123</sup> han identificat, i segueixen identificant, polimorfismes comuns de nucleòtid únic (SNPs) associats a un major risc de CCR.<sup>123</sup> Tot i que el risc associat amb la variació en cada locus és modest, els genotips de risc són comuns en la població i, per tant, la seva contribució a la incidència global de CCR és significativa<sup>124</sup> i, en gran mesura, independent de la història familiar. Un cribratge que inclogués variables ambientals, història familiar i polimorfismes de susceptibilitat genètica associats a CCR podria millorar l'eficàcia d'un programa de cribratge.

Els models creats fins ara han inclòs els tradicionals factors de risc de CCR com l'edat, el sexe, la història familiar, el tabac, l'alcohol, l'índex de massa corporal, l'activitat física, la dieta i, alguns fàrmacs (antiinflamatoris no esteroïdals, calci i vitamines).<sup>121</sup> A més, amb la identificació dels SNPs, estudis recents han incorporat la informació de susceptibilitat genètica juntament amb algun factor de risc tradicional.<sup>121, 125-127</sup> El desenvolupament de models de risc que incorporen les dades de biomarcadors i de SNPs juntament amb informació de factors de risc ambientals ofereix la possibilitat de millorar el procés de cribratge de CCR actual, maximitzant la detecció de lesions de risc o CCR. Un model de risc poligènic que combinés la informació genètica i els factors ambientals tindria el potencial de permetre una millor selecció dels individus que s'han de sotmetre a una colonoscòpia. De fet, alguns estudis previs ja han reportat resultats que apunten que les variants genètiques de baixa penetrància podrien funcionar en aquesta direcció, mostrant millores en la precisió discriminatòria en relació a un model que no les inclogués.<sup>128</sup> El model podria permetre seleccionar pacients amb una major predisposició de CCR en els quals l'estratègia de cribratge inicial més òptima seria la

colonoscòpia i no una PDSOF. A més, l'estratificació de risc juntament amb un bon consell genètic, permetria augmentar la percepció de risc i, consegüentment una major participació i adherència al cribratge. A més, el fet que un individu realment percebi risc de desenvolupar càncer podria fer que millorés els seus estils de vida, i així, contribuiria a la reducció de la incidència de CCR.

D'altra banda, els models de risc creats fins ara no s'han implementat donada la limitada capacitat per predicció i dificultat d'aplicació. El fet simplement d'implementar una PDSOF a nivell poblacional és molt més senzill i econòmic que aconseguir variables clíniques dels pacients i realitzar una prova genètica. Calen més estudis per valorar la generalització, utilitat i cost-eficiència de realitzar un genotipat i adquirir variables clíniques per permetre l'estratificació del cribratge poblacional.

### **3. HIPÒTESIS I OBJECTIUS**

---



### **3.1. Hipòtesis**

La precisió de la prova de cribratge estarà condicionada pel tipus de prova que estem utilitzant, la PDSOFi, però també per les circumstàncies individuals dels participants en el programa: concentració d'hemoglobina en sang, consum de fàrmacs, presència d'altres lesions sagnants en el tracte gastrointestinal o la morfologia, localització i mida dels pòlips, entre d'altres. Els efectes adversos del cribratge podrien reduir-se si coneguéssim els determinants associats a resultats falsos positius o negatius.

També podríem reduir aquests riscos utilitzant estratègies més personalitzades de cribratge, basades en risc de CCR individual i la probabilitat d'efectes adversos.

Una fracció del risc de patir CCR es deu a l'adquisició hereditària de variants genètiques que modifiquen certes funcions cel·lulars, possiblement a l'interactuar amb exposicions ambientals. La identificació d'aquestes variants, en combinació amb altres factors ambientals pot permetre elaborar models per estratificar la població en grups de risc als quals es pugui oferir estratègies de prevenció personalitzades.

### **3.2. Objectius**

1. Identificar els factors associats d'un resultat fals positiu de la PDSOFi en un programa poblacional de cribatge de CCR, amb especial atenció a la prescripció de fàrmacs.
2. Determinar la proporció de resultats falsos negatius de la PDSOFi i explorar els seus determinants en un programa de cribatge de CCR.
3. Elaborar un model de predicció del risc de CCR basat en població espanyola que combini la predisposició genètica (polimorfismes de nucleòtid simple comuns associats a un major risc de CCR), factors ambientals i els antecedents familiars per estratificar la població en grups de risc de CCR.

#### **4. METODOLOGIA**

---



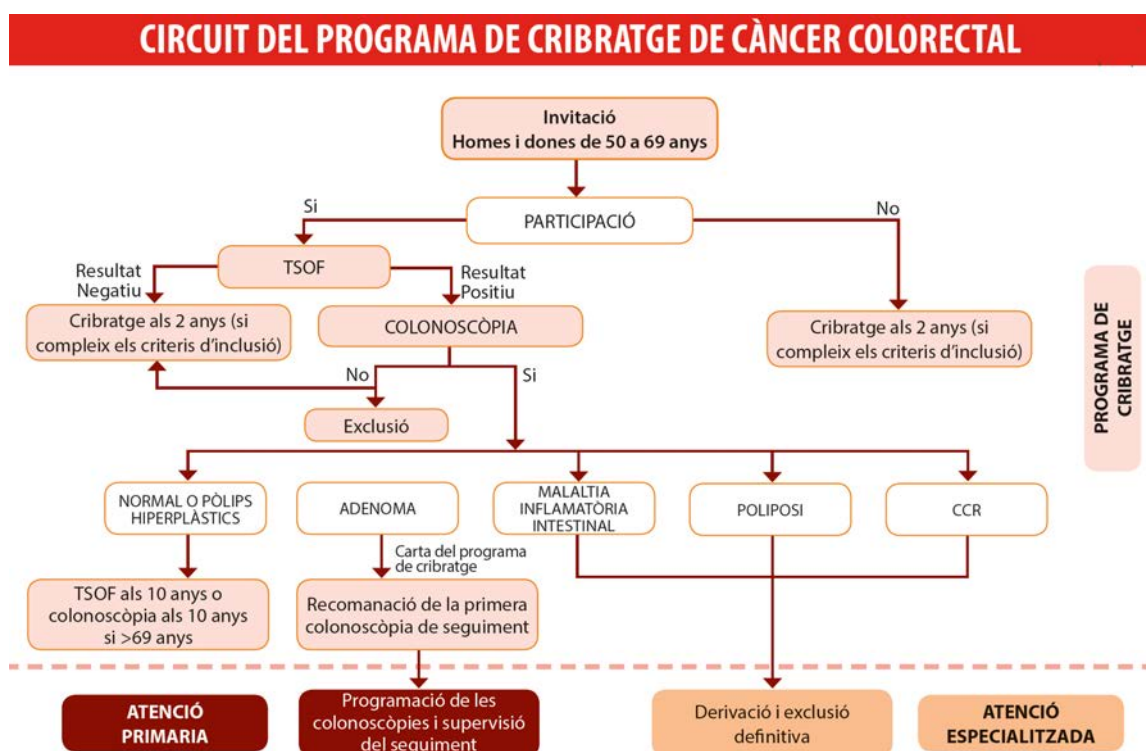


#### **4.1. Programa poblacional de detecció precoç de càncer colorectal - ICO**

El primer i segon article que formen aquesta Tesi Doctoral han pogut realitzar-se gràcies a les dades del programa de cribratge de CCR que lidera l'Institut Català d'Oncologia (ICO). L'any 2000 es va iniciar la implementació d'un programa de cribratge biennal a l'Hospitalet de Llobregat, constituint així el primer programa poblacional de detecció precoç de CCR a Espanya. Posteriorment, al 2004, s'afegeix Vilafranca del Penedès, i és al 2015 quan l'ICO assumeix l'expansió del programa a l'àrea Metropolitana Nord (Barcelonès Nord, Baix Maresme i Maresme Central) i Sud (Baix Llobregat i Garraf) amb una població total de 474.000 persones.

A Catalunya s'ha implementat la PDSOFi biennal com a estratègia de cribratge i s'adreça a una població diana d'homes i dones de 50 a 69 anys (veure Figura 9). Els criteris d'exclusió per a participar són: antecedents personals de CCR o adenomes, antecedents familiars de CCR, malaltia inflamatòria intestinal, colonoscòpia en els darrers 5 anys, PDSOF en els darrers 2 anys, malaltia terminal o severa. Es convida a la població elegible a participar en el programa mitjançant una carta. Actualment, l'obtenció de la mostra es realitza a domicili, mentre l'entrega i recollida de la prova s'efectua a través de les oficines de farmàcia adscrites al programa de prevenció de CCR.

Figura 9. Esquema general del programa de detecció precoç de càncer colorectal a Catalunya

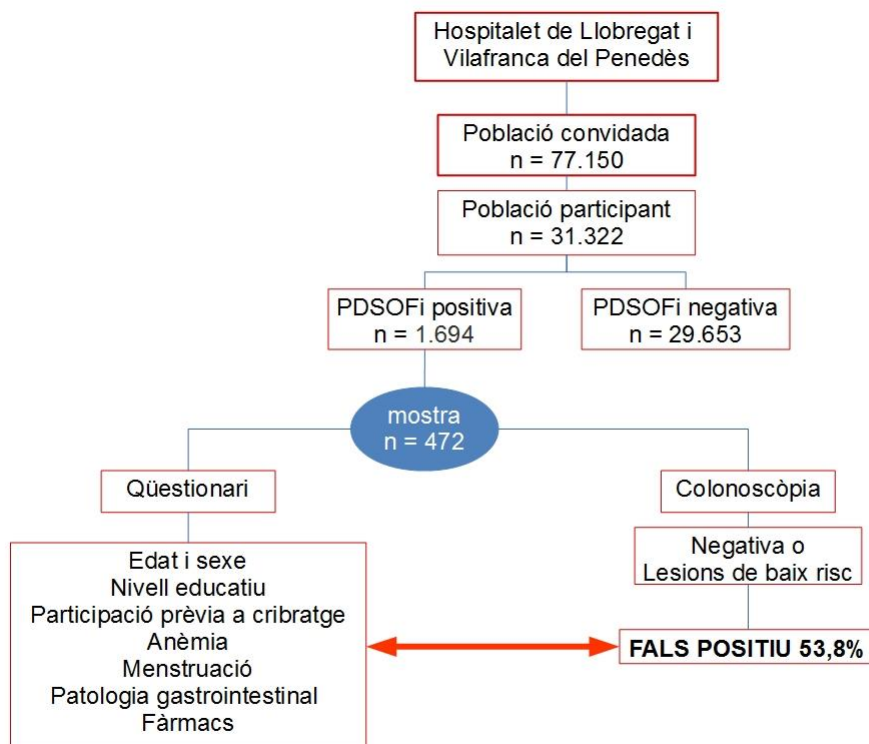


TSOF: prova de detecció precoç de càncer colorectal

A les primeres tres rondes de cribratge es va utilitzar una PDSOFg (Hema-screen, Immunostics Inc.) i des de la quarta ronda s'utilitza una PDSOFi (OC-Sensor, Eiken Chemical Co.) amb un punt de tall establert per la positivitat de la prova de 20 µg d'hemoglobina/g de femta. En cas de resultat negatiu, l'usuari rep una carta amb el resultat, i és convidat a tornar a participar als dos anys. Als casos amb resultat positiu se'ls ofereix realitzar una colonoscòpia al seu hospital de referència. Si no es troben lesions preneoplàstiques, els participants són convidats de nou al programa al cap de 10 anys (si encara compleixen criteris d'inclusió). En cas de trobar lesions associades a intermèdi o alt risc de CCR són remesos per seguiment a atenció primària o atenció especialitzada en funció de la patologia trobada.

El primer article que forma aquesta Tesi Doctoral tenia com a població diana tots els homes i dones de 50-69 anys de l'Hospitalet de Llobregat i Vilafranca del Penedès. Es van incloure aquells que obtingueren un resultat positiu en la PDSOFi, es realitzaren una colonoscòpia entre gener i juliol del 2014 i contestaren a una enquesta telefònica (Figura 10).

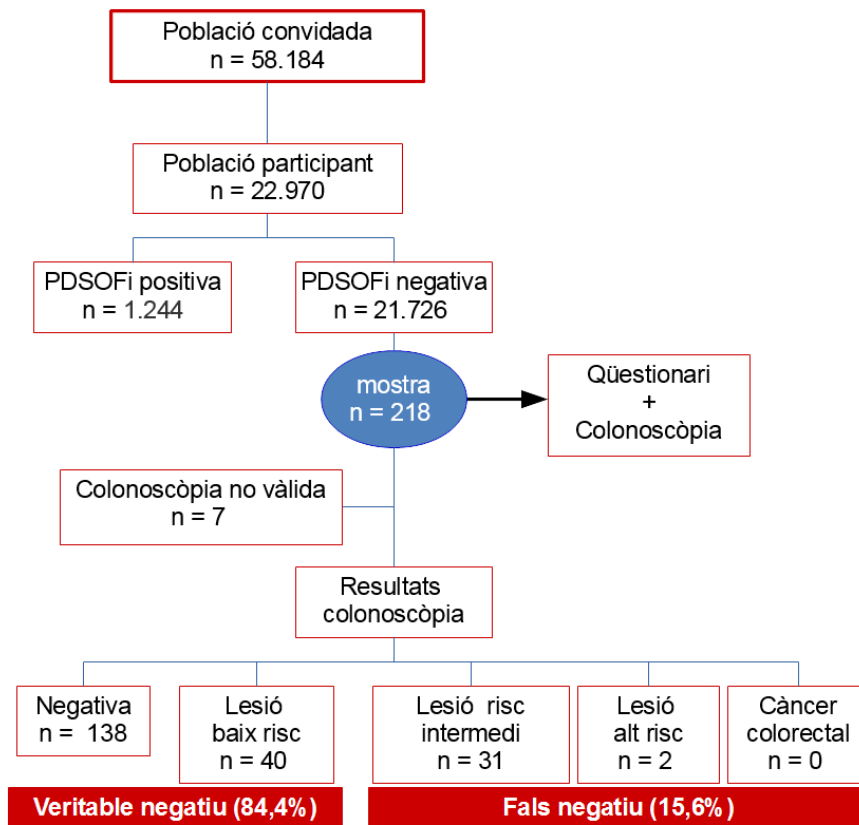
Figura 10. Esquema general de l'estudi 1



PDSOFi: prova de detecció de sang oculta en femta immunològica.

El segon article que forma aquesta Tesi Doctoral tenia com a població diana tots els homes i dones de 50-69 anys de l'Hospitalet de Llobregat. Es van incloure aquells que obtingueren un resultat negatiu en la PDSOFi en la sisena ronda de cribratge (novembre 2013 i novembre 2014), es realitzaren una colonoscòpia i contestaren a una enquesta telefònica (Figura 11).

Figura 11. Esquema general de l'estudi 2



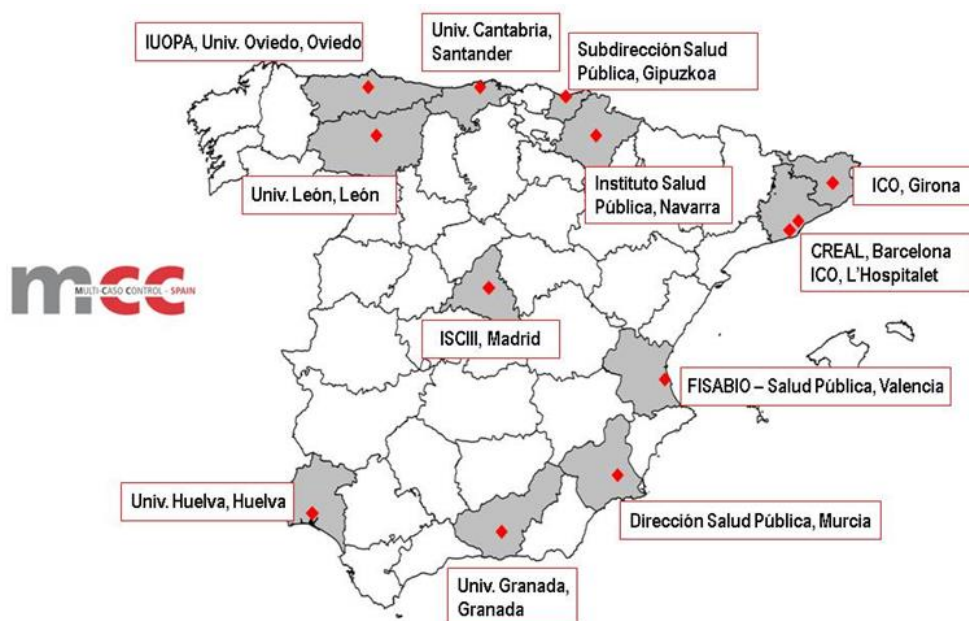
PDSOFi: prova de detecció de sang oculta en femta immunològica.

## 4.2. Estudi MCC-Spain

L'estudi multicas-control de base poblacional (MCC-Spain) va ser iniciat gràcies al Consorci d'Investigació Biomèdica en Xarxa d'Epidemiologia i Salut Pública (CIBERESP) per avaluar la influència d'exposicions ambientals i la seva interacció amb factors genètics en les següents neoplàsies: CCR, pròstata, mama (dona), estómac i leucèmia limfocítica crònica.

El reclutament de l'estudi va realitzar-se entre 2008 i 2013 en 12 províncies espanyoles (Astúries, Barcelona, Cantàbria, Girona, Granada, Guipúzkoa, Huelva, Lleó, Madrid, Múrcia, Navarra i València).

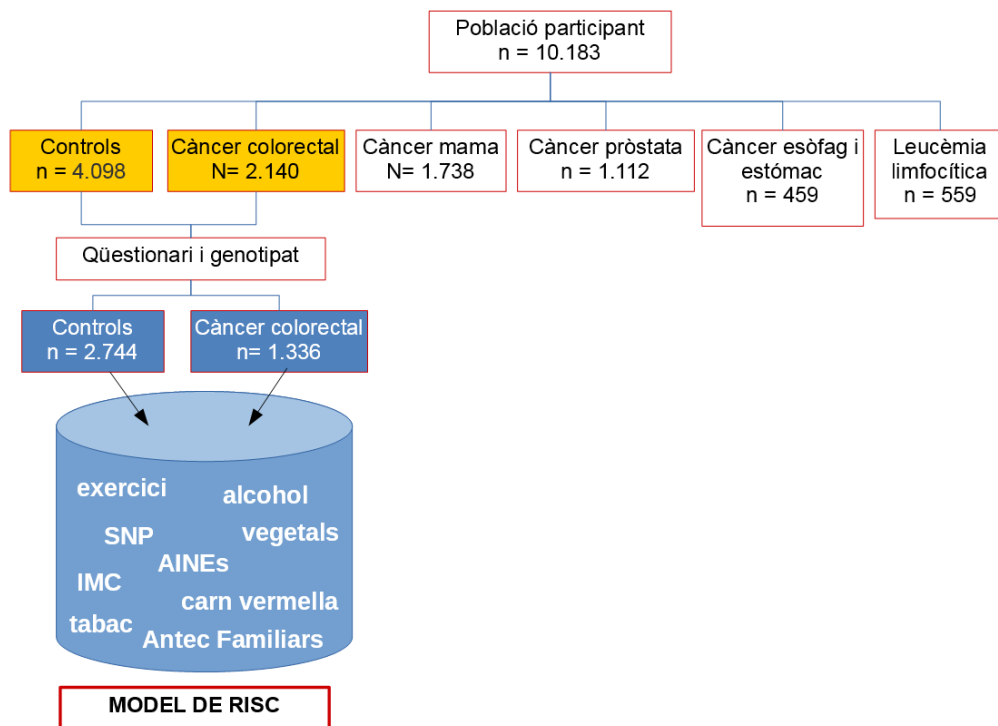
Figura 12. Mapa amb els centres o hospitals de reclutament de l'estudi MCC-Spain



Es van reclutar 10.183 persones, un total de 2.140 CCR. A tots ells, se'ls realitzà un qüestionari epidemiològic que incloïa informació sociodemogràfica, exposicions ambientals, història ocupacional, medicació, estils de vida i antecedents familiars de càncer. Posteriorment, se'ls tallava, pesava i mesurava la circumferència abdominal i de maluc. També es recollia informació de dieta mitjançant un qüestionari de freqüència de consum d'aliments, i en un

96% es van obtenir mostres per extracció de material genètic (76% sang i 27% saliva). En alguns casos també es van obtenir mostres d'ungles, cabells i orina. A un subgrup de 1.336 casos i 2744 controls es van analitzar polimorfismes genètics amb un microarray de genotipat (Infinium Human Exome BeadChip, Illumina, San Diego, USA). Aquest array contenia 21 SNPs de risc per CCR identificats en estudis de GWAS.

Figura 13. Esquema general de l'estudi 3



AINEs: antiinflamatoris no esteroidals; Antec Familiars: antecedents familiars; IMC: índex de massa corporal; SNP: polimorfismes comuns de nucleòtid únic.







**ARTICLE 1: Prescription drugs associated with false-positive results when using faecal immunochemical tests for colorectal cancer screening**

---

**Ibáñez-Sanz G**, Garcia M, Rodríguez-Moranta F, Binefa G, Gómez-Matas J, Domènech X, Vidal C, Soriano A, Moreno V, on behalf of the 'Adverse Effects on Colorectal Cancer Screening in Catalonia (EACC) Study' Working Group. *Digestive and Liver Disease*. 2016; 48(10):1249-54.





## Oncology

## Prescription drugs associated with false-positive results when using faecal immunochemical tests for colorectal cancer screening



Gemma Ibáñez-Sanz<sup>a</sup>, Montse Garcia<sup>a,\*</sup>, Francisco Rodríguez-Moranta<sup>b,c</sup>, Gemma Binefa<sup>a,c</sup>, Javier Gómez-Matas<sup>a</sup>, Xènia Domènech<sup>a</sup>, Carmen Vidal<sup>a</sup>, Antonio Soriano<sup>b,c</sup>, Víctor Moreno<sup>a,c,d</sup>, on behalf of the 'Adverse Effects on Colorectal Cancer Screening in Catalonia (EACC) Study' Working Group

<sup>a</sup> Cancer Prevention and Control Programme, Catalan Institute of Oncology-IDIBELL, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

<sup>b</sup> Department of Gastroenterology, Bellvitge University Hospital-IDIBELL, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

<sup>c</sup> Consortium for Biomedical Research in Epidemiology and Public Health (CIBEResp), Spain

<sup>d</sup> Department of Clinical Sciences, University of Barcelona, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 7 March 2016

Accepted 14 June 2016

Available online 21 June 2016

## Keywords:

Colorectal cancer screening

Faecal immunochemical test

False positive

Screening

## ABSTRACT

**Background:** The most common side effect in population screening programmes is a false-positive result which leads to unnecessary risks and costs.

**Aims:** To identify factors associated with false-positive results in a colorectal cancer screening programme with the faecal immunochemical test (FIT).

**Methods:** Cross-sectional study of 472 participants with a positive FIT who underwent colonoscopy for confirmation of diagnosis between 2013 and 2014. A false-positive result was defined as having a positive FIT ( $\geq 20 \mu\text{g}$  haemoglobin per gram of faeces) and follow-up colonoscopy without intermediate/high-risk lesions or cancer.

**Results:** Women showed a two-fold increased likelihood of a false-positive result compared with men (adjusted OR, 2.3; 95%CI, 1.5–3.4), but no female-specific factor was identified. The other variables associated with a false-positive result were successive screening (adjusted OR, 1.5; 95%CI, 1.0–2.2), anal disorders (adjusted OR, 3.1; 95%CI, 2.1–4.5) and the use of proton pump inhibitors (adjusted OR, 1.8; 95%CI, 1.1–2.9). Successive screening and proton pump inhibitor use were associated with FP in men. None of the other drugs were related to a false-positive FIT.

**Conclusion:** Concurrent use of proton pump inhibitors at the time of FIT might increase the likelihood of a false-positive result. Further investigation is needed to determine whether discontinuing them could decrease the false-positive rate.

© 2016 Editrice Gastroenterologica Italiana S.r.l. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Early detection can play an important role in reducing colorectal cancer (CRC) mortality. In fact, compelling and consistent evidence from randomised controlled trials and observational studies shows that appropriate use of faecal occult blood testing, flexible sigmoidoscopy and screening colonoscopy can reduce mortality from CRC [1–3]. Faecal occult blood testing has traditionally been

implemented in most developed countries as the preferable method for CRC screening, but more recently the guaiac faecal occult blood test has been substituted with the faecal immunochemical test (FIT) because of its higher sensitivity and specificity, better patient adherence, and lack of need for dietary restriction before testing. However, the FIT also has potential downsides. The most common adverse effect is the high rate of false-positive (FP) results that can lead to unnecessary colonoscopies, thus increasing extra healthcare costs and avoidable patient risk.

There are few published studies that have analysed the factors associated with FP results in faecal occult blood testing for CRC [4,5]. Our group reported the FP results from CRC screening in Catalonia (Spain) between 2000 and 2010 for the guaiac faecal occult blood test [6]. At that time, we found a FP rate of 55.2%, with female

\* Corresponding author at: Cancer Prevention and Control Unit, Catalan Institute of Oncology, Av. Gran Via 199-203, 08908, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Catalonia, Spain. Tel.: +34 932607186; fax: +34 932607956.

E-mail address: [mgarcia@iconcologia.net](mailto:mgarcia@iconcologia.net) (M. Garcia).

sex, first screening round of the programme, successive screening and diagnosis of haemorrhoids or anal fissure to be significantly associated with a FP result.

Our previous research emphasised the need to determine whether women have more FP results because of an inherently lower pre-test probability of developing CRC or because they have gender-specific risk factors (differential prescription drugs). Regardless of gender, it would also be interesting to explore other factors associated with FP results. For instance, drugs with potential haemorrhagic risk may increase the FP rate, and some studies have already shown that antiplatelet agents (APAs) [7–9], oral anticoagulants (OACs) [8–11] and/or non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) [5] can affect FIT results. Therefore, other drugs associated with gastrointestinal bleeding, such as selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) which affect platelet aggregation [12] and proton pump inhibitors (PPIs) which may cause haemorrhage in the lower gastrointestinal tract [13–17], could affect the FP rate. In this study, we aimed to identify factors associated with FP results in a FIT-based CRC screening programme, with special attention given to prescription drugs.

## 2. Methods

### 2.1. Screening procedure

Briefly, in 2000, a biennial screening programme was launched by the Catalan Institute of Oncology. Since 2010, the OC-Sensor (Eiken Chemical Co., Japan), with a cut-off of faecal haemoglobin (Hb) of  $\geq 20 \mu\text{g Hb/g faeces}$  ( $\geq 100 \text{ ng Hb/mL buffer}$ ), has been used in this programme. A detailed description of the FIT performance is provided elsewhere [18,19]. Diagnostic colonoscopies after a positive FIT result were performed by experienced endoscopists, with patients under conscious sedation. The target population ( $n=77,150$ ) included all men and women aged 50–69 years from l'Hospitalet de Llobregat and Vilafranca del Penedès (Barcelona, Catalonia, Spain).

The participation rate in the most recent screening round was 40.6%. Subjects were excluded according to the following criteria: gastrointestinal symptoms, personal history of CRC, family history of CRC, prior adenomas, inflammatory bowel disease, criteria for hereditary CRC syndromes, colonoscopy within the previous five years or faecal occult haemoglobin test within the last two years, terminal disease and severe disabling conditions.

### 2.2. Study subjects

We included participants with a positive FIT result who underwent total colonoscopy between January 2014 and July 2014 and who answered a phone questionnaire administered by a nurse or a medical doctor ( $n=472$ ). A FP result was defined as a positive FIT result ( $\geq 20 \mu\text{g Hb/g}$ ) followed by a colonoscopy result without either intermediate/high-risk lesions or CRC. According to “European guidelines for quality assurance in CRC” [20], intermediate-risk lesions were defined as 3–4 tubular adenomas measuring  $<10 \text{ mm}$  with low-grade dysplasia or as  $\geq 1$  adenoma measuring 10–19 mm, while high-risk lesions were defined as  $\geq 5$  adenomas or  $\geq 1$  adenoma measuring  $\geq 20 \text{ mm}$ . All the participants with a FP result were followed until April 2016 to identify if a follow-up colonoscopy, upper gastrointestinal endoscopy or capsule endoscopy explained the FP result by FIT. The study protocol was approved by the ethics committee of our institution (PR138/12), and we obtained oral informed consent before the phone interview.

### 2.3. Data collection

The CRC screening programme information system allowed recording: sex, age (divided into 50–59 years and 60–69 years), blood Hb concentration and screening variables (number of individual participations, faecal Hb concentration and colonoscopy findings). Anaemia was defined according to WHO recommendations (men Hb  $< 130 \text{ g/L}$ ; women Hb  $< 120 \text{ g/L}$ ) [21], and the Hb concentrations were obtained from the routine blood analyses carried before the colonoscopy.

Level of education (less than primary education; at least secondary education) and clinical data (age at menopause, gastrointestinal diseases associated with bleeding (haemorrhoids, anal fissures, peptic ulcers, hiatus hernias and oesophageal varices) were gathered through a retrospective questionnaire. Information about the prescribed medication was self-reported in the questionnaire and extracted from the computerised Catalan healthcare database (SAP, Institut Català de la Salut). We analysed prescription information for the following drugs: PPIs (omeprazole, esomeprazole, lansoprazole, pantoprazole and rabeprazole), NSAIDs (all cyclooxygenase 1 and 2 inhibitors), APAs (acetylsalicylic acid, triflusal, clopidogrel, prasugrel, ticagrelor, ticlopidine and cilostazol), OACs (acenocoumarol, warfarin, dabigatran, apixaban and rivaroxaban) and SSRIs (citalopram, escitalopram, fluoxetine, fluvoxamine, paroxetine and sertraline).

### 2.4. Data analysis

Multivariate logistic regression models were performed to identify variables associated with the FP results. Adjusted odds ratios (ORs) and their 95% confidence intervals (CIs) were estimated. We also computed models stratified by sex and examined interactions between the different covariates. Statistical analysis was carried out using R statistical software (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

## 3. Results

### 3.1. Participant characteristics

The overall proportion of FP results was 53.8% ( $n=254$ ), although this figure would have decreased to 37.7% ( $n=178$ ) had low-risk adenomas been included in the definition of a positive colonoscopy. Table 1 summarises the sociodemographic, screening and clinical characteristics of the participants. It was notable that there were more male participants in our study, because men had more positive results by FIT testing. The overall average response rate to the questionnaire was 76.6% (472 of 616 subjects), which corresponded to 74.0% (95%CI, 69.5–78.5) for men and 80.4% (95%CI, 75.5–85.3) for women. Moreover, only 11.2% of subjects had anaemia, and the mean blood Hb was 142.5 g/L (standard deviation:  $\pm 17.3 \text{ g/L}$ ). The median faecal Hb concentration was significantly higher among men than among women ( $p=0.049$ ), but there were no differences by age ( $p=0.22$ ). The median faecal Hb for a FP result was 48  $\mu\text{g Hb/g}$  (95%CI, 40.34–55.26) and 64  $\mu\text{g Hb/g}$  (95%CI, 53.76–74.64) for a true-positive result ( $p=0.0004$ ); however, the range of faecal Hb values was similar in both groups, with no predictive ability (area under the receiver operator characteristics curve, 0.6; 95%CI, 0.5–0.6).

### 3.2. Factors associated with FP results

Rescreening was a risk factor associated with FP results, though it was borderline significant in the multivariate analysis (adjusted OR, 1.5; 95%CI, 1.0–2.3). Women were two-fold more likely to have a FP result compared with men (adjusted OR, 2.3; 95%CI, 1.5–3.4).

**Table 1**  
Distribution of false positive FIT result according to subjects' characteristics.

	n	False positive		Crude OR		95% CI
		No	%	Yes	%	
Sex						
Male	276	151	69.3	125	49.2	1
Female	196	67	30.7	129	50.8	2.3
						1.6–3.4
Age						
50–59 years	245	120	55.0	125	49.2	1
60–69 years	227	98	45.0	129	50.8	1.3
						0.9–1.8
Level of education <sup>a</sup>						
Low	210	58	55.8	152	60.3	1
Medium-high	146	46	44.2	100	39.7	0.8
						0.5–1.3
Screening						
Initial	184	97	44.5	87	34.3	1
Successful	288	121	55.5	167	65.7	1.5
						1.1–2.2
Anaemia <sup>a</sup>						
No	301	154	89.0	147	88.6	1
Yes	38	19	11.0	19	11.4	1.0
						0.5–1.9
Menstruation <sup>a</sup>						
Menopause	144	28	90.3	116	89.9	1
Menstruation	16	3	9.7	13	10.1	1.8
						0.5–6.7
Anal disorders						
No	231	138	63.3	93	36.6	1
Haemorrhoids	196	67	30.7	129	50.8	2.9
Anal fissure	45	13	6.0	32	12.6	3.7
						1.8–7.3
Peptic ulcer or hiatal hernia						
No	398	192	88.1	206	81.1	1
Yes	74	26	11.9	48	18.9	1.7
						1.0–2.9
Proton pump inhibitors						
No	356	177	81.2	179	70.5	1
Yes	116	41	18.8	75	29.5	1.8
						1.2–2.8
NSAIDs						
No	437	205	94.0	232	91.3	1
Yes	35	13	6.0	22	8.7	1.5
						0.7–3.0
Antiplatelet agent						
No	412	191	87.7	221	87.0	1
Yes	60	27	12.4	33	13.0	1.1
						0.6–1.8
Oral anticoagulant						
No	460	212	97.3	248	97.6	1
Yes	12	6	2.8	6	2.4	0.9
						0.3–2.7
SSRIs						
No	425	196	89.9	229	90.2	1
Yes	47	22	10.1	25	9.8	1.0
						0.5–1.8
Medication						
Nonusers	324	159	72.9	165	65.0	1
Users <sup>b</sup>	148	59	27.1	89	35.0	1.5
						1.0–2.2

NSAIDs, non-steroidal anti-inflammatory drugs; SSRIs, selective serotonin reuptake inhibitors.

<sup>a</sup> Variables with missing data.<sup>b</sup> Users: Proton pump inhibitors and/or NSAIDs and/or antiplatelet agent and/or oral anticoagulants.

We analysed anal disorders, medication use, anaemia and menstruation, but none of these factors was specifically associated with female gender (Supplementary Tables S1 and S2). Haemorrhoids and/or anal fissure were also risk factors for a FP result (adjusted OR, 3.1; 95%CI, 2.1–4.5), but there were no differences by sex ( $p=0.75$ ) or age ( $p=0.30$ ) between FP results and the presence of anal disorders. Upper gastrointestinal bleeding diseases (peptic ulcer or hiatal hernia) were also associated with FP results (crude OR, 1.7; 95%CI, 1.0–2.9), but no significant differences were observed after adjusting for PPIs. No individual was included with oesophageal varices. To identify the female-related factors associated with FP, we tested if there were interactions between the different covariates and sex, but we did not find any.

### 3.3. Drug use

One third of our study participants ( $n=148$  patients) were considered users of relevant prescription drugs (APA and/or OAC and/or NSAIDs and/or PPIs, Table 1). The most prevalent medications were PPIs, followed by NSAIDs. The most frequent NSAID used was ibuprofen ( $n=22$ , 62.9%). NSAIDs increased the risk

of a FP, but the association was not significant (OR 1.5; 95%CI, 0.7–3.0). Although prescription drug users were older than non-users ( $p=0.002$ ), there were no gender differences ( $p=0.48$ ) and the median faecal Hb concentrations were comparable between users and non-users ( $p=0.37$ ) (Supplementary Table S3).

Use of PPIs was associated with a significantly increased risk of a FP result (adjusted OR, 1.8; 95% CI, 1.1–2.9). Users of PPIs were, on average, older than non-users ( $p=0.0002$ ), but there were no gender differences ( $p=0.54$ ). Indeed, the observed association was exclusive to men (adjusted OR, 2.9; 95%CI, 1.5–5.6) and was not evident among women (adjusted OR, 0.9; 95%CI, 0.4–1.9). The median faecal Hb concentration among PPI users was comparable to that among non-users ( $p=0.23$ ).

We also analysed the effects of PPIs combined with NSAIDs, APAs, or OACs, as well as the different possible combinations, but found no significant interaction with these drugs that are associated with haemorrhagic risk. Regarding the use of SSRIs, 47 subjects (10%) were prescribed these antidepressants, and their use was clearly greater among females ( $p=0.01$ ). However, no association with FP was evident for either SSRIs, APAs, or OACs in the univariate and multivariate analyses.

**Table 2**  
Multivariate-adjusted risk factors associated with a false-positive FIT result.

	Overall OR adjusted	95%CI	Men OR adjusted	95%CI	Women OR adjusted	95%CI
Sex						
Male	1					
Female	2.3	1.5–3.4				
Age						
50–59 years	1		1		1	
60–69 years	1.0	0.7–1.5	0.8	0.5–1.4	1.2	0.7–2.3
Haemorrhoid or anal fissure						
No	1		1		1	
Yes	3.1	2.1–4.5	3.0	1.8–4.9	3.5	1.9–6.6
Successive screenings						
No	1		1		1	
Yes	1.5	1.0–2.2	2.0	1.2–3.3	1.1	0.5–2.0
PPIs						
No	1		1		1	
Yes	1.8	1.1–2.9	2.9	1.5–5.5	0.9	0.4–1.9
NSAIDs or APA or OAC						
No	1		1		1	
Yes	1.0	0.6–1.6	0.8	0.4–1.5	1.4	0.6–3.4

ORs derived from a multivariate logistic regression model adjusted by all the variables shown in the table.

PPI, proton pump inhibitors; NSAIDs, non-steroidal anti-inflammatory drugs; APA, antiplatelet agents; OAC, oral anticoagulants.

### 3.4. Follow-up of subjects with FP results

During the surveillance, 12 patients (4.72%) underwent a colonoscopy. The colonoscopies were normal in 5 patients, but we found a lesion with haemorrhagic risk in 7 patients in whom either colonic angiodysplasia ( $n=2$ ) or polyps were detected ( $n=5$ ; the polyps were either high-risk lesions [ $n=1$ ], intermediate-risk lesions [ $n=1$ ], or low-risk lesions [ $n=3$ ]). In total, 10 (3.94%) patients had an upper endoscopy performed. We identified upper-gastrointestinal lesions in seven patients: hiatal hernia ( $n=3$ ), Barrett's oesophagus ( $n=2$ ), erosive gastritis ( $n=1$ ) or a gastric polyp ( $n=1$ ). Only one patient underwent capsule endoscopy which detected ileal erosions and a colonic angiodysplasia.

### 3.5. Multivariate analysis of the factors associated with FP results

Multivariate logistic regression analysis revealed that sex, successive screening, anal disorders and PPIs were significant risk factors for a FP result (Table 2).

## 4. Discussion

In this study of FP results in a population-based CRC screening programme using FIT, we identified female gender, successive screening, haemorrhoids or anal fissure, and PPI use to be risk factors for FP results.

To the best of our knowledge, though there is preliminary data that may explain this finding, the association of PPI use with FP results has not been previously reported. PPIs reduce the occurrence of peptic ulcers and are an important treatment for acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding [21]. By contrast, acid inhibition does not confer protection to NSAID-induced damage distal to the ligament of Treitz [16,22–24], and, in fact, studies report that PPIs could contribute to small intestinal injury. Wallace et al. [13] and Blacker et al. [25] have reported that PPIs exacerbate NSAID-induced small intestinal injury in rodents. Their study showed that PPIs induced a low acid gastric environment that resulted in dysbiosis, which exacerbated NSAID-induced small intestinal injury. In addition, Fujimori et al. [17] suggested that PPIs not only exacerbated but also induced small intestinal injury in humans. Indeed, a recent randomised placebo-controlled trial [26] showed that PPI use increased the risk of short-term NSAID-induced small bowel injury. Miyake et al. [15] and Lanás et al. [14] reported that PPIs were associated with a small increased risk of

lower gastrointestinal bleeding after adjusting for potential confounders. Another two studies indicated that faecal calprotectin levels, which are a marker of gut inflammation, were significantly elevated in patients using PPIs [27,28]. Our results are consistent with this emergent evidence that PPIs might be associated with lesions of the lower gastrointestinal tract [14,15,17]. The fact that we found no difference between the median faecal Hb concentration among PPI users and non-users suggests that the higher FP rate was unrelated to the degree of bleeding.

Another explanation would be that PPIs delay globin's degradation from the upper gastrointestinal tract and may facilitate the identification of globin by FIT. That is to say that PPIs "allow" the diagnosis of upper lesions because the increased gastric pH may prevent the conversion of pepsinogen to pepsin and trypsinogen to trypsin [29], both of which are necessary for degrading food proteins, including globin, into peptides. Consistent with this hypothesis, an unpublished investigation [30] has analysed FIT accuracy among PPI users in 1003 symptomatic patients with positive FIT results. In a multivariate analysis, they found that PPI use was the only risk factor for FP results, and that their use reduced FIT accuracy for detecting CRC. This might explain why upper gastrointestinal bleeding diseases (peptic ulcers and hiatal hernias) were associated with FP results in our univariate analyses, though not after being adjusted for PPI use ( $p=0.19$ ), while PPI use adjusted for hiatal hernias and peptic ulcers was significantly associated with FP results ( $p=0.03$ ). This is consistent with evidence that FIT is specific for bleeding diseases of the lower gastrointestinal tract. Chiang et al. [31] verified FIT's performance for predicting lesions of the lower gastrointestinal tract, and they confirmed that the results were not confounded by the presence of upper gastrointestinal tract lesions. When comparing the prevalence rates of lower and upper gastrointestinal tract lesions between participants with positive and negative faecal test results, they found that such lesions were present in approximately 20% of all subjects. Levi et al. [32] performed upper gastrointestinal endoscopy in 160 patients with positive FIT results not explained by colonoscopy, and concluded that FIT positivity was not correlated with finding lesions likely to bleed on upper gastrointestinal endoscopy, and argued that this procedure was probably unsuitable for patients with positive FIT and negative colonoscopy.

PPI use was a risk factor for FP results after multivariate analysis. However, in the models stratified by sex, the statistical association was not observed among women. We think that this can be related by random variation, given the relatively small sample size (only

196 women). Therefore, larger prospective studies are needed to validate these results, because their confirmation may lead to the need to advise patients to discontinue PPIs before a FIT.

Consistent with our previous study of FP results with the guaiac test [6], the risk of FP results with the FIT increased with successive screening, while women showed a two-fold greater likelihood of a FP compared with men. We wanted to gather information regarding prescription drug use because our initial hypothesis was that SSRI use, due to its effect on platelet aggregation [12], could explain the difference between the sexes because they are prescribed more often to women. Also, there is evidence that SSRIs may be associated with upper gastrointestinal bleeding, especially when used concurrently with NSAIDs, APAs or OACs [33–35]. Although we found the expected association between SSRIs and women (crude OR, 2.8; 95%CI, 1.5–5.2), their use was not shown to be associated with FP results, even when there was concurrent use of these other drugs. Indeed, we could find no risk factor related to female gender and the risk of a FP result. Gender differences were not explained by anal disorders, medication use, anaemia or menstruation. Nevertheless, we still believe there might be some as yet unknown factors that increase the likelihood of bleeding and that will explain the observed gender differences in FP results, other than the lower pre-test probability of developing CRC.

The likelihood of detecting occult blood from haemorrhoids and anal fissures should be limited because of their location and the needed hemolysis before an FIT can detect globin. But, in our study, anal disorders had a clear association with FP results, especially the presence of an anal fissure, which conflicts with the lower rates described in previous studies [6,36].

Although APAs and OACs increase the risk of occult and overt gastrointestinal bleeding, it remains uncertain whether any increase in gastrointestinal bleeding actually manifests in FP results by FIT. Our findings, and those reported in previous studies [7,10], indicate that the positive predictive value of FIT does not tend to decrease during antithrombotic treatment. Regarding NSAIDs, we showed that they were not statistically significantly associated with FP results (OR, 1.5; 95%CI, 0.7–3.0), but this may have been caused by having identified too few subjects using these drugs. A possible explanation for the inclusion of fewer users than expected may be that NSAIDs are the most frequent drug used sporadically and purchased over the counter, with a retrospective design lacking the sensitivity to detect these users. To minimize this limitation, medication was based not only on self-reports but also on data retrieved from the computerised “electronic prescriptions” in the Catalan healthcare database. We also considered cases to be non-users when sporadic use of a drug was unclear, which may have further underestimated the effects. Therefore, we cannot exclude the possibility that over the counter drug use, especially of analgesics and NSAIDs, may have been underreported.

During the follow-up of subjects with FP results, 9.1% ( $n = 23$ ) of patients underwent an endoscopic procedure, and only 3.1% ( $n = 8$ ) patients were diagnosed with a lesion in lower gastrointestinal tract that could explain the FIT result. It is important to highlight that no patient was diagnosed with a CRC, but that one patient was diagnosed with a high-risk lesion (a large flat polyp located behind the colonic haustrum in the right colon), which had been missed by colonoscopy.

In conclusion, this study was based on a population-based screening programme that used FIT as a screening test, and was the first to assess the impact of not only NSAIDs, APAs, and OACs, but also of PPIs and SSRIs, on the FP rate. Indeed, despite the fact that the number of people with long-term use of PPIs has increased over the last decade, there remains limited data regarding their effect on FIT results. In this study, we confirm the previously reported risk factors for FP results, and also suggest that PPI use is may be a new risk factor. Although this raises the question of whether PPIs should

be discontinued before FIT, larger prospective studies are needed to confirm these findings.

## Funding

This study was partially cofunded by the Carlos III Health Institute, the European Regional Development Fund – a way to build Europe- (PI12/00992, PI14/00613, RD12/003670053, CB07/02/2005) and by the Department of Universities and Research (2014SGR635, 2014SGR647), Government of Catalonia.

## Conflict of interest

None declared.

## Acknowledgements

The authors belong to the Adverse Effects on Colorectal Cancer Screening in Catalonia (EACC) Study’ working group. Additional members of the ‘Adverse Effects on Colorectal Cancer Screening in Catalonia (EACC) Study’ working group are: Núria Milà, Llúcia Benito, Núria Maiz, Laura Pareja, Òlbia Serra.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2016.06.011>.

## References

- [1] Hewitson P, Glasziou P, Watson E, et al. Cochrane systematic review of colorectal cancer screening using the fecal occult blood test (hemocult): an update. *American Journal of Gastroenterology* 2008;103:1541–9.
- [2] Tang V, Boscardin WJ, Stijacic-Cenzer I, et al. Time to benefit for colorectal cancer screening: survival meta-analysis of flexible sigmoidoscopy trials. *British Medical Journal* 2015;350:h2228.
- [3] Brenner H, Stock C, Hoffmeister M. Effect of screening sigmoidoscopy and screening colonoscopy on colorectal cancer incidence and mortality: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials and observational studies. *British Medical Journal* 2014;348:g2467.
- [4] Stegeman I, de Wijkerslooth TR, Stoop EM, et al. Risk factors for false positive and for false negative test results in screening with fecal occult blood testing. *International Journal of Cancer* 2013;133:2408–14.
- [5] Wong MC, Ching JY, Chan VC, et al. Factors associated with false-positive and false-negative fecal immunochemical test results for colorectal cancer screening. *Gastrointestinal Endoscopy* 2015;81:596–607.
- [6] Garcia M, Mila N, Binefa G, et al. False-positive results from colorectal cancer screening in Catalonia (Spain), 2000–2010. *Journal of Medical Screening* 2012;19:77–82.
- [7] Bujanda L, Lanás A, Quintero E, et al. Effect of aspirin and antiplatelet drugs on the outcome of the fecal immunochemical test. *Mayo Clinic Proceedings* 2013;88:683–9.
- [8] Gandhi S, Narula N, Gandhi S, et al. Does acetylsalicylic acid or warfarin affect the accuracy of fecal occult blood tests. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2013;28:931–6.
- [9] Levi Z, Rozen P, Hazazi R, et al. Sensitivity, but not specificity, of a quantitative immunochemical fecal occult blood test for neoplasia is slightly increased by the use of low-dose aspirin, NSAIDs, and anticoagulants. *American Journal of Gastroenterology* 2009;104:933–8.
- [10] Bujanda L, Sarasqueta C, Lanás A, et al. Effect of oral anticoagulants on the outcome of faecal immunochemical test. *British Journal of Cancer* 2014;110:1334–7.
- [11] Imperiale TF. Continue or discontinue warfarin for fecal occult blood testing in 2010? Does the published evidence provide an answer. *American Journal of Gastroenterology* 2010;105:2036–9.
- [12] Tseng YL, Chiang ML, Lane HY, et al. Selective serotonin reuptake inhibitors reduce P2Y12 receptor-mediated amplification of platelet aggregation. *Thrombosis Research* 2013;131:325–32.
- [13] Wallace JL, Syer S, Denou E, et al. Proton pump inhibitors exacerbate NSAID-induced small intestinal injury by inducing dysbiosis. *Gastroenterology* 2011;141:1314–22.
- [14] Lanás A, Carrera-Lasfuentes P, Arguedas Y, et al. Risk of upper and lower gastrointestinal bleeding in patients taking nonsteroidal anti-inflammatory drugs, antiplatelet agents, or anticoagulants. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2015;13:906–12.
- [15] Miyake K, Akimoto T, Hanada Y, et al. Proton pump inhibitors are associated with lower gastrointestinal tract bleeding in low-dose aspirin users with ischaemic heart disease. *Digestive and Liver Disease* 2015;47:757–62.



- [16] Goldstein JL, Eisen GM, Lewis B, et al. Video capsule endoscopy to prospectively assess small bowel injury with celecoxib, naproxen plus omeprazole, and placebo. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2005;3:133–41.
- [17] Fujimori S, Takahashi Y, Tatsuguchi A, et al. Omeprazole increased small intestinal mucosal injury in two of six disease-free cases evaluated by capsule endoscopy. *Digestive Endoscopy* 2014;26:676–9.
- [18] García M, Mila N, Binefa G, et al. Fecal hemoglobin concentration as a measure of risk to tailor colorectal cancer screening: are we there yet. *European Journal of Cancer Prevention* 2015;24:321–7.
- [19] Peris M, Espinas JA, Muñoz L, et al. Lessons learnt from a population-based pilot programme for colorectal cancer screening in Catalonia (Spain). *Journal of Medical Screening* 2007;14:81–6.
- [20] Atkin WS, Valori R, Kuipers EJ, et al. European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis. *Endoscopy* 2012;44(Suppl. 3):SE151–63.
- [21] Leontiadis GI, Sreedharan A, Dorward S, et al. Systematic reviews of the clinical effectiveness and cost-effectiveness of proton pump inhibitors in acute upper gastrointestinal bleeding. *Health Technology Assessment* 2007;11:1–164.
- [22] Maiden L, Thjodleifsson B, Theodors A, et al. A quantitative analysis of NSAID-induced small bowel pathology by capsule enteroscopy. *Gastroenterology* 2005;128:1172–8.
- [23] Kuramoto T, Umegaki E, Nouda S, et al. Preventive effect of irsogladine or omeprazole on non-steroidal anti-inflammatory drug-induced esophagitis, peptic ulcers, and small intestinal lesions in humans, a prospective randomized controlled study. *BMC Gastroenterology* 2013;13:85.
- [24] Zhang S, Chao GQ, Lu B. Proton pump inhibitors are not the key for therapy of non-steroidal anti-inflammatory drugs-induced small intestinal injury. *Rheumatology International* 2013;33:2513–21.
- [25] Blackler RW, De Palma G, Manko A, et al. Deciphering the pathogenesis of NSAID-enteropathy using proton pump inhibitors and a hydrogen sulfide-releasing NSAID. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology* 2015;308:G994–1003.
- [26] Washio E, Esaki M, Maehata Y, et al. Proton pump inhibitors increase incidence of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced small bowel injury: a randomized, placebo-controlled trial. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2016;14:809–15.
- [27] Andreasson K, Saxne T, Scheja A, et al. Faecal levels of calprotectin in systemic sclerosis are stable over time and are higher compared to primary Sjogren's syndrome and rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy* 2014;16:R46.
- [28] Poullis A, Foster R, Mendall MA, et al. Proton pump inhibitors are associated with elevation of faecal calprotectin and may affect specificity. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* 2003;15:573–4.
- [29] Wang J, Barbuskaite D, Tozzi M, et al. Proton pump inhibitors inhibit pancreatic secretion: role of gastric and non-gastric H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPases. *PLOS ONE* 2015;10:e0126432.
- [30] Rodríguez Alonso L, Rodríguez Moranta F, Martín Cardona A, et al. Los inhibidores de la bomba de protones reducen la precisión del test de sangre oculta en heces inmunológico. XIX Reunión Anual de la Asociación Española de Gastroenterología. *Gastroenterología y Hepatología* 2016:75.
- [31] Chiang TH, Lee YC, Tu CH, et al. Performance of the immunochemical fecal occult blood test in predicting lesions in the lower gastrointestinal tract. *Canadian Medical Association Journal* 2011;183:1474–81.
- [32] Levi Z, Vilkin A, Niv Y. Esophago-gastro-duodenoscopy is not indicated in patients with positive immunochemical test and nonexplanatory colonoscopy. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* 2010;22:1431–4.
- [33] Anglin R, Yuan Y, Moayyedi P, et al. Risk of upper gastrointestinal bleeding with selective serotonin reuptake inhibitors with or without concurrent nonsteroidal anti-inflammatory use: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Gastroenterology* 2014;109:811–9.
- [34] Oka Y, Okamoto K, Kawashita N, et al. Meta-analysis of the risk of upper gastrointestinal hemorrhage with combination therapy of selective serotonin reuptake inhibitors and non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 2014;37:947–53.
- [35] Wallerstedt SM, Glerup H, Sundstrom A, et al. Risk of clinically relevant bleeding in warfarin-treated patients – influence of SSRI treatment. *Pharmacoepidemiology and Drug Safety* 2009;18:412–6.
- [36] van Turenhout ST, Oort FA, Terhaar sive Droste JS, et al. Hemorrhoids detected at colonoscopy: an infrequent cause of false-positive fecal immunochemical test results. *Gastrointestinal Endoscopy* 2012;76:136–43.

**ARTICLE 2: False-negative rate cannot be reduced by lowering the haemoglobin concentration cut-off in colorectal cancer screening using faecal immunochemical test**

---

**Ibañez-Sanz G**, Garcia M, Milà N, Rodríguez-Moranta F, Binefa G, Gómez-Matas J, Benito L, Padrol I, Barenys M, Moreno V. *European Journal of Cancer Prevention*. 2017; 26(5):365-367.



# False-negative rate cannot be reduced by lowering the haemoglobin concentration cut-off in colorectal cancer screening using faecal immunochemical test

Gemma Ibañez-Sanz<sup>a</sup>, Montse Garcia<sup>a</sup>, Núria Milà<sup>a</sup>, Francisco Rodríguez-Moranta<sup>b,c</sup>, Gemma Binefa<sup>a</sup>, Javier Gómez-Matas<sup>a</sup>, Lúcia Benito<sup>a</sup>, Isabel Padrol<sup>a</sup>, Mercè Barenys<sup>d,e</sup> and Victor Moreno<sup>a,c,e</sup>

The aim of this study was to analyse false-negative (FN) results of the faecal immunochemical test (FIT) and its determinants in a colorectal cancer screening programme in Catalonia. We carried out a cross-sectional study among 218 screenees with a negative FIT result who agreed to undergo a colonoscopy. A false-negative result was defined as the detection, at colonoscopy, of intermediate/high-risk polyps or colorectal cancer in a patient with a previous negative FIT (< 20 µgHb/g). Multivariate logistic regression models were constructed to identify sociodemographic (sex, age) and screening variables (quantitative faecal haemoglobin, colonoscopy findings) related to FN results. Adjusted odds ratios and their 95% confidence intervals were estimated. There were 15.6% FN FIT results. Faecal haemoglobin was undetected in 45.5% of these results and was below 4 µgHb/g in 94.0% of the individuals with a FN result. About 60% of the lesions were located in the proximal colon, whereas the expected percentage was 30%.

## Introduction

Colorectal cancer (CRC) screening by faecal occult blood testing has been shown to reduce CRC incidence and mortality. This has led to the widespread implementation of faecal-based CRC screening programmes. Although the faecal immunochemical test (FIT) has been reported to be more sensitive than the guaiac-based faecal occult blood test, it is still far from a perfect screening test. The diagnostic accuracy of FIT may vary depending on the cut-off value for a positive test result and brand. The most commonly used FIT is OC-Sensor (Eiken Chemical Co. Ltd, Tokyo, Japan), with a threshold concentration of 20 µgHb/g (100 ngHb/ml). A meta-analysis (Lee et al, 2014) reported a pooled estimation of sensitivity and specificity for OC-Sensor (Eiken Chemical Co. Ltd) for CRC in average-risk asymptomatic patients of 0.86 [95% confidence interval (CI), 0.68 to 0.95] and 91% (95% CI, 0.87 to 0.94), respectively. The sensitivity of FIT for detecting advanced neoplasia (intermediate/high-risk lesions/CRC) is much lower, leading to many false negative (FN) results) and offers false reassurance to participants.

Here, we aimed to determine the FN result proportion in a population-based CRC screening programme using

Decreasing the positivity threshold of FIT does not increase the detection rate of advanced neoplasia, but may increase the costs and potential adverse effects. *European Journal of Cancer Prevention* 26:365–367 Copyright © 2017 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

*European Journal of Cancer Prevention* 2017, 26:365–367

Keywords: adverse effects, colorectal cancer screening, faecal immunochemical test, false negative

<sup>a</sup>Cancer Prevention and Control Programme, Catalan Institute of Oncology, IDIBELL, <sup>b</sup>Department of Gastroenterology and Hepatology, University Hospital of Bellvitge-IDIBELL, <sup>c</sup>Consortium for Biomedical Research in Epidemiology and Public Health (CIBEResp), <sup>d</sup>Department of Gastroenterology and Hepatology, Hospital of Viladecans and <sup>e</sup>Department of Clinical Sciences, University of Barcelona, Barcelona, Spain

Correspondence to Montse Garcia, PhD, Cancer Prevention and Control Unit, Catalan Institute of Oncology, Av. Gran Via, 199-203, L 'Hospitalet de Llobregat, 08908 Barcelona, Catalonia, Spain  
Tel: + 34 932 607 186; fax: + 34 932 607 956; e-mail: mgarcia@iconcologia.net

Received 9 March 2016 Accepted 29 June 2016

FIT to identify risk factors associated with a FN result and to explore potential improvements related to defining an optimal cut-off for positivity.

## Material and methods

### Screening procedure

A detailed description of the population-based screening procedure has been provided elsewhere (Garcia et al, 2015). Briefly, in 2000, a biennial screening programme was launched by the Catalan Institute of Oncology (Barcelona, Spain). From 2010, we have been using the quantitative FIT OC-Sensor, with a cut-off of faecal haemoglobin (f-Hb) of less than 20 µgHb/g faeces (< 100 ngHb/ml buffer).

The CRC Screening Programme in L 'Hospitalet de Llobregat (Barcelona, Catalonia, Spain) invited 58 184 men and women aged 50–69 years to participate in the sixth round of screening from 26 November 2012 to 3 November 2014. About 40% of the individuals invited agreed to participate (n = 22 970). Of those, 21 726 individuals had a negative result in FIT and 1229 individuals had a positive test (positivity rate: 5.4%). The study participants were individuals with a negative FIT between November 2013 and October 2014. A random

sample of these individuals was invited to participate by telephone or by letter until the sample size was reached. A total of 218 individuals with negative FIT agreed to undergo total colonoscopy. The sample size was calculated to determine the proportion of FN results with a  $\pm 4\%$  precision for the 95% confidence interval (95% CI). The expected proportion of FN in FIT was anticipated at 10% (Brenner and Tao, 2013; Stegeman et al, 2013).

A FN result was defined as a negative FIT result ( $< 20 \mu\text{gHb/g}$ ), followed by a colonoscopy result with intermediate-risk lesions, high-risk lesions or CRC. Intermediate-risk lesions were defined as 3–4 tubular adenomas of less than 10 mm with low-grade dysplasia or at least one adenoma 10–19 mm; high-risk lesions were defined as at least five adenomas or at least one adenoma of at least 20 mm (Atkin et al, 2012). The location of the CRC was defined according to its anatomic distribution: proximal colon (colon above the level of and including the splenic flexure), distal (descending colon and sigmoid colon) and rectum. Synchronous lesions were classified according to the most advanced lesion.

#### Data collection

The CRC screening programme information system enabled data collection of demographic variables (sex, age) and screening variables (f-Hb concentration, colonoscopy findings). The study protocol was approved by the ethics committee of our institution with code PR178/11. Participants provided written informed consent before their participation.

Table 1 Factors associated with false-negative results for the detection of intermediate/high-risk lesions/CRC using FIT

	n (%)		Adjusted OR <sup>a</sup>	95% CI
	True positive	False negative		
Sex				
Male	332 (67.8)	15 (45.5)	1.0	
Female	158 (32.2)	18 (54.6)	2.6	1.3 –5.2
Age (years)				
50–59	216 (44.1)	16 (48.5)	1.0	
60–69	274 (55.9)	17 (51.5)	0.8	0.4 –1.6
Location of the principal lesion				
Proximal colon	131 (28.7)	19 (59.4)	1.0	
Distal colon	326 (71.3)	13 (40.6)	0.3	0.1 –0.6
Rectum	51 (11.2)	3 (9.4)	0.4	0.1 –1.4
Size of the principal lesion (mm)				
< 10	136 (34.0)	19 (59.4)	1.0	
$\geq 10$	264 (66.0)	13 (40.6)	0.4	0.2 –0.8
Number of polyps				
1	72 (15.9)	10 (30.3)	1.0	
2–4	225 (49.7)	18 (54.6)	0.7	0.3 –1.6
$\geq 5$	156 (34.4)	5 (15.2)	0.3	0.1 –1.0
Flat morphology				
No	352 (77.7)	23 (69.7)	1.0	
Yes	101 (22.3)	10 (30.3)	1.5	0.7 –3.3

CI, confidence interval; CRC, colorectal cancer; FIT, faecal immunochemical test; OR, odds ratio.

<sup>a</sup>Adjusted by age and sex.

#### Data analysis

Multivariate logistic regression models were constructed to identify variables associated with a FN result. Adjusted odds ratios and their 95% CI were estimated.

#### Results

During the study period, 218 individuals (39.4% men and 60.6% women) underwent screening colonoscopy despite their negative FIT result. Participants without a complete colonoscopy or with a poor bowel preparation ( $n=7$ ) were excluded from the analysis. Colonoscopies were performed at a median of 91 days after FIT result.

During the same period, 1229 screenees had a positive FIT. More than 87% agreed to continue with the diagnostic procedure and 587 had negative findings on colonoscopy or low-risk adenoma. In contrast, 490 had intermediate-risk lesions, high-risk lesions or CRC (46% positive predictive value).

The overall proportion of FN results was 15.6% ( $n=33$ , 95% CI: 10.8–20.4%). Of these, 31 (14.7%) had an intermediate-risk lesion, only 2 (0.9%) had a high-risk lesion and no CRC was detected.

Among individuals with a FN result ( $n=33$ ), a total of 61 polyps were identified (Table 1): 59 (96.7%) were adenomas and 2 (3.3%) were sessile serrated adenomas. In terms of adenoma characteristics, most of them had a sessile morphology [sessile:  $n=37$  (71.2%); pedunculated:  $n=8$  (15.4%); flat: 7 (13.5%)] and a tubular histology. There were some missing data ( $n=9$ ). No differences in the distribution of adenoma morphology were found on comparison with lesions identified in screening. However, we observed that 59.4% of the lesions among individuals with a negative FIT were located in the proximal colon, whereas the expected percentage was only 28.7%, as observed for lesions detected in screening ( $P < 0.01$ ). Also, the size of the principal lesion was smaller for FN results and fewer polyps were identified (Table 1). Women had a higher percentage of FN results than true-positive results. However, there were no differences in terms of age.

We explored whether a better cut-off for f-Hb could be defined to increase test sensitivity (Table 2). However,

Table 2 Faecal haemoglobin concentration among individuals with a negative FIT

Faecal haemoglobin ( $\mu\text{gHb/g}$ )	n	Negative FIT [n (%)]	
		True negative	False negative
Undetected	113	97 (54.5)	16 (48.5)
0.2–3.9	72	57 (32.0)	15 (45.5)
4.0–7.9	18	16 (9.0)	2 (6.0)
8.0–11.9	4	4 (2.3)	0 (0)
12.0–15.9	2	2 (1.1)	0 (0)
16.0–20.0	2	2 (1.1)	0 (0)

FIT, faecal immunochemical test.

f-Hb was undetectable in 48.5% of the patients with a FN result and was below 8µgHg/g in up to 94%. Eight cases with values between 8 and 20µgHg/g were true negative (Table 2). There was no difference in the time delay between the faeces collection and the laboratory analysis date among FN and true-negative patients ( $P = 0.62$ ).

## Discussion

In this study, carried out in a population-based CRC screening programme using FIT, we observed an overall proportion of 15.6% FN results. This is a relatively high value compared with other studies (Brenner and Tao, 2013; Stegeman et al, 2013), which detected between 6.4 and 7.7%. However, differences in screening age group and the cut-off level of these studies constrain their comparability. Also, our population might have some selection bias as we included screenees who voluntarily agreed to undergo a colonoscopy despite their negative FIT.

Awareness of the FN rate should be emphasized to clinicians and patients to ensure that those with symptoms are not falsely reassured and slip through the diagnostic net. Although our study was not powered to specifically estimate false-negative CRC, it is important to highlight that no CRC was found and only two patients (2.1%) had sessile serrated adenoma, which is similar to a previous study carried out in a FIT-based screening programme in Spain (Alvarez et al, 2013). Table 1 shows that women have more FN and this could be explained by the fact that they have lower f-Hb probably because of their slower colonic transit time (Fraser et al, 2015). There were more lesions in the distal than the proximal colon, which can be caused by the partial degradation of Hb during bowel passage, suggesting a differential sensitivity of FIT with respect to left-sided and right-sided lesions (Haug et al, 2011). It is also important to highlight that the three lesions in the rectum were detected in women. This could be related to previous reports of a higher occurrence of rectal cancer among women in studies of interval cancers, which often are related to FN results (Digby et al, 2015). Moreover, lesions detected in the FN group were smaller than those detected in screening, which can be explained by the fact that f-Hb is related to the size of the lesions (Digby et al, 2013).

A key finding was that most of the FN had an almost undetectable concentration off-Hb. This indicates that these FN lesions would have not been identified by lowering the threshold off-Hb and, taking into account that some countries have a limited colonoscopy capacity, future studies should compare these results using a higher cut-off f-Hb concentration (Digby et al, 2015). We also analysed whether sample processing delay could influence f-Hb concentration, although no differences were observed between true and FN results.

In conclusion, decreasing the positivity threshold of FIT does not increase the detection rate of advanced neoplasia,

but may increase the costs and potential adverse effects. However, we should not ignore gastrointestinal symptoms and better inform our target population that successive screening is required to detect CRC early.

## Acknowledgements

The authors are part of the Adverse Effects on Colorectal Cancer Screening in Catalonia (EACC) Study ' working group. Other members of the 'Adverse Effects on Colorectal Cancer Screening in Catalonia (EACC) Study ' working group are Núria Maiz, Laura Pareja, Òlbia Serra, Antonio Soriano and Carmen Vidal. Sample collection of this work was supported by ICOBIOBANC, sponsored by the Catalan Institute of Oncology.

This study was partially cofunded by the Carlos III Health Institute, the European Regional Development Fund – a way to build Europe (PI11/01439, PI14-00613, PI12/00992, RD12/003670053) and by the Department of Universities and Research (2014SGR635, 2014SGR647), Government of Catalonia.

Author contributions: Study design: V.M., G.I. and M.G.; literature review: G.I. and M.G.; analysis: N.M., J.G.M.; draft of the manuscript: G.I., M.G. and V.M.; acquisition of data: L.B., I.P., M.B., F.R.M.; G.B.; revision of the manuscript: all authors.

## Conflicts of interest

There are no conflicts of interest.

## References

- Álvarez C, Andreu M, Castells A, Quintero E, Bujanda L, Cubiella J, et al., ColonPrev Study Investigators (2013). Relationship of colonoscopy-detected serrated polyps with synchronous advanced neoplasia in average-risk individuals. *Gastrointest Endosc* 78:333.e1 – 341.e1.
- Atkin WS, Valori R, Kuipers EJ, Hoff G, Senore C, Segnan N, et al., International Agency for Research on Cancer (2012). European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis. First Edition – colonoscopic surveillance following adenoma removal. *Endoscopy* 44 (Suppl 3):SE151 – SE163.
- Brenner H, Tao S (2013). 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* 49:3049 – 3054.
- Digby J, Fraser CG, Carey FA, McDonald PJ, Strachan JA, Diamant RH, et al. (2013). Faecal haemoglobin concentration is related to severity of colorectal neoplasia. *J Clin Pathol* 66:415 – 419.
- Digby J, Fraser CG, Carey FA, Lang J, Stanners G, Steele RJ (2015). Interval cancers using a quantitative faecal immunochemical test (FIT) for haemoglobin when colonoscopy capacity is limited. *J Med Screen* [Epub ahead of print].
- Fraser CG, Auge JM, PROCOLON Group (2015). Faecal haemoglobin concentrations do vary across geography as well as with age and sex: ramifications for colorectal cancer screening. *Clin Chem Lab Med* 53:e235 – e237.
- García M, Milà N, Binefa G, Benito L, Gonzalo N, Moreno V (2015). Faecal hemoglobin concentration as a measure of risk to tailor colorectal cancer screening: are we there yet? *Eur J Cancer Prev* 24:321 – 327.
- Haug U, Knudsen AB, Brenner H, Kuntz KM (2011). Is fecal occult blood testing more sensitive for left- versus right-sided colorectal neoplasia? A systematic literature review. *Expert Rev Mol Diagn* 11:605 – 616.
- Lee JK, Liles EG, Bent S, Levin TR, Corley DA (2014). Accuracy of faecal immunochemical tests for colorectal cancer: systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med* 160:171.
- Stegeman I, de Wijkerslooth TR, Stoop EM, van Leerdam M, van Ballegooijen M, Kraaijenhagen RA, et al. (2013). Risk factors for false positive and for false negative test results in screening with fecal occult blood testing. *Int J Cancer* 133:2408 – 2414.



**ARTICLE 3: Risk model for colorectal cancer in Spanish population using environmental and genetic factors: results from the MCC-Spain study**

---

**Ibáñez-Sanz G**, Díez-Villanueva A, Alonso MH, Rodríguez-Moranta F, Pérez-Gómez B, Bustamante M, Martín V, Llorca J, Amiano P, Ardanaz E, Tardón A, Jiménez-Moleón JJ, Peiró R, Alguacil J, Navarro C, Guinó E, Binefa G, Navarro PF, Espinosa A, Dávila-Batista V, Molina AJ, Palazuelos C, Castaño-Vinyals G, Aragonés N, Kogevinas M, Pollán M, Moreno V. *Scientific Reports*. 2017; 24;7:43263.





# SCIENTIFIC REPORTS



OPEN

## Risk Model for Colorectal Cancer in Spanish Population Using Environmental and Genetic Factors: Results from the MCC-Spain study

Received: 29 September 2016

Accepted: 20 January 2017

Published: 24 February 2017

Gemma Ibáñez-Sanz<sup>1</sup>, Anna Díez-Villanueva<sup>1</sup>, M. Henar Alonso<sup>1,2</sup>, Francisco Rodríguez-Moranta<sup>2,3</sup>, Beatriz Pérez-Gómez<sup>2,4,5</sup>, Mariona Bustamante<sup>2,6</sup>, Vicente Martín<sup>2,7</sup>, Javier Llorca<sup>2,8</sup>, Pilar Amiano<sup>2,9</sup>, Eva Ardanaz<sup>2,10</sup>, Adonina Tardón<sup>2,11</sup>, Jose J. Jiménez-Moleón<sup>2,12</sup>, Rosana Peiró<sup>2,13</sup>, Juan Alguacil<sup>2,14</sup>, Carmen Navarro<sup>2,15</sup>, Elisabet Guinó<sup>1,2</sup>, Gemma Binefa<sup>1,2</sup>, Pablo Fernández Navarro<sup>2,4,5</sup>, Anna Espinosa<sup>2,6</sup>, Verónica Dávila-Batista<sup>7</sup>, Antonio José Molina<sup>2,7</sup>, Camilo Palazuelos<sup>8</sup>, Gemma Castaño-Vinyals<sup>2,6,16,17</sup>, Nuria Aragonés<sup>2,4,5</sup>, Manolis Kogevinas<sup>2,6,16,17,18</sup>, Marina Pollán<sup>2,4,5</sup> & Victor Moreno<sup>1,2,19</sup>

Colorectal cancer (CRC) screening of the average risk population is only indicated according to age. We aim to elaborate a model to stratify the risk of CRC by incorporating environmental data and single nucleotide polymorphisms (SNP). The MCC-Spain case-control study included 1336 CRC cases and 2744 controls. Subjects were interviewed on lifestyle factors, family and medical history. Twenty-one CRC susceptibility SNPs were genotyped. The environmental risk model, which included alcohol consumption, obesity, physical activity, red meat and vegetable consumption, and nonsteroidal anti-inflammatory drug use, contributed to CRC with an average per factor OR of 1.36 (95% CI 1.27 to 1.45). Family history of CRC contributed an OR of 2.25 (95% CI 1.87 to 2.72), and each additional SNP contributed an OR of 1.07 (95% CI 1.04 to 1.10). The risk of subjects with more than 25 risk alleles (5<sup>th</sup> quintile) was 82% higher (OR 1.82, 95% CI 1.11 to 2.98) than subjects with less than 19 alleles (1<sup>st</sup> quintile). This risk model, with an AUROC curve of 0.63 (95% CI 0.60 to 0.66), could be useful to stratify individuals. Environmental factors had more weight than the genetic score, which should be considered to encourage patients to achieve a healthier lifestyle.

<sup>1</sup>Cancer Prevention and Control Program, Catalan Institute of Oncology-IDIBELL, L'Hospitalet de Llobregat, Spain. <sup>2</sup>CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Madrid, Spain. <sup>3</sup>Gastroenterology Department, Bellvitge University Hospital-IDIBELL, L'Hospitalet de Llobregat, Spain. <sup>4</sup>Environmental and Cancer Epidemiology Department, National Center of Epidemiology - Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain. <sup>5</sup>Oncology and Hematology Area, IIS Puerta De Hierro, Cancer Epidemiology Research Group, Madrid, Spain. <sup>6</sup>ISGlobal Centre for Research in Environmental Epidemiology (CREAL), Barcelona, Spain. <sup>7</sup>Instituto de Biomedicina (IBIOMED). Grupo de investigación en interacciones gen ambiente y salud. Universidad de León, León, Spain. <sup>8</sup>Universidad de Cantabria - IDIVAL, Santander, Spain. <sup>9</sup>Public Health Division of Gipuzkoa, Biodonostia Research Institute, San Sebastian, Spain. <sup>10</sup>Navarra Public Health Institute, Navarra, Spain. <sup>11</sup>University Institute of Oncology of Asturias (IUOPA), Universidad de Oviedo, Oviedo, Spain. <sup>12</sup>Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA), Hospitales Universitarios de Granada, Granada, Spain. <sup>13</sup>Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunitat Valenciana FISABIO-Salud Pública, Valencia. <sup>14</sup>Centre for Research in Health and Environment (CYSMA), Universidad de Huelva, Huelva, Spain. <sup>15</sup>Department of Epidemiology, Murcia Regional Health Council, IMIB-Arraxaca and Department of Health and Social Sciences, Universidad de Murcia, Murcia, Spain. <sup>16</sup>IMIM (Hospital Del Mar Medical Research Institute), Barcelona, Spain. <sup>17</sup>Universitat Pompeu Fabra (UPF), Barcelona, Spain. <sup>18</sup>School of Public Health, Athens, Greece. <sup>19</sup>Department of Clinical Sciences, Faculty of Medicine, University of Barcelona, Barcelona, Spain. Correspondence and requests for materials should be addressed to V.M. (email: v.moreno@iconcologia.net)

Colorectal cancer (CRC) screening by faecal occult blood testing has been demonstrated to reduce CRC incidence and mortality<sup>1</sup>, as well as being a cost-effective strategy compared to no screening<sup>2,3</sup>. Recent evidence of the benefit-harms balance of cancer screening has led to proposals for more personalized strategies based on individual cancer risk. Effectiveness of a screening strategy depends on the average cancer risk of the target population. Today, the target population is defined basically by age ( $\geq 50$  years old), which has been called a 'one-size-fits-all' strategy<sup>4</sup>. This strategy implies performing unnecessary screening tests in low-risk people leading to avoidable risks for patients and extra costs for the healthcare system. On the other hand, high-risk patients may receive non-invasive testing, which is a suboptimal screening technique in their case. A risk-based CRC screening that included environmental risk factors, family history of CRC, and information derived from genetic susceptibility loci could improve not only the efficacy of the screening program but also the adherence of high-risk patients when properly informed of their personal risk.

Several risk prediction models, either for CRC or advanced neoplasia, have been previously developed, all with limited discriminating ability<sup>5–10</sup>. These studies have encompassed the traditional environmental risk factors for CRC including age, sex, family history of CRC, smoking, alcohol, Body Mass Index (BMI), physical activity, diet, and some drugs (nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAID), acetylsalicylic acid (ASA), calcium and vitamins). Furthermore, with the identification of CRC-associated common single-nucleotide polymorphisms (SNPs), a few studies have added genetic susceptibility information together with some of the clinical risk factors<sup>6,11–14</sup>. Each common low-penetrance allele is associated with a small increase in risk of CRC, but the combined effect of multiple SNPs may achieve a higher degree of risk discrimination, which could be useful to stratify the population<sup>15–18</sup>. In this study we have developed a risk stratification model that combines environmental factors with family history and genetic susceptibility. Furthermore, we have interpreted the relative contribution of these factors and the utility of the model for risk stratification and public health intervention.

## Materials and Methods

**Study population.** A detailed description of the MCC-Spain case-control study has been provided elsewhere<sup>19</sup>. Briefly, between 2008–2013, 10183 subjects aged 20–85 years were enrolled in 23 hospitals and primary care centres in 12 Spanish provinces (Madrid, Barcelona, Navarra, Girona, Gipuzkoa, León, Asturias, Murcia, Huelva, Cantabria, Valencia, and Granada). Eligible subjects included histological confirmed incident cases of CRC ( $n = 2171$ ). Potential controls that reported having had a diagnosis of CRC were excluded. Both cases and controls were free of personal CRC history. Controls were frequency-matched to cases, by age, sex, and region, ensuring that in each region there was at least one control of the same sex and a 5-year interval for each case. For the present study, a subset including 1336 CRC cases and 2744 controls with genotype data were analysed.

**Data collection.** A structured computerized epidemiological questionnaire was administered by trained personnel in a face-to-face interview. Also, subjects filled in a semi-quantitative Food Frequency Questionnaire (FFQ), and blood samples and anthropometric data were obtained following the study protocol.

Only variables clearly related with CRC were considered for the development of risk models. The variables considered were: family history of CRC (none versus first or second or third-degree); cigarette smoking, grouped into non-smokers and smokers (including former and current); average alcohol consumption between 30 and 40 years of age (in standard units of alcohol, SUA), categorized into low-risk and high-risk consumption ( $>4$  SUA/day in men and  $>2$  SUA/day in women)<sup>20</sup>; BMI (calculated with the weight reported at 45 years of age), which was categorized according to World Health Organization criteria as underweight, normal weight, and overweight ( $<30$  kg/m<sup>2</sup>) versus obese ( $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>); average physical exercise, measured from self-reported leisure-time activity performed in the past 10 years and used to estimate the Metabolic Equivalent of Task (MET) per hour per week, calculated using the Ainsworth's compendium of physical activities<sup>21</sup>, and categorized as no physical activity in leisure time (0 MET) and any physical activity in spare time ( $>0$  MET); red meat consumption, including meat from mammals (cattle, oxen, veal, beef, pork, etc.), meat from hunting birds (duck, pheasant, etc.), organ meats (liver, brains, etc.), cured meat (ham, bacon, etc.), and processed meat (hot dogs, sausages, meat balls, etc.). High intake of red meat was considered eating  $\geq 65$  g/day; vegetables, classified as low or high intake using 200 g/day as cut-off.

All the patients' drugs were recorded but only nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) (cyclooxygenase 1 and 2 inhibitors) and ASA were taken into account for this study. Patients were considered users of NSAIDs/ASA if they consumed  $\geq 1$  times/day for at least 1 year.

The location of the CRC was defined according to its anatomic distribution: proximal colon (colon above the level of the splenic flexure, or including it), distal (descending colon and sigmoid colon), and rectum.

All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee, and with the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments or comparable ethical standards. The protocol of MCC-Spain was approved by each of the ethics committees of the participating institutions. The specific study reported here was approved by the Bellvitge Hospital Ethics Committee with reference PR 149/08. Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

**Genotyping.** The Infinium Human Exome BeadChip (Illumina, San Diego, USA) was used to genotype  $>200000$  coding markers plus 5000 additional custom SNPs selected from previous GWAS studies or genes of interest. The genotyping array included 25 SNPs previously identified as susceptibility variants for CRC in genome-wide association studies (GWAS)<sup>22</sup>. Ten SNPs were in the commercial array; we included in the custom content 15 more that had been identified at the time of designing the array (July 2012). For regions where multiple SNPs had been reported, we included only the most statistically significant SNP for each locus when linkage disequilibrium was  $>0.5$ . As a result, we included a total of 21 SNPs in the final analysis, detailed in Table 1.

SNP	Chr	Position	Mapped Gene	Risk Allele	Risk Allele Frequency	Reported <i>p</i> -value	Reported OR	OR MCC-Spain	95% CI	<i>p</i> -value
<b>rs10752881</b>	<b>1</b>	<b>183004356</b>	<b>KRT18P28 - LAMC1</b>	<b>A</b>	<b>0.76</b>	<b>5.0E-06</b>	<b>1.07</b>	<b>1.11</b>	<b>1.01–1.21</b>	<b>0.04</b>
rs6691170	1	221872104	DUSP10 - QRSL1P2	T	0.31	1.0E-09	1.06	1.09	0.99–1.20	0.08
rs10936599	3	169774313	MYNN	C	0.19	3.0E-08	1.04	1.10	0.98–1.23	0.11
rs1321311	6	36655123	N/A	C	0.30	1.0E-10	1.10	1.03	0.93–1.15	0.54
rs7758229	6	160419220	SLC22A3	T	0.67	8.0E-09	1.28	1.07	0.96–1.18	0.21
rs16892766	8	116618444	LINC00536 - EIF3H	C	0.39	3.0E-18	1.27	1.17	0.98–1.39	0.08
<b>rs6983267</b>	<b>8</b>	<b>127401060</b>	<b>CCAT2 - LOC101930033</b>	<b>G</b>	<b>0.82</b>	<b>1.0E-14</b>	<b>1.27</b>	<b>1.10</b>	<b>1.00–1.21</b>	<b>0.04</b>
rs10795668	10	8659256	RNA5SP299 - LINC00709	G	0.73	5.0E-15	1.15	1.06	0.95–1.17	0.30
rs4948317	10	58811675	BICC1	C	0.30	7.0E-08	1.10	1.07	0.97–1.18	0.19
rs3802842	11	111300984	COLCA2 - COLCA1	C	0.08	6.0E-10	1.11	1.09	0.98–1.20	0.12
rs3824999	11	74634505	POLD3	G	0.13	4.0E-10	1.08	1.09	1.00–1.20	0.06
rs10879357	12	72020783	TPH2	G	0.50	3.0E-06	1.25	1.00	0.91–1.11	0.94
rs11169552	12	50761880	DIP2B - ATF1	C	0.82	2.0E-10	1.09	1.02	0.91–1.14	0.80
rs7315438	12	115453598	TBX3 - UBA52P7	T	0.41	6.0E-06	1.11	1.03	0.94–1.13	0.53
rs4444235	14	53944201	RPS3AP46 - MIR5580	C	0.43	8.0E-10	1.11	1.03	0.94–1.13	0.51
rs9929218	<b>16</b>	<b>68787043</b>	<b>CDH1</b>	<b>G</b>	<b>0.46</b>	<b>1.0E-08</b>	<b>1.10</b>	<b>1.13</b>	<b>1.01–1.25</b>	<b>0.03</b>
rs4939827	<b>18</b>	<b>48927093</b>	<b>SMAD7</b>	<b>T</b>	<b>0.27</b>	<b>8.0E-28</b>	<b>1.20</b>	<b>1.22</b>	<b>1.11–1.34</b>	<b>0.03</b>
rs10411210	19	33041394	RHPN2	C	0.31	5.0E-09	1.15	1.01	0.88–1.16	0.92
rs4925386	20	62345988	LAMA5	C	0.58	2.0E-10	1.08	1.08	0.98–1.19	0.14
rs961253	<b>20</b>	<b>6423634</b>	<b>FGFR3P3 - CASC20</b>	<b>A</b>	<b>0.28</b>	<b>2.0E-10</b>	<b>1.12</b>	<b>1.10</b>	<b>1.00–1.22</b>	<b>0.05</b>
rs5934683	X	9783434	GPR143 - SHROOM2	C	0.57	7.0E-10	1.07	1.04	0.93–1.17	0.46

**Table 1.** Association between the 21 selected previously reported SNPs and risk of CRC in the study population. SNPs associated with CRC risk in MCC population with  $p < 0.05$  are highlighted in bold.

**Statistical analysis.** Multivariate logistic regression models were used to build risk models. All models were adjusted by a propensity score<sup>23</sup> to reduce bias related to differences in case and control selection frequencies, and account for the frequency matched design of the study. The propensity score model was constructed as the individual prediction (in logit scale) of a logistic regression in which case/control status was modelled with age, sex, level of education, recruiting centre, and the first 3 principal components of genetic ancestry obtained from genotyping data. The interactions between age and sex and centre and sex were also included in the model. The propensity score was added as a continuous variable to adjust the risk models. Since age and sex were used as stratification factors for frequency matching the selection of controls, these variables cannot contribute to the risk model.

An environmental risk score (ERS) was built including all the significant covariates that can be modified (alcohol use, BMI, physical exercise, red meat and vegetable intake, and NSAIDs/ASA use). Family history was not considered in this environmental score since it is not modifiable, and its effect was assessed as a separate factor. Missing values in variables were imputed using the expected value derived from a model built with complete cases. For categorical variables, the most frequent value was imputed.

To assess genetic susceptibility, an additive genetic risk score (GRS) was put together. Each SNP was coded as 0, 1, or 2 copies of the risk allele except for the SNP rs5934683 in chromosome X that was coded 0, 0.5, and 1. We defined the GRS as the count of risk alleles across all 21 SNPs, ranging from 12 to 33. Since the published effects of each SNP were similar, an unweighted GRS was preferred. We also explored the models using weights derived from the GWAS publications and models fitted to our data, but the predictive accuracy was very similar.

The predictive accuracy of models was assessed with the area under the ROC curve (AUROC), adjusted for the propensity score. Data were split into quintiles of propensity scores, and the weighted mean of the AUROC for each quintile model was calculated. Weights were proportional to the number of cases in each quintile. To account for potential overfitting that could overestimate the effect of GRS, especially for more complex models using weights, 5-fold cross validation was used to estimate the AUROC. In addition, the 95% CIs were calculated using bootstrapping techniques on top of the cross-validated estimates.

To estimate the potential public health impact of the ERS and GRS, we applied the estimated odds ratios (OR) to population average CRC incidence estimations published by the International Agency for Research on Cancer (IARC). Data were extracted from the publication Cancer Incidence in Five Continents (CI5) Volume X, for the Spanish cancer registries<sup>24</sup>. Average age and gender-specific cumulative risks for the Spanish population were

Characteristic	Control		Case		Crude OR	95% CI
	n	%	n	%		
Age						
25–50 years	394	14.43	80	6.04	1.00	
50–70 years	1441	52.76	649	48.98	2.22	1.71–2.87
70–90 years	909	33.28	607	45.81	3.29	2.53–4.27
Sex						
Female	1275	46.47	471	35.25	1.00	
Male	1469	53.53	865	64.75	1.59	1.39–1.82
Family History of CRC						
No	2411	87.86	1044	78.14	1.00	
Yes	333	12.14	292	21.86	2.25	1.87–2.71
Smoking						
Non-smoker	1195	43.55	557	41.69	1.00	
Former/Current smoker	1549	56.45	779	58.31	1.20	1.04–1.38
Alcohol						
Low consumption	2317	84.44	1036	77.54	1.00	
High consumption	427	15.56	300	22.46	1.38	1.16–1.63
Body Mass Index at age 45						
<30 kg/m <sup>2</sup>	2556	93.15	1194	89.37	1.00	
≥30 kg/m <sup>2</sup>	188	6.85	142	10.63	1.36	1.07–1.73
Physical activity in leisure time (MET)						
Yes	1687	61.48	717	53.67	1.00	
No	1057	38.52	619	46.33	1.37	1.19–1.58
Vegetables						
>200 g/day	846	30.83	345	25.82	1.00	
≤200 g/day	1898	69.17	991	74.18	1.39	1.19–1.62
Red meat						
≤65 g/day	1621	59.07	662	49.55	1.00	
>65 g/day	1123	40.93	674	50.45	1.38	1.20–1.59
NSAID/ASA						
Regular use in the last year	1995	72.70	1064	79.64	1.00	
Non-use/sporadically use	749	27.30	272	20.36	1.54	1.31–1.82

**Table 2. Characteristics of the MCC-Spain study participants.** MET: Metabolic equivalent of task per hour per week; NSAID: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs; ASA: acetylsalicylic acid.

projected according to combinations of ERS and GRS to define risk strata. For these estimates, the published cumulative risks were multiplied by the ORs estimated from out risk models. We used the average number of risk factors and risk alleles in the population as reference categories for these calculations. Also, the sensitivity and specificity values for a selection of risk scores were used, combined with the cumulative risk of developing CRC cancer for age decades from 40 years to 80 years old, in order to estimate the positive and negative predictive values. The Bayes theorem was used for these calculations.

Statistical analysis was carried out using R statistical software (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

## Results

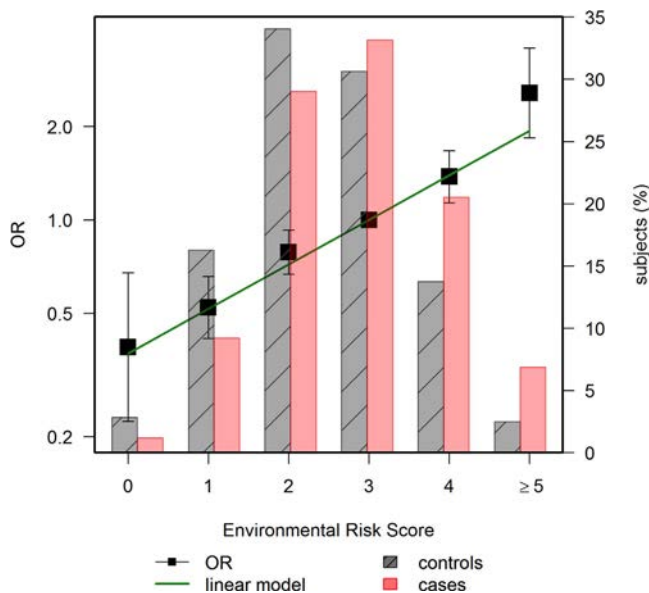
Case and control characteristics are detailed in Table 2. Variables were coded with the lower CRC risk category as reference to simplify the effects of comparison and calculation of risk scores. All the environmental variables considered for the risk model were significantly associated with CRC, after adjusting for the propensity score. The crude ORs were very similar for the categorizations selected, ranging from 1.29 (BMI ≥30 mg/kg<sup>2</sup>) to 1.57 (NSAID/ASA). The multivariate model with all environmental factors showed that all were independently contributing to CRC risk (Table 3). Tobacco was not included in the model since smoking was no longer significant when other factors were considered (adjusted OR 1.06, 95% CI 0.91 to 1.23). The ERS, calculated as the count of risk factors, indicated that on average the adjusted OR was 1.36 (95% CI 1.27 to 1.45). Figure 1 shows the distribution of the ERS for cases and controls, and the estimated risk of CRC according to the number of risk factors, compared to an average individual (ERS = 3).

Family history of CRC was strongly associated with CRC (adjusted OR 2.27, 95% CI 1.88 to 2.74). We combined first, second, or third-degree relatives with CRC in the risk group, since the ORs were very similar. This variable was independent of the environmental risk factors.

Out of 21 GWAS SNPs analysed, only 5 were statistically significant in our data (rs10752881, rs6983267, rs9929218, rs4939827, rs961253; Table 1). The contribution to risk of each SNP in the MCC-Spain study was

		Adjusted OR <sup>a</sup>	CI 95%
Genetic Risk Score	GRS (per allele)	1.07	1.04–1.10
Family history of CRC		2.25	1.87–2.72
Environmental risk factors	Alcohol	1.34	1.12–1.60
	BMI $\geq 30$ kg/m <sup>2</sup>	1.29	1.01–1.65
	No physical activity	1.34	1.16–1.55
	Vegetables $\leq 200$ g/day	1.35	1.15–1.58
	Red meat $> 65$ g/day	1.29	1.12–1.49
	No NSAID/ASA regular use	1.57	1.33–1.86
	ERS (per factor)	1.36	1.27–1.45

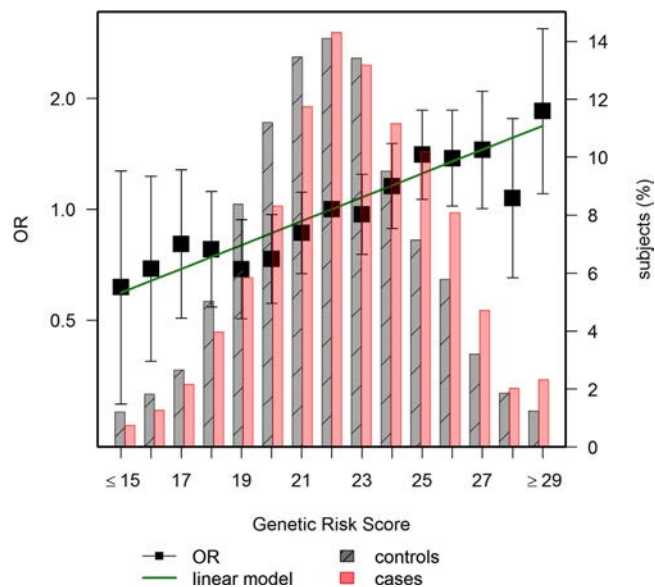
**Table 3. Multivariate-adjusted risk factors associated with CRC.** CRC: colorectal cancer; GRS: genetic risk score; ERS: environmental risk score; BMI: body mass index; NSAID: nonsteroidal anti-inflammatory drugs; ASA: acetylsalicylic acid. <sup>a</sup>All variables are adjusted by propensity score and all the variables shown in the table. <sup>b</sup>The reference category is 22 risk alleles, the average in the population.



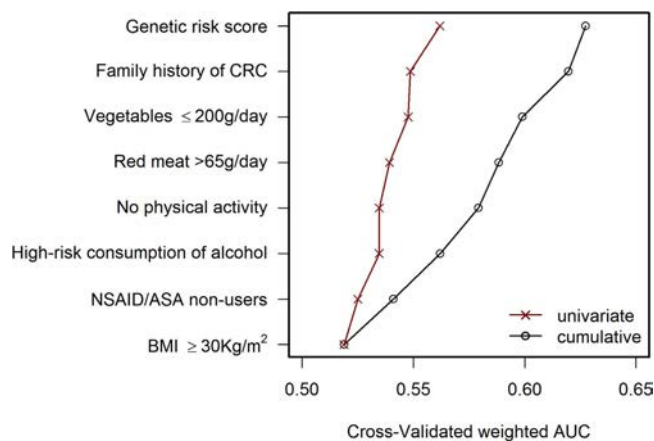
**Figure 1. Distribution and CRC risk of the environmental risk score in cases and controls.** The left axis scale indicates the OR for CRC according to the number of environmental risk factors. The category of three factors was selected as reference (OR = 1), because this is the average in the population. The right axis scale indicates the proportion of cases and controls shown in bars for each number of environmental risk factors.

small, with per allele ORs in the range of 1.00 to 1.22. The GRS built as the unweighted count of risk alleles was significantly associated with CRC, with an average per-allele OR of 1.07 (95% CI 1.04 to 1.10). The GRS was significantly associated with family history, but it only explained 0.3% of the variability. Subjects with family history had an average of 0.45 (95% CI 1.18 to 1.78,  $p = 0.0004$ ) more risk alleles, and four SNPs (rs16892766, rs10795668, rs9929217, and rs4939827) were associated with family history of CRC with  $p$ -value  $< 0.05$ . When the GRS was adjusted for family history of CRC, the OR was 1.07 (95% CI 1.05 to 1.10,  $p = 1.2e-8$ ). Cases had an average of 22.73 alleles while controls had 22.10, with ample overlap as shown in the histogram of Fig. 2. The difference in mean GRS was 0.63 alleles (95% CI 0.44 to 0.82;  $p = 1.2e-10$ ). There was an 82% increase in CRC risk (OR 1.82, 95% CI 1.11 to 2.98) between subjects with  $\leq 18$  risk alleles (first quintile) and those with  $\geq 26$  risk alleles (fifth quintile). As shown in Fig. 2, the increase in risk per allele was linear, indicating the independent additive contribution of each allele to the GRS. The risk of CRC doubled for a difference of 10 risk alleles (OR 1.96, 95% CI 1.54 to 2.50). The GRS was independent of environmental variables. Also, no significant interactions were observed between the GRS and age, sex, or any of the environmental variables included in the multivariate model.

Regarding tumour location, there were 30.7% ( $n = 405$ ) tumours located in the rectum, 40.2% ( $n = 531$ ) in the distal colon, and 29.1% ( $n = 385$ ) in the proximal colon (15 subjects had missing data). The analysis stratified by cancer location did not show relevant differences (Supplementary Table 1). In general, both environmental and genetic factors had greater effects in rectal than colon cancer. High intake of red meat was the factor with major differences between colon and rectal cancers.

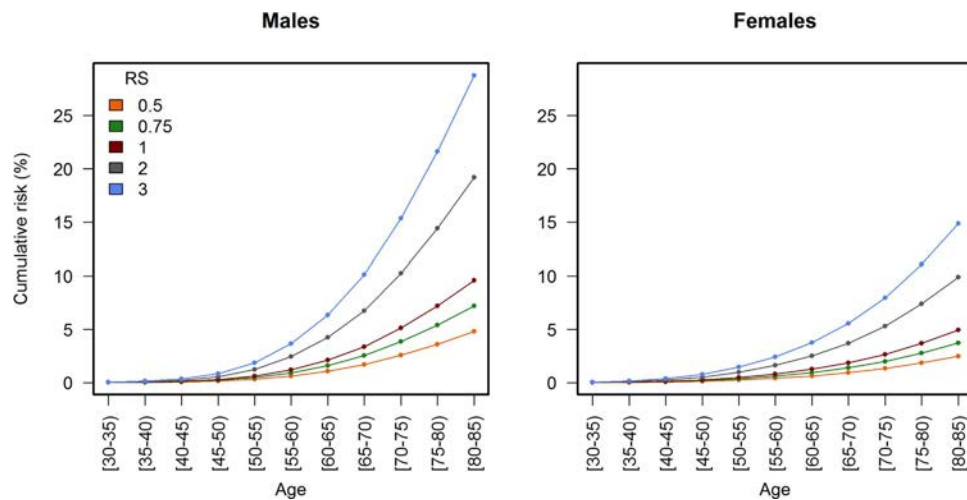


**Figure 2. Distribution and CRC risk of the genetic risk score in cases and controls.** The left axis scale indicates the OR for CRC according to the number of risk alleles. The group of 22 alleles was selected as reference category (OR = 1), because this is the average in the population. The right axis scale indicates the proportion of cases and controls shown in bars for each allele.



**Figure 3. Individual and cumulative contribution of each factor to CRC predictive accuracy.** The area under the ROC curve (AUROC), as indicator of predictive accuracy for each variable in the risk model, is shown. The left discontinuous (red) line indicates the individual contribution of each variable, and the right continuous (black) line indicates the cumulative contribution, bottom to top. Environmental variables are sorted by increasing AUROC. CRC: colorectal cancer; NSAID: nonsteroidal anti-inflammatory drugs; ASA: acetylsalicylic acid; BMI: body mass index.

**Predictive accuracy of the risk model.** The contribution to CRC risk prediction was estimated for modifiable environmental risk factors, family history, and the GRS. Figure 3 shows the individual (red discontinuous line) and cumulative (black continuous line) contribution of each environmental factor to the risk. The cumulative contribution of the seven environmental factors resulted in a cross-validated AUROC of 0.60 (95% CI 0.57 to 0.61). Family history, which is not modifiable but can be obtained by interview, increased the AUROC to 0.61 (95% CI 0.59 to 0.64). The GRS, on its own, had an AUROC of 0.56 (95% CI 0.54 to 0.58). The increase in AUROC for the model with the GRS on top of ERS and family history (FH) was 0.02, with an overall AUROC of 0.63 (95% CI 0.60 to 0.66). This 5-fold cross-validated AUROC was smaller than the direct estimate of the model, which was 0.65, indicating some optimism in the estimate even when an unweighted GRS was used. When we explored weighted models for the GRS, the 5-fold cross-validated AUROC was 0.62 (95% CI 0.60 to 0.65) for weights derived from published GWAS and 0.63 (95% CI 0.61 to 0.66) for weights derived from the fitted logistic regression model.



**Figure 4. Estimation of CRC incidence in Spain by sex, age (years), and risk score.** Color lines indicate age-specific cumulative risk rates of CRC per 100 individuals in Spain according to sex and risk score (RS), for a selection of values. The cumulative risk curve for the average individual corresponds to  $RS = 1$ . The risk score can be calculated as  $RS = 1.36^{(ERS-3)} \times 2.25^{FH} \times 1.07^{(GRS-22)}$ , where ERS is the number of environmental risk factors (average 3 in the population), FH is the presence of family history of CRC (0 = no, 1 = yes), and GRS is the number of risk alleles (average 22 in the population).<sup>99</sup>

**Estimating the potential public health impact of a risk model to stratify screening or modify risk factors in the Spanish average risk population.** A simple calculation of the relative risk could be made using the following risk score (RS) equation:  $RS = 1.36^{(ERS-3)} \times 2.25^{FH} \times 1.07^{(GRS-22)}$ . An individual with no family history ( $FH = 0$ ), three environmental risk factors ( $ERS = 3$ ), and 22 risk alleles ( $GRS = 22$ ) would have the average population risk ( $RS = 1$ ). In contrast, a subject with 6 environmental risk factors ( $ERS = 6$ ), family history ( $FH = 1$ ), and 28 risk alleles ( $GRS = 28$ ) would have an RS of 7.25 times the average risk. The distribution in the population of the RS is shown in Supplementary Figure 1.

As lifetime cumulative risk is a better individual measure of the impact of cancer burden, we calculated individual risk by applying the estimated RS to specific cumulative risk of CRC of the Spanish population. For this calculation, Spanish cancer incidence data obtained from cancer registries were used. Figure 4 shows how cumulative incidence curves are shifted according to the risk score. Supplementary Figures 2 and 3 show these analyses but specific to the ERS and GRS, respectively. As it is already known, men have a higher incidence of CRC than women, and incidence grows exponentially from 50 years of age for both sexes.

From Fig. 4 (numbers are shown in Supplementary Table 2) we can estimate that a Spanish man with average risk score ( $RS = 1$ , 22 risk alleles) has a lifetime cumulative risk of CRC of approximately 10% (5% in the case of a woman). In contrast, the lifetime cumulative risk would increase to 20% and 10% for men and women, respectively, among subjects with a risk score of 2 (29 risk alleles). The risk for a hypothetical individual at age 50 with an RS of 2 is similar as that for an individual with average risk alleles ( $GRS = 22$ ) but younger (45 years old for men). In other words, at age 45, this man with  $RS = 2$  would be at the same risk as a man with  $RS = 1$  at age 50. At older ages, since the effect is multiplicative, the relative risk anticipation is greater. The cumulative risk of CRC during the screening age period (50–69), in this scenario, would double: from 3% to 6% among men and from 2% to 4% for women.

The sensitivity, specificity, and likelihood ratios of the risk model to detect CRC for selected risk score cut-offs are shown in Table 4. The use of a high cut-off ( $RS = 5$ ) offers high specificity (98.94%) but low sensitivity (8.38%). These figures can be useful to assess the relative interest of extending the age of CRC screening for selected strata of the population with such high risk scores, either before age 50 or after age 69. As Fig. 5 and Supplementary Table 3 show, the positive predictive value of the model increases only in a relevant way at older ages, when the prior probability of CRC is higher, especially for RS over 2. The cumulative risk of developing CRC during the age range 70–79 is almost 40% for subjects with a risk score of 5.

## Discussion

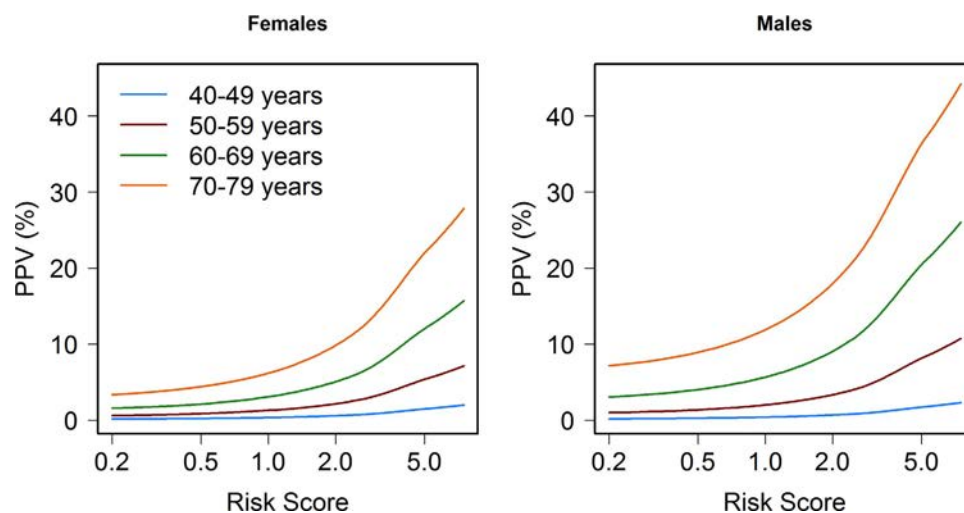
We assessed the potential utility of a risk prediction model for CRC that combines modifiable risk factors with family history of CRC and a genetic risk score based on 21 susceptibility SNPs. We have observed that modifiable risk factors have a stronger value for risk prediction than does genetic susceptibility. Though the added value of each SNP is small, the combination of 21 SNPs adds significantly to the predictive power of the risk model.

Our study is large enough to confirm that established risk factors are associated with risk: family history of CRC, high consumption of alcohol, obesity, lack of physical activity in leisure time, high intake of red meat, low intake of vegetables, and non-use of NSAIDs/ASA. These risk factors were selected based on previous evidence reported in systematic reviews and meta-analyses<sup>25–31</sup>. All were independent predictors of CRC in an average risk population, with the exception of smoking, which was only significant in the univariate analysis. A recent



Risk score	Sensitivity	Specificity	Positive Likelihood Ratio	Negative Likelihood Ratio
0.25	98.50	7.87	1.07	0.19
0.5	91.39	30.72	1.32	0.28
1	71.48	60.13	1.79	0.47
2	41.62	84.66	2.71	0.69
4	13.55	97.89	6.41	0.88
5	8.38	98.94	7.93	0.93
6	5.39	99.31	7.78	0.95

**Table 4.** Predictive performance indexes of the risk score for selected cutoffs.



**Figure 5.** Positive predictive value for CRC according to age range and risk score. Colour lines indicate the positive predictive value (PPV) for CRC for each age range. Estimates are derived from sensitivity and specificity of the risk model (Table 4) for each risk score applied to the cumulative risk of developing CRC in the age range, using Bayes' theorem.

meta-analysis on smoking has shown that the effect is small for CRC, with a summary OR smaller than 1.25, and larger for rectal than colon cancer<sup>32</sup>. We also analysed other covariates that have been associated with CRC (diabetes mellitus, inflammatory bowel disease, and diverticulitis) but they were not associated with CRC in our study, perhaps because of the small number of affected individuals. Nor was intake of vitamin D, calcium, or folic acid associated with CRC. We opted not to include statins in the model since there is controversy regarding these drugs and CRC risk<sup>33</sup>.

Our study confirms that family history of CRC is the strongest single risk factor for CRC. We found a significant association between the GRS and family history, which highlights the importance of genetic susceptibility in CRC, though family history could also contribute to risk through shared lifestyle or environmental factors. Also, gene-environment interactions may play a role in this type of cancer<sup>34–36</sup>.

Our analysis has shown that the ERS, built as an additive model of modifiable factors, has stronger association with CRC than the GRS. On average, each environmental risk factor increases CRC risk by 35%, while each risk allele only increases it by 7%. This implies that the change of one modifiable risk factor towards healthier lifestyle might offset the effect of 4 risk alleles. Given the fact that environmental factors explain a significant part of the CRC risk, we believe it to be important to give thought to incorporating clinical data to improve current screening and encourage patients to achieve a healthier lifestyle.

We also believe it is important to consider that our genotyping array only had 21 susceptibility SNPs, and today more than 60 have been identified in diverse GWAS studies<sup>22</sup>. Though SNPs identified more recently have smaller effects (in the range of 5% increased risk per allele) and smaller allele frequencies, their addition may still increase the predictive accuracy of the model in a relevant way. In our Spanish population only five SNPs out of the 21 analysed were significantly associated with CRC risk. This might be related to lack of statistical power, since with 1300 cases and 2700 controls we only have 30% power to detect an OR of 1.10, but some of the SNPs may also have effects limited to specific populations. It is reassuring, however, that all SNPs analysed had an effect in the same direction as reported in the discovery study.

Several risk prediction models for advanced neoplasia or CRC have previously been published, with AUROC between 0.65 and 0.75<sup>8</sup>. Our estimate of predictive accuracy, corrected for overfitting through cross-validation, is slightly smaller (AUROC: 0.63, 95% CI 0.60 to 0.66), but our model could not include age and gender because these factors were used to match the controls. Also the estimated risk per allele (OR 1.07, 95% CI 1.04 to 1.10)

was similar to those reported by studies which included genetic biomarkers and phenotypic variables (AUROC: 0.51–0.73)<sup>6,11–14</sup>. Dunlop *et al.*<sup>12</sup> used the combined effect of age, gender, family history, and 10 SNPs to assess CRC risk. They reported an AUROC of 0.59 and a mean per-allele increase in risk of 9%. Yarnall *et al.*<sup>11</sup> combined alcohol intake with 14 SNP obtaining an AUROC of 0.61. Hsu *et al.*<sup>6</sup> developed a risk determination model based on family history and 27 SNPs with an AUC of 0.56 and a risk per allele of 1.02–1.12. Finally, Jung *et al.*<sup>14</sup> reported an AUC of 0.74 with a model that included age, sex, smoking status, fasting serum glucose, family history of colorectal cancer, and 23 SNP.

Our study, which used more SNPs than most previous studies, as well as questionnaire data including diet, confirms that the AUROC increases with more SNPs. Furthermore, the aim of our study was also to build a risk model useful to tailoring CRC screening programs according to individuals' characteristics and calculating the potential impact of determining an individual risk score in a CRC screening population. The risk model, applied to Spanish cancer registry cumulative risk of CRC, has shown that 3 modifiable risk factors or 10 risk alleles have an expected advance of 5 years in the incidence curve of men by age 50 (2.5 years for women). The absolute effect on incidence is larger at older ages, since the effect is multiplicative. This implies that screening in average-risk populations probably should start earlier, at 45 years, for individuals with more risk factors, and could be delayed to 55 years old (or 60) for individuals with fewer risk factors or risk alleles.

Our calculations also show that it would be most useful to extend the age of CRC screening for high risk population after age 69. The positive predictive value of the model increases significantly at older ages, when the prior probability of CRC is higher. Since the conditional life expectancy of a person at age 70 still is long, extending the screening until age 79 might yield a greater reduction in CRC burden.

Moreover, we could also use the risk model to select high-risk subjects in whom colonoscopy might be the optimal initial screening technique rather than the less sensitive faecal occult blood test that is currently implemented in Spain and many other countries in Europe<sup>37</sup>. Another important point to highlight is that the use of prediction models, together with good communication tools, could increase the individual perceived risk, and consequently the participation rate and adherence to screening, especially in high-risk subjects. Moreover, the awareness of a personal risk of CRC might improve people's lifestyle and thereby reduce CRC incidence.

This study has some limitations. Our model was developed within a retrospective case-control setting, and relied on self-reported data. So, measurement error and recall bias may have led to an underestimation of the predictive accuracy. Cases and controls were not well matched regarding age, sex, and education. However, we performed all the analyses adjusted for a propensity score to reduce the possible bias related to this problem. The model is only applicable to asymptomatic individuals from the general population (average risk); subjects with symptoms or several affected relatives should be referred to colonoscopy independently of the risk score.

As already mentioned, this study only included 21 risk SNPs, while more than sixty have already been identified. More studies are needed to determine the generalizability, usefulness of information, and the cost-effectiveness of applying individual genotyping in a CRC screening program. However, it should be noted that the cost of whole-genome genotyping is decreasing, its determination only needs to be performed once in a lifetime, and the data probably will be useful for predicting risk of other diseases in addition to cancer.

In conclusion, we assessed the predictive accuracy of a model for CRC that could be useful to stratify the population into risk categories and tailor CRC screening by adapting the onset age, the intensity, and the screening test. In our model, although the genetic factors are significant contributors, the modifiable risk factors contribute more significantly. Risk assessment may increase screening participation and adoption of healthier lifestyles.

## References

- Hewitson, P., Glasziou, P., Watson, E., Towler, B. & Irwig, L. Cochrane systematic review of colorectal cancer screening using the fecal occult blood test (hemoccult): an update. *Am J Gastroenterol* **103**, 1541–1549 (2008).
- Cruzado, J., Sanchez, F. I., Abellan, J. M., Perez-Riquelme, F. & Carballo, F. Economic evaluation of colorectal cancer (CRC) screening. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* **27**, 867–880 (2013).
- Wong, M. C., Ching, J. Y., Chan, V. C. & Sung, J. J. The comparative cost-effectiveness of colorectal cancer screening using faecal immunochemical test vs. colonoscopy. *Sci Rep* **5**, 13568 (2015).
- Lieberman, D. A. *et al.* Race, ethnicity, and sex affect risk for polyps >9 mm in average-risk individuals. *Gastroenterology* **147**, 351–358; quiz e314–355 (2014).
- Imperiale, T. F., Monahan, P. O., Stump, T. E., Glowinski, E. A. & Ransohoff, D. F. Derivation and validation of a scoring system to stratify risk for advanced colorectal neoplasia in asymptomatic adults: a cross-sectional study. *Ann Intern Med* **163**, 339–346 (2015).
- Hsu, L. *et al.* A model to determine colorectal cancer risk using common genetic susceptibility loci. *Gastroenterology* **148**, 1330–1339 e1314 (2015).
- Shaukat, A. *et al.* Development and validation of a clinical score for predicting risk of adenoma at screening colonoscopy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **24**, 913–920 (2015).
- Usher-Smith, J. A., Walter, F. M., Emery, J. D., Win, A. K. & Griffin, S. J. Risk prediction models for colorectal cancer: a systematic review. *Cancer Prev Res (Phila)* **9**, 13–26 (2016).
- Ohno, T. *et al.* Development of a novel scoring system for predicting the risk of colorectal neoplasia: a retrospective study. *PLoS One* **11**, e0157269 (2016).
- Wang, H. M. *et al.* A new method for post Genome-Wide Association Study (GWAS) analysis of colorectal cancer in Taiwan. *Gene* **518**, 107–113 (2013).
- Yarnall, J. M., Crouch, D. J. & Lewis, C. M. Incorporating non-genetic risk factors and behavioural modifications into risk prediction models for colorectal cancer. *Cancer Epidemiol* **37**, 324–329 (2013).
- Dunlop, M. G. *et al.* Cumulative impact of common genetic variants and other risk factors on colorectal cancer risk in 42,103 individuals. *Gut* **62**, 871–881 (2013).
- Jo, J. *et al.* Prediction of colorectal cancer risk using a genetic risk score: the Korean Cancer Prevention Study-II (KCPS-II). *Genomics Inform* **10**, 175–183 (2012).
- Jung, K. J. *et al.* A colorectal cancer prediction model using traditional and genetic risk scores in Koreans. *BMC Genet* **16**, 49 (2015).
- Valle, L. Genetic predisposition to colorectal cancer: where we stand and future perspectives. *World J Gastroenterol* **20**, 9828–9849 (2014).
- Peters, U., Bien, S. & Zubair, N. Genetic architecture of colorectal cancer. *Gut* **64**, 1623–1636 (2015).

17. Muller, B. *et al.* Improved prediction of complex diseases by common genetic markers: state of the art and further perspectives. *Hum Genet* **135**, 259–272 (2016).
18. Chatterjee, N., Shi, J. & Garcia-Closas, M. Developing and evaluating polygenic risk prediction models for stratified disease prevention. *Nat Rev Genet* **17**, 392–406 (2016).
19. Castano-Vinyals, G. *et al.* Population-based multicase-control study in common tumors in Spain (MCC-Spain): rationale and study design. *Gac Sanit* **29**, 308–315 (2015).
20. Cordoba, R. *et al.* Recomendaciones sobre el estilo de vida. *Aten Primaria* **46** Suppl 4, 16–23 (2014).
21. Ainsworth, B. E. *et al.* Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities. *Med Sci Sports Exerc* **32**, S498–504 (2000).
22. Burdett, T. *et al.* The NHGRI-EBI Catalog of published genome-wide association studies, [www.ebi.ac.uk/gwas](http://www.ebi.ac.uk/gwas).
23. Mansson, R., Joffe, M. M., Sun, W. & Hennessy, S. On the estimation and use of propensity scores in case-control and case-cohort studies. *Am J Epidemiol* **166**, 332–339 (2007).
24. Forman, D. *et al.* Cancer Incidence in Five Continents, Vol. X (electronic version), <http://ci5.iarc.fr> (2013).
25. Alexander, D. D., Weed, D. L., Miller, P. E. & Mohamed, M. A. Red meat and colorectal cancer: a quantitative update on the state of the epidemiologic science. *J Am Coll Nutr* **34**, 521–543 (2015).
26. Aune, D. *et al.* Nonlinear reduction in risk for colorectal cancer by fruit and vegetable intake based on meta-analysis of prospective studies. *Gastroenterology* **141**, 106–118 (2011).
27. Ma, Y. *et al.* Obesity and risk of colorectal cancer: a systematic review of prospective studies. *PLoS One* **8**, e53916 (2013).
28. Liu, L. *et al.* Leisure time physical activity and cancer risk: evaluation of the WHO's recommendation based on 126 high-quality epidemiological studies. *Br J Sports Med* **50**, 372–378 (2016).
29. Fedirko, V. *et al.* Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an overall and dose-response meta-analysis of published studies. *Ann Oncol* **22**, 1958–1972 (2011).
30. Johns, L. E. & Houlston, R. S. A systematic review and meta-analysis of familial colorectal cancer risk. *Am J Gastroenterol* **96**, 2992–3003 (2001).
31. Cuzick, J. *et al.* Aspirin and non-steroidal anti-inflammatory drugs for cancer prevention: an international consensus statement. *Lancet Oncol* **10**, 501–507 (2009).
32. Cheng, J. *et al.* Meta-analysis of prospective cohort studies of cigarette smoking and the incidence of colon and rectal cancers. *Eur J Cancer Prev* **24**, 6–15 (2015).
33. Lytras, T., Nikolopoulos, G. & Bonovas, S. Statins and the risk of colorectal cancer: an updated systematic review and meta-analysis of 40 studies. *World J Gastroenterol* **20**, 1858–1870 (2014).
34. Sharafeldin, N. *et al.* A candidate-pathway approach to identify gene-environment interactions: analyses of colon cancer risk and survival. *J Natl Cancer Inst* **107** (2015).
35. Kantor, E. D. & Giovannucci, E. L. Gene-diet interactions and their impact on colorectal cancer risk. *Curr Nutr Rep* **4**, 13–21 (2015).
36. Hutter, C. M. *et al.* Characterization of gene-environment interactions for colorectal cancer susceptibility loci. *Cancer Res* **72**, 2036–2044 (2012).
37. Frampton, M. J. *et al.* Implications of polygenic risk for personalised colorectal cancer screening. *Ann Oncol* **27**, 429–434 (2016).

## Acknowledgements

Biological samples were stored at the biobanks supported by Instituto de Salud Carlos III- FEDER: Parc de Salut MAR Biobank (MARBiobanc) (RD09/0076/00036), 'Biobanco La Fe' (RD 09 0076/00021) and FISABIO Biobank (RD09 0076/00058), as well as at the Public Health Laboratory of Gipuzkoa, the Basque Biobank, the ICOBIOBANC (sponsored by the Catalan Institute of Oncology), the IUOPA Biobank of the University of Oviedo, and the ISCIII Biobank. SNP genotyping services were provided by the Spanish 'Centro Nacional de Genotipado' (CEGEN-ISCIII). We thank all the subjects who participated in the study and all MCC-Spain collaborators. This work was supported by the 'Acción Transversal del Cáncer', approved by the Spanish Ministry Council on the 11th October 2007, by the Instituto de Salud Carlos III, co-founded by FEDER funds –'a way to build Europe' (grants PI08/1770, PI08/0533, PI08/1359, PI09/00773, PI09/01286, PI09/01903, PI09/02078, PI09/01662, PI11/01403, PI11/01889, PI11/00226, PI11/01810, PI11/02213, PI12/00488, PI12/00265, PI12/01270, PI12/00715, PI12/00150, PI14/01219, PI14/00613, and PI15/00069). Support was also provided by the Fundación Marqués de Valdecilla (grant API 10/09); the Junta de Castilla y León (grant LE22A10-2); the Consejería de Salud of the Junta de Andalucía (2009-S0143); the Conselleria de Sanitat of the Generalitat Valenciana (grant AP 061/10); the Recercaixa (grant 2010ACUP 00310); the Regional Government of the Basque Country; the Consejería de Sanidad de la Región de Murcia; European Commission grants FOOD-CT-2006-036224-HIWATE; the Spanish Association Against Cancer (AECC) Scientific Foundation; the Catalan Government DURSI (grant 2014SGR647); the Fundación Caja de Ahorros de Asturias; the University of Oviedo; Societat Catalana de Digestologia; and COST action BM1206 Eucolongene.

## Author Contributions

Study conception and design: Victor Moreno and Gemma Ibáñez-Sanz. Statistical analysis: Anna Díez-Villanueva, M. Henar Alonso, Pablo Fernández Navarro and Elisabet Guinó. Preparation of genetic data: Victor Moreno, Mariona Bustamante, Camilo Palazuelos and Anna Espinosa. Coordination of substudy sites, recruitment and acquisition of data: Francisco Rodríguez-Moranta, Beatriz Pérez-Gómez, Vicente Martín, Javier Llorca, Pilar Amiano, Eva Ardanaz, Adonina Tardón, Jose J. Jiménez-Moleón, Rosana Peiro, Juan Alguacil, Carmen Navarro, Gemma Binefa Verónica Dávila-Batista, Antonio José Molina Gemma Castaño-Vinyals, Nuria Aragonés, Manolis Kogevinas and Marina Pollan. Drafting of the manuscript: Victor Moreno and Gemma Ibáñez-Sanz. Contributions to the final version of the manuscript were made by all authors.

## Additional Information

**Supplementary information** accompanies this paper at <http://www.nature.com/srep>

**Competing financial interests:** The authors declare no competing financial interests.

**How to cite this article:** Ibáñez-Sanz, G. *et al.* Risk Model for Colorectal Cancer in Spanish Population Using Environmental and Genetic Factors: Results from the MCC-Spain study. *Sci. Rep.* 7, 43263; doi: 10.1038/srep43263 (2017).

**Publisher's note:** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in the credit line; if the material is not included under the Creative Commons license, users will need to obtain permission from the license holder to reproduce the material. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

© The Author(s) 2017



## **6. DISCUSSIÓ CONJUNTA D'ARTICLES**

---



La present Tesi Doctoral la formen tres estudis que pretenen millorar l'estratègia actual de cribratge cap a una personalització d'aquest, fent especial èmfasi en minimitzar els efectes adversos i incrementar els beneficis dels individus que participen al cribratge poblacional. En aquest apartat es comenten i s'interpreten de forma global els principals resultats de la investigació en relació a la literatura prèvia i a les limitacions del propi estudi. Aquesta discussió general incorpora els elements més rellevants de la discussió que s'ha presentat en cadascun dels articles.

El **primer estudi** d'aquesta Tesi Doctoral va avaluar el risc de resultats falsos positius en la PDSOFi. La proporció de falsos positius observada va ser 53,8% (n = 254), tot i que aquesta xifra s'hauria reduït fins al 37,7% (n = 178), si s'haguessin inclòs les lesions de baix risc en la definició d'una colonoscòpia positiva. Es demostrà que el sexe femení, el cribratge successiu, tenir hemorroides i/o fissura anal i l'ús de fàrmacs inhibidors de la bomba de protons (IBP) incrementaven la probabilitat d'un resultat fals positiu en la PDSOFi.

D'acord amb l'estudi previ del nostre grup d'investigació sobre els falsos positius en la PDSOF basada en guaiac,<sup>91</sup> el risc d'un resultat fals positiu en la PDSOFi augmenta amb el cribratge successiu i el sexe femení. Per tal d'intentar explicar perquè les dones tenen una major taxa de falsos positius, es va analitzar el consum de fàrmacs, la presència de patologia anal, l'anèmia i la menstruació, sense trobar cap factor determinant. Per tant, a manca d'identificar nous factors no mesurats en aquest estudi, la raó de les diferències entre homes i dones podria ser el simple fet que aquestes tenen una menor probabilitat pre-prova de desenvolupar CCR.



Cal destacar que és el primer estudi que analitza si els inhibidors selectius de la recaptació de la serotonina, a través del seu efecte sobre l'agregació plaquetària,<sup>129</sup> podrien explicar la diferència de falsos positius entre ambdós sexes, donat que són més prescrits a les dones. Tot i que no es van obtenir diferències en el risc de falsos positius i l'ús dels inhibidors selectius de la recaptació de la serotonina, fins ara ningú mai havia investigat l'efecte d'aquests fàrmacs sobre la precisió de la PDSOFi.

Alguns estudis mostren una manca d'associació entre els resultats de la PDSOFi i la presència d'hemorroides.<sup>86-88</sup> De fet, van Turehout et al.<sup>87</sup> descriu que la probabilitat que es detecti sang a la PDSOFi provinent d'hemorroides hauria de ser limitada donada la localització i la necessitat de que la globina s'hemolitzi abans la PDSOFi pugui detectar-la. En canvi, seguint la línia dels nostres resultats, Garcia et al.<sup>91</sup> i Kim et al.<sup>130</sup> mostren una clara relació amb la patologia anal i la probabilitat d'obtenir un fals positiu.

El resultat més important a destacar d'aquest estudi és l'associació dels IBP amb un resultat fals positiu en la PDSOFi. Aquest resultat no explica la major freqüència de falsos positius a les dones, perquè l'efecte era molt més clar entre els homes. Fins ara no coneixem cap estudi publicat que hagi analitzat l'associació entre l'ús d'IBP i obtenir un resultat fals positiu a la PDSOFi. Recentment, s'ha descrit que els IBP poden provocar efectes diversos a l'intestí. S'ha trobat que predisposen a la lesió de l'intestí prim induïda per AINEs, promouen canvis en el microbioma intestinal i inhibeixen la secreció pancreàtica.<sup>131-135</sup> A més, també està descrit que aquest grup de fàrmacs pot augmentar el risc d'hemorràgia digestiva baixa.<sup>136, 137</sup> Nosaltres no vam trobar diferències entre la mitjana de concentració d'hemoglobina fecal entre individus

que prenen IBP respecte els que no en prenen. Això, suggereix que l'augment de falsos positius pot no relacionar-se amb la probabilitat de sagnat. Pensem que l'explicació més plausible és que els IBP retarden la degradació de la globina que prové del tracte gastrointestinal alt i això faria que la PDSOFi perdés la seva organoespecificitat<sup>88, 93</sup> en detectar globina no degradada provinent del tracte alt. Dit d'una altra manera, els IBP "permetrien" el diagnòstic de lesions del tracte alt perquè l'augment del pH gàstric podria evitar que el pepsinogen i el tripsinogen, enzims necessaris per a la degradació de proteïnes (com la globina), s'activessin.<sup>133</sup> D'acord amb aquesta hipòtesi, una investigació del nostre grup pendent de ser publicada<sup>138</sup> ha analitzat la precisió de la PDSOFi en 1.003 pacients simptomàtics i han trobat que l'únic factor de risc d'obtenir un resultat fals positiu en la PDSOFi era l'ús d'IBP.

La primera implicació que s'obté del primer estudi és que el factor de risc més important per obtenir falsos positius és tenir patologia hemorroïdal o fissura anal. Tenint en compte que un fals positiu implica realitzar una colonoscòpia, procediment amb cost sanitari elevat i que pot comportar efectes adversos en el pacient, seria necessari buscar una estratègia que disminuís el nombre de falsos positius per la presència d'hemorroides i/o fissura anal. Per exemple, el farmacèutic que recull la PDSOFi del cribratge poblacional podria preguntar a l'usuari si en aquell moment té molèsties anals o si pateix habitualment d'hemorroides. Si fos així i la PDSOFi tingués un resultat positiu, es podria recomanar l'aplicació de tractament tòpic durant 2-3 setmanes i un cop hagués finalitzat el tractament repetir de nou la PDSOFi. Per validar aquesta recomanació caldria fer un estudi prospectiu i un protocol abans de la seva instauració.

La pregunta clau que genera l'article és "Hauríem d'interrompre el tractament amb IBP abans de la PDSOFi?". Per això, caldria valorar el balanç de riscos i beneficis que impliquen la discontinuació dels IBPs previs a la PDSOFi. Ja hem comentat què implica obtenir un resultat positiu, però retirar un IBP també podria estar associat a efectes adversos especialment si la indicació era la protecció de fàrmacs gastrolesius, doncs en aquest cas la retirada de l'IBP podria provocar una hemorràgia digestiva alta. Si en canvi, la indicació fos la dispèpsia funcional o la malaltia per reflux gastroesofàgic podria provocar un empitjorament clínic del pacient temporalment. Si al final es cregués convenient plantejar la retirada temporal de l'IBP en alguns individus, la següent pregunta que ens hauríem de fer és: "Durant quan de temps cal retirar l'ús d'IBP prèvia a la realització de la PDSOFi?". Tot i que la vida plasmàtica d'aquests fàrmacs és de 30 a 120 minuts i la inhibició irreversible de la bomba de protons de la cèl·lula parietal pot persistir durant 48-72h, en veritat no sabem quan duren els canvis produïts en la secreció pancreàtica o la microbiota intestinal. Tampoc sabem si per produir l'efecte cal que l'ús sigui continuat ni tampoc sabem quina dosis o freqüència és necessària. A més, també caldrà descobrir quin és el mecanisme pel qual es produeix aquest efecte. Si fos per un canvi en la microbiota, caldria també fer estudis amb altres tractaments que modifiquen la microbiota intestinal com els antibiòtics. Si fos per descens del pH gàstric i, la consegüent no activació de les proteases pancreàtiques, caldria veure també si els inhibidors del receptor H2 (ranitidina i similars) o bé altres tractaments utilitzats pel reflux gastroesofàgic (almagat, bicarbonat, magnesi, etc.) produeixen aquest efecte. Per tal de respondre totes aquestes qüestions,

caldran més investigacions per determinar si la seva discontinuació disminueix la taxa de falsos positius.

Per últim, donat que el sexe femení està associat a un major risc de resultats falsos positius i a una menor incidència d'adenomes avançats i de CCR<sup>2</sup> una possible estratègia per personalitzar una mica el cribratge seria valorar diferenciar les recomanacions de cribratge segons el sexe. De fet, s'ha vist que els homes de 50 anys amb PDSOF positiu tenen una taxa de detecció d'adenoma similar a dones de 59 anys amb PDSOF positiu.<sup>139</sup> Donat que el sexe és un factor de risc determinant, no és d'estranyar que la majoria de models de predicció de risc de CCR tinguin en compte el sexe per tal d'augmentar la capacitat de discriminació.<sup>121</sup> Álvarez-Uruti et al.<sup>140</sup> va avaluar el rendiment de diferents llindars de positivitat per la detecció precoç de CCR en un programa poblacional. Va observar que en augmentar el llindar de positivitat en dones amb una edat inferior o igual a 60 anys disminuïa el nombre de colonoscòpies realitzades en un 45% sense afectar la taxa de detecció de CCR. A més, un llindar de positivitat més elevat en homes de 60 anys o menys i dones majors a 60 anys no detectava menys CCR. D'altra banda, en el subgrup d'homes majors a 60 anys si s'augmentava el llindar de positivitat, es deixaven de detectar un 25% de CCR. Seguint aquesta línia Augé et al.<sup>141</sup> van descriure com el risc de neoplàsia depenia del sexe, l'edat i de la concentració d'hemoglobina. El seu grup d'investigació observà que combinant aquestes tres variables, es podien obtenir tres categories de risc. Això es podria utilitzar no només per prioritzar la colonoscòpia dels individus sinó que potser també serviria per escollir diferents punts de tall de positivitat segons la combinació d'aquestes variables. Donat que les dones més joves (50-59 anys) són les que

tenen més risc de neoplàsia i més risc de falsos positius, podria valorar-se si la concentració d'hemoglobina a partir de la qual es recomana colonoscòpia hauria de ser superior als 20µg Hb/g establerts actualment en algun subgrup de pacients. De fet, la United States Multi-Society Task Force ja esmenta la possibilitat de fer una estratègia ajustada al risc de CCR. Suggereix valorar utilitzar la colonoscòpia com a tècnica de cribratge inicial en homes majors de 60 anys i dones majors a 65 anys sense cribratge previ i, en canvi, fer PDSOFi a pacients amb menor edat o colonoscòpia prèvia normal.<sup>120</sup> Així, caldria valorar de forma prospectiva la millor manera d'individualitzar el cribratge de manera senzilla i eficient tenint compte dades ja disponibles com edat, edat, sexe i concentració d'hemoglobina per personalitzar l'edat d'inici de cribratge i la periodicitat del cribratge.

La limitació més important és derivava del disseny retrospectiu de l'estudi. El biaix de memòria inherent en aquest tipus d'estudis va fer que possiblement alguns fàrmacs com els AINEs estiguessin reportats a la baixa, sobretot en el cas d'ús esporàdic. A més, aquest mateix biaix va fer que no poguéssim disposar de la dosi i posologia dels IBP per avaluar millor l'ús d'aquests fàrmacs en relació a la proporció de falsos positius. D'altra banda, cal destacar que aquest és el primer estudi que ha avaluat la relació entre IBP i inhibidors de la recaptació de la serotonina i un resultat fals positiu en la PDSOFi.

El **segon estudi** d'aquesta Tesi Doctoral va avaluar el risc de resultats falsos negatius en la PDSOFi. La proporció de falsos negatius observada va ser del 15,6% (n=33). D'aquests, un 14,7% d'individus tenien una colonoscòpia amb lesions de risc intermedi, només un 1% de participants tenien lesions d'alt risc i

no es va trobar cap pacient amb CCR. El sexe femení i la localització proximal s'associà a un major percentatge de falsos negatius. Això, podria estar relacionat amb el fet que el trànsit de còlon fos més prolongat en el sexe femení i en les lesions proximals, permetent la degradació de l'hemoglobina fecal.<sup>96, 142</sup> A més, les lesions no detectades per la PDSOFi eren de menor mida, la qual cosa podria explicar-se perquè l'hemoglobina fecal es correlaciona amb la mida de les lesions.<sup>97</sup> I també es va observar que disminuir el llindar de positivitat de la PDSOFi no detectava més neoplàsia avançada. De fet, en un 48,5% de pacients l'hemoglobina fecal era indetectable i en el 94% era inferior a 8µg Hb/g.

Una implicació que es deriva de l'estudi és que cal tenir present que tot i que la PDSOFi és molt útil en la pràctica diària per reduir la indicació de colonoscòpies innecessàries, no és una prova perfecta i, per tant, en pacients amb simptomatologia el metge ha de valorar realment si tot i una PDSOFi negativa cal fer una colonoscòpia. A més, tenint en compte que alguns països tenen menors recursos sanitaris i, per tant, una capacitat limitada de fer colonoscòpies caldria comparar els resultats d'un cribratge que utilitzi un llindar de positivitat més elevat.<sup>142</sup>

Tot i que nosaltres hem vist que si baixéssim el llindar de positivitat no detectaríem més pacients amb lesions d'alt o intermedi risc, s'ha descrit que el grau de positivitat es relaciona amb la severitat de les lesions i el risc de desenvolupar CCR.<sup>143-145</sup>

Una altra implicació es deriva del fet que pacients amb resultat fals negatiu tenien una concentració d'hemoglobina molt baixa o, fins i tot indetectable. van der Vlugt et al.<sup>105</sup> també va observar que un 44% de pacients amb un CCR

d'interval havien estat després d'obtenir una concentració d'hemoglobina indetectable a una PDSOFi. Això vol dir que les PDSOF no poden detectar algunes lesions perquè probablement no sagnen o ho fan de manera intermitent. Per aquesta raó cal pensar en buscar algun nou biomarcador que complementi o millori la sensibilitat de les PDSOF.<sup>146, 147</sup> Així, s'està investigant si detectar també mutacions, alteracions epigenètiques o del microbioma podrien millorar la precisió de la PDSOFi. De fet, Baxter et al.<sup>148</sup> ha demostrat que es podria utilitzar la mateixa quantitat de femta que es recull per fer la PDSOFi no només per analitzar la concentració d'hemoglobina sinó també la microbiota. Aquesta troballa és molt important donat que permet amb l'obtenció d'una única mostra analitzar dues estratègies per detectar CCR i adenomes avançats. De totes maneres, calen estudis per determinar la possibilitat d'utilitzar la microbiota pel cribratge poblacional i en aquesta línia d'investigació està treballant el nostre grup de treball de l'ICO.

En aquest estudi la limitació més important fou que la mida de la mostra va ser calculada per estimar la proporció de falsos negatius amb una precisió de  $\pm 4\%$ , i no per identificar factors determinants. Amb aquesta mida de mostra, no hi havia prou potència per detectar diferències entre ambdós grups i no es van poder analitzar determinants de falsos negatius que s'havien recollit com el tabac, el restrenyiment o l'ús de fàrmacs.

Per altra banda, cal destacar que la implementació d'aquest estudi és difícil i cara donat que és un estudi que avalua la precisió de la PDSOFi en un programa poblacional de detecció precoç on l'estratègia de cribratge està clarament definida. Doncs, l'estudi implica realitzar una colonoscòpia, prova amb possibles efectes adversos, a pacients que no caldria cap estudi

complementari donat que han obtingut un resultat negatiu en la PDSOFi. El reclutament a l'estudi es va fer per invitació telefònica i per carta, amb una taxa de participació molt baixa, el que no exclou la possibilitat de que s'hagi obtingut una població esbiaixada respecte al conjunt de persones amb resultat negatiu. La taxa de resultats falsos negatius podria estar sobreestimada si van participar amb major probabilitat persones amb símptomes menors que van tenir un resultat negatiu a la PDSOFi, però van quedar intranquil·les i van veure la possibilitat de participar a l'estudi com una opció per descartar patologia.

En el **tercer estudi** d'aquesta Tesi Doctoral es va avaluar la utilitat potencial que podria tenir un model de risc de CCR que combinés factors de risc modificables, antecedents familiars de CCR i una predisposició genètica basada en 21 polimorfismes de nucleòtid simple. El nostre estudi confirmà factors de risc de CCR establerts com els antecedents familiars de CCR, l'obesitat, la manca d'activitat física, la ingesta elevada de carn vermella i la baixa ingesta vegetals i el no consum d'antiinflamatoris no esteroïdals. Es va observar una associació entre la puntuació (score) de risc genètic (SRG) i els antecedents familiars, la qual cosa destaca la importància de la predisposició genètica en el CCR, encara que també en una família podria tenir un paper important el fet de compartir també uns estils de vida i factors ambientals comuns. L'anàlisi també va demostrar que l'estil de vida determinava més el risc de CCR que no pas el SRG. Cada factor ambiental augmentava el risc de CCR un 35% de mitjana, mentre que cada al·lel augmentava el risc en un 7%. Això implica que el fet de modificar un hàbit per aconseguir un estil de vida més saludable aconseguia compensar l'efecte de 4 al·lells de risc. Aquest fet és



d'enorme transcendència, doncs els estils de vida els podem millorar i la genètica no és modificable. Per això, creiem que és important incorporar dades clíniques per millorar el cribratge i animar als pacients a aconseguir uns hàbits saludables. De fet, tot i que cada al·lel determina només un 7%, vam observar que els individus del cinquè quintil (>25 al·lells de risc) tenien un 82% més de risc que els individus del primer quintil (<19 al·lells de risc, sobre un màxim de 42).

Fins ara ja s'han publicat diversos models de predicció de risc de neoplàsia avançada o CCR amb una àrea sota la corba ROC d'entre 0,65 i 0,76.<sup>121</sup> La nostra estimació de la precisió predictiva és lleugerament inferior (corba ROC: 0,63, IC del 95%: 0,60-0,66), probablement perquè el nostre model no va incloure l'edat i el sexe perquè aquests factors s'utilitzaren per emparellar amb els controls. El risc estimat per al·lel (OR de 1,07, IC del 95%: 1,04-1,10) va ser similar al reportat per estudis previs.<sup>125-127, 149</sup> Dunlop et al.<sup>125</sup> utilitzà l'efecte combinat amb edat, sexe, antecedents familiars i 10 SNPs per avaluar el risc de CCR i va obtenir una àrea sota la corba ROC de 0,59 i un increment mitjà per al·lel de risc del 9%. Hsu et al.<sup>126</sup> va desenvolupar un model de determinació del risc basat en els antecedents familiars i 27 SNPs amb una àrea sota la corba ROC de 0,56 i un risc per al·lel de 1,02-1,12. Finalment, Jung et al.<sup>127</sup> reportà una àrea sota la corba ROC de 0,74 amb un model que va incloure l'edat, el sexe, el tabac, la glucosa, antecedents familiars de CCR, i 23 SNP.

El nostre estudi, que utilitzà no només 21 SNP sinó, a més, un qüestionari amb dades clíniques i de dieta, també tenia l'objectiu de crear un model de risc útil per personalitzar el programa de cribratge de CCR i calcular l'impacte potencial

de determinar el risc d'un individu que participi al cribratge. El model de risc (tenint en compte el risc de CCR acumulat segon els registres de càncer d'Espanya),<sup>2</sup> mostrà que tenir 3 factors ambientals modificables o 10 al·lels de risc feia que la incidència de càncer s'avancés 5 anys en homes de 50 anys d'edat (2,5 anys a dones). L'efecte absolut sobre la incidència encara era major en edat més avançada, doncs l'efecte és multiplicatiu. Això implica que en pacients amb risc de CCR de risc mig probablement caldria valorar d'edat d'inici de cribratge, començant als 45 anys en pacients amb més factors de risc i als 55 (o 60) anys en pacients amb menys factors de risc. A més, segons els nostres càlculs vam veure que també seria útil ampliar l'edat del cribratge de CCR més enllà dels 69 anys en població d'alt risc. El valor predictiu del model augmentava significativament amb l'edat, donada la major probabilitat de CCR. Donat que l'esperança de vida d'un pacient de 70 anys encara és llarga, ampliar el cribratge fins als 79 anys en pacients d'alt risc podria tenir un gran impacte en la reducció del nombre de càncers.

A més, es podria utilitzar el model de risc per seleccionar pacients d'alt risc en els quals la colonoscòpia podria ser la millor tècnica de cribratge inicial enlloc d'indicar una PDSOF. Un altre punt important a ressaltar és que l'ús de models de predicció, acompanyats d'una informació adequada, podria augmentar el risc percebut, i conseqüentment la participació i adherència al cribratge en pacients d'alt risc. Aquesta percepció de risc probablement també contribuiria a millorar l'estil de vida dels individus i, amb això, reduir-se el nombre de casos incidents de CCR.

Calen més estudis per determinar la possibilitat de generalitzar, veure la utilitat de la informació i la cost-efectivitat de l'aplicació de la realització d'un genotipat

en un programa de cribatge de CCR. No obstant això, cal tenir en compte que el cost de realitzar un estudi de tot el genoma està disminuint i la seva determinació només necessita ser realitzat una vegada en la vida. A més, el fet de fer un genotipat implicaria conèixer no només la susceptibilitat genètica al CCR sinó que les dades obtingudes probablement serien útils per predir el risc d'altres malalties a part del càncer.

El model de risc obtingut per predir CCR es va basar en informació obtinguda de casos i controls retrospectiu i, per això, en aquest cas cal destacar les limitacions inherents a un estudi de casos i controls retrospectiu basat en dades autoreportades. Així, l'error de mesura i el biaix de record pot haver donat lloc a una subestimació de l'exactitud de predicció. A més, en l'anàlisi es va observar que els casos i controls no eren comparables pel que fa a edat, sexe i educació. Per reduir la limitació que això comportava, vam realitzar totes les anàlisis ajustades per una puntuació (propensity score) que incloïa edat, sexe, nivell educatiu, comunitat autònoma i polimorfismes genètics associats a ètnia. Una altre punt a destacar, més que no pas una limitació, és que el model creat només és aplicable a individus asimptomàtics de la població general (risc poblacional). D'aquesta manera, individus amb símptomes o diversos familiars afectats se'ls ha d'indicar la realització d'una colonoscòpia independentment de la puntuació de risc.

D'altra banda, cal destacar que aquest és el primer estudi realitzat en el nostre país que ha avaluat un model de predicció de risc de CCR basat en estils de vida, antecedents familiars i predisposició genètica. A més, per estimar el potencial impacte en la salut pública de la puntuació de les variables ambientals i genètiques, es va utilitzar la incidència de càncer segons els

registres de càncer espanyols publicades a l'Agència Internacional per a la Investigació sobre el Càncer (IARC).<sup>2</sup> D'aquesta manera, vam estimar el nombre d'individus que podrien ser inclosos dins la categoria d'alt risc i que potser mereixerien una estratègia de cribratge més individualitzat.

En conclusió, tot i que la PDSOF ha demostrat ser una estratègia de cribratge que disminueix la mortalitat per CCR i, que per aquesta raó s'ha implementat arreu del món, encara dista de ser una prova de detecció precoç perfecte. Creiem que cal millorar aquesta prova de detecció precoç o trobar-ne una millor per aconseguir centrar l'esforç en pacients amb major risc de CCR, evitar el sobretractament de pacients sans, disminuir els efectes adversos del cribratge i optimitzar els recursos de la sanitat pública.



## **7. CONCLUSIONS**

---



Els resultats obtinguts en els estudis que componen aquesta Tesi Doctoral permeten extreure les següents conclusions:

1. La proporció de falsos positius en la PDSOFi observada va ser del 53,8%.
2. El sexe femení, el cribratge successiu, tenir hemorroides o fissura anal i l'ús d'inhibidors de la bomba de protons incrementen la probabilitat d'un resultat fals positiu en la PDSOFi.
3. La proporció de falsos negatius en la PDSOFi observada va ser del 15,6%.
4. Disminuir el llindar de positivitat de la PDSOFi no detectaria més neoplàsia avançada i augmentaria els costos i els riscos innecessaris pels pacients.
5. Les lesions localitzades al còlon proximal augmenten la probabilitat d'un resultat fals negatiu a la PDSOFi.
6. Les variables que es van associar de forma independent a un augment de risc de CCR van ser el nombre d'al·lels de risc, antecedents familiars de CCR, l'obesitat, no realitzar activitat física, menjar molta carn vermella, menjar pocs vegetals, i el no consum d'antiinflamatoris no esteroïdals.
7. Els individus del cinquè quintil (>25 al·lels de risc) tenien un 82% més de risc que els individus del primer quintil (<19 al·lels de risc, sobre un màxim de 42 al·lels).



8. L'estil de vida determina més el risc de CCR que no pas la genètica, per la qual cosa s'ha d'animar els pacients a aconseguir uns hàbits saludables.
9. El model de risc podria permetre estratificar la població en grups de risc de CCR i així ajustar la periodicitat del cribratge o edat final de cribratge segons el risc individual.

## **8. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES**

---



1. Galceran J, Ameijide A, Carulla M, et al. Cancer incidence in Spain, 2015. *Clin Transl Oncol* 2017;19:799-825.
2. Ferlay J SI, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2013.
3. Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, et al. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut* 2016;66:683-691.
4. Taylor DP, Burt RW, Williams MS, et al. Population-based family history-specific risks for colorectal cancer: a constellation approach. *Gastroenterology* 2010;138:877-85.
5. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med* 1988;319:525-32.
6. Leggett B, Whitehall V. Role of the serrated pathway in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology* 2010;138:2088-100.
7. Risio M. The natural history of adenomas. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2010;24:271-80.
8. Group ECR. Update on the paris classification of superficial neoplastic lesions in the digestive tract. *Endoscopy* 2005;37:570-8.
9. O'Brien MJ, Winawer SJ, Zauber AG, et al. The National Polyp Study. Patient and polyp characteristics associated with high-grade dysplasia in colorectal adenomas. *Gastroenterology* 1990;98:371-9.
10. Saini SD, Kim HM, Schoenfeld P. Incidence of advanced adenomas at surveillance colonoscopy in patients with a personal history of colon adenomas: a meta-analysis and systematic review. *Gastrointest Endosc* 2006;64:614-26.
11. Martinez ME, Baron JA, Lieberman DA, et al. A pooled analysis of advanced colorectal neoplasia diagnoses after colonoscopic polypectomy. *Gastroenterology* 2009;136:832-41.
12. von Karsa L, Patnick J, Segnan N, et al. European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis: overview and introduction to the full supplement publication. *Endoscopy* 2013;45:51-9.
13. Song M, Garrett WS, Chan AT. Nutrients, foods, and colorectal cancer prevention. *Gastroenterology* 2015;148:1244-60 e16.
14. Johnson CM, Wei C, Ensor JE, et al. Meta-analyses of colorectal cancer risk factors. *Cancer Causes Control* 2013;24:1207-22.
15. Aune D, Lau R, Chan DS, et al. Nonlinear reduction in risk for colorectal cancer by fruit and vegetable intake based on meta-analysis of prospective studies. *Gastroenterology* 2011;141:106-18.
16. Carr PR, Walter V, Brenner H, et al. Meat subtypes and their association with colorectal cancer: Systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer* 2016;138:293-302.
17. Heine-Broring RC, Winkels RM, Renkema JM, et al. Dietary supplement use and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analyses of prospective cohort studies. *Int J Cancer* 2015;136:2388-401.
18. Feng YL, Shu L, Zheng PF, et al. Dietary patterns and colorectal cancer risk: a meta-analysis. *Eur J Cancer Prev* 2016;26:201-211.
19. Ma Y, Yang Y, Wang F, et al. Obesity and risk of colorectal cancer: a systematic review of prospective studies. *PLoS One* 2013;8:e53916.
20. Liu L, Shi Y, Li T, et al. Leisure time physical activity and cancer risk: evaluation of the WHO's recommendation based on 126 high-quality epidemiological studies. *Br J Sports Med* 2016;50:372-8.
21. Cheng J, Chen Y, Wang X, et al. Meta-analysis of prospective cohort studies of cigarette smoking and the incidence of colon and rectal cancers. *Eur J Cancer Prev* 2015;24:6-15.
22. Fedirko V, Tramacere I, Bagnardi V, et al. Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an overall and dose-response meta-analysis of published studies. *Ann Oncol* 2011;22:1958-72.
23. Esposito K, Chiodini P, Capuano A, et al. Colorectal cancer association with metabolic syndrome and its components: a systematic review with meta-analysis. *Endocrine* 2013;44:634-47.

24. Hursting SD, Hursting MJ. Growth signals, inflammation, and vascular perturbations: mechanistic links between obesity, metabolic syndrome, and cancer. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32:1766-70.
25. Aleksandrova K, Pischon T, Jenab M, et al. Combined impact of healthy lifestyle factors on colorectal cancer: a large European cohort study. *BMC Med* 2014;12:168.
26. Schuz J, Espina C, Villain P, et al. European Code against Cancer 4th Edition: 12 ways to reduce your cancer risk. *Cancer Epidemiol* 2015;39 Suppl 1:S1-10.
27. Romaguera D, Gracia-Lavedan E, Molinuevo A, et al. Adherence to nutrition-based cancer prevention guidelines and breast, prostate and colorectal cancer risk in the MCC-Spain case-control study. *Int J Cancer* 2017;141:83-93.
28. Gann PH, Manson JE, Glynn RJ, et al. Low-dose aspirin and incidence of colorectal tumors in a randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:1220-4.
29. Flossmann E, Rothwell PM, British Doctors Aspirin T, et al. Effect of aspirin on long-term risk of colorectal cancer: consistent evidence from randomised and observational studies. *Lancet* 2007;369:1603-13.
30. Baron JA, Cole BF, Sandler RS, et al. A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas. *N Engl J Med* 2003;348:891-9.
31. Sandler RS, Halabi S, Baron JA, et al. A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas in patients with previous colorectal cancer. *N Engl J Med* 2003;348:883-90.
32. Wang Y, Zhang FC, Wang YJ. The efficacy and safety of non-steroidal anti-inflammatory drugs in preventing the recurrence of colorectal adenoma: a meta-analysis and systematic review of randomized trials. *Colorectal Dis* 2015;17:188-96.
33. Bertagnolli MM, Eagle CJ, Zauber AG, et al. Celecoxib for the prevention of sporadic colorectal adenomas. *N Engl J Med* 2006;355:873-84.
34. Arber N, Eagle CJ, Spicak J, et al. Celecoxib for the prevention of colorectal adenomatous polyps. *N Engl J Med* 2006;355:885-95.
35. Force UPST. Draft Recommendation Statement: Aspirin Use to Prevent Cardiovascular Disease and Colorectal Cancer: Preventive Medication: U.S. Preventive Services Task Force, 2015.
36. Lytras T, Nikolopoulos G, Bonovas S. Statins and the risk of colorectal cancer: an updated systematic review and meta-analysis of 40 studies. *World J Gastroenterol* 2014;20:1858-70.
37. Algra AM, Rothwell PM. Effects of regular aspirin on long-term cancer incidence and metastasis: a systematic comparison of evidence from observational studies versus randomised trials. *Lancet Oncol* 2012;13:518-27.
38. Alberts DS, Martinez ME, Roe DJ, et al. Lack of effect of a high-fiber cereal supplement on the recurrence of colorectal adenomas. Phoenix Colon Cancer Prevention Physicians' Network. *N Engl J Med* 2000;342:1156-62.
39. Schatzkin A, Lanza E, Corle D, et al. Lack of effect of a low-fat, high-fiber diet on the recurrence of colorectal adenomas. Polyp Prevention Trial Study Group. *N Engl J Med* 2000;342:1149-55.
40. Prentice RL, Aragaki AK, Van Horn L, et al. Low-fat dietary pattern and cardiovascular disease: results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2017;106:35-43.
41. Joshi CE, Parmigiani G, Colditz GA, et al. Opportunities for the primary prevention of colorectal cancer in the United States. *Cancer Prev Res (Phila)* 2012;5:138-45.
42. Winkels RM, van Lee L, Beijer S, et al. Adherence to the World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research lifestyle recommendations in colorectal cancer survivors: results of the PROFILES registry. *Cancer Med* 2016;5:2587-95.
43. Kirkegaard H, Johnsen NF, Christensen J, et al. Association of adherence to lifestyle recommendations and risk of colorectal cancer: a prospective Danish cohort study. *BMJ* 2010;341:c5504.
44. Wilson JMG, Junger G. Principles and practice of screening for disease. Geneva: World Health Organisation., 1968.
45. Andermann A, Blancquaert I, Beauchamp S, et al. Revisiting Wilson and Junger in the genomic age: a review of screening criteria over the past 40 years. *Bull World Health Organ* 2008;86:317-9.
46. López Bastida J. Análisis coste-efectividad del cribado del cáncer colorrectal en la población general. Santa Cruz de Tenerife: Ministerio de Sanidad y Consumo, 2010.

47. Senore C, Inadomi J, Segnan N, et al. Optimising colorectal cancer screening acceptance: a review. *Gut* 2015;64:1158-77.
48. Lönnberg S, Šekerija M, Malila N, et al. European Guide on Quality Improvement in Comprehensive Cancer Control. Cancer screening: policy recommendations on governance, organization and evaluation of cancer screening. Ljubljana: National Institute of Public Health, 2017.
49. Ponti A, Anttila A, Ronco G, et al. Report on the implementation of the Council Recommendation on cancer screening. Cancer Screening in the European Union. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2017.
50. Lynge E, Tornberg S, von Karsa L, et al. Determinants of successful implementation of population-based cancer screening programmes. *Eur J Cancer* 2012;48:743-8.
51. Lin JS, Piper MA, Perdue LA, et al. Screening for Colorectal Cancer: A Systematic Review for the U.S. Preventive Services Task Force. Rockville (MD), 2016.
52. Bibbins-Domingo K, Grossman DC, Curry SJ, et al. Screening for Colorectal Cancer: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA* 2016;315:2564-75.
53. Inadomi JM. Screening for Colorectal Neoplasia. *N Engl J Med* 2017;376:149-156.
54. Brenner H, Stock C, Hoffmeister M. Effect of screening sigmoidoscopy and screening colonoscopy on colorectal cancer incidence and mortality: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials and observational studies. *BMJ* 2014;348:g2467.
55. Zauber AG, Winawer SJ, O'Brien MJ, et al. Colonoscopic polypectomy and long-term prevention of colorectal-cancer deaths. *N Engl J Med* 2012;366:687-96.
56. Hewitson P, Glasziou P, Watson E, et al. Cochrane systematic review of colorectal cancer screening using the fecal occult blood test (hemoccult): an update. *Am J Gastroenterol* 2008;103:1541-9.
57. Zorzi M, Fedeli U, Schievano E, et al. Impact on colorectal cancer mortality of screening programmes based on the faecal immunochemical test. *Gut* 2015;64:784-90.
58. Chiu HM, Chen SL, Yen AM, et al. Effectiveness of fecal immunochemical testing in reducing colorectal cancer mortality from the One Million Taiwanese Screening Program. *Cancer* 2015;121:3221-9.
59. Chiang TH, Chuang SL, Chen SL, 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.
60. Robertson DJ, Lee JK, Boland CR, et al. Recommendations on Fecal Immunochemical Testing to Screen for Colorectal Neoplasia: A Consensus Statement by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. *Gastroenterology* 2017;152:1217-1237 e3.
61. Lee JK, Liles EG, Bent S, et al. Accuracy of fecal immunochemical tests for colorectal cancer: systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med* 2014;160:171.
62. de Wijkerslooth TR, Stoop EM, Bossuyt PM, et al. Immunochemical fecal occult blood testing is equally sensitive for proximal and distal advanced neoplasia. *Am J Gastroenterol* 2012;107:1570-8.
63. Lin JS, Piper MA, Perdue LA, et al. Screening for Colorectal Cancer: Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. *JAMA* 2016;315:2576-94.
64. Lewis JD, Ng K, Hung KE, et al. Detection of proximal adenomatous polyps with screening sigmoidoscopy: a systematic review and meta-analysis of screening colonoscopy. *Arch Intern Med* 2003;163:413-20.
65. Segnan N, Senore C, Andreoni B, et al. Comparing attendance and detection rate of colonoscopy with sigmoidoscopy and FIT for colorectal cancer screening. *Gastroenterology* 2007;132:2304-12.
66. Denis B, Gendre I, Sauleau EA, et al. Harms of colonoscopy in a colorectal cancer screening programme with faecal occult blood test: a population-based cohort study. *Dig Liver Dis* 2013;45:474-80.
67. Knudsen AB, Zauber AG, Rutter CM, et al. Estimation of Benefits, Burden, and Harms of Colorectal Cancer Screening Strategies: Modeling Study for the US Preventive Services Task Force. *JAMA* 2016;315:2595-609.
68. Winawer SJ, Zauber AG, Ho MN, et al. Prevention of colorectal cancer by colonoscopic polypectomy. The National Polyp Study Workgroup. *N Engl J Med* 1993;329:1977-81.

69. Singh H, Nugent Z, Demers AA, et al. The reduction in colorectal cancer mortality after colonoscopy varies by site of the cancer. *Gastroenterology* 2010;139:1128-37.
70. Kahi CJ, Imperiale TF, Juliar BE, et al. Effect of screening colonoscopy on colorectal cancer incidence and mortality. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7:770-5.
71. Quintero E, Castells A, Bujanda L, et al. Colonoscopy versus fecal immunochemical testing in colorectal-cancer screening. *N Engl J Med* 2012;366:697-706.
72. Dominitz JA, Robertson DJ. Colonoscopy vs Fecal Immunochemical Test in Reducing Mortality From Colorectal Cancer (CONFIRM) [NCT01239082], Accessed May 25, 2017. <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01239082>.
73. Hultcrantz R. Colonoscopy and FIT as Colorectal Cancer Screening Test in the Average Risk Population [NCT02078804], Accessed May 25, 2017. <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02078804>.
74. Kaminski MF, Bretthauer M, Zauber AG, et al. The NordICC Study: rationale and design of a randomized trial on colonoscopy screening for colorectal cancer. *Endoscopy* 2012;44:695-702.
75. Spada C, Pasha SF, Gross SA, et al. Accuracy of First- and Second-Generation Colon Capsules in Endoscopic Detection of Colorectal Polyps: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016;14:1533-1543 e8.
76. Dickinson BT, Kisiel J, Ahlquist DA, et al. Molecular markers for colorectal cancer screening. *Gut* 2015;64:1485-94.
77. Imperiale TF, Ransohoff DF, Itzkowitz SH, et al. Multitarget stool DNA testing for colorectal-cancer screening. *N Engl J Med* 2014;370:1287-97.
78. Ladabaum U, Mannalithara A. Comparative Effectiveness and Cost Effectiveness of a Multitarget Stool DNA Test to Screen for Colorectal Neoplasia. *Gastroenterology* 2016;151:427-439 e6.
79. Church TR, Wandell M, Lofton-Day C, et al. Prospective evaluation of methylated SEPT9 in plasma for detection of asymptomatic colorectal cancer. *Gut* 2014;63:317-25.
80. Gray JA, Austoker J. Quality assurance in screening programmes. *Br Med Bull* 1998;54:983-92.
81. Bobridge A, Bampton P, Cole S, et al. The psychological impact of participating in colorectal cancer screening by faecal immuno-chemical testing--the Australian experience. *Br J Cancer* 2014;111:970-5.
82. Parker MA, Robinson MH, Scholefield JH, et al. Psychiatric morbidity and screening for colorectal cancer. *J Med Screen* 2002;9:7-10.
83. Kapidzic A, Korfage IJ, van Dam L, et al. Quality of life in participants of a CRC screening program. *Br J Cancer* 2012;107:1295-301.
84. Lafata JE, Simpkins J, Lamerato L, et al. The economic impact of false-positive cancer screens. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13:2126-32.
85. Wong MC, Ching JY, Chan VC, et al. Factors associated with false-positive and false-negative fecal immunochemical test results for colorectal cancer screening. *Gastrointest Endosc* 2015;81:596-607.
86. Stegeman I, de Wijkerslooth TR, Stoop EM, et al. Risk factors for false positive and for false negative test results in screening with fecal occult blood testing. *Int J Cancer* 2013;133:2408-14.
87. van Turenhout ST, Oort FA, Terhaar sive Droste JS, et al. Hemorrhoids detected at colonoscopy: an infrequent cause of false-positive fecal immunochemical test results. *Gastrointest Endosc* 2012;76:136-43.
88. Chiang TH, Lee YC, Tu CH, et al. Performance of the immunochemical fecal occult blood test in predicting lesions in the lower gastrointestinal tract. *CMAJ* 2011;183:1474-81.
89. Kim NH, Park JH, Park DI, et al. Risk Factors for False Fecal Immunochemical Test Results in Colorectal Cancer Screening. *J Clin Gastroenterol* 2017;51:151-159.
90. Gandhi S, Narula N, Gandhi S, et al. Does acetylsalicylic acid or warfarin affect the accuracy of fecal occult blood tests? *J Gastroenterol Hepatol* 2013;28:931-6.
91. Garcia M, Mila N, Binefa G, et al. False-positive results from colorectal cancer screening in Catalonia (Spain), 2000-2010. *J Med Screen* 2012;19:77-82.
92. AEG-SEED. Guía de práctica clínica de calidad de la colonoscopia de cribado del cáncer colorectal: EDIMSA, 2011.

93. Levi Z, Vilkin A, Niv Y. Esophago-gastro-duodenoscopy is not indicated in patients with positive immunochemical test and nonexplanatory colonoscopy. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010;22:1431-4.
94. Sanduleanu S, le Clercq CM, Dekker E, et al. Definition and taxonomy of interval colorectal cancers: a proposal for standardising nomenclature. *Gut* 2015;64:1257-67.
95. 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.
96. Haug U, Knudsen AB, Brenner H, et al. Is fecal occult blood testing more sensitive for left- versus right-sided colorectal neoplasia? A systematic literature review. *Expert Rev Mol Diagn* 2011;11:605-16.
97. Digby J, Fraser CG, Carey FA, et al. Faecal haemoglobin concentration is related to severity of colorectal neoplasia. *J Clin Pathol* 2013;66:415-9.
98. Chiu HM, Lee YC, Tu CH, et al. Association between early stage colon neoplasms and false-negative results from the fecal immunochemical test. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013;11:832-8 e1-2.
99. Brown LF, Fraser CG. Effect of delay in sampling on haemoglobin determined by faecal immunochemical tests. *Ann Clin Biochem* 2008;45:604-5.
100. Grazzini G, Ventura L, Zappa M, et al. Influence of seasonal variations in ambient temperatures on performance of immunochemical faecal occult blood test for colorectal cancer screening: observational study from the Florence district. *Gut* 2010;59:1511-5.
101. Steele RJ, McClements P, Watling C, et al. Interval cancers in a FOBT-based colorectal cancer population screening programme: implications for stage, gender and tumour site. *Gut* 2012;61:576-81.
102. Denters MJ, Deutekom M, Bossuyt PM, et al. Lower risk of advanced neoplasia among patients with a previous negative result from a fecal test for colorectal cancer. *Gastroenterology* 2012;142:497-504.
103. van Roon AH, Goede SL, van Ballegooijen M, et al. Random comparison of repeated faecal immunochemical testing at different intervals for population-based colorectal cancer screening. *Gut* 2013;62:409-15.
104. Gill MD, Bramble MG, Rees CJ, et al. Comparison of screen-detected and interval colorectal cancers in the Bowel Cancer Screening Programme. *Br J Cancer* 2012;107:417-21.
105. van der Vlugt M, Grobbee EJ, Bossuyt PMM, et al. Interval Colorectal Cancer Incidence Among Subjects Undergoing Multiple Rounds of Fecal Immunochemical Testing. *Gastroenterology* 2017;153:439-447 e2.
106. Nishida H, Urano S. Effectiveness of repeated screening using the fecal occult blood test and its impact on reducing false-negative cancer cases. *Eur J Cancer Prev* 2011;20:184-9.
107. Croswell JM, Ransohoff DF, Kramer BS. Principles of cancer screening: lessons from history and study design issues. *Semin Oncol* 2010;37:202-15.
108. Luo D, Cambon AC, Wu D. Evaluating the long-term effect of FOBT in colorectal cancer screening. *Cancer Epidemiol* 2012;36:e54-60.
109. Brenner H, Altenhofen L, Stock C, et al. Prevention, early detection, and overdiagnosis of colorectal cancer within 10 years of screening colonoscopy in Germany. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015;13:717-23.
110. Cottet V, Jooste V, Fournel I, et al. Long-term risk of colorectal cancer after adenoma removal: a population-based cohort study. *Gut* 2012;61:1180-6.
111. Zorzi M, Senore C, Turrin A, et al. Appropriateness of endoscopic surveillance recommendations in organised colorectal cancer screening programmes based on the faecal immunochemical test. *Gut* 2015;65:1822-1828.
112. Arguello L, Pertejo V, Ponce M, et al. The appropriateness of colonoscopies at a teaching hospital: magnitude, associated factors, and comparison of EPAGE and EPAGE-II criteria. *Gastrointest Endosc* 2012;75:138-45.
113. Schoen RE, Pinsky PF, Weissfeld JL, et al. Utilization of surveillance colonoscopy in community practice. *Gastroenterology* 2010;138:73-81.
114. Murphy CC, Sandler RS, Grubber JM, et al. Underuse and Overuse of Colonoscopy for Repeat Screening and Surveillance in the Veterans Health Administration. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016;14:436-444 e1.



115. Laiyemo AO, Pinsky PF, Marcus PM, et al. Utilization and yield of surveillance colonoscopy in the continued follow-up study of the polyp prevention trial. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7:562-7.
116. Barratt A, Mannes P, Irwig L, et al. Cancer screening. *J Epidemiol Community Health* 2002;56:899-902.
117. Lansdorp-Vogelaar I, Gulati R, Mariotto AB, et al. Personalizing age of cancer screening cessation based on comorbid conditions: model estimates of harms and benefits. *Ann Intern Med* 2014;161:104-12.
118. Day LW, Walter LC, Velayos F. Colorectal cancer screening and surveillance in the elderly patient. *Am J Gastroenterol* 2011;106:1197-206.
119. van Hees F, Saini SD, Lansdorp-Vogelaar I, et al. Personalizing colonoscopy screening for elderly individuals based on screening history, cancer risk, and comorbidity status could increase cost effectiveness. *Gastroenterology* 2015;149:1425-37.
120. Rex DK, Boland CR, Dominitz JA, et al. Colorectal Cancer Screening: Recommendations for Physicians and Patients from the U.S. Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. *Am J Gastroenterol* 2017;112:1016-1030.
121. Usher-Smith JA, Walter FM, Emery JD, et al. Risk Prediction Models for Colorectal Cancer: A Systematic Review. *Cancer Prev Res (Phila)* 2016;9:13-26.
122. Brenner H, Kloor M, Pox CP. Colorectal cancer. *Lancet* 2014;383:1490-502.
123. Hindorff L, MacArthur J, Morales J, et al. A Catalog of Published Genome-Wide Association Studies.
124. Peters U, Bien S, Zubair N. Genetic architecture of colorectal cancer. *Gut* 2015;64:1623-36.
125. Dunlop MG, Tenesa A, Farrington SM, et al. Cumulative impact of common genetic variants and other risk factors on colorectal cancer risk in 42,103 individuals. *Gut* 2013;62:871-81.
126. Hsu L, Jeon J, Brenner H, et al. A model to determine colorectal cancer risk using common genetic susceptibility loci. *Gastroenterology* 2015;148:1330-9 e14.
127. Jung KJ, Won D, Jeon C, et al. A colorectal cancer prediction model using traditional and genetic risk scores in Koreans. *BMC Genet* 2015;16:49.
128. Frampton MJ, Law P, Litchfield K, et al. Implications of polygenic risk for personalised colorectal cancer screening. *Ann Oncol* 2016;27:429-34.
129. Tseng YL, Chiang ML, Lane HY, et al. Selective serotonin reuptake inhibitors reduce P2Y12 receptor-mediated amplification of platelet aggregation. *Thromb Res* 2013;131:325-32.
130. Kim NH, Park JH, Park DI, et al. Are Hemorrhoids Associated with False-Positive Fecal Immunochemical Test Results? *Yonsei Med J* 2017;58:150-157.
131. Freedberg DE, Lebwohl B, Abrams JA. The impact of proton pump inhibitors on the human gastrointestinal microbiome. *Clin Lab Med* 2014;34:771-85.
132. Washio E, Esaki M, Maehata Y, et al. Proton Pump Inhibitors Increase Incidence of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug-Induced Small Bowel Injury: A Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016;14:809-815 e1.
133. Wang J, Barbuskaite D, Tozzi M, et al. Proton Pump Inhibitors Inhibit Pancreatic Secretion: Role of Gastric and Non-Gastric H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPases. *PLoS One* 2015;10:e0126432.
134. Foltz E, Azad S, Everett ML, et al. An assessment of human gastric fluid composition as a function of PPI usage. *Physiol Rep* 2015;3.
135. Wallace JL, Syer S, Denou E, et al. Proton pump inhibitors exacerbate NSAID-induced small intestinal injury by inducing dysbiosis. *Gastroenterology* 2011;141:1314-22, 1322 e1-5.
136. Lanás A, Carrera-Lasfuentes P, Arguedas Y, et al. Risk of upper and lower gastrointestinal bleeding in patients taking nonsteroidal anti-inflammatory drugs, antiplatelet agents, or anticoagulants. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015;13:906-12 e2.
137. Miyake K, Akimoto T, Hanada Y, et al. Proton pump inhibitors are associated with lower gastrointestinal tract bleeding in low-dose aspirin users with ischaemic heart disease. *Dig Liver Dis* 2015;47:757-62.
138. Rodríguez Alonso L, Rodríguez Moranta F, Martín Cardona A, et al. Los inhibidores de la bomba de protones reducen la precisión del test de sangre oculta en heces inmunológico. XIX Reunión Anual de la Asociación Española de Gastroenterología. Volume 39. Madrid: Gastroenterología y Hepatología, 2016:75.

139. Ferlitsch M, Heinze G, Salzl P, et al. Sex is a stronger predictor of colorectal adenoma and advanced adenoma than fecal occult blood test. *Med Oncol* 2014;31:151.
140. Alvarez-Urturi C, Andreu M, Hernandez C, et al. Impact of age- and gender-specific cut-off values for the fecal immunochemical test for hemoglobin in colorectal cancer screening. *Dig Liver Dis* 2016;48:542-51.
141. Auge JM, Pellise M, Escudero JM, et al. Risk stratification for advanced colorectal neoplasia according to fecal hemoglobin concentration in a colorectal cancer screening program. *Gastroenterology* 2014;147:628-636 e1.
142. Digby J, Fraser CG, Carey FA, et al. Interval cancers using a quantitative faecal immunochemical test (FIT) for haemoglobin when colonoscopy capacity is limited. *J Med Screen* 2016;23:130-4.
143. Garcia M, Mila N, Binefa G, et al. Fecal hemoglobin concentration as a measure of risk to tailor colorectal cancer screening: are we there yet? *Eur J Cancer Prev* 2015;24:321-7.
144. Yen AM, Chen SL, Chiu SY, et al. A new insight into fecal hemoglobin concentration-dependent predictor for colorectal neoplasia. *Int J Cancer* 2014;135:1203-12.
145. Lee YC, Li-Sheng Chen S, Ming-Fang Yen A, et al. Association Between Colorectal Cancer Mortality and Gradient Fecal Hemoglobin Concentration in Colonoscopy Noncompliers. *J Natl Cancer Inst* 2017;109.
146. Baxter NT, Ruffin MTt, Rogers MA, et al. Microbiota-based model improves the sensitivity of fecal immunochemical test for detecting colonic lesions. *Genome Med* 2016;8:37.
147. Toth K, Bartak BK, Tulassay Z, et al. Circulating cell-free nucleic acids as biomarkers in colorectal cancer screening and diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn* 2016;16:239-52.
148. Baxter NT, Koumpouras CC, Rogers MA, et al. DNA from fecal immunochemical test can replace stool for detection of colonic lesions using a microbiota-based model. *Microbiome* 2016;4:59.
149. Jo J, Nam CM, Sull JW, et al. Prediction of Colorectal Cancer Risk Using a Genetic Risk Score: The Korean Cancer Prevention Study-II (KCPS-II). *Genomics Inform* 2012;10:175-83.







## **ANNEX 1: Material supplementari article 1**

---

Prescription drugs associated with false-positive results when using faecal immunochemical tests for colorectal cancer screening



**Supplementary Table 1.** Distribution of false positive FIT result in men according to subjects' characteristics

	<i>n</i>	False positive				Crude OR	95% CI
		No	%	Yes	%		
<b>Age</b>							
50-59 years	155	86	56.9	69	55.2	1	
60-69 years	121	65	43.1	56	44.8	1.1	0.7-0.8
<b>Screening</b>							
Initial	117	74	49.0	43	34.4	1	
Successive	159	77	51.0	82	65.6	1.8	1.1-3.0
<b>Anaemia<sup>a</sup></b>							
No	24	15	12.6	9	10.6	1	
Yes	180	104	87.4	76	89.4	1.2	0.5-2.9
<b>Anal disorders</b>							
No	141	94	62.3	47	37.6	1	
Haemorrhoids	107	46	30.5	61	48.8	2.7	1.6-4.5
Anal fissure	28	11	7.2	17	13.6	3.1	1.3-7.1
<b>Proton pump inhibitors</b>							
No	211	126	83.4	85	68.0	1	
Yes	65	25	16.6	40	32.0	2.4	1.3-4.2
<b>NSAIDs</b>							
No	259	145	96.1	114	91.2	1	
Yes	17	6	3.9	11	8.8	2.3	0.8-6.5
<b>Antiplatelet agent</b>							
No	237	129	85.4	108	86.4	1	
Yes	39	22	14.6	17	13.6	0.9	0.5-1.8
<b>Oral anticoagulant</b>							
No	268	146	96.7	122	97.6	1	
Yes	8	5	3.3	3	2.4	0.7	0.8-3.1
<b>SSRIs</b>							
No	259	143	94.7	116	92.8	1	
Yes	17	8	5.3	9	7.2	1.4	0.5-3.7
<b>Medication</b>							
Nonusers	186	109	72.2	77	61.6	1	
Users <sup>b</sup>	90	42	27.8	48	38.4	1.6	1.0-2.7

<sup>a</sup>Variables with missing data.

<sup>b</sup>Users: Proton pump inhibitors and/or NSAIDs and/or antiplatelet agent and/or oral anticoagulants. NSAIDs: non-steroidal anti-inflammatory drugs; SSRIs: selective serotonin reuptake inhibitors.



**Supplementary Table 2.** Distribution of false positive FIT result in women according to subjects' characteristics

	<i>n</i>	False positive				Crude OR	95% CI
		No	%	Yes	%		
<b>Age</b>							
50-59 years	90	34	50.8	56	43.4	1	
60-69 years	106	33	49.2	73	56.6	1.3	0.7-2.4
<b>Screening</b>							
Initial	67	23	34.3	44	34.1	1	
Successive	129	44	65.7	85	65.9	1.0	0.5-1.9
<b>Anaemia<sup>a</sup></b>							
No	14	4	7.4	10	12.3	1	
Yes	121	50	92.6	71	87.7	0.6	0.2-1.9
<b>Anal disorders</b>							
No	90	44	65.7	46	35.7	1	
Haemorrhoids	89	21	31.3	68	52.7	3.1	1.6-5.9
Anal fissure	17	2	3.0	15	11.6	7.2	1.6-33.2
<b>Proton pump inhibitors</b>							
No	145	51	76.1	94	72.9	1	
Yes	51	16	23.9	35	27.1	1.2	0.6-2.4
<b>NSAIDs</b>							
No	178	60	89.6	118	91.5	1	
Yes	18	7	10.4	11	8.5	0.8	0.3-2.2
<b>Antiplatelet agent</b>							
No	175	62	92.5	113	87.6	1	
Yes	21	5	7.5	16	12.4	1.8	0.6-5.0
<b>Oral anticoagulant</b>							
No	192	66	98.5	126	97.7	1	
Yes	4	1	1.5	3	2.3	1.6	0.2-15.4
<b>SSRIs</b>							
No	166	53	79.1	113	87.6	1	
Yes	30	14	20.9	16	12.4	0.5	0.4-1.2
<b>Medication</b>							
Nonusers	138	50	74.6	88	68.2	1	
Users <sup>b</sup>	58	17	25.4	41	31.8	1.4	0.7-2.7

<sup>a</sup>Variables with missing data.

<sup>b</sup>Users: Proton pump inhibitors and/or NSAIDs and/or antiplatelet agent and/or oral anticoagulants. NSAIDs: non-steroidal anti-inflammatory drugs; SSRIs: selective serotonin reuptake inhibitors.

**Supplementary Table 3.** Differences in faecal haemoglobin concentration in users versus nonusers

	<b>Median f-Hb (nonusers)</b>	<b>Median f-Hb (users)</b>	<b>Median Difference (95% CI)</b>	
<b>Proton pump inhibitors</b>	54	51	-3	(-17; -14)
<b>NSAIDs</b>	53	85	32	(-16;99)
<b>Antiplatelet agents</b>	53	63	10	(-19;27)
<b>Oral anticoagulants</b>	53	81	28	(-28;209)
<b>SSRIs</b>	53	54	1	(-18;36)

f-Hb: faecal haemoglobin ( $\mu\text{g Hb/g}$ ); NSAIDs: non-steroidal anti-inflammatory drugs; SSRIs: selective serotonin reuptake inhibitors.



## **ANNEX 2: Material suplementari article 3**

---

Risk model for colorectal cancer in Spanish population using environmental and genetic factors: results from the MCC-Spain study



**Supplementary Table 1.** Analyses of predictive factors associated with the risk of colon cancer and rectal cancer

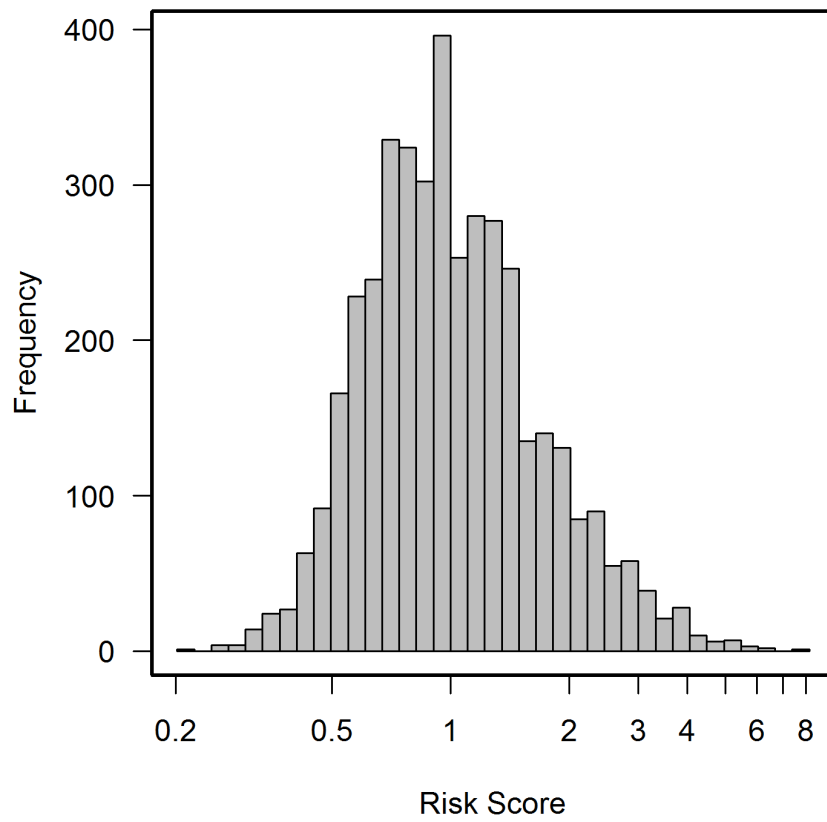
	Risk of Colon Cancer		Risk of Rectal Cancer		Rectal vs Colon	
	OR <sup>a</sup>	CI 95%	OR <sup>a</sup>	CI 95%	OR <sup>a</sup>	CI 95%
<b>Genetic Risk Score</b>	<b>1.06</b>	<b>1.03-1.09</b>	<b>1.10</b>	<b>1.06-1.15</b>	1.04	1.00-1.08
<b>Family History of CRC</b>	<b>2.27</b>	<b>1.85-2.80</b>	<b>2.23</b>	<b>1.68-2.95</b>	1.01	0.76-1.35
<b>Smoking</b>	1.00	0.85-1.18	1.23	0.97-1.56	1.28	1.00-1.65
<b>Alcohol</b>	<b>1.30</b>	<b>1.06-1.59</b>	<b>1.38</b>	<b>1.05-1.81</b>	1.01	0.76-1.36
<b>BMI <math>\geq 30\text{kg/m}^2</math></b>	1.28	0.97-1.69	1.28	0.88-1.85	1.02	0.70-1.49
<b>No Physical Activity</b>	<b>1.34</b>	<b>1.14-1.57</b>	<b>1.38</b>	<b>1.11-1.73</b>	1.01	0.79-1.28
<b>Vegetables <math>\leq 200\text{g/day}</math></b>	<b>1.29</b>	<b>1.09-1.52</b>	<b>1.63</b>	<b>1.28-2.08</b>	1.29	1.00-1.67
<b>Red Meat <math>&gt;65\text{g/day}</math></b>	1.14	0.96-1.36	<b>1.61</b>	<b>1.28-2.02</b>	<b>1.46</b>	<b>1.14-1.87</b>
<b>No NSAID/ASA Regular Use</b>	<b>1.59</b>	<b>1.31-1.92</b>	<b>1.64</b>	<b>1.25-2.15</b>	1.03	0.77-1.38

Associations with  $p < 0.05$  are shown in bold.

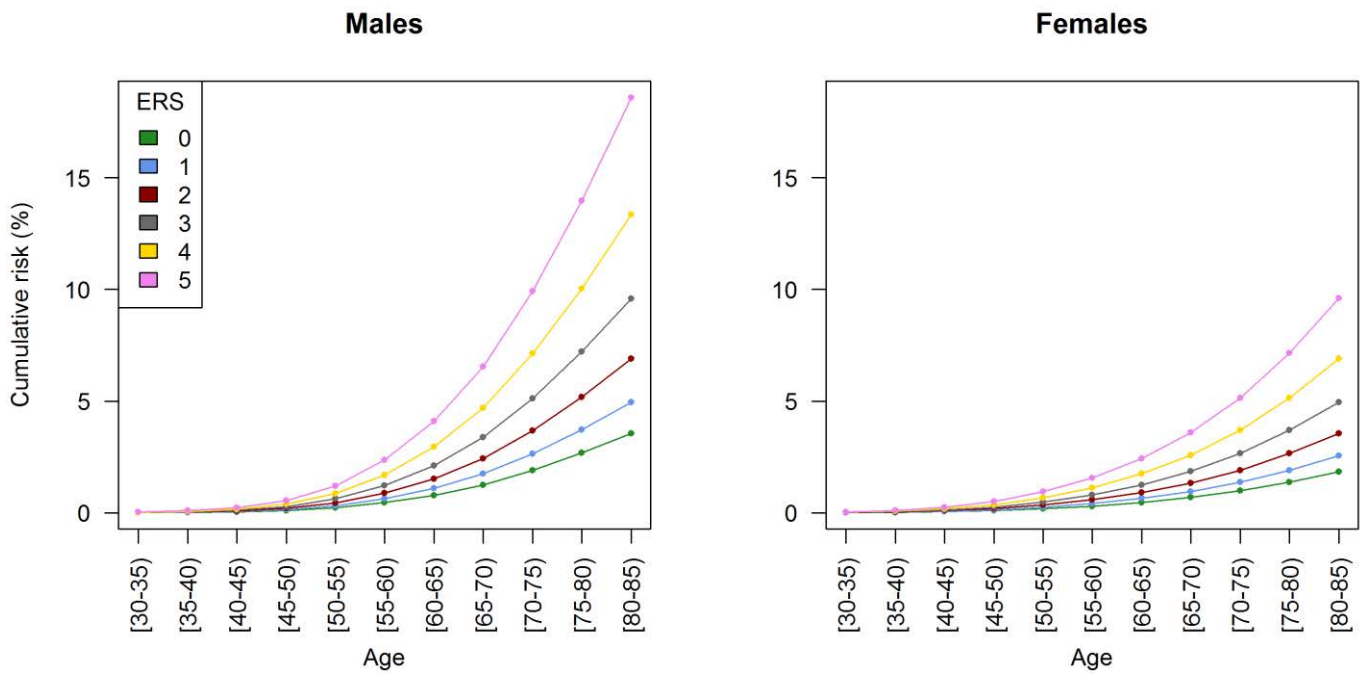
<sup>a</sup>Each variable is adjusted by the propensity score and the other variables in the table.

CRC: colorectal cancer; BMI: body mass index; NSAID: nonsteroidal anti-inflammatory drugs; ASA: acetylsalicylic acid.

**Supplementary Figure 1.** Distribution of the risk score in the MCC-Spain study population

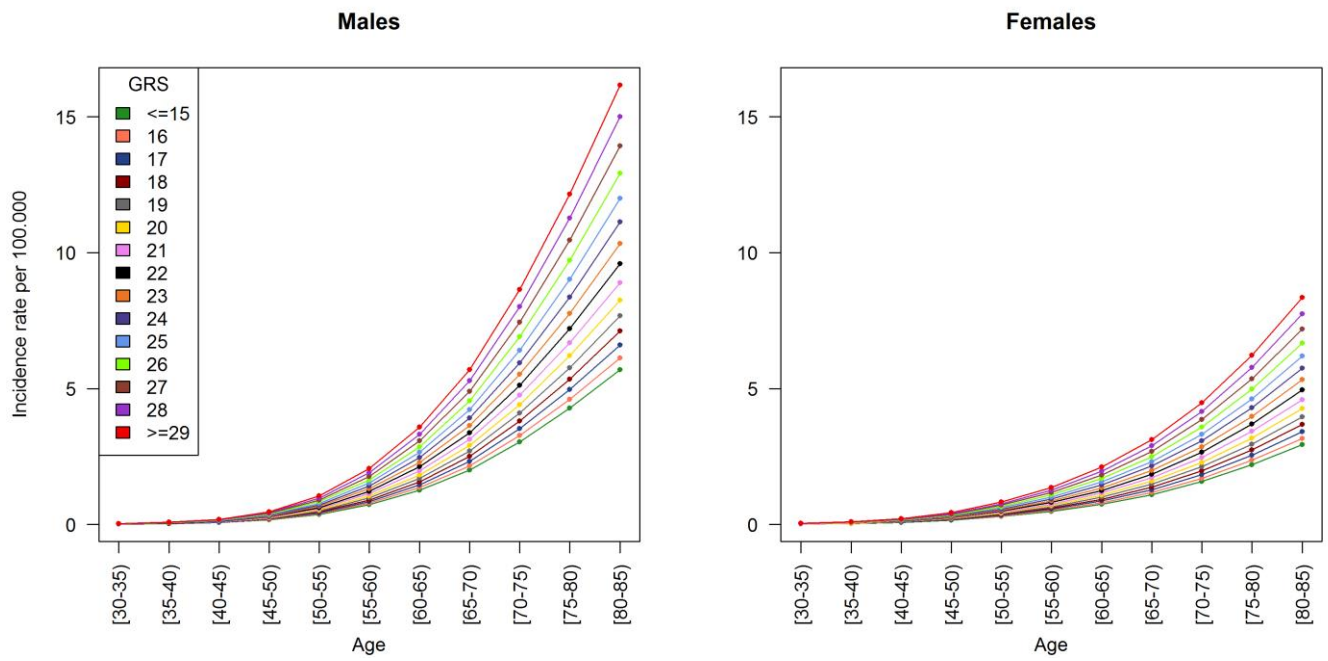


**Supplementary Figure 2.** Estimation of CRC incidence in Spain by sex, age (years) and environmental risk score (ERS).





**Supplementary Figure 3.** Estimation of CRC incidence in Spain by sex, age (years) and genetic risk score (GRS).



**Supplementary Table 2a.** Cumulative risk of CRC according to age range and genetic risk score (males). Numbers for figure 3a.

Age (years)	Number of risk alleles														
	≤15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	≥29
15-19.9	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
20-24.9	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
25-29.9	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
30-34.9	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03	0.03
35-39.9	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	0.04	0.04	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.07	0.07	0.08
40-44.9	0.07	0.07	0.08	0.08	0.09	0.10	0.10	0.11	0.12	0.13	0.14	0.15	0.16	0.18	0.19
45-49.9	0.16	0.18	0.19	0.21	0.22	0.24	0.26	0.28	0.30	0.32	0.35	0.37	0.40	0.43	0.47
50-54.9	0.37	0.40	0.43	0.46	0.50	0.53	0.57	0.62	0.67	0.72	0.77	0.83	0.90	0.97	1.04
55-59.9	0.72	0.78	0.84	0.90	0.97	1.05	1.13	1.22	1.31	1.41	1.52	1.64	1.77	1.90	2.05
60-64.9	1.26	1.35	1.46	1.57	1.70	1.83	1.97	2.12	2.28	2.46	2.65	2.86	3.08	3.32	3.57
65-69.9	2.00	2.16	2.33	2.50	2.70	2.91	3.13	3.38	3.64	3.92	4.22	4.55	4.90	5.28	5.69
70-74.9	3.04	3.27	3.53	3.80	4.10	4.41	4.76	5.12	5.52	5.95	6.41	6.91	7.44	8.01	8.64
75-79.9	4.27	4.61	4.97	5.35	5.77	6.20	6.69	7.21	7.76	8.37	9.02	9.02	10.46	11.27	12.15
80-84.9	5.69	6.13	6.61	7.12	7.67	8.26	8.90	9.59	10.33	11.14	12.00	12.00	13.93	15.00	16.17

**Supplementary Table 2b.** Cumulative risk of CRC according to age range and genetic risk score (females). Numbers for figure 3b.

Age (years)	Number of risk alleles																		
	≤15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	≥29				
<b>15-19.9</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00				
<b>20-24.9</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00				
<b>25-29.9</b>	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01				
<b>30-34.9</b>	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	0.04				
<b>35-39.9</b>	0.03	0.03	0.04	0.04	0.04	0.05	0.04	0.05	0.05	0.06	0.04	0.07	0.08	0.09	0.09				
<b>40-44.9</b>	0.08	0.08	0.09	0.09	0.10	0.11	0.10	0.11	0.12	0.15	0.16	0.17	0.18	0.20	0.21				
<b>45-49.9</b>	0.15	0.16	0.17	0.17	0.20	0.22	0.26	0.28	0.28	0.29	0.32	0.34	0.37	0.40	0.43				
<b>50-54.9</b>	0.29	0.31	0.34	0.34	0.39	0.42	0.57	0.62	0.45	0.57	0.61	0.66	0.71	0.76	0.82				
<b>55-59.9</b>	0.48	0.52	0.56	0.56	0.64	0.69	1.13	1.22	0.75	0.94	1.01	1.09	1.17	1.26	1.36				
<b>60-64.9</b>	0.74	0.80	0.86	0.86	1.00	1.08	1.97	2.12	1.16	1.45	1.57	1.69	1.82	1.96	2.11				
<b>65-69.9</b>	1.10	1.18	1.27	1.27	1.48	1.59	3.13	3.38	1.72	2.15	2.31	2.49	2.69	2.89	3.12				
<b>70-74.9</b>	1.57	1.70	1.83	1.86	2.12	2.29	4.76	5.12	2.46	3.08	3.32	3.58	3.85	4.15	4.48				
<b>75-79.9</b>	2.19	2.36	2.54	2.54	2.95	3.18	6.69	7.21	3.43	4.29	4.62	4.98	5.36	5.78	6.23				
<b>80-84.9</b>	2.94	3.16	3.41	3.41	3.96	4.26	8.90	9.59	4.59	5.75	6.19	6.67	7.19	7.74	8.35				

**Supplementary Table 3.** Positive predictive value for CRC according to age range and risk score. Numbers for Figure 4.

		<b>Positive predictive values</b>				
	<b>Risk score</b>	<b>40-49 years</b>	<b>50-59 years</b>	<b>60-69 years</b>	<b>70-79 years</b>	
<b>Females</b>	<b>0.2</b>	0.20	0.77	1.85	3.74	
	<b>0.3</b>	0.22	0.84	2.00	4.05	
	<b>0.4</b>	0.24	0.92	2.18	4.41	
	<b>0.5</b>	0.26	0.99	2.36	4.75	
	<b>0.6</b>	0.28	1.06	2.51	5.06	
	<b>0.7</b>	0.30	1.13	2.69	5.40	
	<b>0.8</b>	0.32	1.21	2.87	5.76	
	<b>0.9</b>	0.34	1.28	3.04	6.07	
	<b>1.0</b>	0.36	1.34	3.17	6.34	
	<b>2.0</b>	0.54	2.01	4.73	9.30	
	<b>3.0</b>	0.78	2.90	6.72	12.96	
	<b>4.0</b>	1.26	4.63	10.49	19.49	
	<b>5.0</b>	1.56	5.67	12.67	23.06	
	<b>6.0</b>	1.53	5.57	12.46	22.72	
	<b>7.0</b>	1.68	6.09	13.53	24.43	
<b>Males</b>	<b>0.2</b>	0.24	1.20	3.43	7.36	
	<b>0.3</b>	0.26	1.30	3.70	7.93	
	<b>0.4</b>	0.28	1.42	4.04	8.61	
	<b>0.5</b>	0.31	1.54	4.35	9.24	
	<b>0.6</b>	0.33	1.64	4.63	9.81	
	<b>0.7</b>	0.35	1.76	4.95	10.45	
	<b>0.8</b>	0.37	1.88	5.28	11.10	
	<b>0.9</b>	0.40	1.99	5.57	11.67	
	<b>1.0</b>	0.41	2.08	5.82	12.15	
	<b>2.0</b>	0.63	3.11	8.55	17.31	
	<b>3.0</b>	0.91	4.46	11.96	23.32	
	<b>4.0</b>	1.47	7.05	18.09	33.09	
	<b>5.0</b>	1.81	8.59	21.47	37.97	
	<b>6.0</b>	1.78	8.44	21.15	37.52	
	<b>7.0</b>	1.95	9.20	22.77	39.77	

Positive predictive values derived from the sensitivity and specificity of the risk score applied to the cumulative risk of CRC for the age interval using Bayes theorem.



**ANNEX 3: Procés editorial i correspondència dels articles**

---









## **Procés editorial i correspondència de l'article 1 (Digestive and Liver Disease)**

Resposta de l'editor i comentaris dels revisors de Digestive and Liver Disease així com resposta a aquests comentaris.

### **RESPONSE POINT BY POINT TO THE REVIEWERS**

#### Reviewer #1:

**I have major concerns about the way in which the numerical data are documented. In the Results section, the authors have data in different formats. Since these data are highly unlikely to be normally distributed, I advocate that they are given as mean and range rather than as documented in the manuscript.**

Although we strived to satisfy the recommendation of the reviewer, we feel that blood haemoglobin should be measured with mean and standard deviation while faecal haemoglobin as it contains extremely large or small values is better measured with median and range.

**Moreover, due to the inherent sources of variation, the authors ought to consider the number of significant figures used for their data: can you really measure faecal haemoglobin concentration to one figure after the decimal point, for example? In addition, values less than zero do require a 0 before the decimal point. Further, if the percentage is a whole number, then 0 must follow after a decimal point.**

The Automated analyser (OC-Sensor DIANA) for quantitative faecal occult blood testing measures in Hb/mL buffer without decimals. In the manuscript, we converted Hb/mL buffer to Hb/g faeces dividing by 5 and that's why there were decimals. Now, we have rounded every number of faecal haemoglobin (in Hb/g) to the nearest unit and eliminated decimals in order to avoid confusion.

We have changed numerical data so that now every number has only one decimal.

Reviewer #2: The work is interesting. In this manuscript were identified factors associated with a false-positive result in a colorectal cancer screening program with FIT.

**Review the follow-up of patients until March-2016 and included in the work. Include the number of patients that have been made gastroscopy from the FIT positive to march-2016.**

We have reviewed the follow-up of patients until March-2016 and this paragraph has been included in the Methods section of the manuscript: *All the participants with a FP result were followed until April 2016 to identify if a follow-up colonoscopy, upper gastrointestinal endoscopy or capsule endoscopy explained the FP result by FIT.*

This paragraph has been included in the Results section of the manuscript: *During the surveillance, 12 patients (0.04%) underwent a colonoscopy. The colonoscopies were normal in 5 patients, but we found a lesion with haemorrhagic risk in 7 patients in whom either colonic angiodysplasia (n = 2) or polyps were detected (n = 5; the polyps were either high-risk lesions [n = 1], intermediate-risk lesions [n = 1], or low-risk lesions [n = 3]). In total, 10 (0.04%) patients had an upper endoscopy performed. We identified upper-gastrointestinal lesions in seven patients: hiatal hernia (n = 3), Barrett's oesophagus (n = 2), erosive gastritis (n = 1) or a gastric polyp (n = 1). Only one patient underwent capsule endoscopy which detected ileal erosions and a colonic angiodysplasia.*

This paragraph has been included in the Discussion section of the manuscript: *During the follow-up of subjects with FP results, 9.1% (n = 23) of patients underwent an endoscopic procedure, and only 3.1% (n = 8) patients were diagnosed with a lesion in lower gastrointestinal tract that could explain the FIT result. It is important to highlight that no patient was diagnosed with a CRC, but that one patient was diagnosed with a high-risk lesion (a large flat polyp located behind the colonic haustrum in the right colon), which had been missed by colonoscopy.*

**Explain: How individuals conducting the questionnaire? What person conducting the questionnaire by telephone?**

As suggested by the reviewer#2, in the Methods section it has been specified that the questionnaire was administered by a nurse or medical doctor: *We included participants with a positive FIT result who underwent total colonoscopy between January 2014 and July 2014 and who answered a phone questionnaire administered by a nurse or a medical doctor (n = 472).*

As suggested by the reviewer#2 and #3 a specific sentence regarding response rate to questionnaire has been included in the Results section of the manuscript: *The overall average response rate to the questionnaire was 76.6% (472 of 616 subjects), which corresponded to 74.0% (95%CI, 69.5–78.5) for men and 80.4% (95%CI, 75.5–85.3) for women.*

**Define best false positive ¿With No CRC risk?**

In order to improve comprehensibility, the definition has been rewritten: A *FP* result was defined as a positive *FIT* result ( $\geq 20 \mu\text{g Hb/g}$ ) followed by a colonoscopy result without either intermediate/high-risk lesions or *CRC*. According to “European guidelines for quality assurance in *CRC*”, [20] intermediate-risk lesions were defined as 3–4 tubular adenomas measuring  $< 10 \text{ mm}$  with low-grade dysplasia or as  $\geq 1$  adenoma measuring 10–19 mm, while high-risk lesions were defined as  $\geq 5$  adenomas or  $\geq 1$  adenoma measuring  $\geq 20 \text{ mm}$ .

**Include number of patients during colonoscopy had anal fissure or haemorrhoid.**

During colonoscopies 2 anal fissures and 303 haemorrhoids were detected while in the questionnaire 196 and 45 patients claimed to have haemorrhoids and fissure anal, respectively. Self-report was considered the best choice to gather anal diseases as they are intermittent pathologies. We believe that identifying haemorrhoids in the colonoscopy depends on the endoscopist subjectivity and not always leads to symptomatic haemorrhoids.

**Include an abstract presented at the congress of the Spanish Association of Gastroenterology 2016 on proton pump inhibitors and *FIT* (page 75 Gastroenterol Hepatol 2016; March.)**

After our study, one of the co-authors (F. Rodríguez-Moranta) analysed the *FIT* accuracy among proton pump inhibitors users in another sample (1,003 symptomatic patients with positive *FIT* in). His abstract entitled *Proton pump inhibitors reduce FIT accuracy* was presented at the congress of the Spanish Association of Gastroenterology 2016 [available at *Gastroenterología y Hepatología*, Volume 39, Issue 2, February 2016, Pages 69–86]. It showed that proton pump inhibitors increase *FIT* false-positive rate.

Following Reviewer#2 recommendation, we have included a paragraph in the Discussion manuscript citing this abstract: *Consistent with this hypothesis, an unpublished investigation [30] has analysed FIT accuracy among PPI users in 1,003 symptomatic patients with positive FIT results. In a multivariate analysis, they found that PPI use was the only risk factor for FP results, and that their use reduced FIT accuracy for detecting CRC. This might explain why upper gastrointestinal bleeding diseases (peptic ulcers and hiatal hernias) were associated with FP results in our univariate analyses, though not after being adjusted for PPI use ( $p = 0.19$ ), while PPI use adjusted for hiatal hernias and peptic ulcers was significantly associated with FP results ( $p = 0.03$ ). This is consistent with evidence that FIT is specific for bleeding diseases of the lower gastrointestinal tract.*

**Reviewer #3:** This is a potentially interesting paper, but I found some aspects of the analysis and reporting confusing so I think the paper needs to be resubmitted before a judgment can be made about its suitability for publication.

The authors report a relationship between the presence of peptic ulcer or hiatal hernia and a false positive result (Table 1) yet this does not appear in the abstract and the variable is not included in the multivariate analysis (Table 2).

Hiatal hernia or ulcer peptic adjusted for proton pump inhibitors use

	True positive		False positive		OR	95% CI	p-value
	n	%	n	%			
No pathology	192	88.1	206	81.1	1		
Upper pathology	26	11.9	48	18.9	1.4	0.8-2.5	0.19

Proton pump inhibitors adjusted for hiatal hernia or ulcer peptic

	True positive		False positive		OR	95% CI	p-value
	n	%	n	%			
No PPI use	177	81.2	179	70.5	1		
PPI use	41	18.8	75	29.5	1.7	1.0-2.6	0.03

There is strong association between upper gastrointestinal bleeding diseases (peptic ulcer or hiatal hernia) and PPI as these diseases are a frequent indication of PPIs. In fact, 36% of PPI users have hiatal hernia or peptic ulcer in our sample. However, we decided not to include them in the multivariate because they were no significant before incorporating PPI in the model and because they may be confounders.

These two tables show how having an upper gastrointestinal disease adjusted for PPI use is not a risk predictor of FP. In contrast, the second table shows how PPI use adjusted for hiatal hernia and peptic ulcer is a risk factor for FP. This reflects that PPI might cause FP because it might slow down globin's degradation from upper tract and consequently it is detected in FIT.

Following Reviewer#3 recommendation, we have rewritten the Discussion section of the manuscript regarding upper gastrointestinal lesions: *Consistent with this hypothesis, an unpublished investigation[30] has analysed FIT accuracy among PPI users in 1,003 symptomatic patients with positive FIT results. In a multivariate analysis, they found that PPI use was the only risk factor for FP results, and that their use reduced FIT accuracy for detecting CRC. This might explain why upper gastrointestinal bleeding diseases (peptic ulcers and hiatal hernias) were associated with FP results in our univariate analyses, though not after being adjusted for PPI use (p = 0.19), while PPI use adjusted for hiatal hernias and peptic ulcers was significantly associated with FP results (p = 0.03). This is consistent with evidence that FIT is specific for bleeding diseases of the lower gastrointestinal tract. Chiang et al.[31] verified the FIT's performance for predicting lesions of the lower gastrointestinal tract, and they confirmed that the results were not confounded by the presence of upper gastrointestinal tract lesions. When comparing the prevalence rates of lower and upper gastrointestinal tract lesions between participants with positive and negative faecal test results, they*

*found that such lesions were present in approximately 20% of all subjects. Levi et al.[32] performed upper gastrointestinal endoscopy in 160 patients with positive FIT results not explained by colonoscopy, and concluded that FIT positivity was not correlated with finding lesions likely to bleed on upper gastrointestinal endoscopy, and argued that this procedure was probably unsuitable for patients with positive FIT and negative colonoscopy.*

**A different set of variables predict FP rates in men vs women and this information does not appear in the abstract.**

When we stated “no gender-related were identified” we were thinking in factors that explained why women had more probability of a FP result. The abstract has been corrected.

**Also, I think the authors need to test whether there are significant interactions between gender and the relevant variables (e.g. successive screens, PPIs) in prediction of FP rates and not just infer gender differences because of differences in the pattern of significant results in separate analyses for men and women. I'm also not sure that the authors' investigation of the potential explanations of the relationship between female gender and FP rate has been carried out appropriately. Shouldn't the authors be looking for interactions e.g. gender by SSRI not just main effects e.g. SSRI.**

We tested if there were interactions between the different covariates and sex but we did not find any. Now, we have included this information in the Methods manuscript: *We also computed models stratified by sex and examined interactions between the different covariates.*

We have also added the result of the interaction test in the Results section of the manuscript: *To identify the female-related factors associated with FP, we tested if there were interactions between the different covariates and sex, but we did not find any.*

Interaction	OR	95%CI	p-value
Sex(women) and age (60-69 years)	1.3	0.6-2.7	0.6
Sex(women) and anal pathology	1.2	0.6-2.7	0.6
Sex(women) and screening rounds (successive)	0.6	0.3-1.2	0.1
Sex(women) and hiatal hernia or ulcer peptic	1.0	0.3-2.9	1.0
Sex(women) and PPIs	0.5	0.2-1.2	0.1
Sex(women) and NSAIDs or APA or OAC	1.2	0.4-3.0	0.8
Sex(women) and SSRI	0.4	0.1-1.4	0.1

**The authors need to give some consideration to response rate to the questionnaire and any bias this may have introduced into the results (e.g. men are less likely to complete questionnaires than women).**

As suggested by the reviewer#2, in the Methods section it has been specified that the questionnaire was administered by a nurse or medical doctor: *We included participants with a positive FIT result who underwent total colonoscopy between January 2014 and July 2014 and who*

*answered a phone questionnaire administered by a nurse or a medical doctor (n = 472).*

As suggested by the reviewer#2 and #3 a specific sentence regarding response rate to questionnaire has been included in the Results section: *The overall average response rate to the questionnaire was 76.6% (472 of 616 subjects), which corresponded to 74.0% (95%CI, 69.5–78.5) for men and 80.4% (95%CI, 75.5–85.3) for women.*

Results from a randomised placebo-controlled trial, published this month, showed that PPI use increased the risk of short-term NSAID-induced small bowel injury<sup>132</sup>. For this reason, this reference has been added in the Discussion section.







## Procés editorial i correspondència de l'article 2 (European Journal of Cancer Prevention)

Resposta de l'editor i comentaris dels revisors de European Journal of Cancer Prevention així com resposta a aquests comentaris.

### RESPONSE POINT BY POINT TO THE REVIEWERS

Reviewer #1: Gemma Ibañez-Sanz et al. presented a study conducted within the colorectal cancer screening of Catalonia aimed at evaluating the proportion of false negative FIT results. This is a very important issue for monitoring the performance and the quality of a colorectal cancer screening programme and it should be a best practice to apply in any screening programme.

**The authors did not specify the dimension and characteristics of the random sample from which they recruited FIT negative people who agreed to undergo colonoscopy.**

*A better description of the study sample has been added in the manuscript: *The CRC Screening Programme in Hospitalet de Llobregat (Catalonia) invited 58,184 men and women aged 50-69 years to participate in the 6th round of screening from 26th November, 2012 to 3rd November, 2014. About 40% of the invited individuals agreed to participate (n=22,970). From those, 21,726 individuals had a negative result in FIT and 1,229 individuals had a positive test (positivity rate: 5.4%). The study participants were individuals with a negative FIT between November 2013 and October 2014. A random sample of them was invited to participate by telephone or by letter, until the sample size was reached. A total of 218 subjects with negative FIT agreed to undergo total colonoscopy.**

**What is the power of the study? The size of the sample is not designed for detecting lesions with low prevalence like cancers. The authors should clarify this point.**

We agree with the reviewer that the sample size was not designed for detecting CRC but advanced neoplasia missed in FIT. We expected to identify mostly intermediate/high risk lesions.

The sample size was calculated to attain a  $\pm 4\%$  precision for the estimate of the proportion of FN results. With this sample size, the power to detect differences in comparisons of groups is low. The detectable difference was an OR of 2.5 or larger (80% power) for balanced groups.

**The sample of 218 subjects presents an excess of women (60%). This fact could affect the reliability of the study due to the lower prevalence of disease in females than males.**

The proportion of women in the study reflects the participation rate in screening, which is higher for women. Also, overall, women have more negative FIT results than men. Though the proportion of FN was higher in women, we could not find gender differences regarding to sampling selection.

**Additional aims of the study were to evaluate the association of a false-negative FIT result with a lot of variables, but no data and any tables were shown about this evaluation. Maybe such an evaluation is too ambitious for a study with a very small sample size.**

We agree with the reviewer that the study was not powered to test for differences. Therefore, we have deleted information regarding the analysis of additional variables and reference to the questionnaire.

**In conclusion, I believe that general statements like FIT lower sensitivity for proximal lesions or small adenomas are out of reach of this study.**

We have modified the sentence regarding FIT lower sensitivity for proximal lesions. Now, we only suggest an explanation of the result shown in Table 1 but we do not talk about FIT sensitivity. The following sentence has been included in the manuscript, also in response to reviewer 2: *There were more lesions in the distal than the proximal colon which can be caused by haemoglobin partial degradation during bowel passage suggesting a differential sensitivity of FIT with respect to left- and right-sided lesions.*<sup>96</sup>

Reviewer #2: This is an interesting short communication on false negative results found in a well-established FIT-based colorectal cancer screening programme in Catalonia. In general, it is easy to read and to follow. The study results seem cogent and will be of value to readers of the journal.

**The major issue that I have with this paper is that the authors state that: No differences were detected when comparing individuals with a FN result and those with a true negative result regarding socio-demographic (age, sex, educational level) and clinical factors. However, they do not discuss the data in Table 1 very well, in my opinion. It is clear that there are a higher percentage of women with false negative results than with true positive results. Why is this so? In fact, the first can be explained by the fact that women have a lower faecal haemoglobin than men, probably due to transit time through the colon (Fraser CG, et al. 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) and this is true for Catalonia (Fraser CG, Auge**

**JM; PROCOLON Group. 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:e235-7). Moreover, there are more lesions in the distal than the proximal colon. Why is this so? The second can be explained by degradation of faecal haemoglobin as the faeces passes from the proximal colon. There are fewer large polyps than small polyps. Why is this so? The third can be explained by the fact that faecal haemoglobin is related to the size of the lesion (for example: Digby J, et al. Faecal haemoglobin concentration is related to severity of colorectal neoplasia. J Clin Pathol. 2013 ;66:415-9). I think that the authors should expand the discussion to elaborate on these known facts which explain the findings in Table 1, which the authors do not do.**

As suggested by the reviewer#2, the Results section has been modified with the following text in the manuscript: *Table 1 shows a higher percentage of women with FN results than with true positive results. However, there were no other differences when comparing individuals with a FN result and those with a true negative result regarding age.*

As suggested by reviewer#1 we have deleted any data related with the questionnaire performed (level of education, smoking, body mass index, blood haemoglobin concentration, antiplatelet agents and nonsteroidal anti-inflammatory drugs

Moreover, all the explanations that kindly suggested Reviewer#2 have been added in the Discussion: *Table 1 shows that women have more FN and this could be explained by the fact that they have lower faecal haemoglobin probably due their slower colonic transit time.(Fraser et al., 2015) There were more lesions in the distal than the proximal colon which can be caused by haemoglobin partial degradation during bowel passage suggesting a differential sensitivity of FIT with respect to left- and right-sided lesions.(Haug et al., 2011). It is also important to highlight that the three lesions in the rectum were detected in women. This could be related to previous reports regarding a higher occurrence of rectal cancer among women in studies of interval cancers, which often are related to FN results.(Digby et al., 2015) Moreover, lesions detected in the FN group were smaller those detected in screening, which can be explained by the fact that f-Hb is related to the size of the lesions.(Digby et al., 2013*

**Were there any lesions in the rectum? This is important since women with interval cancers (false negative results) have much rectal cancer.**

As suggested by the reviewer, we have analysed if there were lesions in the rectum. Next table shows the distribution of intermediate/high-risk lesions or CRC stratified by sex. As reviewer#2 stated, women had three lesions in the rectum that were false negative and the male had none.

	True Positive		False Negative	
	Female	Male	Female	Male
Proximal	46	85	12	7
Distal	87	189	3	7
Rectum	17	34	3	0

Table 1 has been modified to show lesions in the rectum and the results explained in the discussion (see previous point).

**Finally, since there were no cancers, only two high risk lesions and a few intermediate lesions (most of which will not progress to cancer), should the authors not tone down their message somewhat and state that, since these were the lesions, false negative results, at least with the cut-off used, may not really be much of a clinical problem - and compare that to using a higher cut-off faecal haemoglobin concentration (see: Digby J, et al. Interval cancers using a quantitative faecal immunochemical test (FIT) for haemoglobin when colonoscopy capacity is limited. J Med Screen. 2015 Nov 19 [E-pub in press]**

The paragraph in the discussion has been rewritten:

*A key finding was that most of the FN had an almost undetectable concentration of f-Hb. This illustrates that these FN lesions would not have been identified lowering the threshold of f-Hb and, taking into account that some countries have a limited colonoscopy capacity, future studies should compare these results using a higher cut-off faecal haemoglobin concentration. (Digby et al., 2015)*

*Also the conclusion has been revised: In conclusion, decreasing the positivity threshold of FIT does not increase the detection rate of advanced neoplasia, but may increase the costs and potential adverse effects. However, we should not ignore gastrointestinal symptoms and better inform our target population that successive screening is required to early detect CRC.*

Reviewer #3:

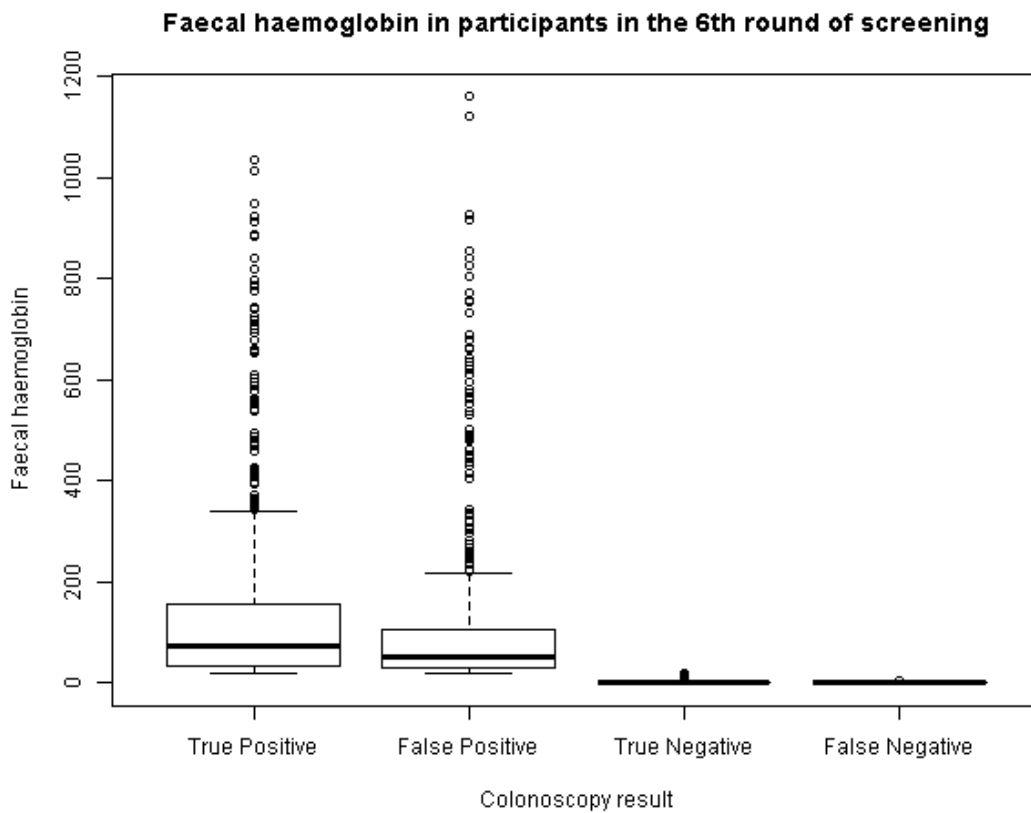
**It is not often one has an opportunity to find out if lesions have been missed in the screening population due to limited colonoscopy resources. This paper provides robust evidence that lowering the cut-off does not detect cancers in that group. The principle of the argument is sound and very relevant, however, the results investigated are out-with the linear range of the analyser and so judgment must be used as to whether these are a true representation of the faecal Hb concentration present in the faeces.**

Given the fact that many subjects had a zero value in FIT, we investigated if OC-sensor had any high dose “hook” for faecal sample haemoglobin level. The prozone or high-dose hook effect produces false negative results in samples with a very high concentration of analyte.

This analytical problem can occur with some immunoassay methods when the amount of antigen present (in this case Hb) is markedly greater than the amount of antibody present. This excess of antigen produces a fall in the turbidity of the solution.

Carroll et al (Evaluation of quantitative faecal immunochemical tests for haemoglobin. Guildford Medical Device Evaluation Centre (GMEC), Guildford, UK, 2013.) reported no evidence of hook/prozone effect with OC-sensor.

The plot below shows the distribution of faecal haemoglobin in FIT (positive and negative).



**It looks, from the data, like fewer women received a positive result in the screening cohort, but there were more women in the false negative cohort. Do the authors have any thoughts regarding this?**

As suggested also by reviewer#2, in order to answer this question, we have added the following sentence in the discussion section of the manuscript: *Table 1 shows that women have more FN and this could be explained by the fact that they have lower faecal haemoglobin probably due to their slower colonic transit time.*(Fraser et al., 2015)









## Procés editorial i correspondència de l'article 3 (Scientific Reports)

Resposta de l'editor i comentaris dels revisors de Scientific Reports així com resposta a aquests comentaris.

### RESPONSE POINT BY POINT TO THE REVIEWERS

#### Reviewer #1:

**Victor Moreno and co-authors try to create a statistical model to stratify the risk of Colorectal cancer (CRC) using both environmental and genetic information. They use a case-control study including 1336 CRC cases and 2744 controls (MCC-Spain). Subjects were interviewed on environmental factors, medical history and genotyped for 21 well-known CRC susceptibility SNPs. Many environmental and genetic SNPs resulted to be associated with CRC risk and the cumulative AUC curve was estimated to be 0.65 thus increasing discrimination, at least marginally. An interesting finding is that genetic factors seems to be less important than environmental aspects, even if contributes significantly to improve the model. The study is well conducted and performed, sample size is adequate and statistics seems correct. Unfortunately, the AUC is not so impressive. Weaknesses are linked to the case-control design with the need of a propensity score to adjust for it and lack of replication in an independent sample. The discussion is fair but could include some more considerations about the fact that simple pieces of information collected by interview can enhance prediction more than genetics. This could have costs in terms of screening strategy.**

We have modified the conclusion of the abstract in order to emphasise the importance of environmental risk factors to improve CRC screening.

Moreover, we have added more information in the Discussion section in order to highlight this issue.

**I would appreciate also some data about sensibility and specificity of the different models at different cut-offs other than positive and negative predictive values according to differences in the prevalence of CRC in hypothetical populations to screen (i.e. men>45 years old etc.)**

We thank the reviewer for this suggestion. We have calculated the sensitivity and specificity values for a selection of risk scores. Positive and negative predictive values have also been calculated for a range of age decades, including 40-49, before current screening and 70-79, after current screening. We have included a new Figure, a new Table and a new Supplementary Table which shows that the positive predictive value of the model increases only in a relevant way at older ages, when the prior probability of CRC is higher.

Reviewer #2: The authors propose a new risk model for colorectal cancer including both, environmental and genetic risk factors. The statistical analysis is carried out thoroughly to my impression but the rationale and the discussion of the impact of the newly proposed risk model could be improved.

**The rationale of the study is not quite clear to me. There are about 20 risk models for colorectal cancer proposed in the literature and it is not explained, which gaps should be filled by the newly proposed risk score. At least one should discuss the other risk models and compare the predictions.**

We agree with the reviewer that we should have informed which gaps we think we have filled by the proposed risk score. For this reason, we have extended the paragraph of the manuscript where this issue is commented. Though there are some risk models that include genetic data, our study has used a larger number of SNPs and combined with life-style risk factors.

**Although counting risk factors is appealing for clinical utility, it does not provide an optimal risk prediction. What is the loss in predictive power compared to a weighted risk model?**

We have now included the analyses of weighted risk models, both with weights derived from the literature and fitted to our data. When cross-validation was used to assess the predictive accuracy, all three models performed very similar. These details have been included in the methods and results.

**Statistical analysis: I do not understand why the authors adjusted for a propensity score which contains some of the risk factors. How does this interact with the later construction of the risk model?**

Controls were frequency-matched to cases, by age, sex and region, ensuring that in each region there was at least one control of the same sex and 5-year interval for each case. This is why we could not include age and sex in our predictive models. Other factors included in the propensity score like region and education was used to adjust for potential confounding.

In order to clarify this, a better description of the study in the Methods section (Study population) of the manuscript has been added.

**Statistical analysis: AUROC estimation and CI: Please explain how the bootstrapping was performed and how it provides an unbiased estimate of the AUROC + CI. To my opinion, cross-validation is more appropriate to solve the overfitting issue.**

We thank the reviewer for this suggestion and indeed, the cross-validation approach provides a better estimate of the predictive accuracy of the model. Now we show the cross-validation AUROC estimate, which is 0.63, lower than previously reported of 0.65. To calculate the 95% CIs,

a bootstrap approach has been used, nested with the cross-validation procedure.

**The last two paragraphs of the results consider incidences and possible screening strategies in dependence on the risk score. It is very difficult to follow the authors here. Please improve the presentation. What are the conclusions of these considerations?**

As suggested, these paragraphs of the results have been extensively revised in a way we hope is clearer for the reader.







- **Ibáñez-Sanz G**, Garcia M, Gómez-Matas J, Domènech X, Binefa G, Rodríguez-Moranta F, Vidal C, Milà N, Soriano A, Moreno V. *Factores asociados con un resultado falso positivo en el cribado de Cáncer Colorectal*. Acceptat com a pòster amb menció especial “recomendado por la SEED” al Congrés de la Societat Espanyola d’Endoscòpia digestiva a Saragossa. Novembre 2015.
- **Ibáñez-Sanz G**, Garcia M, Rodríguez-Moranta F, Gómez-Matas J, Binefa G, Padrol I, Benito L, Milà N, Gornals J, Moreno V. *Falsos negativos del cribado de cáncer colorectal mediante test de sangre oculta en heces y colonoscopia como prueba diagnóstica*. Acceptat com a comunicació oral al Congrés de la Societat Espanyola d’Endoscòpia Digestiva a Saragossa. Novembre 2015.
- **Ibáñez-Sanz G**, Garcia M, Rodríguez-Moranta F, Gómez-Matas J, Binefa G, Padrol I, Benito L, Milà N, Gornals J, Moreno V. *Falsos negativos del cribatge de càncer colorectal mitjançant test de sang oculta en femta i colonoscòpia com a prova diagnòstica*. Acceptat com a pòster al XXV Congrés de la Societat Catalana de Digestologia a Reus. Gener 2016
- **Ibáñez-Sanz G**, Díez-Villanueva A, Rodríguez-Moranta F, Padrol I, Guinó E, Pollán M, Martín Sánchez V, Llorca J, Altzibar JM, Ardanaz E, Tardón A, Jiménez Moleón JJ, Peiró R, Aguacil J, Kogevinas M, Moreno V. *Modelo de riesgo para estratificar el riesgo de cáncer colorectal en población española utilizando loci comunes de susceptibilidad genética*. Acceptat com a comunicació oral a la XIX reunió anual de la Associació Espanyola de Gastroenterologia a Madrid. Març 2016.