

Tissue Resonance Interaction Accurately Detects Colon Lesions: a Double-blind Pilot Study

Maria P. Dore MD, PhD^{1,2}, Marcello O. Tufano MD¹, Giovanni M. Pes MD¹, Marianna Cuccu MD¹, Valentina Farina MD¹, Alessandra Manca MD¹, David Y. Graham MD²

Supporting Documents

Appendix 1. Final IRB approved protocol

VERBALE N° 948/L

Sassari 28/03/2011

Autorizzazione programma di sperimentazione dal titolo:

**Accuratezza di uno strumento non invasivo, il DM Bioscanner®
TRIMprob nella diagnosi dei tumori del colon retto. – Studio
spontaneo**

Investigatore principale locale
Prof.ssa Maria Pina Dore
Istituto di Clinica Medica – Patologia
Medica
Università degli Studi di Sassari
Sede

Autorità competente
Commissario A.O.U. di Sassari
Via Michele Coppino n. 26
07100 Sassari

Con la presente, si trasmette in allegato il parere favorevole al progetto di studio in oggetto espresso dal Comitato di Bioetica Aziendale in data 28/02/2011 con verbale n. 948.

Lo sperimentatore, a seguito del nulla osta da parte dell'Autorità competente in indirizzo, dovrà comunicare al Comitato la data di inizio studio.

Si porgono cordiali saluti.



Il Presidente del C.E.
Dott. Cesarino Onnis

Direzione Generale Via Alceo Catalocchino n. 11 - 07100 Sassari
Comitato di Bioetica - email: bioetica@aslsassari.it - Segreteria Amministrativa tel. 079/2061901 fax 079/2061231
Segreteria Scientifica tel. 079/2061905 - P. Iva 00935650903 - c.f. 92005870909

VERBALE N° 948CE
Sassari 28/03/2011

Il giorno 28/03/2011, alle ore 11.00 presso il Servizio Farmacia Ospedaliera dell'Azienda Sanitaria Locale n°1 di Sassari, via Monte Grappa n. 82, si è riunito il Comitato di Bioetica dell'A.S.L. n° 1 di Sassari, preposto alla valutazione della compatibilità etica dell'attività di sperimentazione clinica a norma del D.M. del 15/07/1997, Decreto del Ministero della Sanità 18 marzo 1998, del Decreto Legislativo n. 211 del 24/06/2003, del Decreto del Ministero della Salute n. 219 del 12/05/2006, della Circolare del Ministero della Salute n. 6 del 02/09/2002, della Determinazione AIFA del 20/03/2008 ed in accordo con le linee guida ICH-GCP sulla Buona Pratica Clinica recepite dal D.M. 15/07/1997.

Sono Presenti ed Assenti

Dott. Francesco Zanetti Direttore Sanitario Azienda Sanitaria Locale n° 1 - Presidente	Assente
Monsignor Salvatore Ferrandu Vicario Episcopale Arcidiocesi di Sassari	Assente
Dott. Marco Bisail Presidente Provinciale LILT Sezione di Sassari	Presente
Dr.ssa Liliana Sulas Dirigente Farmacista presso la Farmacia Ospedaliera	Presente
Prof. Vittorio Anania Dipart. Biologia Anim.-Sett. Farmacologia Univ. degli Studi di Sassari	Presente
Dott. Mario Oppes Responsabile U.O. Osservazione Breve P.O. di Sassari Esp.in Bioetica	Presente
Dott. Antonello Senes Pediatra di libera scelta	Presente
Dott. Micio Budroni Responsabile Centro Osservazione epidemiologiche Esperto in Biostatistica	Presente
Sig.ra Maria Assunta Garau Collaboratore Professionale Infermiere Servizio di Igiene Pubblica ASL n. 1 di Sassari	Presente
Dott. Andrea Garau Magistrato Esperto in mat. giuridiche	Presente
Dott. Cesarino Onnis Dirigente Medico presso Pronto Soccorso di Alghero	Presente
Dott. Luigi Bagedda Dirigente Medico Istituto di Malattie Infettive Azienda Ospedaliero Universitaria di Sassari	Presente



E' presente alla seduta la Dr.ssa Antonella Seddaiu , referente scientifico del Comitato di Bioetica.

In assenza del Dott. Zanetti, presiede la seduta il Dott Onnis.

Il Comitato è stato convocato per deliberare sul seguente ordine del giorno:

Autorizzazione programma di sperimentazione dal titolo:

Accuratezza di uno strumento non invasivo, il DM Bioscanner® TRIMprob nella diagnosi dei tumori del colon retto. – Studio spontaneo

Investigatore principale locale
Prof.ssa Maria Pina Dore
Istituto di Clinica Medica – Patologia Medica
Università degli Studi di Sassari



IL COMITATO

Ha preventivamente verificato che:

Si tratta di uno studio spontaneo, monocentrico, in doppio cieco che si pone come obiettivo quello di verificare l'accuratezza della strumentazione Bioscanner® applicata al sistema di rilevazione dei dati denominato TRIMprob ed al nuovo sistema della Thurlby Thandar Instruments (analizzatore palmare PSA2701T) nell'individuare lesioni neoplastiche del colon rispetto alla diagnostica tradizionale ed in particolare al gold-standard rappresentato dalla colonscopia con esame biptico.

Lo studio prevede la partecipazione di almeno 100 pazienti di entrambi i sessi, di età compresa tra i 18 e gli 85 anni.

Il dispositivo medico che si intende utilizzare è il TRIMprob, sistema elettromedicale prodotto dalla Galileo Avionica S.p.A. e distribuito dalla TRIMPROBE S.p.A (entrambi gruppo Finmeccanica); tale dispositivo è in possesso della certificazione CE quale dispositivo elettromedicale attivo destinato alla diagnosi (classe IIa) ai sensi della Direttiva 93/42/CEE e del DL 46/97, rilasciata dall'Ente CERMET, per la diagnostica della prostata.

Lo studio non prevede maggiori oneri al S.S.N. e non prevede emolumenti all'Azienda o/o agli sperimentatori coinvolti.

IL COMITATO

Valutata la seguente documentazione:

Lettera di intenti a firma della Prof.ssa Maria Pina Dore datata 01/03/2011.
Background dello studio.
Bibliografia.
Nota informativa e consenso informato per il paziente.
Certificato del Ministero della Salute datato 22/09/2004
Certificato CERMET del sistema di garanzia della qualità
Allegato tecnico al certificato n. med – 22011 (identificazione dei dispositivi medici per cui è valido il certificato).

tutto ciò promesso,

il Comitato di Bioetica dell'Azienda Sanitaria Locale n. 1 di Sassari, ritenendo che il protocollo di studio soddisfi i criteri etici e scientifici che ne giustificano l'esecuzione,

Esprime parere favorevole

Questo Comitato Etico dovrà essere informato dell'inizio della Ricerca, della sua conclusione o eventuale interruzione e di ogni successivo emendamento al Protocollo.

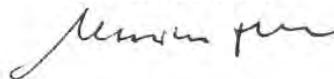
Lo Sperimentatore dovrà inviare alla Segreteria del Comitato un riassunto scritto relativo allo Studio, durante lo svolgimento (semestrale per studi con durata uguale o superiore ad un anno) e alla conclusione dello Studio stesso, dovrà inoltre essere inviata una copia della pubblicazione scientifica.

Si dichiara che questo Comitato è organizzato ed opera nel rispetto delle norme di Buona Pratica Clinica (GCP-ICH) e secondo la normativa vigente sulle Sperimentazioni Cliniche e sull'istituzione e funzione dei Comitati Etici.

Il Segretario del C.E.
Mauro Pinna



Per Il Presidente del C.E.
Dott. Cesarino Onnis



Appendix 2.


CERMET
Organismo Notificato n. 0476
Notified Body n. 0476

Certificato CE del Sistema di Garanzia della Qualità
Ai sensi dell'Allegato II della Direttiva 93/42/CEE, attuata con D.lgs. 46 del 24/02/97
EC Quality Assurance System Certificate
According to Annex II of 93/42/EEC Directive, implemented in Italy by D.lgs. n. 46 of 24/02/97

CERMET, Organismo Notificato n. 0476, certifica che, sulla base dei risultati degli audit effettuati, il Sistema di Garanzia della Qualità dell'Azienda
CERMET, Notified Body n. 0476, certifies that the Quality Assurance System of the Company

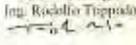
GALILEO AVIONICA S.p.a.
Strada Aeroporto Caselle
S. Maurizio Canavese - TO
Italia

è conforme ai requisiti della Direttiva 93/42/CEE, Allegato II punto 3,
per le seguenti tipologie di Dispositivi Medici:
conforme to the applicable requirements of 93/42/EEC Directive, Annex II point 3,
for the following Medical Devices:

Tipologia dei Dispositivi / Medical Devices:
Sistemi elettromedicali per la diagnostica non invasiva
Electromedical devices for non invasive diagnosis

Identificazione: vedere allegato tecnico al presente Certificato
Identification: see technical sheet accompanying this Certificate

Il presente Certificato MED 22031 è soggetto al rispetto del regolamento CERMET ed è valido solo per le tipologie di dispositivi medici identificate soggette a sorveglianza. L'allegato tecnico è parte integrante del presente Certificato.
This Certificate MED 22031 is subject to CERMET regulations and is valid only for the relevant professional Medical Devices that are subject to surveillance. The technical sheet is an integral part of this Certificate.

Data di emissione / Issuance	2005-09-23	General Manager Ing. Riccardo Tognolo 
Data ultima modifica / Last modification	2005-09-23	
Data scadenza / Expiry date	2008-09-23	

MED 01 CE, rev. 01/99 2003

CERMET Soc. a r.l.p.d., Via S. Maria e D. Valeriani 10253, Caselle in Tanaro (TO) - Tel. 011 3391 33911 - Fax 011 3391 33910
Albo dei Organismi Notificati n. 0476 - www.cermet.it

Appendix 3.

MODULINO
Scab - 2

MIO. 18 U. G.



Ministero della Salute

DIPARTIMENTO DELL'INNOVAZIONE - DIREZIONE GENERALE DEL
FARMACO E DISPOSITIVI MEDICI

SEEN the 93/42/EEC Directive concerning medical devices;
SEEN the Legislative Decree (D.L.vo) n. 46/97 (and its following amendments) reporting the accomplishment of 93/42 EEC Directive;
SEEN the petition of July 26 2004 lodged by the Company Galileo Avionica S.p.A., with legal seat in 50013 Campi Bisenzio (FI) - Via Einstein 35, Vat Number 02328910480, operative seat in 10077 - S. Maurizio Canavese (TO) Strada Aeroporto Caselle.
CONSIDERED that the petitioning company made the payments required by the Ministerial Decree (D.M.) May 24th, 2004;
SEEN the official deeds;

IT IS ATTESTED

That the Company Galileo Avionica S.p.A., with legal seat in 50013 Campi Bisenzio (FI) - Via Einstein 35, Vat Number 02328910480, , operative seat in 10077 - S. Maurizio Canavese (TO) Strada Aeroporto Caselle has marked as medical device, according to the Directive 93/42/EEC, the product "TRIMprob (number 1002807A01-00)". The product, according to the art 4 of the mentioned Directive, can freely circulate and can be commercialised in Italy and in all the territory of the European Union.
This certificate is issued on the interested party's request to be according to the law and for export.

22 SET. 2004

THE OFFICE MANAGER
D^{ssa} Marcella Marletta



Appendix 4.



**CERTIFICATO CE DEL SISTEMA
DI GARANZIA DELLA QUALITÀ**
EC Quality Assurance System Certificate

Si certifica che, sulla base dei risultati degli audit effettuati, il Sistema completo di garanzia di Qualità dell'Azienda:
We certifies that, on the basis of audit carried out, the full Quality Assurance System of the Company:

Reg. No: MED 22011

SELEX GALILEO S.p.a.

Indirizzo/Address:
Sede legale / Registered office:
Via Alberto Einstein, 35
50013 Campi Bisenzio, Firenze
Italia

Sede operativa / Operative office:
Strada Aereoporto Caselle
10077 San Maurizio Canavese, Torino
Italia

È conforme ai requisiti applicabili della *1s* in compliance with the applicable requirements of:
Direttiva 93/42/CEE, Allegato II escluso il pto 4, attuata in Italia con Dlgs. 46 del 1997/02/24
93/42/EEC Directive, Annex II without point 4, transposed in Italy by Dlgs. 46 of 1997/02/24

per le seguenti tipologie di Dispositivi Medici / for the following Medical Devices:
Sistemi elettromedicali per la diagnostica non invasiva
Electromedical devices for non invasive diagnosis

Identificazione/Identification: Vedere allegato tecnico al presente Certificato/See technical sheet enclosed to this certificate

Appendix 5: Colonoscopies were performed by one expert endoscopist (MPD) assisted by two Senior GI fellows (MC and VF), blinded to the TRIMprob result using Olympus Exera cv-160 video-colonoscopes and Olympus video-Gastrosopes for ladies small in size. Conscious sedation was used. All the colonoscopy procedures were recorded on digital videotape for later review. The *cecum* was positively identified when the ileo-cecal valve including the medial wall of the *cecum* between the ileocecal valve and appendiceal orifice, was recognized by both the first endoscopist and the senior endoscopist. During the withdrawal phase (lasting more than 15 min) of the procedure the colonoscopist, who remained unaware of the TRIMprob findings, inspected sequential colonic segments (ascending, transverse, descending, sigmoid and *rectum*). For each colonoscopy, the quality of the bowel preparation was documented as following: “excellent” defined as no or minimal solid stool and only small amounts of clear fluid requiring suctioning; “Good” as no or minimal solid stool with large amounts of clear fluid requiring suctioning; “Fair” refers to collections of semisolid debris that are cleared with difficulty; “Poor” refers to solid or semisolid debris that cannot be effectively cleared. All colonoscopies were done between 9:00 A.M. and 2:00 P.M..

Historically, in our endoscopic unit cecal intubation had ranged from 95% to 97%. The proportion of polyps of all type identified in 100 colonoscopies in our population, for which there is no regional screening program, is generally typically greater than 50%.

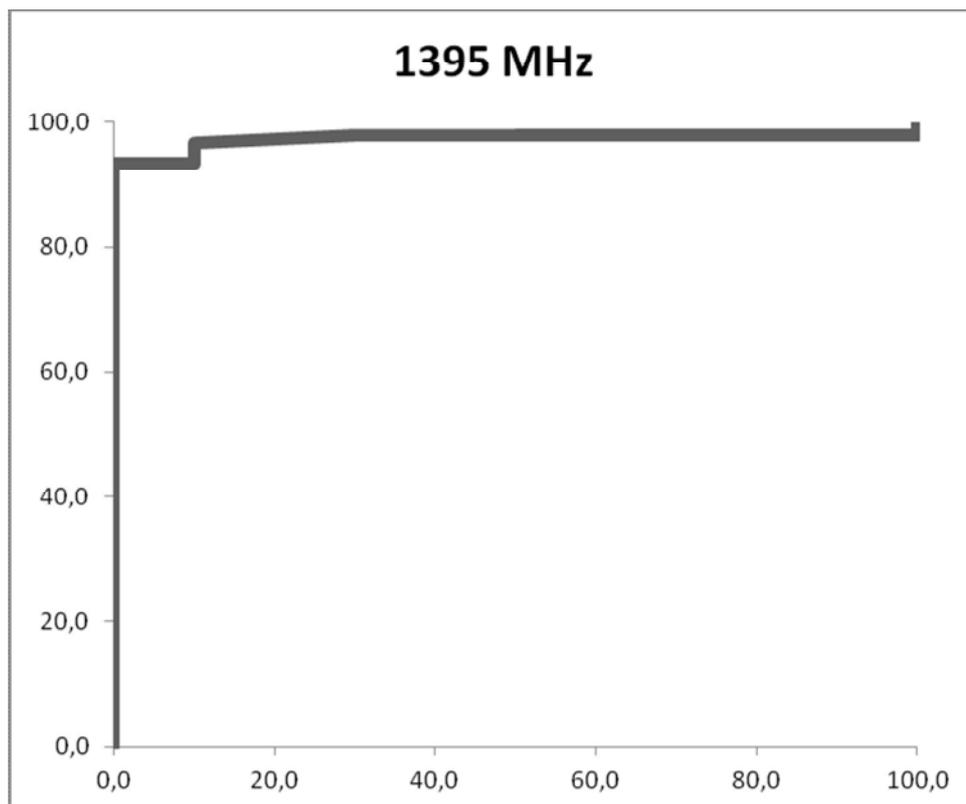
Appendix 6: TRIMProb ROC curves.

A preliminary study was carried out in n = 100 patients scheduled for colonoscopy to determine if the TRIMprob analysis can help in predicting the presence of gut lesions. Determination of the best cut-off for threshold values of TRIMProb signal that maximize the detection of gut lesions, by using ROC curve analysis.

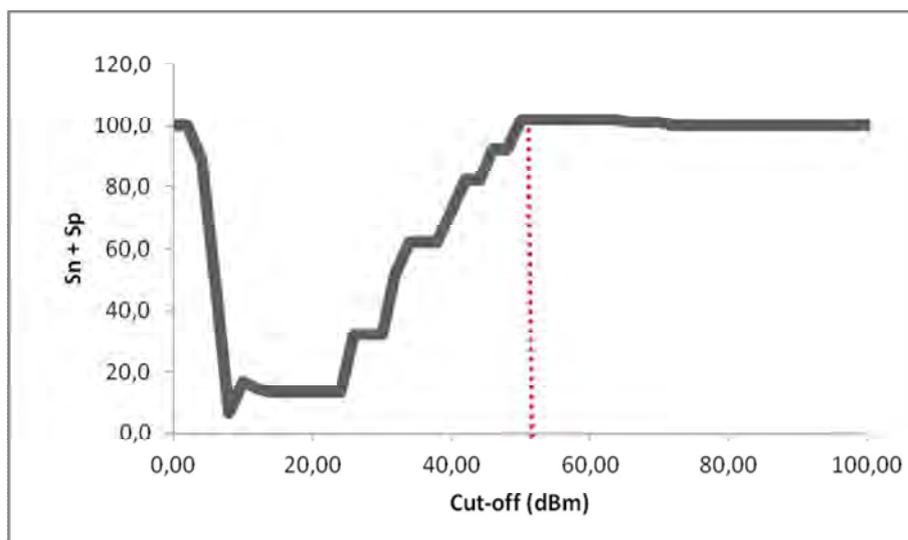
Afterwards, the value of the area under each of the three different curves was calculated using the mean of the two lowest signal values from each acquisition in each sample (colon malignant tissue, polyps and stool) identified using the individual TRIM values based on the results of colonoscopy/histology. Sensitivity and specificity were calculated for different threshold values at the frequencies of 465, 930 and 1395 MHz. The best cut-off for each frequency was the value that maximizes the sum (sensitivity + specificity).

The ROC curve obtained by plot at different cut-offs is shown below. The curve is closest to the (0, 100) point.

Adenocarcinoma



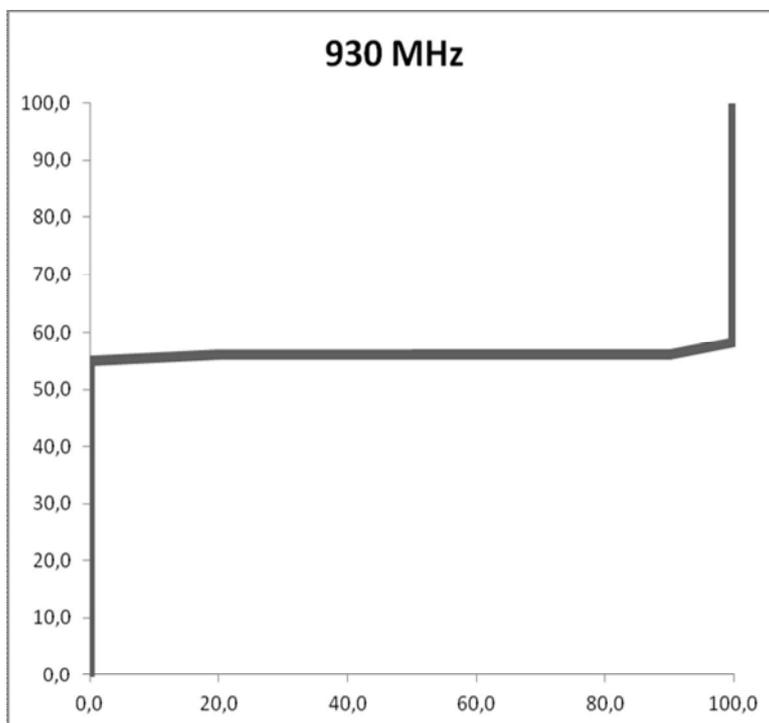
From the ROC curve it seems that the attenuation at 1395 MHz itself is a good indicator to identify the presence of CRC. The best cut-off that maximizes the sum (sensitivity + specificity) is > 50 dBm. At this cut-off, the sensitivity is 1.0 and specificity is 0.02 ($1 - \text{specificity} = 0.98$).



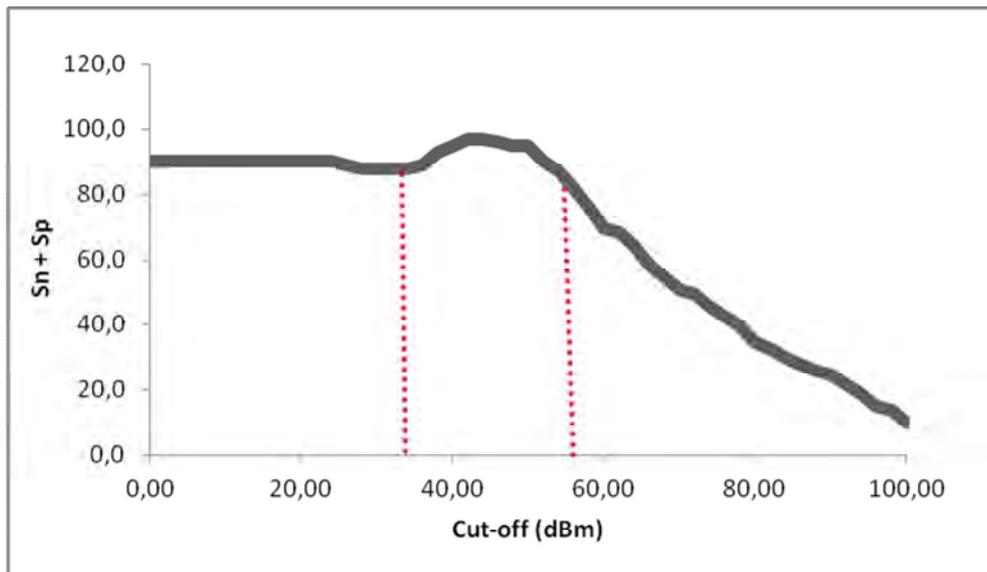
The data obtained at 930 MHz are shown in the table below.

The ROC curve obtained by plot at different cut-offs is shown in Figure below.

Adenocarcinoma



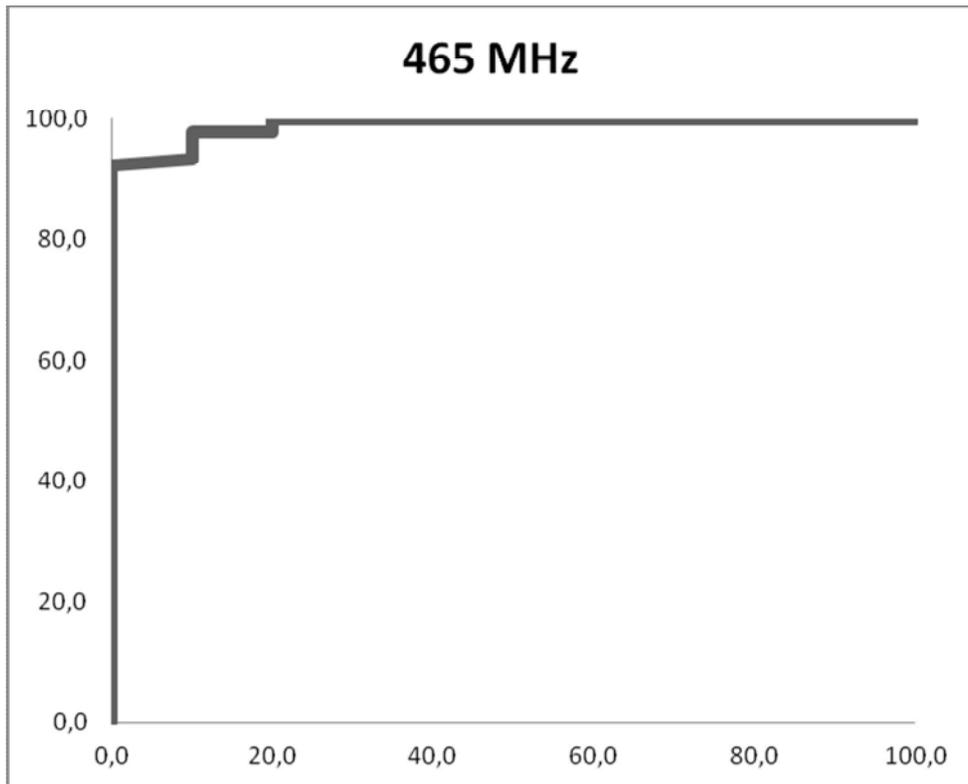
The best cut-off that maximizes (sensitivity + specificity) is between 35 and 45 dBm



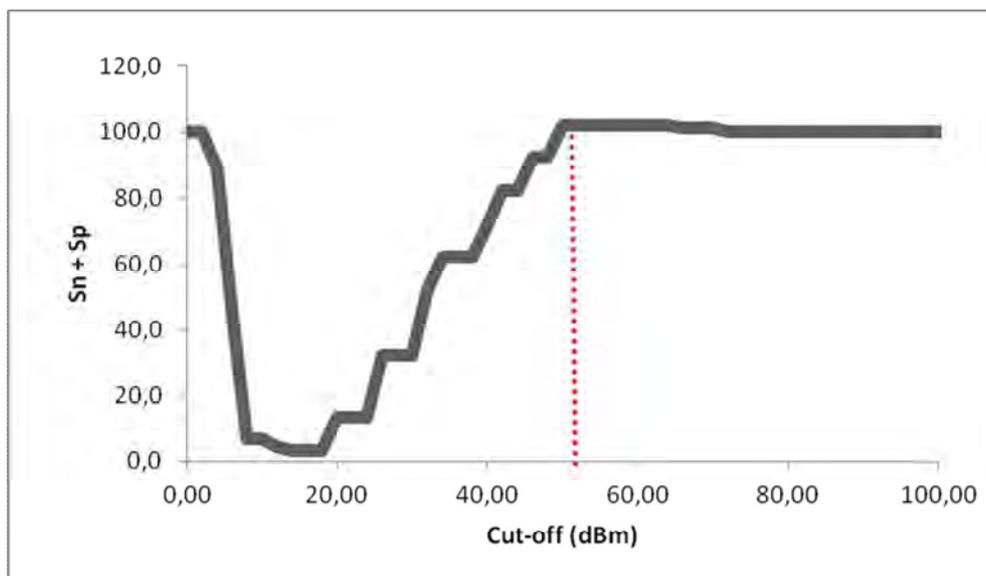
The data obtained for the frequency of 465 MHz are shown in Table 2.

The ROC curve obtained by plot at different cut-offs is shown in the figure below

Adenocarcinoma

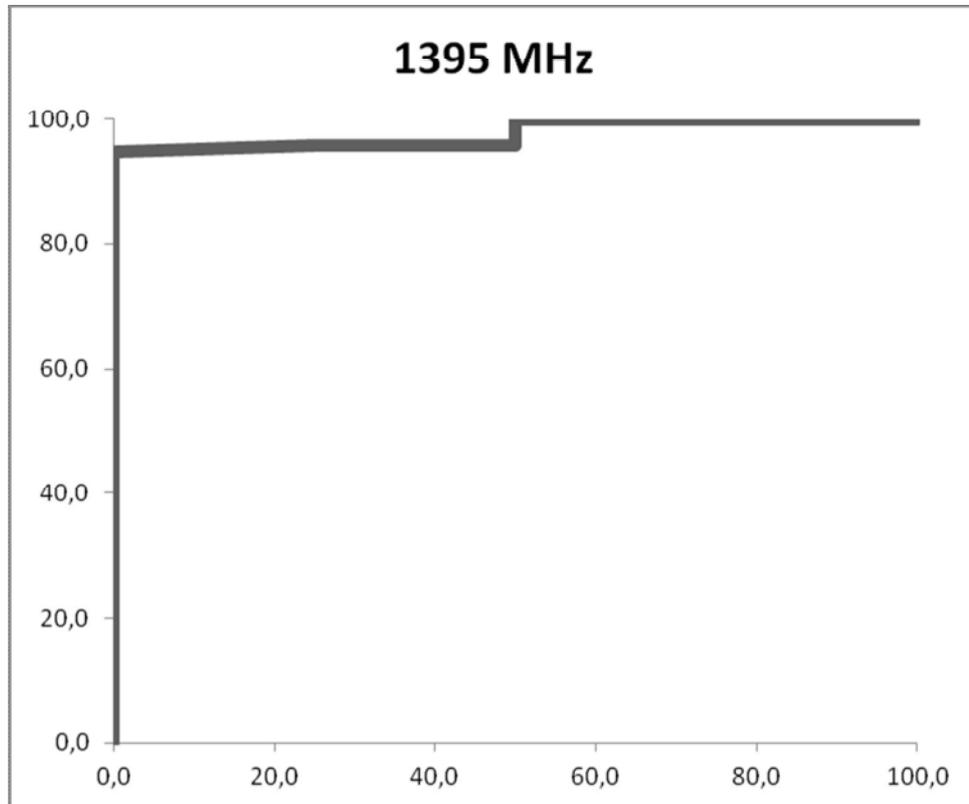


The best cut-off that maximizes the sum (sensitivity + specificity) is > 60 dBm

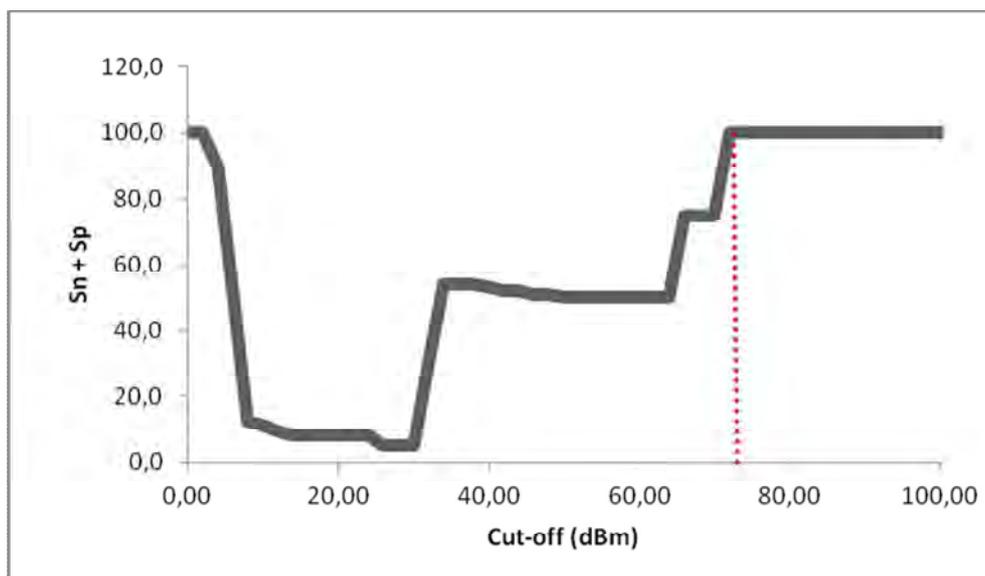


High grade adenoma

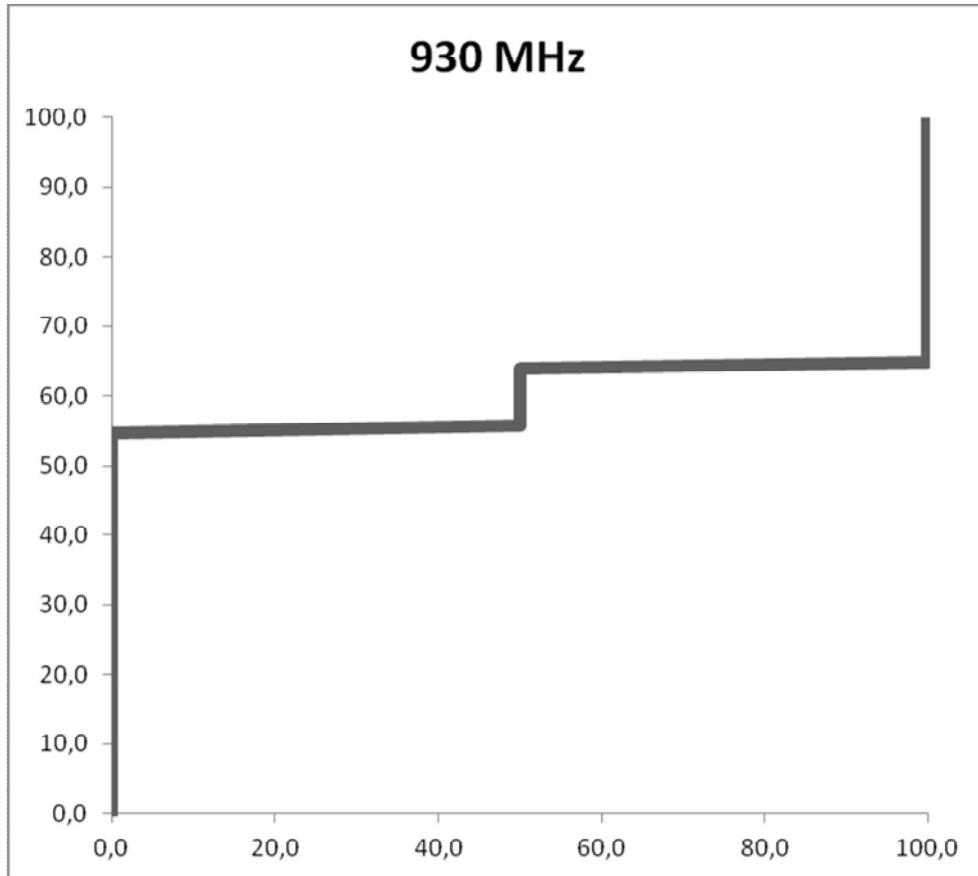
See table in the annexed excel file. The ROC curve obtained by plot at different cut-offs is shown below.



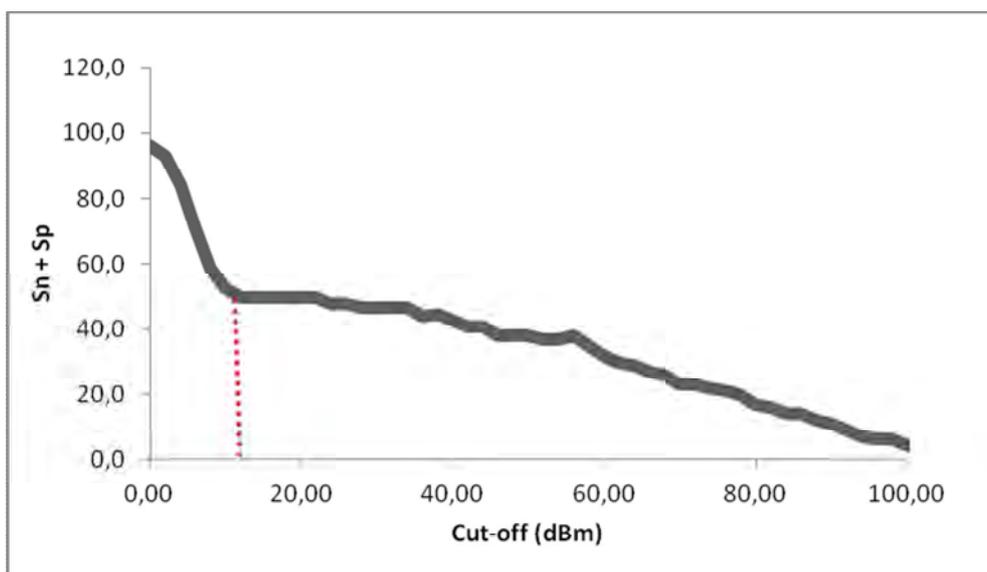
At 1395 MHz the best cut-off that maximizes the sum (sensitivity + specificity) is > 70 dBm



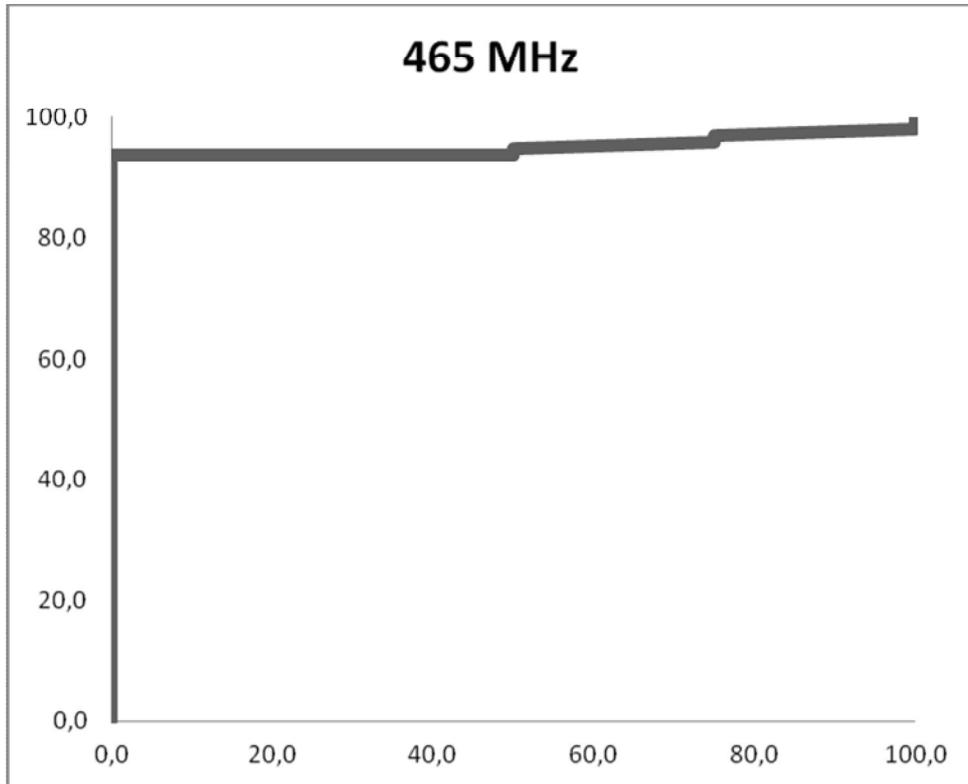
High grade adenoma



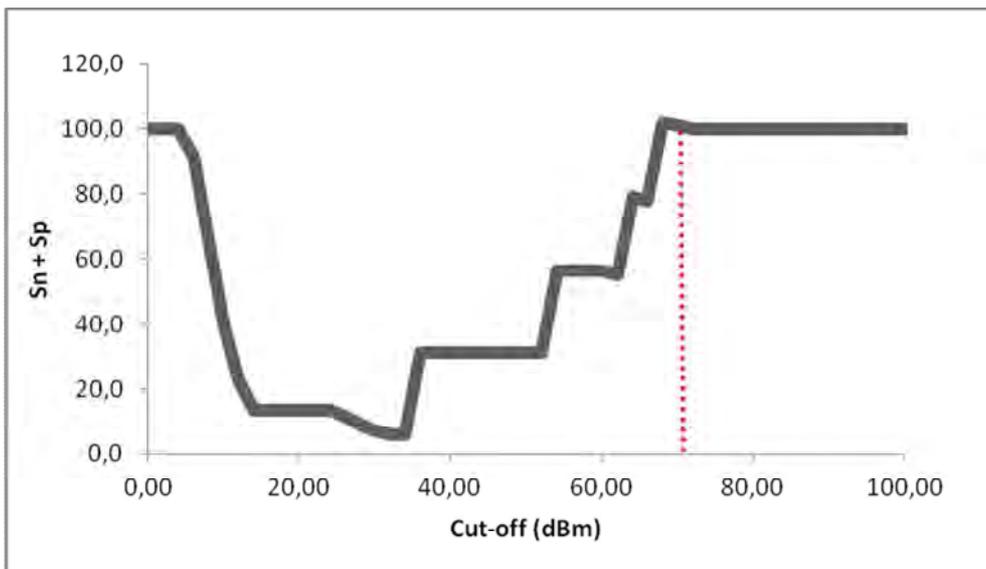
At 930 MHz the best cut-off that maximizes the sum (sensitivity + specificity) is < 15 dBm



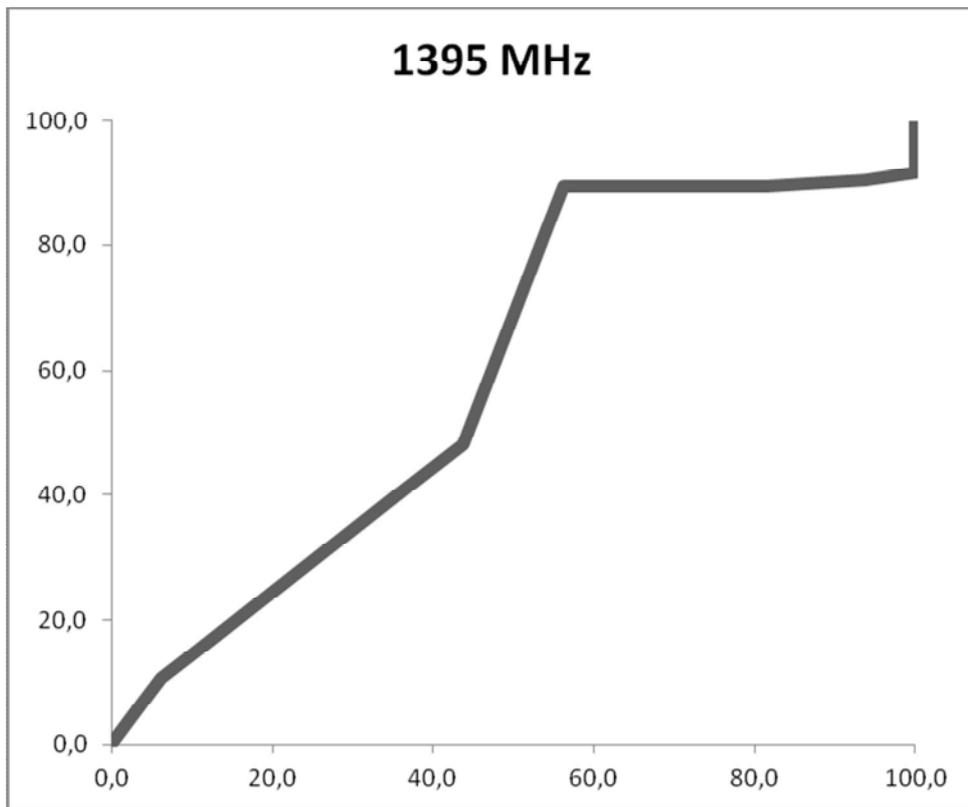
High grade adenoma



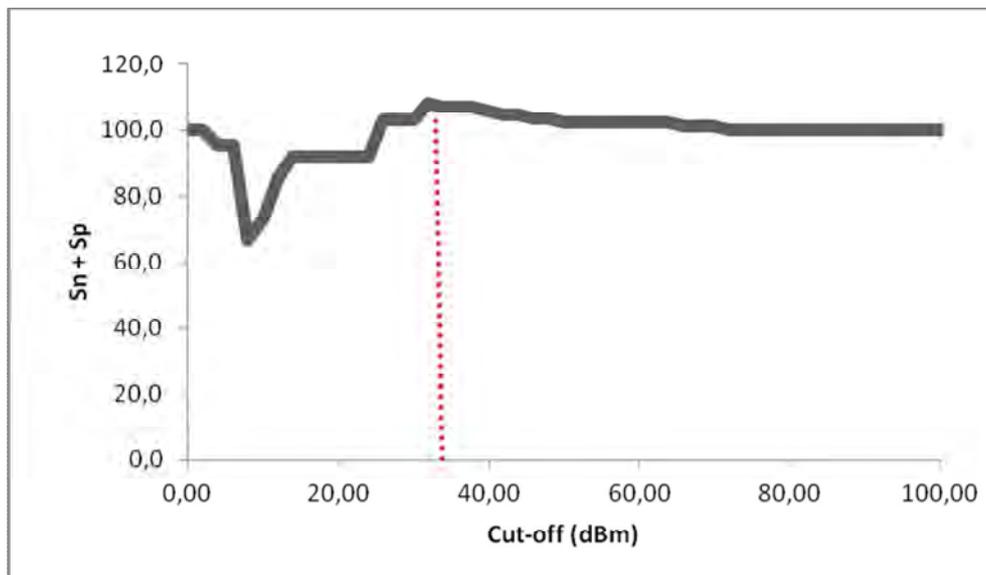
At 465 MHz the best cut-off that maximizes the sum (sensitivity + specificity) is > 70 dBm



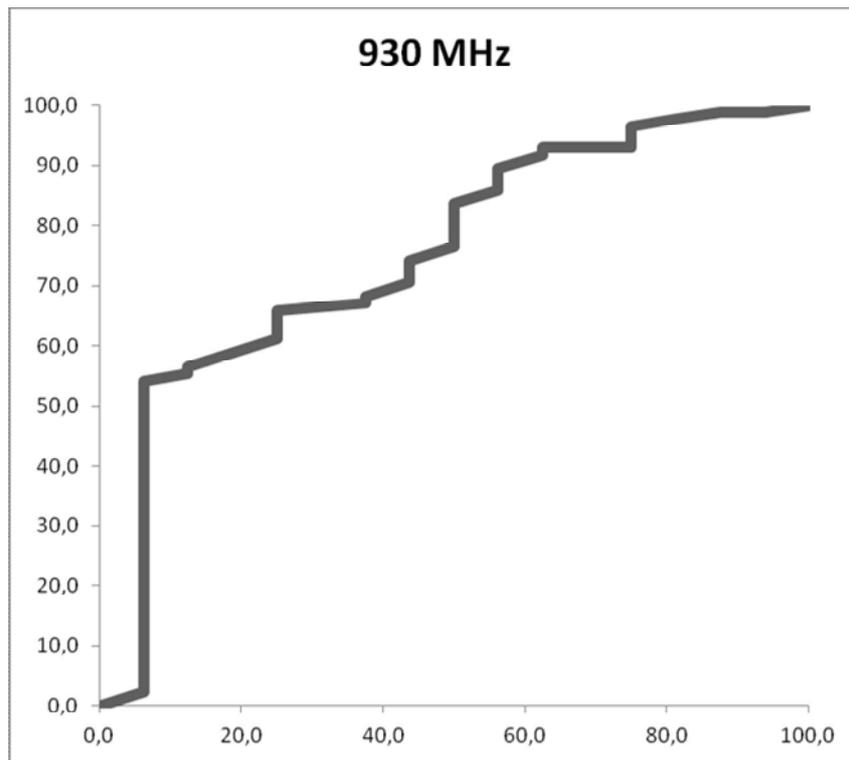
Low grade adenoma



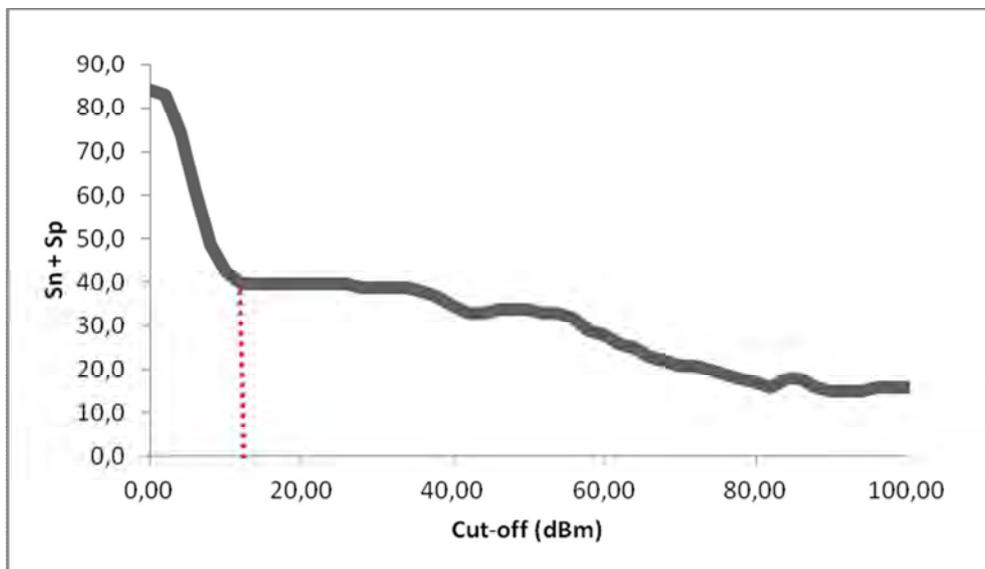
At 1395 MHz the best cut-off that maximizes the sum (sensitivity + specificity) is > 35 dBm



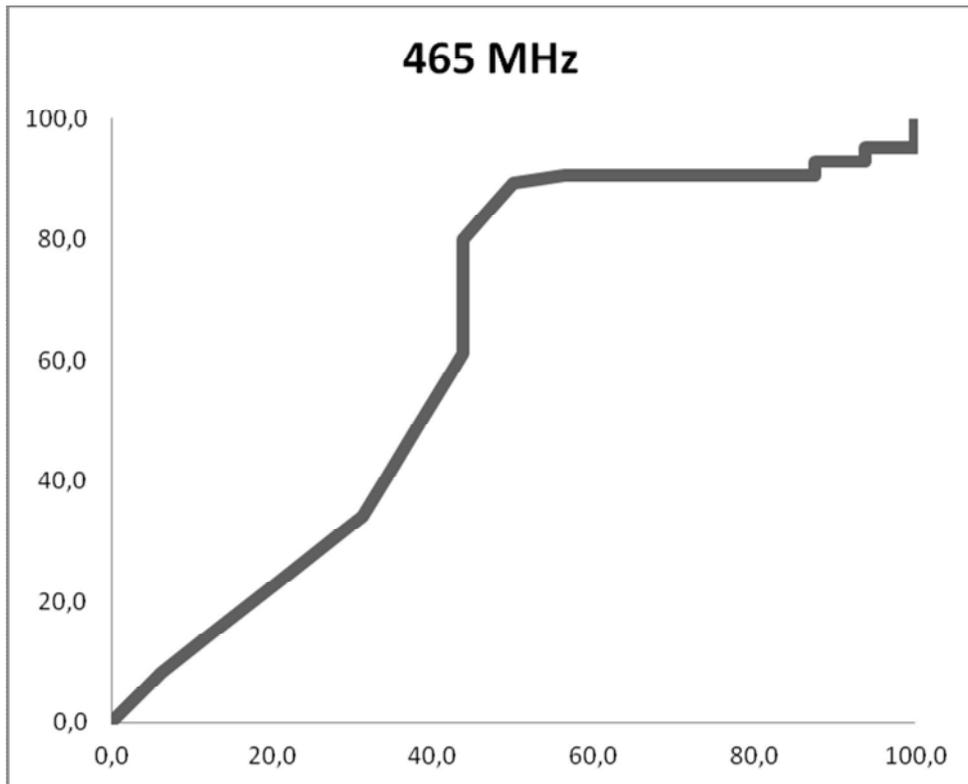
Low grade adenoma



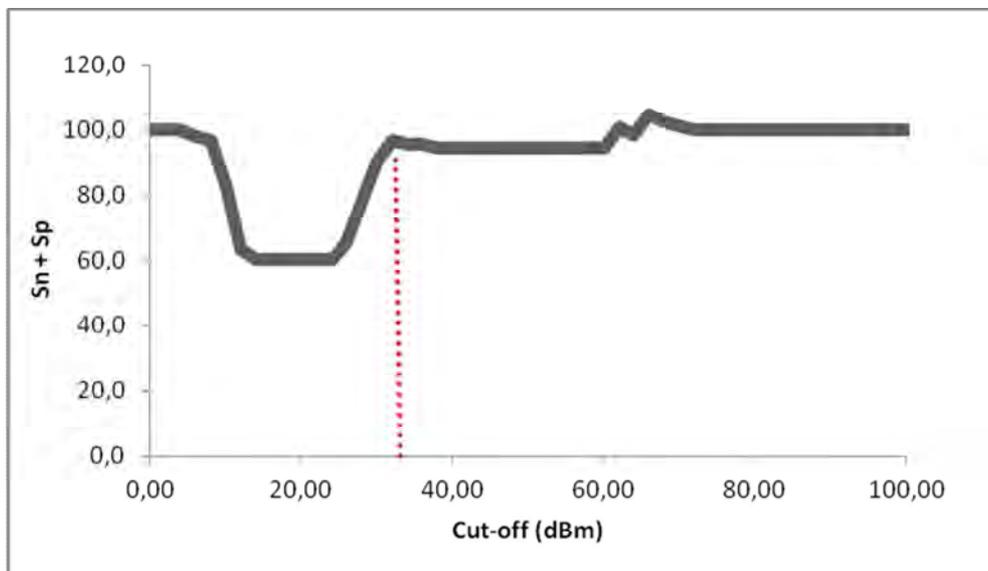
At 930MHz the best cut-off that maximizes the sum (sensitivity + specificity) is > 40 dBm



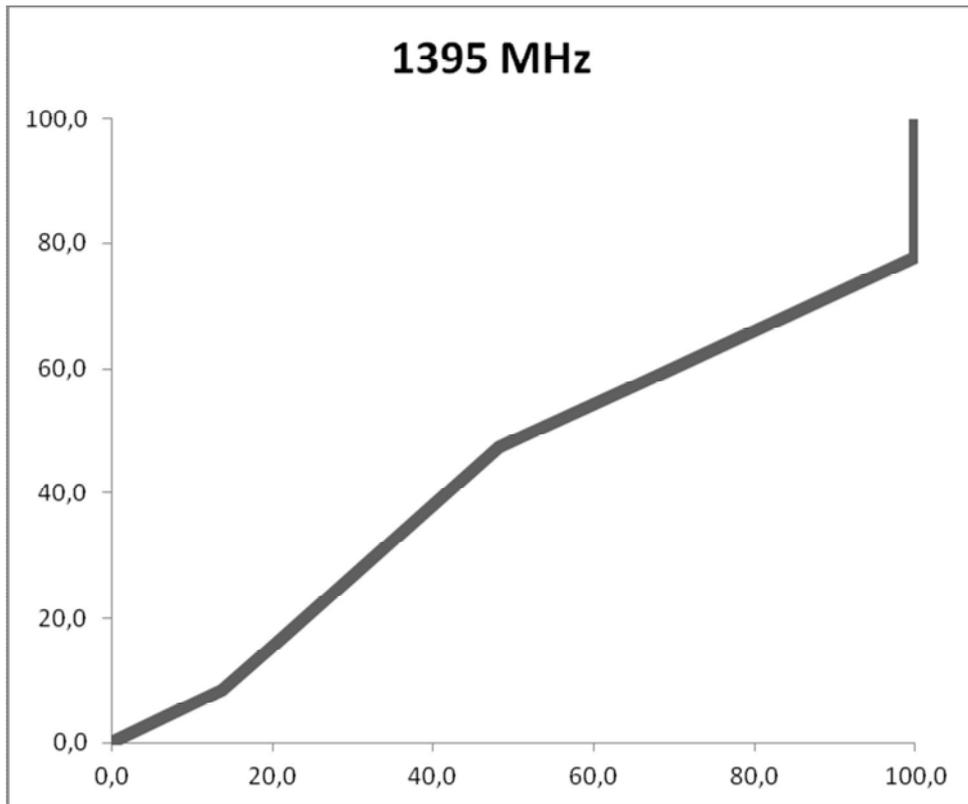
Low grade adenoma



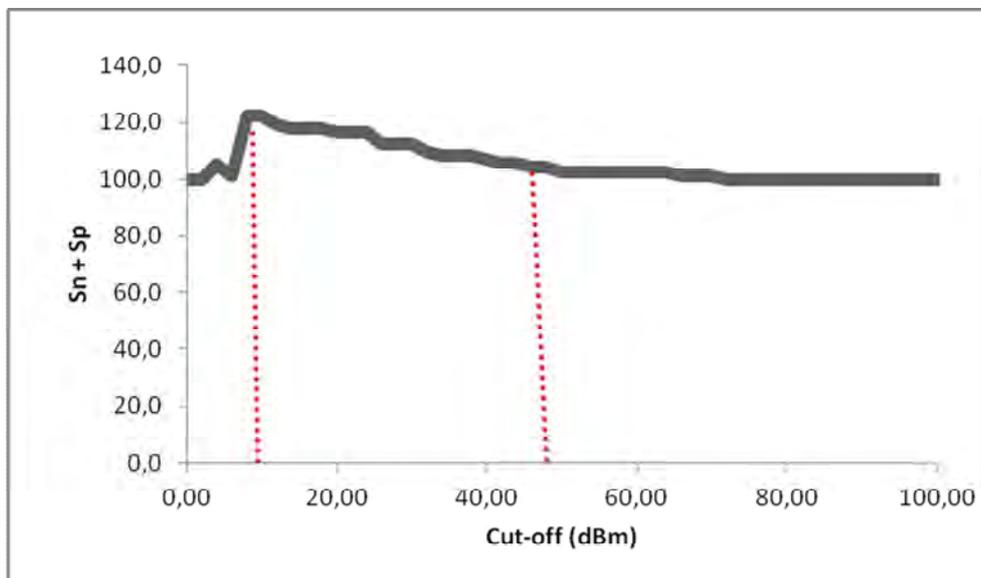
At 465 MHz the best cut-off that maximizes the sum (sensitivity + specificity) is > 35 dBm



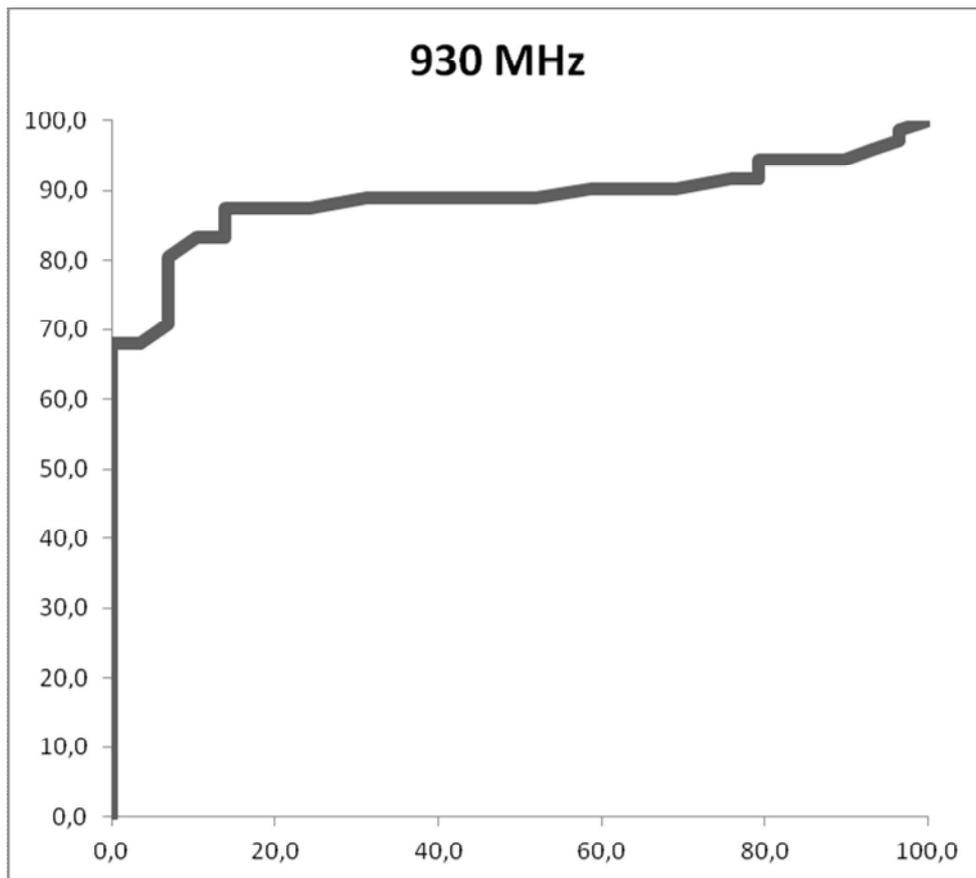
Hyperplasia



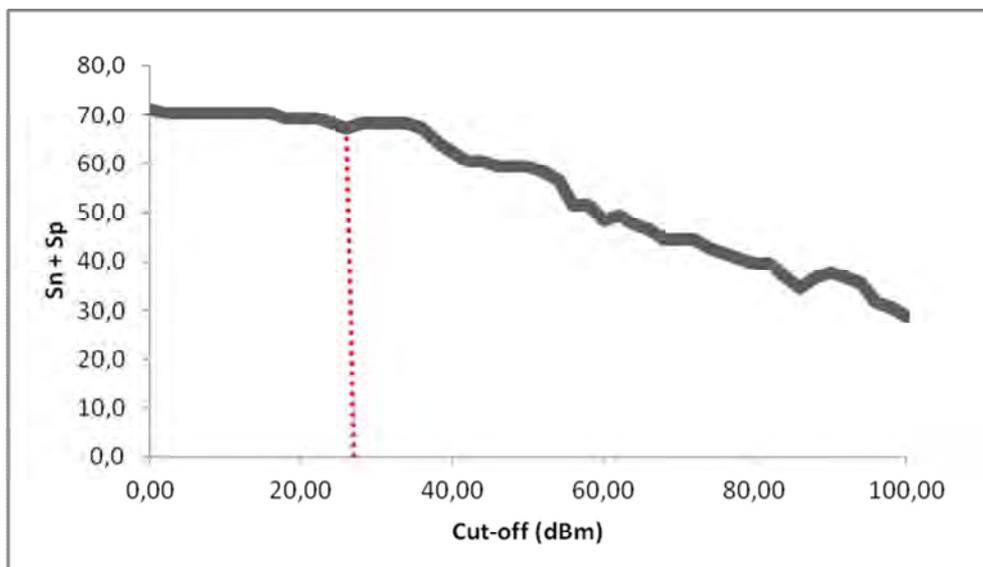
At 1395 MHz the best cut-off that maximizes the sum (sensitivity + specificity) is 15 to 45 dBm



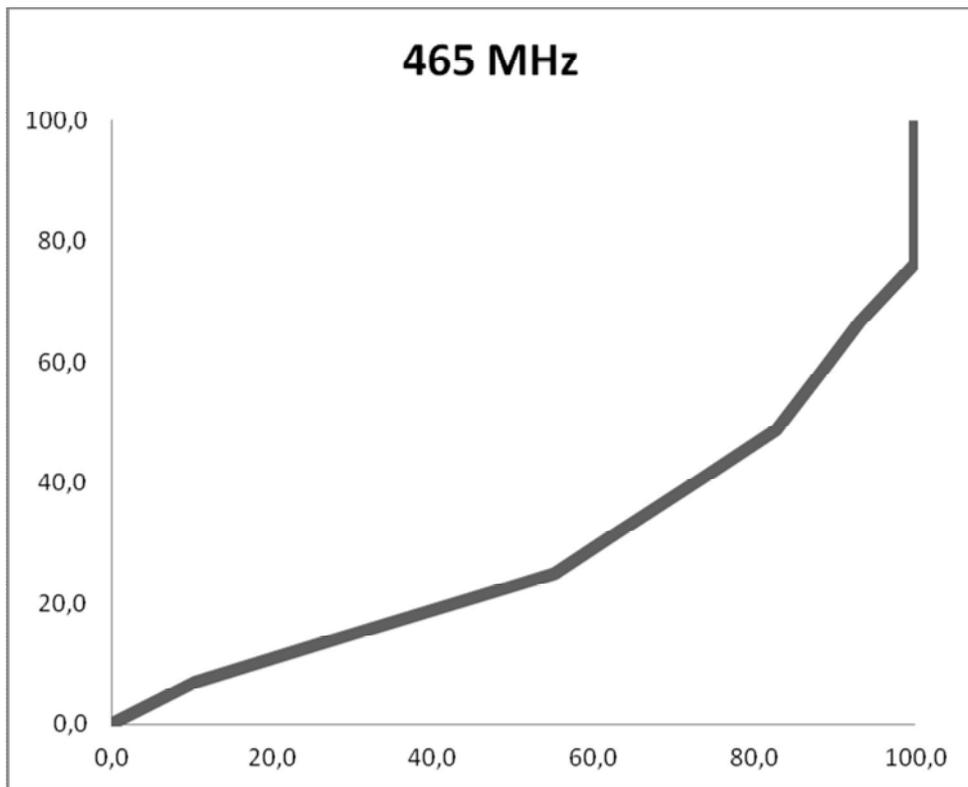
Hyperplasia



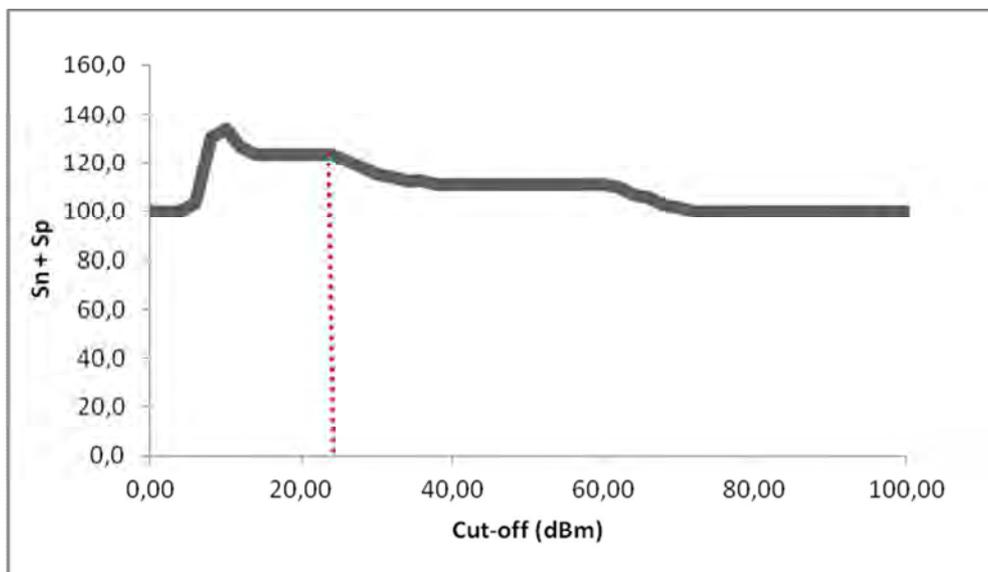
At 930 MHz the best cut-off that maximizes the sum (sensitivity + specificity) is > 25 dBm



Hyperplasia



At 465 MHz the best cut-off that maximizes the sum (sensitivity + specificity) is > 25 dBm



Appendix 7:

Table 1. Characteristics of the 305 patients scheduled for colonoscopy in whom the TRIM procedure was performed.

Age, years, median (SD)	59.0 (13.7 years)
Male 118	(mean age 60 years)
Female 187	(mean age 58 years)
<i>Colonoscopy Indications:</i>	
CRC screening	85 (28%)
Anaemia	43 (14%; 6% bleeding)
Abdominal pain	102 (33%)
Abdominal pain and diarrhoea	27 (9%)
IBD* follow-up	24 (8%)
Other	24 (8%)
<i>Bowel preparation:</i>	
Excellent	204 (67%)
Good	55 (18%)
Fair	34 (11%)
Poor	12 (4%)

*Inflammatory bowel disease

Appendix 8: Patients with ulcerative colitis or Crohn's disease have inflamed colonic mucosa and are not candidates for colon cancer screening programs for healthy individuals there were excluded when TRIM probe proved unable to separate mucosal inflammation from colon polyps (i.e., 7 of the 24 subjects had false positive results for polyps). Exclusion had only a minimal effect on the overall results of the study. Tables 4 and 5 that include these 24 subjects are shown here. The sensitivity, specificity and diagnostic accuracy of TRIM compared to colonoscopy/histology was 100%, 58.8%, and 70.8%, respectively. Positive and negative predictive values were 50.0% and 100% respectively. These results suggest that additional studies would need to be done before the TRIMprob method would become useful for screening among IBD patients.

Table 2. Characteristics of the 24 IBD patients scheduled for colonoscopy in whom the TRIM procedure was performed.

Age, years, median (SD)	57.0 (\pm 14.6 years)
Male 11	(mean age 53.3 years)
Female 13	(mean age 60.3 years)

Table 3. Sensitivity, specificity, positive and negative predictive value of the TRIMprob analysis compared to the gold standard (colonoscopy and histology) in detecting biological anomalies of colonic mucosa for the inflammatory bowel disease (IBD) cohort.

Histology	Colonoscopy (No. of positive cases/total no. of cases)	TRIMProb				Sensitivity , % (95% CI)	Specificity , % (95% CI)	Positive Predictive Value , % (95% CI)	Negative Predictive Value , % (95% CI)
		(No. of TP, FP, FN, TN)							
IBD cases	7/24	7	7	0	10	100 (64.6–100)	58.8 (36.0-78.4)	50.0 (26.8-73.2)	100 (72.3–100)

Appendix 9:

Figure 1: Low grade dysplasia polyps as observed by colonoscopy and by the TRIMprob.

Spectral lines A, B and C correspond to the red, green and blue bars respectively in the D frame.

Variations of several (>40) dBm were observed in the second spectral line and of 25-30 dBm in the first spectral line.

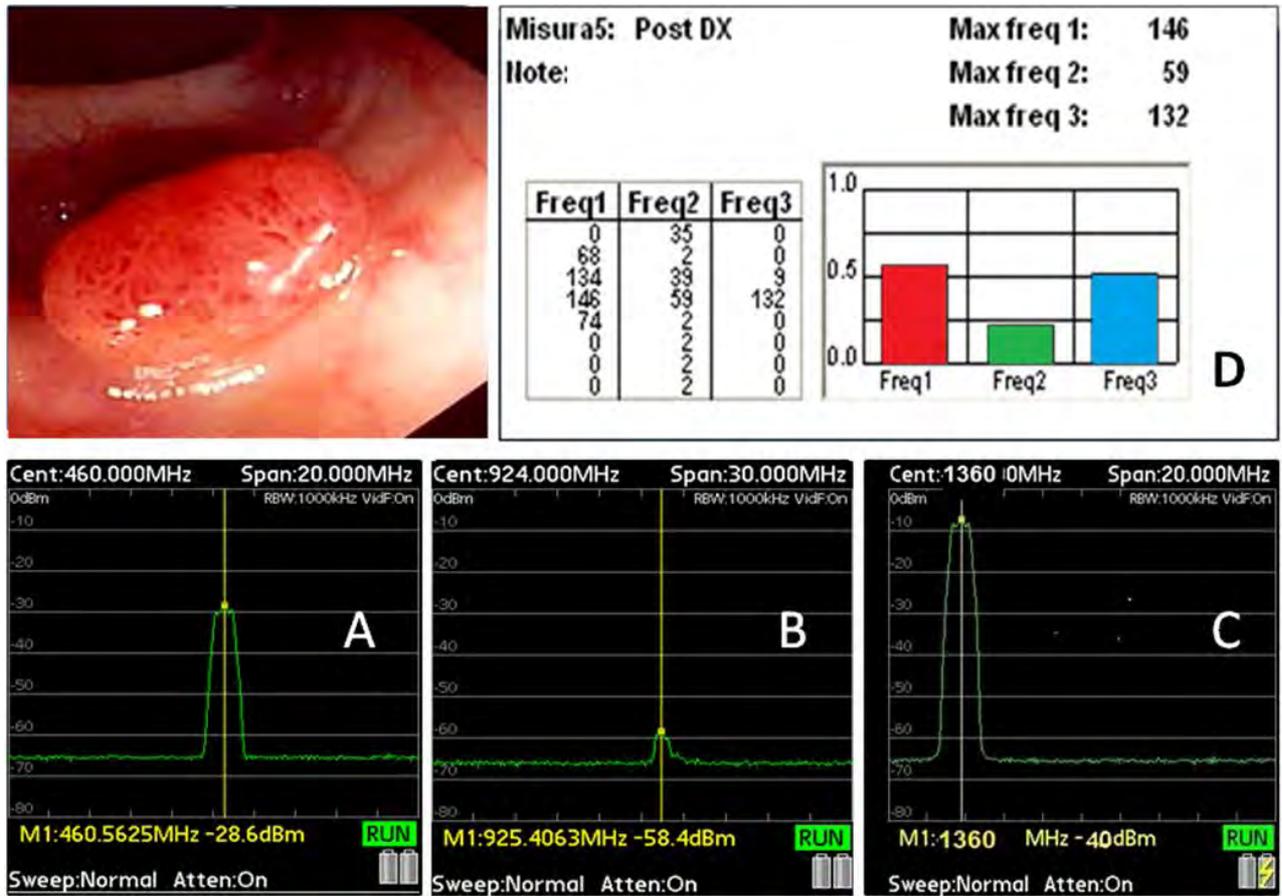
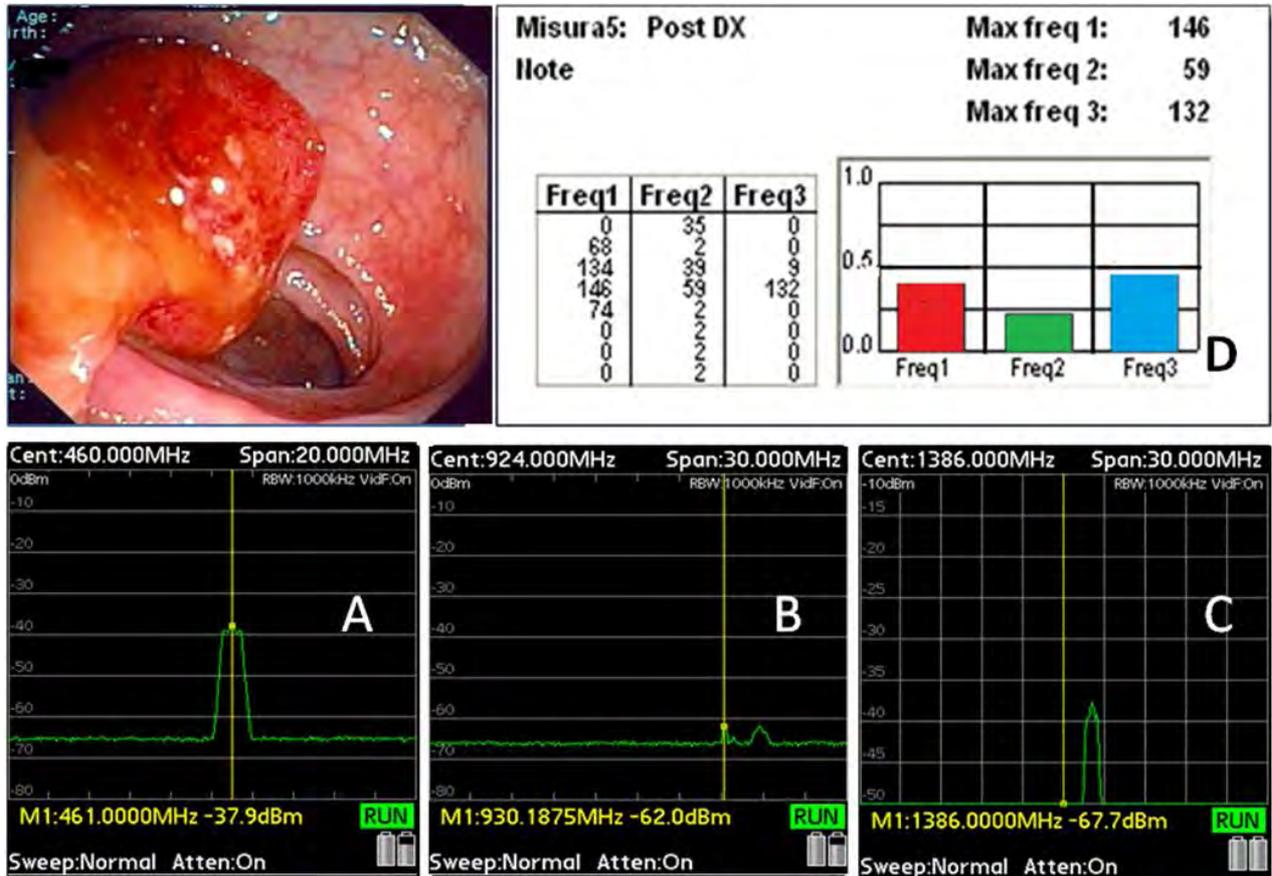


Figure 2: High grade dysplastic polyps. Spectral lines A, B and C correspond to the red, green and blue bars respectively in the D frame. Variations of more than 40 dBm in the second spectral line, of 30-35 dBm in the first spectral line and of 65-70 dBm in third spectral line were observed.



Appendix 10:

Table 4. The 305 total subjects

Colonoscopy							
305 patients (Total)		Normal	Hyperplasia	LGD ¹	HGD ²	Cancer	Total
TRIM	Normal	137	2	0	0	0	139
	Hyperplasia	7	74	5	2	0	88
	LGD	4	0	44	1	0	49
	HGD	1	0	2	14	0	17
	Cancer	0	0	0	0	12	12
	Total	149	76	51	17	12	305

1: Low Grade Dysplasia; 2: High Grade Dysplasia; *false positive: yellow; false negative: pink

Table 6. The 24 IBD subjects

		Colonoscopy					
24 IBD patients		Normal	Hyperplasia	LGD ¹	HGD ²	Cancer	Total
TRIM	Normal	10	0	0	0	0	10
	Hyperplasia	7	1	0	0	0	8
	LGD	0	0	4	0	0	4
	HGD	0	0	2	0	0	2
	Cancer	0	0	0	0	0	0
	Total	17	1	6	0	0	24

1: Low Grade Dysplasia; 2: High Grade Dysplasia; *false positive: yellow; false negative: pink

Appendix 11:

Fig 3: TRIMprobTM and colonoscopy correlation about the number of polyps. Spearman $\rho = 0,917$; $p=0,0001$

