

Klinisk diagnostik af oral cancer med toluidinblå?

Kan brug af OraTest betragtes som en pålidelig metode til diagnostik af oral cancer? Og kan metoden anbefales til praktiserende tandlæger?

Jesper Reibel

I en farvestrålende brochure tilsendt *Tandlægebladets* redaktion og i øvrigt gennem et par år uddelt på kongresser i hele verden samt i helsides farveannoncer i tidskrifter markedsfører firmaet Zila Ltd. et produkt ved navn OraTest (i Canada OraScan, i England og Australien OraScreen). Produktet angives at gøre det muligt for tandlæger at diagnosticere tidlige stadier af orale cancere der er vanskelige at se med det blotte øje, samt endog tilfælde der af eksperter ikke ville vække oplagt mistanke om cancer.

OraTest består af tre flasker med »klar til brug«-væsker. Først skylles patienten i 1% eddikesyre (flaske 1) for at rense mundslimhinden, derefter skylles i 1% toluidinblåopløsning (flaske 2) for at indfarve unormalt væv og til sidst skylles igen i 1% eddikesyre (flaske 3) for at fjerne ikke-bundet farvestof. Herefter inspiceres mundhulen, og områder der retinerer blå farve registreres. Proceduren kan evt. gentages efter 10-14 dage. Hvis farve stadig retineres i området, skal hensigtsmæssig diagnostisk udredning (biopsi) foretages.

Baggrund og rationale

Anvendelse af toluidinblå som diagnostisk hjælpemiddel i cancerdiagnostik daterer sig tilbage til 1960'erne. I 1963 publicerede *Richart* (1) at farvning med toluidinblå kunne anvendes som hjælpemiddel ved diagnostik af tidlig cancer i cervix, og ret hurtigt herefter publiceredes artikler om dets anvendelse i mundhulen (2,3). Specielt har *Mashberg* advokeret herfor (4,5). Der er tidligere publiceret en oversigtsartikel om emnet i *Tandlægebladet* (6).

I begyndelsen appliceredes toluidinblå direkte på suspekter forandringer (2-4), men senere fandtes brugen af farvestoffet i form af mundskylning egnet som hjælpemiddel til at diagnosticere asymptomatiske slimhindeforandringer som forblev uopdaget, når farvestoffet appliceredes direkte på en i forvejen diagnosticeret læsion i slimhinden (7). Hverken applikation af farvestoffet eller mundskylningerne blev dog nogen almindeligt anvendt metode i cancerdiagnostikken. If. fabrikanten (Zila Ltd.) kan dette tilskrives vanskelighederne med at få fat i det rette materiale, renseopløsningernes komplekse opbygning og opløsningernes manglende stabilitet.



Produktet OraTest bestående af tre flasker med væsker, der af producenten beskrives som et effektivt hjælpemiddel til tidlig diagnostik af oral cancer og til screening af cancerudsatte patienter (fx rygere og alkoholmisbrugere).

Toluidinblå farver adskillige vævskomponenter og har været anvendt som histologisk farvestof i mange år. Virkningsmekanismen ved vitalfarvning af unormal mundslimhinde er ikke klarlagt (8). Toluidinblås evne til at binde til dna fremhæves af nogle. Farvebindingen skulle således være relateret til tilstedeværelsen af maligne celler med højt dna-indhold nær slimhindens overflade idet toluidinblåopløsningen ikke trænger dybt ind i vævet. If. andre, herunder fabrikanten, okkuperer farveopløsningen imidlertid intercellularrummene superficielt i unormalt epitel (8), hvilket tyder på en ret uspecifik virkningsmekanisme idet udvidede intercellularrum ses ved et utal af mundslimhindesygdomme.

Evidensen

I firmaets materiale om testen anføres det at sensitiviteten i gennemsnit er 94,6%. Hermed menes formentlig at 94,6% af erkendte karcinomer er positive med testen. Den falsk positive rate anføres til 8,5%, hvormed formentlig menes at 8,5% af de læsioner der ikke er karcinomer, er positive med testen. Endelig angiver firmaet at den falsk negative rate er 5,9%, hvilket formentlig skal tolkes som procenten af karcinomer der ikke er positive med testen.

Det er oplagt at antallet af falsk positive og falsk negative er meget afhængigt af de karcinomer og de kontrollæsioner der er inkluderet i de undersøgelser firmaets tal bygger på. Omkring 20 undersøgelser om emnet er publiceret. De fleste er behæftet med svagheder af forskellig art. Fx er det i flere undersøgelser ikke dokumenteret at et negativt testresultat også var negativt bedømt histologisk, de fleste undersøgelser inkluderer patientmaterialer med forudgående klinisk mistanke om malignitet, og ingen studier har inkluderet et bredt spektrum af mundslimhindelidelser der kunne være vigtige som differentialdiagnoser til oral cancer.

Den nyeste undersøgelse (9) er den hidtil bedste inden for området, og da det er den eneste der har anvendt det nye »klar til brug«-system, skal den refereres her:

De inkluderede patienter er henvist til eller har selv henvendt sig til specialistcentre i Asien hvor den ledende tandlæge besluttede om tilfældet var egnet til at indgå i undersøgelsen. I alt 102 patienter med hvide, røde, nodulære, eksofytiske, atrofiske og/eller ulcerøse mundhulelæsioner inkluderedes i undersøgelsen. Patienternes mundslimhinde undersøgtes systematisk, og alle forandringer registreredes efter WHO's retningslinier. Derefter anvendtes OraScan-testen efter forhandlerens protokol, idet testen dog ikke blev gentaget efter 10-14 dage.

Blandt de 102 patienter fandtes 145 mundslimhindelæsioner. De kliniske diagnoser beskrives som: karcinom, hvide læsioner, røde/spættede/nodulære læsioner, lichen planus (hvide), lichen planus (ulcerøse) og andre benigne læsioner. I 71 læsioner retineredes farve, 52 var negative, og 22 læsioner viste uklar farveretention. Af resultaterne skal endvidere nævnes at omkring halvdelen af tilfældene af lichen planus farvedes positivt (tilfælde med en ulcerativ komponent) og at en tredjedel af andre benigne slimhindelidelser farvedes positivt (primært »fibroepiteliale polypper«). Hos 12 patienter farvedes klinisk normal mundslimhinde positivt. Histologisk undersøgelse udførtes af 86 læsioner, hvoraf 58 var positive med testen, 21 var negative og syv viste uklar farveretention.

I undersøgelsen fandtes at 11 klinisk åbenbare cancere der retinerede farve, histologisk bedømt også var cancere. Endvidere fandtes syv andre distinkt hvid/røde farveretinerende læsioner der klinisk ikke var åbenbart maligne, men som ved histologisk undersøgelse viste sig at være cancere. Der var ingen falsk negative karcinomer blandt de biopterede læsioner.

Epiteldysplasi fandtes i 39 biopterede læsioner. Nioogtyve af disse retinerede farve. Yderligere fandtes 11 læsioner, som ikke viste epiteldysplasi eller andre tegn på malignitet, at retinere farve.

Blandt biopsier fra de 12 patienter hvor klinisk normal

mundslimhinde farvedes positivt viste fem epiteldysplasi. Adskillige af disse patienter havde i øvrigt oral submukøs fibrose eller lichen planus.

Det konkluderes i artiklen at sensitiviteten af testen, hvad angår diagnostik af karcinomer, er 100%, og at der er 20,5% falsk negative blandt præmaligne læsioner med epiteldysplasi. Pga. de relativt få karcinomer (18) der inkluderedes i undersøgelsen, erkender forfatterne at der ikke kan generaliseres ud fra undersøgelsen. Det anføres endvidere at der mangler objektive kriterier for bedømmelse af farveretentionen, hvilket også fremgår af en af illustrationerne hvor der tydeligt ses farveretention, men hvor billedteksten beskriver læsionen som negativ. Det skal endelig tilføjes at de inkluderede patienter er udvalgt på specialistcentre og altså udgør et højt selekteret materiale.

Klinikerens krav til en diagnostisk test

Det overordnede formål med at indføre en test for en sygdom må være at testen klart udpeger de patienter der har sygdommen. Det er ikke så interessant for klinikerne at vide at patienter med en given sygdom i mundslimhinden altid viser et positivt resultat med en given test. Mere interessant er det om et positivt resultat af den givne test indikerer om patienten har sygdommen eller ej. Med andre ord: Kan man stole på en positiv test når den anvendes blandt patienter hvis sygdomsstatus er ukendt.

Ovenfor refererede artikel (9) fortæller klinikerne at alle karcinomer inkluderet i denne undersøgelse viste et positivt testresultat. Ingen karcinomer viste et negativt testresultat. Den prædiktive værdi af et negativt resultat (sandsynligheden for at en negativ test betyder at patienten ikke har cancer (den diagnostiske sensitivitet)) er altså stor (100%). Lignende er fundet i tidligere, men dårligere kontrollerede undersøgelser, ligesom der også er fundet lavere værdier. Værdien af et positivt resultat er derimod ikke stor. Baseret på opgivelserne i artiklen (9) vedr. de læsioner der blev biopteret og hvor et endeligt facit derfor eksisterer, kan den prædiktive værdi af et positivt testresultat (sandsynligheden for at en positiv test betyder at patienten har cancer (den diagnostiske specificitet)) udregnes til 31% (uklare farveretentioner udeladt af beregningen). Et positivt resultat med testen kan altså på de foreliggende histologisk verificerede resultater ikke bruges til særligt meget. Medtages yderligere det forhold at oral cancer er en sjælden sygdom, der i tandlægepraksis ses med betydeligt lavere hyppighed blandt slimhindelidelser som helhed end i det i artiklen inkluderede materiale, vil værdien af et positivt resultat være væsentligt mindre end de 31%.

Værdien af et negativt resultat er altså stort, set i lyset af at patienten i så tilfælde med meget stor sandsynlighed ikke har ►

cancer. Dette kan være nyttigt at konstatere. Dog må man overveje om man tør stole på dette, med baggrund i den foreliggende dokumentation, hvor der blandt andet kun er undersøgt relativt små materialer. Tør man undlade at tage/få taget biopsi af en læsion der farves negativt, hvis der klinisk er den mindste mistanke om cancer? Hvis svaret er nej, hvilket formål har testen da? Med et positivt testresultat er der større sandsynlighed for at patienten fejler noget andet end netop cancer, som er testens målsygd. Dette synes at være mere forvirrende end en hjælp ved cancerdiagnostik. Endvidere kan der være tale om store psykiske traumer hos patienter med en falsk positiv test. Tandlægen har således et stort etisk ansvar over for patienten i forbindelse med anvendelse af testen for at sikre at fordele opvejer mulige skadevirkninger.

Sammenfatning

OraScan er et test-kit til brug ved diagnostik af oral cancer. Det bygger på opdagelser fra 1960'erne, der aldrig har vundet indpas som en generelt accepteret metode.

Der er ikke klarhed over virkningsmekanismen, og fabrikanten angiver en mildt sagt uspecifik virkningsmekanisme.

En nyere undersøgelse, som klart er den hidtil bedste, inddrager et begrænset antal karcinomer og kontrollæsioner. Der findes høj sandsynlighed for at et negativt testresultat udelukker cancer, men værdien af et positivt resultat er meget lille. Specielt sår, inflammatorisk slimhinde og granulationsvæv samt furer og krypter (fx tungens overside) er årsag til falske positive testresultater. Syv karcinomer der ikke klinisk vakte mistanke om karcinom, blev »fanget« af testen, hvilket fremhæves af fabrikanten som særdeles vigtigt. Alle syv læsioner beskrives imidlertid i artiklen som »distinctive white/red lesions«, hvilket efter dansk standard altid bør føre til biopsi.

I Canada, hvor markedsføringen startede, har »Canadian Academy of Oral Pathology« officielt udtalt bl.a. følgende om OraScan (10): »Both false positive and false negative results can have damaging consequences to the patients« og »As the incidence of oral cancer in the Canadian population is low, the screening of asymptomatic patients is unwarranted«. Udtalelsen konkluderer: »1. The use of toluidine blue for screening for oral cancer is not recommended. 2. Lesions suspected clinically of being malignant or pre-malignant should be investigated by prompt incisional biopsy regardless of staining reaction to toluidine blue«.

Det skal ikke afvises at testen i erfarne hænder kan få et anvendelsesområde. Med erfarne hænder menes personer der både har stor erfaring med diagnostik af præmaligne og maligne slimhindeforandringer og erfaring med anvendelse af testen. Den mulige anvendelse inden for specielle risikogrupper og/eller i visse lande eller risikoområder er til stede.

Fundet af histologisk verificeret epiteldysplasi i klinisk normal mundslimhinde hos fem af 12 patienter, hvoraf mange havde kendte risikosygdomme, bør således føre til yderligere undersøgelser af værdien af testen ved screening af patienter i erkendte risikogrupper. Testen kan utvivlsomt af trænedes anvendes som hjælp til at fastlægge biopsistede i større læsioner og eventuelt til at afsløre uopdagede »satellitumorer« i tilslutning til erkendte karcinomer. Endvidere har en ny undersøgelse vist at testen har lovende anvendelsesmuligheder i forbindelse med bedømmelse af resektionskanter efter kirurgisk fjernelse af karcinomer i de øvre luftveje (11).

For praktiserende kolleger i dette land synes en omhyggelig visuel undersøgelse af mundslimhindens umanipulerede farvenuancer at være langt at foretrække. ■

Litteratur

1. Richart RN. Clinical staining test for in vivo delineation of dysplasia and carcinoma in situ. *Am J Obstet Gynecol* 1963; 86: 703-12.
2. Niebel HH, Chomet B. In vivo staining test for delineation of oral intraepithelial neoplastic change: preliminary report. *J Am Dent Assoc* 1964; 68: 801-6.
3. Shedd DP, Hukill PB, Bahn S. In vivo staining properties of oral cancer. *Am J Surg* 1965; 110: 631-4.
4. Mashberg A. Reevaluation of Toluidine blue application as a diagnostic adjunct in the detection of asymptomatic oral squamous carcinoma. A continuing prospective study of oral cancer III. *Cancer* 1980; 46: 758-63.
5. Mashberg A. Final evaluation of toluidine chloride rinse for screening of high-risk patients with asymptomatic squamous carcinoma. *J Am Dent Assoc* 1983; 106: 319-23.
6. Kølsen-Petersen D, Simonsen B, Skau H, Staunsbæk P, Terkelsen G, Fisker AV, et al. Toluidinblåfarvning som diagnostikum ved præmaligne og maligne slimhindeforandringer i cavum oris. *Tandlægebladet* 1981; 85: 341-7.
7. Mashberg A. Toluidine (Toluidine blue) rinse – a screening method for recognition of squamous carcinoma. Continuing study of oral cancer IV. *J Am Med Assoc* 1981; 245: 2408-10.
8. Sigurdson A, Willén R. In vivo färgning med Toluidine blue som hjälpmedel för lokalisering av provexcisionsställe vid misstänkt skivepitelcancer i munhålan. *Swed Dent J* 1975; 68: 117-26.
9. Warnakulasuriya KAAS, Johnson NW. Sensitivity and specificity of OraScan toluidine blue mouthrinse in the detection of oral cancer and precancer. *J Oral Pathol Med* 1996; 25: 97-103.
10. CAOP releases Toluidine blue statement. *J Can Dent Assoc* 1995; 61: 752-3.
11. Portugal LG, Wilson KM, Biddinger PW, Gluckman JL. The role of Toluidine blue in assessing margin status after resection of squamous cell carcinomas of the upper aerodigestive tract. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1996; 122: 517-9.

Forfatter

Jesper Reibel, professor, dr. odont.

Afdeling for Oral Patologi og Medicin, Odontologisk Institut, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet