

## Nicht-invasive Diagnostik kolorektaler Tumore – Hat der Guaiac-Test ausgedient?

Non-invasive detection of colorectal cancer – do we still need the guaiac-based fecal occult blood test?

**Jürgen Stein\*, Stefan M. Loitsch und Yogesh Shastri**

Gastroenterologie, Proktologie, Diabetologie,  
Ernährungsmedizin, St. Elisabethen-Krankenhaus,  
Katharina-Kasper-Kliniken, Frankfurt/Main, Deutschland

### Zusammenfassung

Aufgrund der leichten Handhabung und des Nachweises einer Mortalitätssenkung gilt der Nachweis von okkultem Blut (FOBT) im Stuhl derzeit als das am weitesten verbreitete Screeningverfahren für das kolorektale Karzinom. Als nachteilig erweisen sich allerdings eine unzureichende Sensitivität, insbesondere beim Nachweis früher Stadien und eine nach wie vor geringe Akzeptanz in der Bevölkerung. Vorläufige Daten zum Nachweis von Calprotectin oder der Tumor-M2-PK im Stuhl ließen bessere Screeningeigenschaften erwarten. Aber auch hier schränkt die geringe Sensitivität für frühe Vorstufen und unzureichende Spezifität mit zu erwartenden hohen Folgekosten die Tauglichkeit der Tests deutlich ein. Die kürzlich entwickelten immunologischen FOBTs (I-FOBT) erweisen sich als spezifischer und sensitiver. Sie beruhen auf dem Nachweis von humanem Hämoglobin mittels spezifischer Antikörper und sind somit unabhängig von diätetischen oder medikamentösen Faktoren, was zu einer deutlich besseren Akzeptanz führt. Sie gelten derzeit als kosteneffektivste Verfahren unter den nichtinvasiven Screeningmaßnahmen. Der Nachweis von Tumor-DNA im Stuhl eröffnet eine neue Ära zum frühzeitigen Nachweis kolorektaler Karzinome. Erste kleinere Studien weisen auf eine sehr gute Sensitivität dieser Verfahren hin. Sie lagen für kolorektale Karzinome zwischen 62–91% und für Adenome zwischen 26–73% bei mit 93–100% sehr guter Spezifität. Als nachteilig im Vergleich zu den derzeit verfügbaren Screeningtests erweisen sich allerdings die vergleichsweise hohen Kosten.

\*Korrespondenz: Prof. Dr. Dr. Jürgen Stein, St. Elisabethen-Krankenhaus, Katharina-Kasper-Kliniken, Ginnheimer Straße 3, 60487 Frankfurt/Main, Deutschland  
Tel.: +49 (69) 7939 219/119  
Fax: +49 (69) 7939 2669  
E-mail: J.Stein@em.uni-frankfurt.de

**Schlüsselwörter:** Calprotectin; DNA; fäkaler okkultur Stuhltest; Kolorektales Karzinom; M2-PK.

### Abstract

Fecal occult blood testing (FOBT) is the most widely prescribed screening test for colorectal cancer (CRC) because of its simplicity, non-invasiveness, and demonstrated mortality benefits. However, guaiac-based fecal blood tests (G-FOBT) suffer from poor sensitivity, a limited ability to detect early lesions, and low population compliance. These limitations have prompted many innovations in stool testing. Preliminary data on fecal proteins including calprotectin and tumor-M2-PK show better performance characteristics compared to G-FOBT. Nevertheless, these tests also suffer from low sensitivity in detecting early lesions and poor specificity, leading to high costs for follow-up of false-positive tests. Recently developed immunological tests (I-FOBT) demonstrate significantly higher sensitivity and specificity. I-FOBTs use antibodies specific for human hemoglobin and are therefore, unlike G-FOBT, not affected by diet or drug administration, leading to improved patient participation in screening for CRC. At present, I-FOBTs seem to be the most cost-effective approach to non-invasive CRC screening. Fecal DNA analysis opens up a new field for early detection of colorectal neoplasia. Small trials of multitarget assays demonstrate a CRC sensitivity of 62–91% and adenoma sensitivity of 26–73%. The specificity of these assays is high, ranging from 93% to 100%. At present, the major drawback of fecal DNA testing compared to other fecal CRC screening tests is its high cost.

**Keywords:** calprotectin; colon cancer; DNA; fecal occult blood test; M2-PK.

Die Inzidenz kolorektaler Karzinome (KRK) hat sich von 1960 bis 1980 verdoppelt [1]. Nach dem Bronchialkarzinom, aber noch vor dem Mammakarzinom, liegt das kolorektale Karzinom in der Statistik aller Krebstodesursachen in Deutschland an zweiter Stelle. Jährlich kommt es in Deutschland zu mehr als 70 000 Neuerkrankungen,

es versterben an diesem Malignom pro Jahr fast 35 000 Menschen. Das Lebenszeitrisko beträgt in Deutschland 4%–6%, ab dem 50. Lebensjahr verdoppeln sich Inzidenz und Mortalität mit jeder Lebensdekade. Aufgrund des langjährigen Prozesses der karzinomatösen Entartung besteht die Möglichkeit, durch adäquate Screeningmaßnahmen und Polypektomie die Karzinomentstehung zu verhindern oder zumindest den Tumor in einem günstigen Frühstadium zu diagnostizieren.

Die totale Koloskopie stellt weltweit den diagnostischen Goldstandard als Früherkennungsmaßnahme des kolorektalen Karzinoms dar, da sie die gleichzeitige Entfernung von potentiell malignen Vorstufen ermöglicht. Die Methode leidet jedoch weiterhin unter einer eingeschränkten Patientenakzeptanz, deren Gründe sowohl in den vorbereitenden Abführmaßnahmen als auch in der körperlichen Belastung und der Sedierung zu suchen sind [2].

Als Alternative wurde die Okkultblutuntersuchung im Stuhl (FOBT) in Deutschland 1977 in das Krebsfrüherkennungsprogramm aufgenommen. Der Nutzen des FOBT wurde in zahlreichen großen multizentrischen randomisierten Studien wiederholt belegt. Dennoch bleibt er aufgrund seiner nur mäßigen Sensitivität in seiner Wertigkeit begrenzt. Seit Mitte der 1990er-Jahre wurden daher weitere, vom Ansatz her unterschiedliche nichtinvasive Tests entwickelt. Hierzu zählen neben immunologisch basierten FOBTs, der Nachweis von weiteren Blutbestandteilen, wie Leukozyten (Calprotectin, Laktoferrin), Albumin, Akute-Phase-Proteine ( $\alpha$ 1-Antitrypsin), tumorspezifische Stoffwechselproteine (Pyruvatkinase M2) sowie verschiedene Proto-Onkogene und Onkogene. Der nachfolgende Beitrag versucht den derzeitigen Stand der wichtigsten neuen Stuhltests anhand der Literatur kritisch gegenüberzustellen.

## Fäkaler Okkultbluttest

Die Stuhltestung auf okkultes Blut beruht auf der Feststellung, dass kolorektale Karzinome häufiger bluten als die normale Darmmukosa. Da viele Karzinome intermittierend bluten, führt eine wiederholte Testung zu einer zuverlässigeren Erkennung [3, 4]. Ein positiver FOBT sollte nicht kontrolliert werden, sondern erfordert die Untersuchung des gesamten Kolons mittels Koloskopie.

## Guaiac-Tests

Die gebräuchlichsten Testverfahren, wie z.B. der Hämoccult, verwenden mit Guaiakharz imprägniertes Filterpapier. Die Pseudoperoxidaseaktivität von eventuell in der Stuhlprobe vorhandenem Hämoglobin führt nach Zugabe von Wasserstoffperoxid zu einer Blaufärbung des Guaiakharzes. Die Sensitivität beim Nachweis kolorektaler Karzinome wurde an verschiedenen Gruppen unter Screeningbedingungen an großen Kollektiven untersucht. Werden Patienten mit bekannten symptomatischen Karzinomen untersucht, beträgt die Sensitivität für einen einmaligen Test in einzelnen Studien über 90% [5].

In einer prospektiven Studie wurde bei 3.000 symptomfreien Personen mit einem Durchschnittsalter von 63 Jahren nach FOBT eine komplette Koloskopie durchgeführt. Die Sensitivität des FOBT betrug hierbei 50% für Karzinome, 12% für alle Adenome und 22% für Risiko-adenome (tubuläre Adenome > 1 cm, villöse Anteile oder hochgradige Dysplasie) [5]. Die Spezifität des verwendeten FOBT lag bei 94%.

Zur Steigerung der Sensitivität wurde in dieser Studie vor Entwicklung einer Rehydrierung der Testfelder vorgenommen. Die damit erreichte Zunahme der Sensitivität (von 80,8% auf 92,2%) ging allerdings mit einer deutlich niedrigeren Spezifität einher (von 97,7% bis 90,4%). Eine Rehydrierung der Testbriefe wird zumindest in den USA daher nicht mehr empfohlen [6, 7]. Für den einmaligen nicht rehydrierten Hämoccult-Test, bestehend aus drei Testbriefchen, beträgt die Sensitivität für kolorektale Karzinome etwa 40% bei einer Spezifität zwischen 96 und 98% [8].

Zur Senkung der Mortalität liegen die Daten von vier großen prospektiv-randomisierten Studien vor (Tabelle 1). Bei jährlicher Anwendung des FOBT kann demnach mit einer Reduktion der KRK-assoziierten Mortalität von 16–33% gerechnet werden, da die Tumore in einem prognostisch günstigeren Stadium erfasst werden. Ein kürzlich publiziertes Update der Minnesota-Studie konnte nach 18 Jahren Beobachtungszeit erstmals auch eine Verminderung der Inzidenz nachweisen. Die Abnahme der Inzidenz betrug 20% in der jährlich getesteten Gruppe gegenüber 17% in der zweijährlich getesteten Gruppe [9].

Die Sensitivität des FOBT für Adenome ist deutlich geringer als für Karzinome. Sie korreliert mit der Adenomgröße und der damit verbundenen Zunahme der Blu-

**Tabelle 1** Übersicht randomisierter Studien zum Einsatz des Guaiac-Hämoccult-Tests für das Screening auf kolorektale Karzinome.

Autor	Teilnehmer	Alter (Jahre)	Dauer (Jahre)	Screeningintervall (Jahre)	Sensitivität für KRK (%)	PPW für KRK (%)	Reduktion der KRK-Mortalität (%)	Compliance (%)
Mandel et al. 1993 [6]	15.570	50–80	13	1	92	2,2	33	75
Kewenter et al. 1994 [36]	33.884	60–64	2	2	81	4,2–5,0	12	63
Hardcastle et al. 1996 [37]	75.253	45–74	7,8	2	64	11 (9,9–11,9)	15	53
Kronborg et al. 1996 [38]	30.967	45–75	10	2	46	10,2–17,7	18	67

KRK: Kolorektales Karzinom; PPW: positiver prädiktiver Wert.

tungsneigung. Die Sensitivität wurde in einer endoskopisch-kontrollierten Studie mit lediglich 24% angegeben [5].

### Immunologische Testverfahren zum Nachweis von okkultem Blut

Der Nutzen chemisch basierter FOBTs wird durch diverse Faktoren eingeschränkt. Neben der bereits erwähnten mäßigen Sensitivität führen oftmals diätetische Faktoren (z.B. Genuss von Fleisch und Fleischprodukten) zu falsch-positiven Ergebnissen [10]. Die Einhaltung entsprechender Ernährungsempfehlungen vermindert wiederum die Akzeptanz der Tests [11]. Diese Probleme werden durch die Verwendung immunologisch basierter FOBTs (I-FOBTs) umgangen. Diese Verfahren wurden bereits Anfang der 1990er-Jahre eingeführt und basieren entweder auf dem Nachweis von Hämoglobin und/oder Haptoglobin im Stuhl (Tabelle 2). Als weiterer Vorteil der I-FOBTs gilt die quantitative Bestimmung von Hämoglobin. Dadurch lassen sich Normbereiche („cut-offs“) an das unterschiedliche Risikoprofil einzelner Bevölkerungsgruppen anpassen [12, 13].

Wiederholt kritisiert wurde das Fehlen von Daten zur Senkung der Mortalität in größeren Studien. Inzwischen konnte erstmals eine 60%ige Reduktion der KRK-Mortalität aufgezeigt werden, wenn Patienten sich jährlich einem I-FOBT unterzogen [14].

### Leukozytenmarker

Da kolorektale Neoplasien meist nur intermittierend bluten und Hämoglobin somit keinen idealen Marker darstellt, wurden seit Mitte der 1990er-Jahre Leukozytenproteine (Calprotectin, Laktoferrin) als Marker vorgeschlagen, da sie aus dem umliegenden neoplastischen wie entzündlichen Gewebe ins Darmlumen einwandern [15]. Bei Calprotectin und Laktoferrin handelt es sich um ca. 60 kDa große Proteine, die bis 60% des Gesamteiweißgehaltes von Neutrophilen ausmachen. Sie eignen sich aufgrund ihrer Stabilität sehr gut zum Nachweis von inflammatorischen Zellen im Stuhl. Ihr Stellenwert in der Erst- und Verlaufsdiagnostik entzündlicher Darmerkrankungen wurde in zahlreichen Studien wiederholt belegt und ist inzwischen unbestritten [16] (Übersicht in 17). Gerade im Hinblick auf eine weitere Steigerung der Sensitivität, insbesondere für Adenome, erschien die Verwendung dieser Stuhltests auch bei der Früherkennung kolorektaler Karzinome als sinnvoll. Zwar sind die in acht Studien (Tabelle 3) gefundenen Sensitivitäten von 63–90% für Karzinome und von 26–80% für Adenome mit denen der I-FOBTs vergleichbar, die Spezifitäten von 47%–76% erweisen sich dagegen für ein kostengünstiges Screening wegen der Folgekosten falsch-positiver Befunde als nicht akzeptabel.

### M2-PK

Die verminderte Fähigkeit, ihren Energiebedarf durch glykolytischen Abbau von Glukose zu decken, gilt als spezifisch für Tumorzellen und ist auf eine im Rahmen der malignen Zelltransformation zunehmend auftretende Form einer dimeren Pyruvatkinase (M2-PK) zurückzuführen. Der Nachweis von M2-PK im Stuhl galt daher zunächst als neuer tumorspezifischer Marker für maligne Prozesse im Intestinaltrakt. Erste an kleinen Kollektiven durchgeführte retrospektive Untersuchungen fanden zwar Sensitivitäten von 73% (60–84%), allerdings, ähnlich wie für Calprotectin, auf Kosten einer unbefriedigenden Spezifität von 78% (70–84%), was in nachfolgenden prospektiven Studien an größeren Patientenkollektiven von verschiedenen Arbeitsgruppen bestätigt wurde (Tabelle 4) [18]. Eigene Untersuchungen [19, 20] sowie Arbeiten anderer Autoren [21] weisen auf positive Testergebnisse bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen in Abhängigkeit der entzündlichen Aktivität von bis zu 100% hin, was die propagierte Spezifität dieses Tests für neoplastische Veränderungen zweifelsfrei widerlegt [20, 22].

### Molekulare Marker

Wissenschaftliche Grundlage für das Konzept genetischer Stuhltests war die Aufdeckung der molekularen Veränderungen als Adenom-Karzinom-Sequenz kolorektaler Karzinome Ende der 1980er-Jahre durch Fearon und Vogelstein [23] (Abbildung 1). Danach weisen bis zu 90% aller Karzinome Mutationen des Tumorsuppressorgens APC [24], 40–50% Mutationen des Onkogens K-ras [25] und 50–60% Mutationen des p53-Tumorsuppressorgens [26] auf. Weiterhin weisen etwa 50% aller kolorektalen Karzinome eine Inaktivierung eines bisher nicht eindeutig identifizierten Tumorsuppressorgens auf Chromosom 18q auf [27]. Aufgrund ihrer Häufigkeit galten zunächst vor allem APC, K-ras und p53 als vielversprechende neue Tumormarker [28, 29]. Die Mehrzahl der Publikationen hatte sich daher zunächst auf den Nachweis von K-ras-Mutationen konzentriert. Ein nahezu ideales Kandidatengen ist das APC-Gen, das den ersten Schritt in der Karzinogenese des kolorektalen Karzinoms repräsentiert (Gatekeeperfunktion) (Tabelle 5).

Bei der Untersuchung des Stuhls auf eine Mikrosatelliteninstabilität des Markers BAT26 konnten bei 46 proximal lokalisierten kolorektalen Karzinomen in 37% eine Mikrosatelliteninstabilität nachgewiesen werden. Jedoch konnte keines der 19 proximal lokalisierten Adenome identifiziert werden [30, 31]. Diese niedrige Sensitivität für Karzinome und Adenome erlaubt deshalb nicht den alleinigen Einsatz von BAT26 als molekularen Marker. Die niedrige Sensitivität überrascht jedoch nicht, da nur 15% aller kolorektalen Karzinome eine Mikrosatelliteninstabilität (MSI) aufweisen. Bei proximal lokalisierten kolorektalen Karzinomen wird die Inzidenz mit 25–30%

**Tabelle 2** Übersicht von Studien zum Einsatz des immunologisch-basierten Hämoccult-Tests für das Screening kolorektaler Karzinome.

Autor	Teilnehmer (M/W)	Alter	Kolorektales Karzinom		Kolorektales Karzinom und Adenome	
			Sensitivität (%)	Spezifität (%)	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
Sieg et al. 1999 [39]	621	59 (15–85)	87 (83–99)	96	54	
Nakama et al. 2001 [40]	4270		89	94		
Greenberg et al. 2000 [41]	554	59,8 ± 11,7	87,5 (71,3–100)	86,2 (83,3–89)	50,9 (27,7–64,1)	88 (88,1–99,9)
Wong et al. 2003a [42]	135 (55/80)	58 (38–90)	89	94	82	94
Wong et al. 2003b [43]	250 (134/116)	59 (40–81)	100	asymptomatisch: 87 symptomatisch: 99	62–65	87–93
Launoy et al. 2005 [44]	7421	50–74	85 (72–98)	94 (94–95)		
Morikawa et al. 2005 [45]	21.805	48,3 ± 9,4	65,8 (55,4–76,3)	94,3–94,9	27,1 (23,9–30,3)	95,1 (94,8–95,4)
Vilkin et al. 2005 [46]			100		76,5	95,3
Vogel et al. 2005 [47]	116 (44/72)	47	91 (71–99)	94 (85–98)		
Hoepfner et al. 2006 [48]	389	59,7	74,0 (60,4–85)/ 77,7 (64,4–87,9)		59,7 (47,5–71,1)/ 63,2 (51,7–74,9)	94,5 (89,9–97,5)/ 96,3 (92,2–98,7)
Li et al. 2006 [49]	324	53,5 (18–68)	87,8/95,9	96,4/89,2	65,1/69,7	
(Zweifach/Dreifach)						
Smith et al. 2006 [50]	2547		87,5	96,6	42,6	
Levi et al. 2006 [51]	252		100	90	74	90
Levi et al. 2007 [12]	1000	63,2 ± 12,1	94,1 (82–100)	87,5 (85,4–89,6)	67 (57,4–76,7)	91,4 (89,6–93,2)
Shastri et al. 2007 [52]	640 (265/375)	52 (24–88)	70,9 (51,1–82,4)	96,3 (94,3–97,8)	64,5 (52,7–75,1)	96,3 (94,3–97,8)

**Tabelle 3** Übersicht von Studien zum Einsatz von Leukozytenmarkern für das Screening kolorektaler Karzinome (modifiziert nach Haug und Brenner, 2005 [60]).

Autor	Marker	Studienpopulation (Anzahl, Alter)			Sensitivität (95% CI) (%)		Spezifität (95% CI) (%)
		KRK	Adenome	Kontrolle	KRK	Adenome	
Dubrow et al. 1992 [53]	Lysozym	n=23, 66 J.	–	n=39, 68 J.	<b>43</b> (23–66)	–	<b>69</b> (52–83)
Roseth et al. 1993 [15]	Calprotectin	n=40, 68 J.	n=40, 68 J.	n=64, 61 J.	<b>94</b> (84–99)	<b>80</b> (64–91)	<b>73</b> (61–84)
Kronborg et al. 2000 [54]	Calprotectin	n=23, k.A.	n=203, k.A.	n=58, k.A.	<b>74</b> (52–90)	<b>43</b> (30–50)	<b>67</b> (54–79)
Johne et al. 2001 [55]	Calprotectin	n=177, 70 J.	–	n=145, 63 J.	asymptomatisch: <b>64</b> (44–81) symptomatisch: <b>87</b> (81–92)	–	<b>67</b> (59–74)
Kristinsson et al. 2001 [56]	Calprotectin	n=5, k.A.	n=73, k.A.	n=114, k.A.	<b>80</b> (28–99)	<b>56</b> (23–66)	<b>47</b> (38–57)
Tibble et al. 2001 [57]	Calprotectin	n=62, 68 J.	n=29, k.A.	n=96, 41 J.	<b>90</b> (80–96)	<b>55</b> (44–74)	<b>72</b> (62–81)
Limburg et al. 203 [58]	Calprotectin	n=3, k.A.	n=94, k.A.	n=315, k.A.	–	<b>37</b> (28–48)	<b>63</b>
Hoff et al. 2004 [59]	Calprotectin	n=12, k.A.	n=787, k.A.	n=1518, k.A.	<b>63</b> (35–85)	<b>26</b> (2–29)	<b>76</b> (74–78)

KRK: Kolorektales Karzinom, k.A.: keine Angaben.

**Tabelle 4** Übersicht von Studien zum Einsatz von M2PK für das Screening auf kolorektale Karzinome (modifiziert nach Haug und Brenner, 2005 [60]).

Autor	Design	Teilnehmer (M/F)	Alter	Sensitivität (%)		Spezifität (%)	
				KRK	Adenom	KRK	Adenom
Hardt et al. 2003 [61]	Monozentrisch, retrospektiv	78 (58/29)	68,2	<b>69</b>	<b>50</b>	k.A.	k.A.
Hardt et al. 2004 [18]	Monozentrisch, retrospektiv	204 (k.A.)	k.A.	<b>73,8</b> (60–84)	k.A.	<b>78</b> (70–84)	k.A.
Naumann et al. 2004 [62]	Multizentrisch, prospektiv	232	k.A.	<b>85</b>	<b>37</b>	k.A.	k.A.
Vogel et al. 2005 [47]	Multizentrisch, prospektiv	138 (61/77)	58	<b>77</b>	<b>48</b>	<b>72</b>	k.A.
Shastri et al. 2006 [19]	Multizentrisch, prospektiv	317 (152/165)	56	<b>81</b>	<b>26</b>	<b>71</b>	<b>71</b>
Tonus et al. 2006 [63]	Monozentrisch, retrospektiv	96 (54/42)	66	<b>78</b>	k.A.	<b>93</b>	<b>93</b>
Haug et al. 2007 [64]	Monozentrisch, retrospektiv	917 (k.A.)	50–70	Kolon: <b>85</b> (65–96) Rektum: 56 (76–81)	k.A.	k.A.	k.A.
Shastri et al. 2007 [13]	Multizentrisch, prospektiv	640 (265/375)	52 (24–88)	<b>71</b> (57,1–82,4)	<b>30</b> (19,9–42,7)	<b>74</b> (69,8–77,6)	k.A.

k.A.: keine Angaben.

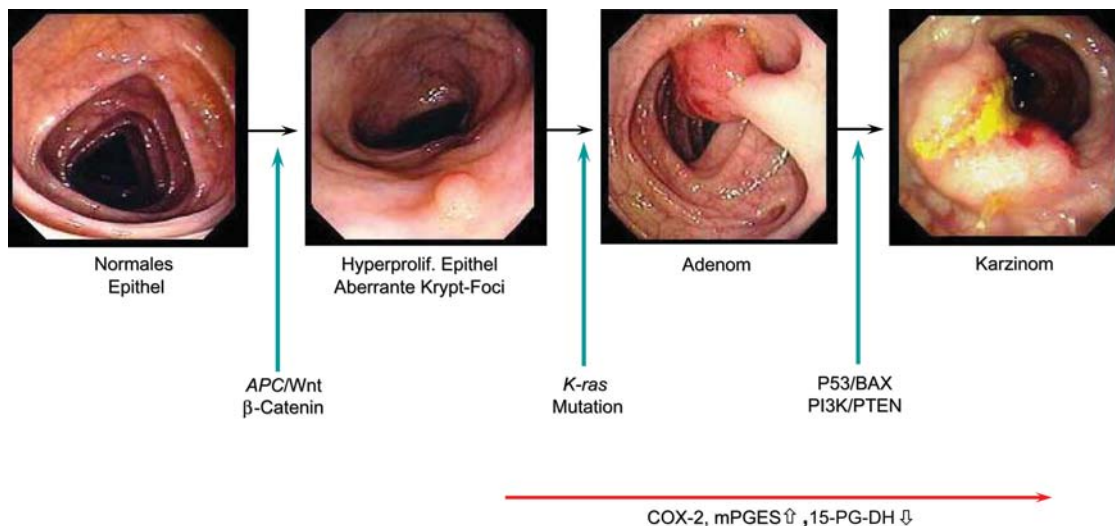
angenommen. Ebenso wird die Mikrosatelliteninstabilität bei sporadischen kolorektalen Karzinomen oft erst bei der Progression von Adenomen zum Karzinom nachweisbar.

Die Sensitivität molekularer Stuhltests kann durch die *Kombination verschiedener molekularer Marker* in einem Markerpanel erhöht werden (Tabelle 6). So verwendeten Ahlquist et al. [32] erstmals ein Panel von fünf Markern bei Patienten mit koloskopisch gesicherten kolorektalen Karzinomen bzw. Adenomen >1 cm im Vergleich zu

einer Kontrollgruppe mit unauffälliger Koloskopie. Untersucht wurden 15 definierte Mutationen der Gene APC (4-mal), p53 (8-mal) und K-ras (3-mal), eine Mikrosatelliteninstabilität (BAT26) sowie sog. L-DNA (Long-DNA).

Mittels des verwendeten Panels konnten 91% aller kolorektalen Karzinome und 82% der Adenome diagnostiziert werden. Die Spezifität betrug 93% (95% CI 76–99%). Unter Ausschluss des Markers K-ras ergab sich eine Sensitivität von 91% (95%-CI: 71–99%) für kolorektale Karzinome und 73% (95%-CI: 39–94%) für





**Abbildung 1** Adenom-Karzinom-Sequenz des kolorektalen Karzinoms und die dabei auftretenden Mutationen.

**Tabelle 5** Nachweis einzelner DNA-Mutationen im Stuhl bei Patienten mit kolorektalen Karzinomen (modifiziert nach Haug und Brenner, 2005 [60]).

Autor	Marker	Studienpopulation (Anzahl, Alter)			Sensitivität (95% CI) (%)		Spezifität (95% CI) (%)
		KRK	Adenome	Kontrolle	KRK	Adenome	
Ratto et al. 1996 [65]	<i>K-ras</i>	n=25, 61 J.	–	n=11	40 (21–61)	–	100 (72–100)
Villa et al. 1996 [66]	<i>K-ras</i>	n=5, 62 J.	n=42, 59 J.	n=46, 50 J.	80 (28–99)	29 (16–45)	96 (85–99)
Puig et al. 2000 [67]	<i>K-ras</i>	n=11, k.A.	n=22, k.A.	n=30, k.A. 25 pathol. Kontrollen	55 (23–83)	27 (11–50)	100 (88–100)
Wan et al. 2004 [68]	<i>K-ras</i>	n=23, 69 J.	n=20, k.A.	n=20, k.A.	56 (34–77)	30 (12–54)	95 (75–100)
Traverso et al. 2002 [30]	APC	n=28, 53 J.	n=18, 63 J.	n=28, 53 J.	61 (41–79)	50 (26–74)	100 (88–100)
Traverso et al. 2002 [31]	BAT26	n=46, k.A.	n=69, k.A.	n=19, k.A.	37 (23–52)	0	100 (82–100)
Müller et al. 2004 [69]	SFRP2 Methylierung	n=13, 57 J.	–	n=13, 49 J.	77 (46–95)	–	77 (46–95)
Loktionov et al. 1998 [70]	SDNAI	n=17, 69 J.	–	n=16, 68 J.	100 (80–100)	–	81 (54–96)
Boynton et al. 2003 [71]	DNA Integrität	n=27, k.A.	–	n=77, k.A.	56 (35–75)	–	97 (91–100)

CI: Confidenzintervall; DIA: DNA-Integrität; L-DNA: Long-DNA; MSI: Mikrosatelliteninstabilität; k.A.: keine Angabe.

Adenome bei einer Spezifität von 100% (95%-CI: 88–100%). Der positive prädiktive Wert betrug unter Ausschluss von *K-ras* 100%, der negative prädiktive Wert betrug 85% [Übersichten in 33, 34].

Die bisher verfügbaren Ergebnisse an kleinen Patientenkollektiven zeigen eine Sensitivität molekularer Stuhltests von bis 90% zum Nachweis kolorektaler Karzinome und wären damit unter Umständen sensitiver und spezifischer als alle bisher verfügbaren Tests. Aufwendige Probenaufarbeitung, der apparative und personelle Aufwand und die daraus resultierenden Kosten von 300 bis 400 €/Test

sind derzeit für ein kolorektales Screening allerdings unrealistisch [35].

## Fazit

Der G-FOBT gehörte seit Ende der 1970er Jahre zum festen Bestandteil der gesetzlichen Krebsfrüherkennung in Deutschland. Sein Nutzen wurde in zahlreichen großen multizentrischen randomisierten Studien wiederholt

**Tabelle 6** Nachweis kombinierter DNA-Mutationen im Stuhl bei Patienten mit kolorektalen Karzinomen (modifiziert nach Haug und Brenner, 2005 [60]).

Autor	Marker	Studienpopulation (Anzahl, Alter)			Sensitivität (95% CI) (%)		Spezifität (95% CI) (%)
		KRK	Adenome	Kontrolle	KRK	Adenome	
Ahliquist et al. 2000 [3]	<i>K-ras</i> <i>P53</i> <i>APC</i> <i>BAT26</i> <i>L-DNA</i>	n=22, 70 J.	n=11; 73 J.	n=28, 68 J.	<b>91</b> (71–99) Unabhängigkeit vom Stadium	<b>82</b> (48–98)	<b>93</b> (77–99)
Koschiji et al. 2002 [72]	<i>K-ras</i> <i>APC</i>	n=41, 63 J.	–	n=15, k.A.	<b>88</b> (74–96)		<b>100</b> (78–100)
Calistri et al. 2003 [73]	<i>K-ras</i> <i>P53</i> <i>APC</i> <i>MSI</i> <i>I-DNA</i>	n=53, 62 J.	–	n=38, 71 J.	<b>62</b> (48–75)		<b>97</b> (86–100)
Tagore et al. 2003 [74]	<i>K-ras</i> <i>P53</i> <i>APC</i> <i>MSI</i> <i>DIA</i>	n=52, 64 J.	n=28, 61 J.	n=212, 63 J.	<b>64</b> (49–76)	<b>57</b> (36–76)	<b>96</b> (93–98)
Leung WK et al. 2007 [75]	<i>APC</i> <i>ATM</i> <i>MLH1</i> <i>sFRP2</i> <i>HLTFMGMT</i>	n=20, 69 J.	n=30, 70,5 J.	n=30, 70,5 J.	<b>75</b> (50,9–91,3)	<b>68</b> (46,5–85,1)	<b>90</b> (73,5–97,9)

CI: Confidenzintervall; DIA: DNA-Integrität; L-DNA: Long-DNA; MSI: Mikrosatelliteninstabilität; k.A.: keine Angabe.

**Tabelle 7** Gegenüberstellung alter und neuer Stuhltests zum Screening kolorektaler Karzinome.

Marker	Kolorektales Karzinom (%)		Adenome (%) Sensitivität	Adenome + KRK (%)		Kosten (€)
	Sensitivität	Spezifität		Sensitivität	Spezifität	
G-FOBT	26 (13–39)	88–98	12–22	22–34	86–96	0,50– 1
I-FOBT	66–100	87–99	20–30	45–80	88–96	Schnelltests 5–8 ELISAs 15–22
Calprotectin	63–90	47–99	26–56 (80)			20–25
M2-PK	69–85	65–78	26–50	55–74	62–78	25–30
DNA-einzeln	40.56	77–100	27 50	k.A.	k.A.	150–250
DNA-kombiniert	88 (74–96)	90–100	57–82	k.A.	k.A.	300–400

k.A.: keine Angaben.

belegt. Dennoch bleibt er aufgrund seiner nur mäßigen Sensitivität in seiner Wertigkeit begrenzt.

Die Entwicklung immunologisch basierter Tests zum Nachweis von okkultem Stuhl Mitte der 1990er-Jahre war ein entscheidender Schritt zur Verbesserung von Sensitivität, Spezifität und Patientencompliance. Die I-FOBTs sind in Japan und den USA als kosteneffektivere Tests in der *Prävention des* kolorektalen Karzinoms eingestuft worden.

Dagegen konnten weder der Nachweis von Neutrophilenmarkern, noch von M2-PK im Stuhl aufgrund unzureichender Spezifität und den damit verbundenen Folgekosten, die in sie anfänglich gesetzten Erwartungen erfüllen.

Molekularen Markern gehört die Zukunft. Sie weisen Sensitivitäten für das kolorektale Karzinom von 62 bis

91% und 26 bis 73% für Adenome auf, bei Spezifitäten von 93–100%. Limitierend sind derzeit allerdings apparativer und personeller Aufwand und die damit verbundenen Kosten (Tabelle 7).

### Acknowledgement

This work was supported by the Else Kröner-Fresenius-Foundation, Bad Homburg (Germany).

### Literatur

1. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. GLOBOCAN 2000: cancer incidence, mortality and prevalence worldwide, version 1.0. IARC Cancer Base 5. Lyon: IARC, 2001, <http://www-dep.iarc.fr/globocan/globocan.html>.

2. Schneider AR, Caspary WF. Diagnosis of colorectal carcinoma. An update. *Radiologe* 2003;43:105–12.
3. Ahlquist DA, McGill DB, Fleming JL, Schwartz S, Wieand HS, Rubin J, et al. Patterns of occult bleeding in asymptomatic colorectal cancer. *Cancer* 1989;63:1826–30.
4. Macrae FA, St. John DJ. Relationship between patterns of bleeding and hemocult sensitivity in patients with colorectal cancers or adenomas. *Gastroenterology* 1982;82:891–8.
5. Lieberman DA, Weiss DG. Veterans Affairs Cooperative Study Group 380. One-time screening for colorectal cancer with combined fecal occult-blood testing and examination of the distal colon. *N Engl J Med* 2001;345:555–60.
6. Mandel JS, Bond JH, Church TR, Snover DC, Bradley GM, Schuman LM, et al. Reducing mortality from colorectal cancer by screening for fecal occult blood. *N Engl J Med* 1993;328:1365–71.
7. Winawer S, Fletcher R, Rex D, Bond J, Burt R, Ferrucci J, et al. Gastrointestinal Consortium Panel. Colorectal cancer screening and surveillance: Clinical guidelines and rationale – Update based on new evidence. *Gastroenterology* 2003;124:544–60.
8. Ransohoff DF, Lang CA. Screening for colorectal cancer with the fecal occult blood test: a background paper. American College of Physicians. *Ann Intern Med* 1997;126:811–22.
9. Mandel JS, Church TR, Bond JH, Ederer F, Geisser MS, Mongin SJ, et al. The effect of fecal occult-blood screening on the incidence of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2000;343:1603–7.
10. Rozen P, Knaani J, Samuel Z. Eliminating the need for dietary restrictions when using a sensitive guaiac fecal occult blood test. *Dig Dis Sci* 1999;44:756–60.
11. Cole SR, Young GP. Effect of dietary restriction on participation in faecal occult blood test screening for colorectal cancer. *Med J Aust* 2001;175:195–8.
12. Levi Z, Rozen P, Hazazi R, Vilkin A, Waked A, Maoz E, et al. A quantitative immunochemical fecal occult blood test for colorectal neoplasia. *Ann Intern Med* 2007;146:244–55.
13. Shastri YM, Stein J. Quantitative immunochemical fecal occult blood test for diagnosing colorectal neoplasia. *Ann Intern Med* 2007;147:522–3.
14. Saito H. Screening for colorectal cancer: current status in Japan. *Dis Colon Rectum* 2000;43:S78–84.
15. Roseth AG, Kristinsson J, Fagerhol MK, Schjonsby H, Aadland E, Nygaard K, et al. Faecal calprotectin: a novel test for the diagnosis of colorectal cancer? *Scand J Gastroenterol* 1993;28:1073–6.
16. Summerton CB, Longlands MG, Wiener K, Shreeve DR. Faecal calprotectin: a marker of inflammation throughout the intestinal tract. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002;14:841–5.
17. Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys? *Gut* 2006;55:426–31.
18. Hardt PD, Mazurek S, Toepler M, Schlierbach P, Bretzel RG, Eigenbrodt E, et al. Faecal tumour M2 pyruvate kinase: a new, sensitive screening tool for colorectal cancer. *Br J Cancer* 2004;91:980–4.
19. Shastri YM, Naumann M, Oremek GM, Hanisch E, Rösch W, Mössner J, et al. Prospective multicenter evaluation of fecal tumor pyruvate kinase type M2 (M2-PK) as a screening biomarker for colorectal neoplasia. *Int J Cancer* 2006;119:2651–6.
20. Shastri YM, Stein J. Fecal tumor M2 pyruvate kinase is not a specific biomarker for colorectal cancer screening. *World J Gastroenterol* 2007;13:2769–70.
21. Walkowiak J, Banasiewicz T, Krokowicz P, Hansdorfer-Korzon R, Drews M, Herzig KH. Fecal pyruvate kinase (M2-PK): a new predictor for inflammation and severity of pouchitis. *Scand J Gastroenterol* 2005;40:1493–4.
22. Shastri YM, Stein J. New faecal tests for colorectal cancer screening: is tumor pyruvate kinase M2 one of the options? *Br J Cancer* 2007;97:1595–6.
23. Fearon ER, Cho KR, Nigro JM, Kern SE, Simons JW, Ruppert JM, et al. Identification of a chromosome 18q gene that is altered in colorectal cancers. *Science* 1990;247:49–56.
24. Kinzler KW, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 1996;87:159–70.
25. Bos JL. Ras oncogenes in human cancer: a review. *Cancer Res* 1989;49:4682–9.
26. Boland CR, Sato J, Appelman HD, Bresalier RS, Feinberg AP. Microallelotyping defines the sequence and tempo of allelic losses at tumour suppressor gene loci during colorectal cancer progression. *Nat Med* 1995;1:902–9.
27. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med* 1988;319:525–32.
28. Eguchi S, Kohara N, Komuta K, Kanematsu T. Mutations of the p53 gene in the stool of patients with resectable colorectal cancer. *Cancer* 1996;77:1707–10.
29. Frattini M, Balestra D, Pilotti S, Bertario L, Pierotti MA. Tumor location and detection of k-ras mutations in stool from colorectal cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:72–3.
30. Traverso G, Shuber A, Levin B, Johnson C, Olsson L, Schoetz DR Jr, et al. Detection of APC mutations in fecal DNA from patients with colorectal tumors. *N Engl J Med* 2002;346:311–20.
31. Traverso G, Shuber A, Olsson L, Levin B, Johnson C, Hamilton SR, et al. Detection of proximal colorectal cancers through analysis of faecal DNA. *Lancet* 2002;359:403–4.
32. Ahlquist DA, Skoletsky JE, Boynton KA, Harrington JJ, Mahoney DW, Pierceall WE, et al. Colorectal cancer screening by detection of altered human DNA in stool: feasibility of a multitarget assay panel. *Gastroenterology* 2000;119:1219–27.
33. Arnold CN, Blum HE. Colon cancer: molecular markers. *Dtsch Med Wochenschr* 2005;130:880–2.
34. Davies RJ, Miller R, Coleman N. Colorectal cancer screening: prospects for molecular stool analysis. *Nat Rev Cancer* 2005;5:199–209.
35. Song K, Fendrick AM, Ladabaum U. Fecal DNA testing compared with conventional colorectal cancer screening methods: a decision analysis. *Gastroenterology* 2004;126:1270–9.
36. Kewenter J, Björk S, Haglund E, Smith L, Svanvik J, Ahren C. Screening and rescreening for colorectal cancer. A controlled trial of fecal occult blood testing in 27,700 subjects. *Cancer* 1988;62:645–51.
37. Hardcastle JD, Chamberlain JO, Robinson MH, Moss SM, Amar SS, Balfour TW, et al. Randomised controlled trial of faecal-blood screening for colorectal cancer. *Lancet* 1996;348:1472–7.
38. Kronborg O, Fenger C, Olsen J, Jorgensen OD, Sondergaard O. Randomised study of screening for colorectal cancer with faecal-occult-blood test. *Lancet* 1996;348:1467–71.
39. Sieg A, Thoms C, Lüthgens K, John MR, Schmidt-Gayk H. Detection of colorectal neoplasms by the highly sensitive hemoglobin-haptoglobin complex in feces. *Int J Colorectal Dis* 1999;14:267–71.
40. Nakama H, Zhang B, Zhang X. Evaluation of the optimum cut-off point in immunochemical occult blood testing in screening for colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2001;37:398–401.



41. Greenberg PD, Bertario L, Gnauck R, Kronborg O, Hardcastle JD, Epstein MS, et al. A prospective multicenter evaluation of new fecal occult blood tests in patients undergoing colonoscopy. *Am J Gastroenterol* 2000;95:1331–8.
42. Wong BC, Wong WM, Cheung KL, Tung TS, Rozen P, Young GP, et al. A sensitive guaiac fecal occult blood test is less useful than an immunochemical test for colorectal cancer screening in a Chinese population. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;18:941–6.
43. Wong WM, Lam SK, Cheung KL, Tong TS, Rozen P, Young GP, et al. Evaluation of an automated immunochemical fecal occult blood test for colorectal neoplasia in a Chinese population. *Cancer* 2003;97:2420–4.
44. Launoy GD, Bertrand HJ, Berchi C, Talbourdet VY, Guizard AV, Bouvier VM, et al. Evaluation of an immunochemical fecal occult blood test with automated reading in screening for colorectal cancer in a general average-risk population. *Int J Cancer* 2005;115:493–6.
45. Morikawa T, Kato J, Yamaji Y, Wada R, Mitsushima T, Shiratori Y. A comparison of the immunochemical fecal occult blood test and total colonoscopy in the asymptomatic population. *Gastroenterology* 2005;129:422–8.
46. Vilkin A, Rozen P, Levi Z, Waked A, Maoz E, Birkenfeld S, et al. Performance characteristics and evaluation of an automated-developed and quantitative, immunochemical, fecal occult blood screening test. *Am J Gastroenterol* 2005;100:2519–25.
47. Vogel T, Driemel C, Hauser A, Hansmann A, Lange S, Jonas M, et al. Comparison of different stool tests for the detection of cancer of the colon. *Dtsch Med Wochenschr* 2005;130:872–7.
48. Hoepffner N, Shastri YM, Hanisch E, Rosch W, Mossner J, Caspary WF, et al. Comparative evaluation of a new bedside faecal occult blood test in a prospective multicentre study. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;23:145–54.
49. Li S, Wang H, Hu J, Li N, Liu Y, Wu Z, et al. New immunochemical fecal occult blood test with two-consecutive stool sample testing is a cost-effective approach for colon cancer screening: results of a prospective multicenter study in Chinese patients. *Int J Cancer* 2006;118:3078–83.
50. Smith A, Young GP, Cole SR, Bampton P. Comparison of a brush-sampling fecal immunochemical test for hemoglobin with a sensitive guaiac-based fecal occult blood test in detection of colorectal neoplasia. *Cancer* 2006;107:2152–9.
51. Levi Z, Hazazi R, Rozen P, Vilkin A, Waked A, Niv Y. A quantitative immunochemical faecal occult blood test is more efficient for detecting significant colorectal neoplasia than a sensitive guaiac test. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;23:1359–64.
52. Shastri YM, Yogesh Shastri, Povse N, Hoepffner N, Loitsch S, Caspary WF, et al. Stein J. Prospective comparative evaluation of fecal tumor pyruvate kinase type M2(M2-PK) with a rapid bedside immunological test for screening of Colorectal neoplasia. *Am J Gastroenterol* 2008; in press.
53. Dubrow R, Kim CS, Eldred AK. Fecal lysozyme: an unreliable marker for colorectal cancer. *Am J Gastroenterol* 1992;87:617–21.
54. Kronborg O, Ugstad M, Fuglerud P, Johne B, Hardcastle J, Scholefield JH, et al. Faecal calprotectin levels in a high risk population for colorectal neoplasia. *Gut* 2000;46:795–800.
55. Johne B, Kronborg O, Ton HI, Kristinsson J, Fuglerud P. A new fecal calprotectin test for colorectal neoplasia. Clinical results and comparison with previous method. *Scand J Gastroenterol* 2001;36:291–6.
56. Kristinsson J, Nygaard K, Aadland E, Barstad S, Sauar J, Hofstad B, et al. Screening of first degree relatives of patients operated for colorectal cancer: evaluation of fecal calprotectin vs. hemoccult II. *Digestion* 2001;64:104–10.
57. Tibble J, Sigthorsson G, Foster R, Sherwood R, Fagerholm M, Bjarnason I. Faecal calprotectin and faecal occult blood tests in the diagnosis of colorectal carcinoma and adenoma. *Gut* 2001;49:402–8.
58. Limburg PJ, Devens ME, Harrington JJ, Diehl NN, Mahoney DW, Ahlquist DA. Prospective evaluation of fecal calprotectin as a screening biomarker for colorectal neoplasia. *Am J Gastroenterol* 2003;98:2299–305.
59. Hoff G, Grotmol T, Thiis-Evensen E, Bretthauer M, Gondal G, Vatn MH. Testing for faecal calprotectin (PhiCal) in the Norwegian Colorectal Cancer Prevention trial on flexible sigmoidoscopy screening: comparison with an immunochemical test for occult blood (FlexSure OBT). *Gut* 2004;53:1329–33.
60. Haug U, Brenner H. New stool tests for colorectal cancer screening: a systematic review focusing on performance characteristics and practicalness. *Int J Cancer* 2005;117:169–76.
61. Hardt PD, Toepler M, Ngoumou B, Rupp J, Kloer HU. Measurement of fecal pyruvate kinase type M2 (tumor M2-PK) concentrations in patients with gastric cancer, colorectal cancer, colorectal adenomas and controls. *Anticancer Res* 2003;23:851–3.
62. Naumann M, Schaum B, Oremek GM, Hanisch E, Rösch W, Mössner J, et al. Faecal pyruvate kinase type M2 – a valid screening parameter for colorectal cancer? Preliminary results from a multicenter comparative study. *Dtsch Med Wochenschr* 2004;129:1806–7.
63. Tonus C, Neupert G, Sellinger M. Colorectal cancer screening by non-invasive metabolic biomarker fecal tumor M2-PK. *World J Gastroenterol* 2006;12:7007–11.
64. Haug U, Rothenbacher D, Wente MN, Seiler CM, Stegmaier C, Brenner H. Tumour M2-PK as a stool marker for colorectal cancer: comparative analysis in a large sample of unselected older adults vs colorectal cancer patients. *Br J Cancer* 2007;96:1329–34.
65. Ratto C, Flamini G, Sofo L, Nucera P, Ippoliti M, Curigliano G, et al. Detection of oncogene mutation from neoplastic colonic cells exfoliated in feces. *Dis Colon Rectum* 1996;39:1238–44.
66. Villa E, Dugani A, Rebecchi AM, Vignoli A, Grottola A, Buttafoco P, et al. Identification of subjects at risk for colorectal carcinoma through a test based on K-ras determination in the stool. *Gastroenterology* 1996;110:1346–53.
67. Puig P, Urgell E, Capella G, Sancho FJ, Pujol J, Boadas J, et al. A highly sensitive method for K-ras mutation detection is useful in diagnosis of gastrointestinal cancer. *Int J Cancer* 2000;85:73–7.
68. Wan J, Zhang ZQ, You WD, Sun HK, Zhang JP, Wang YH, et al. Detection of K-ras gene mutation in fecal samples from elderly large intestinal cancer patients and its diagnostic significance. *World J Gastroenterol* 2004;10:743–6.
69. Müller HM, Oberwalder M, Fiegl H, Morandell M, Goebel G, Zitt M, et al. Methylation changes in faecal DNA: a marker for colorectal cancer screening? *Lancet* 2004;363:1283–5.
70. Loktionov A, O'Neill IK, Silvester KR, Cummings JH, Middleton SJ, Miller R. Quantitation of DNA from exfoliated colonocytes isolated from human stool surface as a novel noninvasive screening test for colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 1998;4:337–42.
71. Boynton KA, Summerhayes IC, Ahlquist DA, Shuber AP. DNA integrity as a potential marker for stool-based detection of colorectal cancer. *Clin Chem* 2003;49:1058–65.

72. Koshiji M, Yonekura Y, Saito T, Yoshioka K. Microsatellite analysis of fecal DNA for colorectal cancer detection. *J Surg Oncol* 2002;80:34–40.
73. Calistri D, Rengucci C, Bocchini R, Saragoni L, Zoli W, Amadori D. Fecal multiple molecular tests to detect colorectal cancer in stool. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2003;1:377–83.
74. Tagore KS, Lawson MJ, Yucaitis JA, Gage R, Orr T, Shuber AP, et al. Sensitivity and specificity of a stool DNA multitarget assay panel for the detection of advanced colorectal neoplasia. *Clin Colorectal Cancer* 2003;3:47–53.
75. Leung WK, To KF, Man EP, Chan MW, Hui AJ, Ng SS, et al. Detection of hypermethylated DNA or cyclooxygenase-2 messenger RNA in fecal samples of patients with colorectal cancer or polyps. *Am J Gastroenterol* 2007;102:1070–6.