

the AENEAS study

the Application of an Electronic Nose in the Early detection of ASpergillosis

PROTOCOL

Study Coordinator: Drs. K. de Heer, department of Hematology, AMC

Writing committee: Drs. K. de Heer, department of Hematology, AMC
Dr. C.E. Visser, department of Medical Microbiology, AMC
Prof. dr. A.H. Zwinderman, department of Biostatistics, AMC
Prof. dr. P.J. Sterk, department of Pulmonary Medicine, AMC
Prof. dr. M.H.J. van Oers, department of Hematology, AMC

Principal investigator: Prof. dr. M.H.J. van Oers, department of Hematology, AMC

Trial Coordinator: M. Spiering, department of Hematology, AMC

Address:

Department of Hematology, F4-224
Academic Medical Center
P.O. Box 22660
1100 DD, Amsterdam
The Netherlands
tel. +31.20.5665785
fax +31.20.6919743

First version: 28-06-2009

Final version: 23-08-2009

Date of Activation:

Approved:

1. Table of contents

1.	TABLE OF CONTENTS	2
3.	INTRODUCTION	5
3.1	THE DIAGNOSIS OF INVASIVE PULMONARY ASPERGILLOSIS IN NEUTROPENIC PATIENTS	5
3.2	THE ELECTRONIC NOSE (eNOSE).....	5
3.3	PREVIOUS STUDIES ON IN VITRO DISCRIMINATION OF PATHOGENS CAUSING PNEUMONIA.....	5
3.4	PREVIOUS STUDIES ON IN VIVO DISCRIMINATION OF DIFFERENT PULMONARY STATES	6
3.5	THE ELECTRONIC NOSE IN A PRE-EMPTIVE STRATEGY.....	6
3.6	ADVANTAGES OF THE eNOSE IN COMPARISON WITH CURRENT MICROBIOLOGICAL METHODS	6
3.7	THE CHOICE FOR THE FOCUS ON <i>ASPERGILLUS</i>	6
3.8	CONCLUSION.....	7
4.	STUDY OBJECTIVES.....	7
5.	METHODOLOGICAL DESIGN	7
6	STUDY POPULATION	7
6.1	ELIGIBILITY FOR REGISTRATION.....	7
6.2	INCLUSION CRITERIA PATIENTS	7
6.3	EXCLUSION CRITERIA PATIENTS	7
6.4	HEALTHY VOLUNTEERS.....	8
7	STUDY DESIGN.....	8
8	REQUIRED CLINICAL EVALUATIONS	9
8.1	DIAGNOSTIC WORKUP	9
8.1.1	<i>Indications for a diagnostic workup.....</i>	9
8.1.2	<i>Compulsory clinical evaluations when a diagnostic workup is indicated.....</i>	9
8.1.3	<i>Clinical evaluations on indication when a diagnostic workup is indicated.....</i>	9
8.2	CLINICAL EVALUATIONS AFTER A DIAGNOSTIC WORKUP HAS BEEN PERFORMED	10
8.2.1	<i>Clinical evaluations in case of a possible, probable or proven invasive mycosis</i>	10
8.2.2	<i>Clinical evaluations in case of solely sero-positivity once.....</i>	10
8.2.3	<i>Clinical evaluation in case of solely sero-positivity twice in a row.....</i>	10
8.2.4	<i>Clinical evaluations in case of no sero-positivity and no possible invasive mycosis.....</i>	10
8.3	ANALYSIS OF EXHALED AIR: THE eNOSE	10
9	SIDE EFFECTS	11
10	ENDPOINTS	11
10.1	PRIMARY ENDPOINT	11
10.2	SECONDARY ENDPOINT	11
11	LOGISTICS IN USING THE ELECTRONIC NOSE.....	11
12	STATISTICAL CONSIDERATIONS	11
12.1	PATIENT NUMBERS AND POWER CONSIDERATIONS	11
12.2	STATISTICAL ANALYSIS	12
13	ETHICS.....	12
13.1	INDEPENDENT ETHICS COMMITTEE OR INSTITUTIONAL REVIEW BOARD.....	12
13.2	ETHICAL CONDUCT OF THE STUDY	12
13.3	PATIENT INFORMATION AND CONSENT	12
13.4	HEALTHY VOLUNTEER INFORMATION AND CONSENT.....	12
14	CRITERIA TO PURSUE INTENDED FOLLOW-UP TRIAL	12
15	INSURANCE.....	13
16	STORAGE OF DATA AND BODILY MATERIALS	13

APPENDIX A – EORTC/MSG CRITERIA FOR INVASIVE FUNGAL DISEASE	15
CRITERIA FOR POSSIBLE AND PROBABLE INVASIVE FUNGAL DISEASE EXCEPT FOR ENDEMIC MYCOSES	15
CRITERIA FOR PROVEN INVASIVE FUNGAL DISEASE EXCEPT FOR ENDEMIC MYCOSES	17
APPENDIX B - PATIENT INFORMATION AND CONSENT	18
APPENDIX C - INFORMATION AND CONSENT HEALTHY VOLUNTEER	25

2. Synopsis

Study objective	to establish the accuracy with which the eNose can discriminate patients with invasive pulmonary aspergillosis from controls
Patient population	patients, aged 18 or older, that will undergo treatment for a hematological malignancy expected to result in grade 4 neutropenia of prolonged duration (i.e., more than 7 days), e.g. hematopoietic stem cell transplantation or induction/consolidation treatment for acute myeloid leukaemia
Healthy volunteers	recruited by means of advertisement, e.g. at the faculty of Medicine of the University of Amsterdam
Exclusion criterium	previous invasive pulmonary mycosis
Design	single center pilot, cohort study
Cases	neutropenic patients with probable or proven invasive pulmonary aspergillosis, according to the EORTC/MSG criteria
Controls	* neutropenic patients with fever but without any sign of aspergillosis, preferably (suspected of) having pneumonia * healthy volunteers
Side effects	not to be expected
Start of recruitment	September 2009
End of recruitment	September 2010
Study duration	1 year

Number of subjects to be included

Targets	10 cases 10 neutropenic controls 10 healthy volunteers
Total number	10 healthy volunteers and an estimated 80 patients
Passive participation	the majority of included patients (estimated at 50) will never be suspected of having an invasive pulmonary mycosis, will therefore never qualify as case or control, and will not be analysed using the eNose; no prophylactic, diagnostic or treatment-related procedure other than standard care will be performed in them

3. Introduction

3.1 The diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients

Pneumonia is one of the most frequently occurring infections during prolonged neutropenia. Often, it is not possible to determine the pathogen causing the pneumonia and empirical treatment is started on the basis of clinical suspicion and “circumstantial evidence”.

This is partially explained by the fact that neutropenic patients with pneumonia often do not expectorate sputum and frequently receive multiple antibiotics, prophylactically as well as empirically. A timely bronchoalveolar lavage is often logistically difficult and not rarely contraindicated by the condition of the patient. A transbronchial biopsy is almost never performed due to cytopenia. However, even if the diagnostic workup is performed under ideal circumstances, the state-of-the-art microbiological techniques have a low sensitivity in identifying the responsible pathogen. In the German "Hospital Infection Surveillance System for Patients with Hematologic/Oncologic Malignancies" (ONKO-KISS) in which 1899 patients were followed prospectively after myeloablative stem cell transplantation, neutropenic pneumonia was diagnosed in 168 patients. In a mere 29 percent the responsible pathogen could be identified.⁽¹⁾

One of the most difficult forms of pneumonia as to the isolation of the responsible pathogen is invasive pulmonary mycosis. This is reflected by the extensive criteria for “possible”, “probable” and “proven” invasive fungal disease, drafted by the EORTC/MSG. Usually a “probable” infection is considered enough evidence to “establish diagnosis”, as “proven” disease - for which it is required to isolate the responsible pathogen from a specimen obtained from a normally sterile site - is generally only diagnosed post-mortem. In daily practice this diagnostic inaccuracy is quite a problem. The treatment of invasive fungal disease takes a long time (at least 6 weeks) and makes use of antimycotics that can have serious adverse effects, e.g. renal insufficiency, liver failure and bone marrow suppression. Moreover, an invasive fungal infection can delay an oncologically important follow-up treatment. It is therefore clear that more accurate diagnostic methods are highly needed.

3.2 The electronic nose (eNose)

The electronic nose could be a cheap and easy-to-perform addition to the diagnostic arsenal in evaluating pneumonia, by analysing exhaled air.

An electronic nose is a bio-inspired artificial olfactory system that can detect odours by the use of an array of sensors in conjunction with pattern recognition algorithms. When exposed to volatile organic compounds (VOCs) the sensors react in a non-specific way and each odour, which is a unique mixture of VOCs, will result in a pattern of sensor signals unique to that odour, a so-called “smell-print”. The pattern recognition algorithms, which can be statistical or neural network based, can distinguish different smell-prints obtained by sampling various sources. In this way complex mixtures of VOCs can be discriminated without knowing the individual molecular components as such.

3.3 Previous studies on in vitro discrimination of pathogens causing pneumonia

Previous research showed that the eNose can reliably differentiate in vitro the most frequently encountered pathogens in "ventilator-associated pneumonia" (VAP). Moens et al. demonstrated that after only 17 hours of culturing an eNose could differentiate the headspaces of various micro-organisms with a diagnostic accuracy of 100%. They examined Gram negative bacteria

(*P.aeruginosa*, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *E.aerogenes*, *P.vulgaris*), Gram positive bacteria (*S.aureus*, *S.pneumoniae*, *E.faecalis*), a yeast species (*Candida albicans*) and a mold species, *Aspergillus fumigatus*.⁽²⁾ Other groups, including our own, confirmed that an eNose is able to differentiate the headspaces of various micro-organisms.^(3;4)

3.4 Previous studies on in vivo discrimination of different pulmonary states

Previous research also showed that an eNose can reliably establish whether a patient has a pneumonia or not, by analyzing exhaled air. Hockstein et al. calculated pneumonia scores in 44 ventilated patients by analysing temperature, white blood cell count, character and quantity of tracheal secretions, ratio of partial pressure of arterial oxygen to fraction of inspired oxygen, and chest radiographs.⁽⁵⁾ The eNose could reliably differentiate between the 7 patients with a high pneumonia score and the 29 patients with a low pneumonia score. Research by our own group has shown that an eNose can differentiate (with a cross-validated accuracy value of 85% in a relatively small sample size) between patients with COPD, patients with non-small cell lung carcinoma and healthy controls.⁽⁶⁾ We also demonstrated the ability of the eNose to differentiate between patients with asthma and healthy controls.⁽⁷⁾

3.5 The electronic nose in a pre-emptive strategy

Possibly the most important application of the eNose would be its use within a pre-emptive strategy. Even with adequate treatment, an invasive pulmonary mycosis is associated with disappointing one-year survival of 20%. In a pre-emptive strategy all efforts are focused on diagnosing and treating an invasive mycosis at a very early stage, to allow treatment before the pneumonia becomes clinically manifest. The development of the galactomannan assay, which has rapidly become one of the most important adjuncts in diagnosing aspergillosis, was a major step in this direction. However, the galactomannan assay only detects aspergillosis and is sensitive to all sorts of disturbing factors, most notably antibiotics. It has a sensitivity of 78% and a specificity of 81%.⁽⁸⁾

3.6 Advantages of the eNose in comparison with current microbiological methods

An advantage of the eNose over current microbiological techniques is its speed. A PCR or the definitive determination of a pathogen in a culture usually takes more than 48 hours. This also applies to the galactomannan assay. In our current - still experimental - setup the eNose can yield a result within minutes to hours. A second advantage of the eNose is its non-invasiveness. The current *state-of-the-art* workup in case of a suspected systemic mycosis includes broncho-alveolar lavage, an invasive and uncomfortable procedure that is associated with complications, most notably respiratory insufficiency. The eNose has the potential to obviate the need for a broncho-alveolar lavage in this situation. And last but not least, the eNose might significantly add to the sensitivity and specificity of the workup.

3.7 The choice for the focus on *Aspergillus*

Because the required number of patients increases with every pathogen to be differentiated, this study will only focus on *Aspergillus*, the most common pulmonary invasive mycosis in neutropenic patients. However, by incorporating the eNose in daily practice through this and following studies, every time a pneumonia proves to be due to another pathogen than *Aspergillus* in retrospect, we can expand our “database of pathogens”. Eventually, the eNose will be able to diagnose more than just *Aspergillus*.

3.8 Conclusion

In conclusion, the eNose could be a fast, cheap, non-invasive, and easy-to-perform new tool in the diagnosis of pulmonary invasive mycosis that could improve diagnostic accuracy and possibly obviate broncho-alveolar lavage. It can be incorporated in a pre-emptive strategy and in this way hopefully reduce the mortality of the infectious complications associated with the treatment of haematological diseases.

4. Study Objectives

4.1 Main objective

To establish the accuracy with which the Cyranose® can discriminate patients with probable or proven invasive pulmonary aspergillosis from neutropenic controls with fever.

4.2 Secondary objective

To establish whether neutropenic patients with fever but no sign of aspergillosis can be discriminated from healthy subjects, thus measuring the combined influence of chemotherapy, neutropenia, antibiotics and fever on the algorithm used for the main objective.

5. Methodological design

The study will have cohort design and will be performed in a single center.

6 Study population

6.1 Eligibility for registration

All eligible patients have to be registered before start of the trial. Patients have to meet all of the criteria mentioned below.

6.2 Inclusion criteria patients

Patients that

1. are 18 years of age or older
2. will undergo treatment for a hematological malignancy expected to result in grade 4 neutropenia (according to CTCAE 3.0, i.e. $<0.5 \times 10^9$ neutrophils/L) of prolonged duration (i.e., more than 7 days), e.g. hematopoietic stem cell transplantation or induction/consolidation treatment for acute myeloid leukaemia
3. have given written informed consent

If the neutropenic episode is part of a sequence of prolonged neutropenias, the informed consent will apply to all neutropenic episodes. The moment anti-mold treatment is started, the patient will go off-protocol after analysis of exhaled air using the eNose.

6.3 Exclusion criteria patients

1. a previously diagnosed invasive mycosis
2. the inability to perform the breathing manoeuvre needed for eNose-analysis of exhaled air

6.4 Healthy volunteers

Healthy volunteers, whose exhaled air will be analysed using the eNose on the same day as a neutropenic control (see paragraph 8.2.4), will be sought through advertisement, e.g. at the faculty of Medicine of the University of Amsterdam. The exhaled air of a healthy volunteer will be analysed only once. There are no in- or exclusion criteria for a healthy volunteer, except for an age of 18 years or older.

7 Study design

All patients will be managed identically and according to local protocol with respect to the prevention, diagnosis and treatment of mycoses. Except for analysis of exhaled air using the eNose every prophylactic, diagnostic and treatment-related procedure is considered to be standard care.

Prophylactic antifungal treatment will be started the same day as the chemotherapy. Patients will receive 500 mg amphotericine q 6 hours orally until the peripheral neutrophil count exceeds $0.5 \times 10^9/L$. If oral amphotericine is not tolerated, no substitute will be started. Patients undergoing myeloablative allogeneic stem cell transplantation will receive 200 mg of fluconazole daily instead. In principle, no antimycotics with activity against *Aspergillus*, such as voriconazole or posaconazole, will be administered prophylactically. If the treating physician judges that the administration of prophylactic anti-mold treatment is necessary, the patient will be excluded from the study as eNose results might be influenced by anti-mold therapy.

From the start of chemotherapy cultures of throat, nose, rectum and, if possible, sputum will be performed weekly. From the start of neutropenia grade 4 according tot CTCAE 3.0 a serum galactomannan assay will be performed twice weekly. Both will be continued until the peripheral neutrophil count exceeds $0.5 \times 10^9/L$. If the serum galactomannan exceeds 0.5 or in case of another “indication for a diagnostic workup” (see paragraph 8.1.1) further investigations will be performed as described in paragraphs 8.1.2 and 8.1.3.

The results will be classified according to the “Revised Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group”, see appendix A.

In case of a possible mycosis or sero-positivity for galactomannan twice in a row, treatment is started. In case of a possible mycosis with no mycological criterium specific for aspergillosis, most notably a negative galactomannan assay performed on the bronchoalveolar lavage, treatment with posaconazole or a liposomal amphotericine product is started. In case of a mycological criterium specific for aspergillosis voriconazole is started. At the decision of the treating physician, for example because of known resistance or expected toxicity, this protocol can be abandoned. In that case, the patient will not be excluded from the study.

Before anti-mold treatment is started, analysis of exhaled air using the eNose will be performed (see paragraph 8.2), provided that it does not delay treatment.

In case of no possible, probable or proven aspergillosis and no sero-positivity, the patient qualifies as neutropenic control. Analysis of exhaled air will be performed. In parallel a healthy volunteer will also be included, to match for “day of measurement”.

If treatment is started solely on the basis of sero-positivity twice in a row, a HR-CT of the thorax will be repeated on indication but always after a week. In case of abnormalities on the HR-CT consistent with invasive pulmonary mycosis both bronchoscopy and bronchoalveolar lavage will be performed.

8 Required clinical evaluations

8.1 Diagnostic workup

8.1.1 Indications for a diagnostic workup

Nota bene: not to be confused with a possible, probable or proven invasive mycosis.

1. a rise of serum galactomannan above 0.5, or
2. five or more days of fever unresponsive to broad empiric antibiotic treatment and without alternative explanation, or
3. a new infiltrate developing under broad antibiotic coverage or highly dosed steroids, or
4. an abnormality on a chest X-ray consistent with invasive pulmonary mycosis, or
5. hyphae or molds found in a respiratory specimen, or
6. symptoms and/or signs considered by the treating physician to be possibly due to a invasive mycosis.

8.1.2 Compulsory clinical evaluations when a diagnostic workup is indicated

1. analysis of sputum
 - direct microscopy by microbiological technician
 - culture (bacteria, fungi)
2. high resolution CT of the thorax

In case of abnormalities on the HR-CT consistent with invasive pulmonary mycosis:

3. bronchoscopy
4. broncho-alveolar lavage
 - cytology by hematologist
 - direct microscopy by microbiological technician (to detect acid-fast bacteria, yeasts and molds)
 - PCR on M.tuberculosis complex
 - mycobacterial culture
 - PCR on viruses (human boca virus, parainfluenza 1 to 4, parechovirus, coronavirus, rhinovirus, RSV, human metapneumovirus, enterovirus, influenza A and B, adenovirus, HSV, EBV, CMV)
 - CMV culture
 - routine culture (to detect bacteria and fungi)
 - galactomannan assay

In case a broncho-alveolar lavage is not performed

5. throat gurgle specimen
 - PCR on viruses (human boca virus, parainfluenza 1 to 4, parechovirus, coronavirus, rhinovirus, RSV, human metapneumovirus, enterovirus, influenza A and B, adenovirus, HSV, EBV, CMV)

8.1.3 Clinical evaluations on indication when a diagnostic workup is indicated

Sinonasal, ophthalmological and neurological symptoms and signs are actively sought. The following evaluations are performed on indication:

1. CT of the liver and spleen
2. CT or MRI (with contrast) of the brain and/or sinus
3. Neurological consultation
4. Otolaryngeal consultation
5. Ophthalmologic consultation

8.2 Clinical evaluations after a diagnostic workup has been performed

8.2.1 Clinical evaluations in case of a possible, probable or proven invasive mycosis

In case of a possible, probable or proven aspergillosis, according to the criteria mentioned in appendix A, analysis of exhaled air is performed using the eNose, see paragraph 3. Patients with a possible aspergillosis are included in this group as in retrospect some of these patients will prove to have a probable or proven aspergillosis. For example, the galactomannan assay could become positive a few days later. This will hopefully shorten the study period.

8.2.2 Clinical evaluations in case of solely sero-positivity once

No extra analyses are performed.

8.2.3 Clinical evaluation in case of solely sero-positivity twice in a row

In case of solely sero-positivity twice in a row analysis of exhaled air is performed using the eNose, see paragraph 3. A HR-CT of the thorax will be repeated on indication but always after a week. In case of abnormalities on the HR-CT consistent with invasive pulmonary mycosis.

8.2.4 Clinical evaluations in case of no sero-positivity and no possible invasive mycosis

In case of no possible, probable or proven aspergillosis and no sero-positivity, the patient will most likely have one of two “indications for a diagnostic workup”: five or more days of fever without explanation and unresponsive to broad empiric antibiotic treatment, or an abnormal chest X-ray and/or HR-CT of the thorax unlikely to be due to aspergillosis.⁽⁹⁾ The patient therefore qualifies as neutropenic control. Analysis of exhaled air will be performed. At the same time a neutropenic control is included, a healthy volunteer will also be included, to match for “day of measurement”.

8.3 Analysis of exhaled air: the eNose

A commercially available handheld eNose will be used (Cyranose 320; Smith Detection, Pasadena, California). The Cyranose 320 is a black-carbon-polymer based chemical vapour analyzer consisting of 32 sensors. Exposing the sensors to a VOC-mixture results in a fully reversible swelling of the sensor polymers, which induces a change in electrical resistance. The relative resistance change for each of the 32 sensors is captured as raw data and combines to a so-called smell-print that can be used for pattern recognition analysis.

The breathing manoeuvres will be performed in a standardized manner, based on a validated method as previously published.⁽⁷⁾ In short, patients will breathe tidally through a mouth piece, connected to a 3-way non-rebreathing valve and an inspiratory VOC-filter (A2, North Safety, the

Netherlands) for 5 minutes. After a single deep inspiration the patient will exhale a single vital capacity volume through a silica-filled drying chamber into a Tedlar bag connected to the expiratory port. Within 10 min the electronic nose will be connected to the Tedlar bag, followed by 1 minute of sampling the exhaled air. This procedure will be performed twice, in separate Tedlar bags.

9 Side effects

Analysis of exhaled air is non-invasive, easy and not associated with any complications or toxicity. The measurement will take 10 minutes. During this period the patient has to breathe through a device. Except for analysis of exhaled air using the eNose, patients included in this trial will not undergo any prophylactic, diagnostic or treatment-related procedure for the purposes of this study other than standard care.

10 Endpoints

10.1 Primary endpoint

The accuracy with which the Cyranose® can discriminate between patients with probable or proven invasive pulmonary aspergillosis and neutropenic controls with fever, as measured by the cross-validated values of the sensitivity, specificity and accuracy of the predictive algorithm.

10.2 Secondary endpoint

The accuracy in discriminating neutropenic controls with fever from healthy volunteers using the algorithm derived for the primary endpoint, as measured by the cross-validated values of the sensitivity, specificity and accuracy of the predictive algorithm.

11 Logistics in using the electronic nose

A beeper number is available to the doctors treating patients in this study. If this protocol requires a breath-print to be made, this number can be dialled. The paged researcher will perform all analyses involving the eNose.

12 Statistical considerations

12.1 Patient numbers and power considerations

Our aim is to have a rough indication of the sensitivity and specificity of the eNose in distinguishing neutropenic patients with and without “probable or proven invasive pulmonary aspergillosis”. We expect that both sensitivity and specificity are more than 0.8 and our aim is to estimate both with a standard error of less than 0.125.⁽⁶⁾ This will be achieved by including at least 10 patients with probable or proven aspergillosis and 10 neutropenic controls with fever. Considering an incidence of about 7%, we surmise we need to include 80 patients (with approximately 125 neutropenic episodes) overall to include these numbers of cases and controls.⁽¹⁰⁾ We hope to be able to end inclusion within a year.

As we expect that, even in retrospect, 10 patients will be diagnosed with “sero-positivity twice in a row or possible aspergillosis” (see paragraph 8.2.3); an estimated 50 patients will only participate passively in this study. Inclusion shortly before eNose measurement is deemed unfeasible, as this will not allow for enough time to consider informed consent thoroughly.

12.2 Statistical analysis

Raw sensor data is presented as a relative resistance change (defined as $\Delta R/R$) for each of the 32 sensors. Data will be analyzed with SPSS, version 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Analysis consists of both Principal Component Analysis (PCA), a linear method used to reduce the dimensionality of a data set, and Canonical Discriminant Analysis (CDA).⁽⁶⁾ The features that capture the largest variance are extracted, while lower ranking variables are eliminated. The scores produced will be plotted in two- or three-dimensional graphs to visualise the separation between groups. The principal components are used in a linear CDA for the construction of a pattern-recognition algorithm by maximising the ratio of the between-class and within-class scatter.

The cross-validated values of the sensitivity, specificity and accuracy will be established with the 'leave-one-out' method, creating a predictive algorithm on the basis of all but one of the subjects. This algorithm is subsequently used to classify the excluded subject in one of the categories created by CDA. This process is repeated until every subject has been excluded once from the classifying algorithm.

13 Ethics

13.1 Independent ethics committee or Institutional review board

The study protocol and any amendment that is not solely of an administrative nature will be submitted to an Independent Ethics Committee or Institutional Review Board.

13.2 Ethical conduct of the study

The study will be conducted in accordance with the ethical principles of the Declaration of Helsinki (South Africa Amendment 1996).

13.3 Patient information and consent

Written informed consent of patients is required before registration, see appendix B.

13.4 Healthy volunteer information and consent

Written Informed consent of healthy volunteers is required before participation, see appendix C.

14 Criteria to pursue intended follow-up trial

In case of a cross-validated accuracy of more than 75% the diagnostic accuracy of the eNose will be considered promising enough to attempt to launch a prospective multi-center trial, in which patients will be monitored with an eNose twice per week from the start of chemotherapy until neutrophil recovery. The following research questions will be addressed in this follow-up trial that will also enable the fine-tuning of the self-learning algorithm. How early can the eNose detect invasive pulmonary aspergillosis compared to conventional diagnostic methods? What is the immediate effect of anti-mold therapy on a breath-print? Can an eNose detect treatment failure? How many days after the start of adequate treatment can an eNose still detect invasive pulmonary aspergillosis? This trial will be submitted separately to an Independent Ethics Committee or Institutional Review Board.

15 Insurance

As participating in this trial is considered to be without risk, no insurance policy will be obtained to cover the risks of participating in this trial.

16 Storage of data and bodily materials

The handling of personal data will comply with the Dutch Personal Data Protection Act (in Dutch: De Wet Bescherming Persoonsgegevens, Wbp) and the privacy regulations of the Academic Medical Center. Personal data will be stored anonymously by means of a code number. Only this number will be used in study documentation, reports and publications. Only he who possesses the code key (the study coordinator) will know the identity of the persons behind the code numbers. Other persons/authorities that are allowed access to the code key are the members of the Independent Ethics Committee of the Academic Medical Center, members of the research team and the Health Inspection. This might be necessary to inspect the accuracy and quality of the study.

The exhaled air, the bronchoalveolar lavage, the blood drawn for galactomannan assay, and the air that is released during bronchoscopy will be stored and can be subjected to additional analysis, the blood and bronchoalveolar lavage if the patient consents. Venipuncture and bronchoscopy will not be performed more often than normal. There will not be taken more material than is normally done. Test results and bodily materials will be stored for a maximum of 15 years after the study ends. They will only be used for research of a similar nature.

17 References

- (1) Dettenkofer M, Wenzler-Rottel S, Babikir R, Bertz H, Ebner W, Meyer E et al. Surveillance of nosocomial sepsis and pneumonia in patients with a bone marrow or peripheral blood stem cell transplant: a multicenter project. *Clin Infect Dis* 2005; 40(7):926-931.
- (2) Moens M, Smet A, Naudts B, Verhoeven J, Ieven M, Jorens P et al. Fast identification of ten clinically important micro-organisms using an electronic nose. *Lett Appl Microbiol* 2006; 42(2):121-126.
- (3) Fend R, Kolk AH, Bessant C, Buijtelts P, Klatser PR, Woodman AC. Prospects for clinical application of electronic-nose technology to early detection of *Mycobacterium tuberculosis* in culture and sputum. *J Clin Microbiol* 2006; 44(6):2039-2045.
- (4) Dutta R, Hines EL, Gardner JW, Boilot P. Bacteria classification using Cyranose 320 electronic nose. *Biomed Eng Online* 2002; 1:4.
- (5) Hockstein NG, Thaler ER, Lin Y, Lee DD, Hanson CW. Correlation of pneumonia score with electronic nose signature: A prospective study. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2005; 114(7):504-508.
- (6) Dragonieri S, Annema JT, Schot R, van der Schee MP, Spanevello A, Carratu P et al. An electronic nose in the discrimination of patients with non-small cell lung cancer and COPD. *Lung Cancer* 2009; 64(2):166-170.
- (7) Dragonieri S, Schot R, Mertens BJ, Le Cessie S, Gauw SA, Spanevello A et al. An electronic nose in the discrimination of patients with asthma and controls. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120(4):856-862.
- (8) Leeflang MM, Debets-Ossenkopp YJ, Visser CE, Scholten RJ, Hooft L, Bijlmer HA et al. Galactomannan detection for invasive aspergillosis in immunocompromized patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2008;(4):CD007394.
- (9) Maertens J, Theunissen K, Verhoef G, Verschakelen J, Lagrou K, Verbeken E et al. Galactomannan and computed tomography-based preemptive antifungal therapy in neutropenic patients at high risk for invasive fungal infection: a prospective feasibility study. *Clin Infect Dis* 2005; 41(9):1242-1250.
- (10) Cornely OA, Maertens J, Winston DJ, Perfect J, Ullmann AJ, Walsh TJ et al. Posaconazole vs. fluconazole or itraconazole prophylaxis in patients with neutropenia. *N Engl J Med* 2007; 356(4):348-359.

Appendix A – EORTC/MSG criteria for invasive fungal disease

Criteria for possible and probable invasive fungal disease except for endemic mycoses

Probable IFD requires: the presence of a host factor, a clinical criterion, and a mycological criterion.

Possible IFD is established when cases meet the criteria for a host factor and a clinical criterion but a mycological criteria lacks.

Host factors

- Recent history of neutropenia ($<0.5 \times 10^9$ neutrophils/L [<500 neutrophils/mm³] for >10 days) temporally related to the onset of fungal disease
- Receipt of an allogeneic stem cell transplant
- Prolonged use of corticosteroids (excluding among patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis) at a mean minimum dose of 0.3 mg/kg/day of prednisone equivalent for >3 weeks
- Treatment with other recognized T cell immunosuppressants, such as cyclosporine, TNF-blockers, specific monoclonal antibodies (such as alemtuzumab), or nucleoside analogues during the past 90 days
- Inherited severe immunodeficiency (such as chronic granulomatous disease or severe combined immunodeficiency)

Clinical criteria (must be consistent with the mycological findings, if any, and must be temporally related to current episode)

- Lower respiratory tract fungal disease (every reasonable attempt should be made to exclude an alternative etiology)
 - The presence of 1 of the following 3 signs on CT:
 - Dense, well-circumscribed lesions(s) with or without a halo sign
 - Air-crescent sign
 - Cavity
 - Tracheobronchitis
 - Tracheobronchial ulceration, nodule, pseudomembrane, plaque, or eschar seen on bronchoscopic analysis
- Sinonasal infection
 - Imaging showing sinusitis plus at least 1 of the following 3 signs:
 - Acute localized pain (including pain radiating to the eye)
 - Nasal ulcer with black eschar
 - Extension from the paranasal sinus across bony barriers, including into the orbit
- CNS infection
 - 1 of the following 2 signs:
 - Focal lesions on imaging
 - Meningeal enhancement on MRI or CT
- Disseminated candidiasis
 - At least 1 of the following 2 entities after an episode of candidemia within the previous 2 weeks:
 - Small, target-like abscesses (bull's-eye lesions) in liver or spleen
 - Progressive retinal exudates on ophthalmologic examination

Mycological criteria

- Direct test (cytology, direct microscopy, or culture)
 - Mold in sputum, bronchoalveolar lavage fluid, bronchial brush, or sinus aspirate sample, indicated by 1 of the following:
 - Presence of fungal elements indicating a mold
 - Recovery by culture of a mold (eg, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Zygomycetes*, or *Scedosporium* species)
- Indirect tests (detection of antigen or cell-wall constituents)
 - Aspergillosis: galactomannan antigen detected in plasma, serum, bronchoalveolar lavage fluid, or CSF
 - Invasive fungal disease other than cryptococcosis and zygomycoses: beta-D-glucan detected in serum

Criteria for proven invasive fungal disease except for endemic mycoses

Microscopic analysis of sterile material

- **Molds:** histopathologic, cytopathologic, or direct microscopic examination^b of a specimen obtained by needle aspiration or biopsy in which hyphae or melanized yeast-like forms are seen accompanied by evidence of associated tissue damage.
- **Yeasts:** histopathologic, cytopathologic, or direct microscopic examination^b of a specimen obtained by needle aspiration or biopsy from a normally sterile site (other than mucous membranes) showing yeast cells—for example, *Cryptococcus* species indicated by encapsulated budding yeasts or *Candida* species showing pseudohyphae or true hyphae^c

Culture of sterile material

- **Mold:** recovery of a mold or “black yeast” by culture of a specimen obtained by a sterile procedure from a normally sterile and clinically or radiologically abnormal site consistent with an infectious disease process, excluding bronchoalveolar lavage fluid, a cranial sinus cavity specimen, and urine
- **Yeasts:** recovery of a yeast by culture of a sample obtained by a sterile procedure (including a freshly placed [<24 h ago] drain) from a normally sterile site showing a clinical or radiological abnormality consistent with an infectious disease process

Blood culture:

- **Molds:** culture that yields a mold^d (e.g., *Fusarium* species) in the context of a compatible infectious disease process
- **Yeasts:** blood culture that yields yeast (e.g., *Cryptococcus* or *Candida* species) or yeast-like fungi (e.g., *Trichosporon* species)

Serological analysis of CSF:

- Yeasts: Cryptococcal antigen in CSF indicates disseminated cryptococcosis

^aIf culture is available, append the identification at the genus or species level from the culture results.

^bTissue and cells submitted for histopathologic or cytopathologic studies should be stained by Grocott-Gomori methenamine silver stain or by periodic acid Schiff stain, to facilitate inspection of fungal structures. Whenever possible, wet mounts of specimens from foci related to invasive fungal disease should be stained with a fluorescent dye (e.g., calcofluor or blankophor).

^c*Candida*, *Trichosporon*, and yeast-like *Geotrichum* species and *Blastoschizomyces capitatus* may also form pseudohyphae or true hyphae.

^dRecovery of *Aspergillus* species from blood cultures invariably represents contamination.

Appendix B - Patient information and consent

Patiënteninformatie en toestemmingsformulier

Informatie voor patiënten horende bij het onderzoek:

De toepassing van de elektronische neus bij de vroeg-detectie van aspergillose: de AENEAS-studie. (The Application of an Electronic Nose in the Early detection of Aspergillosis: the AENEAS study.)

Geachte Heer, Mevrouw,

Uw arts heeft u gevraagd of u aan bovengenoemd medisch-wetenschappelijk onderzoek wilt meedoen. Voor eventuele toestemming is goede voorlichting van onze kant nodig en een zorgvuldige afweging van uw kant. Vandaar dat u deze schriftelijke informatie ontvangt. U beslist zelf of u wel of niet wilt meedoen. Voordat u de beslissing neemt, is het belangrijk om meer te weten over het onderzoek. Leest u daarom deze informatiebrief rustig door. Bespreekt u het met partner, vrienden of familie. U heeft ook een brochure Medisch-wetenschappelijk onderzoek gekregen. Hierin staat veel algemene informatie over de richtlijnen van medisch-wetenschappelijk onderzoek. Als u na het lezen van alle informatie nog vragen heeft, kunt u terecht bij uw arts of de onderzoekers.

Achtergrond en doel van het onderzoek

Binnenkort zal u door behandeling met chemotherapie een periode van verminderde weerstand doormaken. Dit wordt de neutropene fase genoemd.

Een slecht weinig voorkomende maar potentieel levensbedreigende infectie in deze neutropene fase is een longontsteking door de *Aspergillus*-schimmel. Onderzoek van de laatste jaren heeft laten zien dat hoe sneller deze schimmelinfectie wordt vastgesteld, en hoe eerder met de behandeling wordt begonnen, des te beter de prognose is. De diagnose is echter niet eenvoudig te stellen. Vaak is het alleen mogelijk om de “verdenking op een aspergillusinfectie” vast te stellen. Over het algemeen wordt op basis van deze verdenking de behandeling van een aspergilluslongontsteking gestart.

Onderzoeken die bij de verdenking op aspergilluslongontsteking volgens de huidige internationale standaard verricht moeten worden, zijn een CT-scan van de borstholte, het onderzoeken van eventueel opgehoest slijm en een bronchoscopie met longspoeling. Daarnaast onderzoeken wij routinematig tweemaal per week het bloed van alle neutropene patiënten op de aanwezigheid van *Aspergillus*.

Bij een bronchoscopie bekijkt een longarts, na verdoving van de keel, de binnenkant van de luchtwegen met een camera aan het uiteinde van een dun flexibel slangetje. Hierna spoelt hij de luchtwegen met een vloeistof. Deze vloeistof wordt onderzocht op de aanwezigheid van *Aspergillus* en andere infecties. Dit onderzoek is veilig en pijnloos, maar kan tijdens de procedure leiden tot een hoestreflex en na afloop leiden tot een tijdelijk geïrriteerde keel en enige heesheid. Zeldzame complicaties van een bronchoscopie zijn een longbloeding, een klaplong, hartritmestoornissen, schade aan de stembanden en een tekort aan zuurstof.

De elektronische neus is een modern apparaat dat gevoelig is voor vluchtige stoffen in een gas. Wanneer in een aantal flessen verschillende schimmels worden gekweekt, blijkt de elektronische neus te kunnen afleiden welke schimmel er in de fles zit, door analyse van de lucht boven de schimmels. De elektronische neus kan onder meer de “geur” van *Aspergillus* herkennen. Bij mensen blijkt de elektronische neus verschillende aandoeningen van de luchtwegen te kunnen onderscheiden door analyse van uitgeademde lucht, bijvoorbeeld longkanker en longemfyseem.

Wij willen onderzoeken of het mogelijk is om door analyse van uitgeademde lucht een longontsteking met *Aspergillus* vast te stellen. Dit willen wij doen door met behulp van de elektronische neus een aantal patiënten met een aspergillusinfectie te vergelijken met een aantal patiënten zonder een aspergillusinfectie. Om de groep patiënten zonder aspergillusinfectie in zoveel mogelijk opzichten te laten lijken op de groep patiënten met een aspergillusinfectie, willen wij dat ook dit patiënten zijn met koorts tijdens een neutropene periode. Indien de elektronische neus een aspergillusinfectie blijkt te kunnen herkennen, willen wij vervolgens onderzoeken of de elektronische neus betrouwbaarder en in een vroeger stadium dan nu mogelijk is, een aspergillusinfectie kan vaststellen. Wij hopen zo de prognose van patiënten met een aspergilluslongontsteking te kunnen verbeteren en wellicht in de toekomst een bronchoscopie achterwege te kunnen laten bij een deel van de patiënten met de verdenking op een aspergilluslongontsteking.

Tot slot willen wij onderzoeken of koorts, de neutropene fase, antibiotica en chemotherapie de uitslagen van de elektronische neus beïnvloeden. Dit is de reden om ook gezonde vrijwilligers te vragen deel te nemen aan dit onderzoek. Indien er geen verschillen blijken te bestaan tussen gezonde vrijwilligers en controlepatiënten, kan de elektronische neus mogelijk ook gebruikt worden voor het vaststellen van een aspergilluslongontsteking bij patiënten die niet in een neutropene fase verkeren.

Voor- en nadelen van dit onderzoek

Deelname aan dit onderzoek levert voor u geen direct voordeel op. De informatie die uit dit onderzoek verkregen wordt, kan in de toekomst mogelijk bijdragen aan een nauwkeuriger en vroegtijdiger behandeling van patiënten met een aspergillusinfectie. Zoals onderzoeken uit het verleden op dit moment van nut zijn voor u.

Wat betekent deelname voor u?

Deelname aan dit onderzoek brengt met zich mee dat, mocht uw arts een aspergillusinfectie bij u vermoeden of mocht u geselecteerd worden als controlepatiënt, u 10 minuten door een pijpje moet ademen. Dit is een eenvoudige procedure die niet belastend voor u is. Er zijn geen mogelijke complicaties. Indien uzelf of uw arts u op dat moment te ziek acht om aan het onderzoek deel te nemen, zal het onderzoek geen doorgang vinden. Uw behandeling zal op geen enkele wijze aangepast of vertraagd worden door deelname aan dit onderzoek.

Wij zullen uw dossier en de uitslagen van andere onderzoeken bestuderen ten einde uw eventuele aspergillusinfectie zo goed mogelijk in kaart te brengen, of –indien u controle-patient bent- zo goed mogelijk te onderbouwen dat u geen aspergillusinfectie heeft.

Privacy

Tot uw persoon herleidbare onderzoeksgegevens kunnen slechts met uw toestemming door daartoe bevoegde personen/instanties worden ingezien. Deze personen/instanties zijn medewerkers van het onderzoeksteam, leden van de Medisch Ethische Commissie van het Academisch Medisch Centrum en de Inspectie voor de Gezondheidszorg. Inzage kan nodig zijn om de betrouwbaarheid en kwaliteit van het onderzoek na te gaan. Onderzoeksgegevens zullen worden gehanteerd met inachtneming van de Wet Bescherming Persoonsgegevens en het privacyreglement van het Academisch Medisch Centrum. Persoonsgegevens die tijdens dit onderzoek worden verzameld, zullen worden vervangen door een codenummer. Alleen dat nummer zal gebruikt worden voor onderzoeksdocumentatie, in rapporten of publicaties over dit onderzoek. Slechts degene die de sleutel van de code heeft (de studietoelichting), weet wie de persoon achter het codenummer is.

Bewaren onderzoeksgegevens

De uitslagen van de onderzoeken die tijdens dit onderzoek worden verricht, **worden tot de persoon herleidbaar opgeslagen**. Ook kunnen uw uitgeademde lucht, de tweewekelijkse bloedafnamen waarbij gekeken wordt naar de aanwezigheid van aspergillus, uw longspoeling en de lucht die vrijkomt bij een eventuele bronchoscopie, aanvullend onderzocht en/of opgeslagen worden. Er zal niet vaker dan normaal een bloedafname of bronchoscopie verricht worden. Ook zal er niet meer materiaal dan normaal worden afgenomen. Indien u daarvoor toestemming geeft worden deze uitslagen en materialen maximaal 15 jaar bewaard en kunnen ze in de toekomst gebruikt worden voor onderzoek met eenzelfde doel. Ook lichaamsmaterialen die tijdens dit onderzoek worden verzameld, **worden tot de persoon herleidbaar opgeslagen**.

Goedkeuring

Dit onderzoek is positief beoordeeld door de Medisch Ethische Commissie van het Academisch Medisch Centrum. De voor dit onderzoek geldende internationale richtlijnen zullen nauwkeurig in acht genomen worden.

Vrijwillige deelname

U bent vrij deelname aan dit onderzoek toe te staan of te weigeren. Als u niet wilt deelnemen, hoeft u daarvoor geen reden te geven. Ook indien u toestemming geeft, kunt u die te allen tijde zonder opgave van redenen weer intrekken. Het niet meedoen aan dit onderzoek of het stoppen met dit onderzoek nadat u eerst heeft besloten wel mee te doen heeft geen enkele invloed op uw behandeling of op uw relatie met uw arts.

Verzekering

De Medisch Ethische Commissie van het Academisch Medisch centrum heeft voor dit onderzoek ontheffing gegeven van de verplichting een verzekering af te sluiten, die de door het onderzoek veroorzaakte schade van de proefpersoon dekt. De reden van deze ontheffing is, dat de commissie van oordeel is, dat dit onderzoek naar zijn aard voor de proefpersoon zonder enig risico is.

Nadere informatie

Indien u nog vragen heeft over het onderzoek, kunt u die voorleggen aan uw arts of de verantwoordelijke onderzoekers. Dit zijn: drs. K. de Heer, hematoloog in opleiding; tel: 020-5665785; e-mail:

k.deheer@amc.uva.nl en prof.dr. M.H.J. van Oers, hoogleraar hematologie; tel: 020-5665785.

Indien u twijfelt over deelname kunt u een onafhankelijke arts raadplegen, die zelf niet bij het onderzoek betrokken is, maar die wel deskundig is op het gebied van dit onderzoek. Ook als u voor of tijdens de studie vragen heeft die u liever niet aan de uw arts of de onderzoekers stelt, kunt u contact opnemen met de onafhankelijke arts: prof.dr. D.J. Richel; tel 020-5665955.

Als u niet tevreden bent over het onderzoek kunt u terecht bij de afdeling patiëntenvoorlichting, tel 020-5663355.

Als u besluit deel te nemen aan het onderzoek, willen wij u vragen de bijgevoegde toestemmingsverklaring samen met de arts in tweevoud te ondertekenen. U zult één exemplaar van de volledige patiënteninformatie ontvangen, terwijl het andere zal worden bewaard in het onderzoeksarchief van dit onderzoek.

Bijlagen:

- Toestemmingsverklaring (2x)

- Brochure Medisch-wetenschappelijk onderzoek

Toestemmingsverklaring

voor deelname aan het wetenschappelijk onderzoek

De toepassing van de elektronische neus bij de vroeg-detectie van Aspergillose: de AENEAS-studie. (The Application of an Electronic Nose in the Early detection of Aspergillosis: the AENEAS study.)

Ik bevestig dat ik de informatiebrief voor proefpersoon heb gelezen, en de informatie begrijp. Ik heb voldoende tijd gehad om over de deelname na te denken en ben in de gelegenheid gesteld vragen te stellen. Deze zijn, indien van toepassing, naar tevredenheid beantwoord.

Ik geef toestemming voor deelname aan het bovengenoemde medisch-wetenschappelijk onderzoek.

Ik weet dat mijn deelname geheel vrijwillig is en dat ik mijn toestemming op ieder moment kan intrekken zonder dat ik daar een reden voor hoef te geven.

Ik geef toestemming dat medewerkers van de Inspectie voor de Gezondheidszorg of leden van de Medisch Ethische Commissie Academisch Medisch Centrum inzage kunnen krijgen in mijn onderzoeksgegevens.

Ik geef toestemming om de gegevens te verwerken voor de doeleinden zoals beschreven in het informatieformulier.

Ik geef toestemming om de gegevens te bewaren tot maximaal 15 jaar na afloop van dit onderzoek.

Ik heb wel / geen* bezwaar tegen het opslaan van mijn biologisch materiaal ten behoeve van toekomstig wetenschappelijk onderzoek tot 15 jaar na het einde van dit onderzoek.

Naam proefpersoon

Handtekening

Datum

.....

.....

.....

Verklaring arts:

De arts verklaart de patiënt(e) informatie over het onderzoek te hebben gegeven en het onderzoek volgens het door de Medisch Ethische Commissie goedgekeurde protocol en internationale richtlijnen uit te voeren.

Naam arts

Handtekening

Datum

.....

.....

.....

*doorhalen wat niet van toepassing is

Toestemmingsverklaring

voor deelname aan het wetenschappelijk onderzoek

De toepassing van de elektronische neus bij de vroeg-detectie van Aspergillose: de AENEAS-studie. (The Application of an Electronic Nose in the Early detection of Aspergillosis: the AENEAS study.)

Ik bevestig dat ik de informatiebrief voor proefpersoon heb gelezen, en de informatie begrijp. Ik heb voldoende tijd gehad om over de deelname na te denken en ben in de gelegenheid gesteld vragen te stellen. Deze zijn, indien van toepassing, naar tevredenheid beantwoord.

Ik geef toestemming voor deelname aan het bovengenoemde medisch-wetenschappelijk onderzoek.

Ik weet dat mijn deelname geheel vrijwillig is en dat ik mijn toestemming op ieder moment kan intrekken zonder dat ik daar een reden voor hoef te geven.

Ik geef toestemming dat medewerkers van de Inspectie voor de Gezondheidszorg of leden van de Medisch Ethische Commissie Academisch Medisch Centrum inzage kunnen krijgen in mijn onderzoeksgegevens.

Ik geef toestemming om de gegevens te verwerken voor de doeleinden zoals beschreven in het informatieformulier.

Ik geef toestemming om de gegevens te bewaren tot maximaal 15 jaar na afloop van dit onderzoek.

Ik heb wel / geen* bezwaar tegen het opslaan van mijn biologisch materiaal ten behoeve van toekomstig wetenschappelijk onderzoek tot 15 jaar na het einde van dit onderzoek.

Naam proefpersoon

Handtekening

Datum

.....

.....

.....

Verklaring arts:

De arts verklaart de patiënt(e) informatie over het onderzoek te hebben gegeven en het onderzoek volgens het door de Medisch Ethische Commissie goedgekeurde protocol en internationale richtlijnen uit te voeren.

Naam arts

Handtekening

Datum

.....

.....

.....

*doorhalen wat niet van toepassing is

Appendix C - Information and consent healthy volunteer

Informatiebrief en toestemmingsformulier

Informatie voor gezonde vrijwilligers horende bij het onderzoek:

De toepassing van de elektronische neus bij de vroeg-detectie van aspergillose: de AENEAS-studie. (The Application of an Electronic Nose in the Early detection of Aspergillosis: the AENEAS study.)

Geachte Heer, Mevrouw,

U bent door een arts of onderzoeker gevraagd om aan dit onderzoek deel te nemen als gezonde vrijwilliger. Voor eventuele toestemming is goede voorlichting van onze kant nodig en een zorgvuldige afweging van uw kant. Vandaar dat u deze schriftelijke informatie ontvangt. U beslist zelf of u wel of niet wilt meedoen. Voordat u de beslissing neemt, is het belangrijk om meer te weten over het onderzoek. Leest u daarom deze informatiebrief rustig door. U heeft ook een brochure Medisch-wetenschappelijk onderzoek gekregen. Hierin staat veel algemene informatie over de richtlijnen van medisch-wetenschappelijk onderzoek. Als u na het lezen van alle informatie nog vragen heeft, kunt u terecht bij de arts die u gevraagd heeft deel te nemen aan dit onderzoek of bij de artsen die aan het einde van deze informatie genoemd staan.

Achtergrond en doel van het onderzoek

Een slecht weinig voorkomende maar potentieel levensbedreigende infectie in een neutropene fase is een longontsteking door de *Aspergillus*-schimmel. Onderzoek van de laatste jaren heeft laten zien dat hoe sneller deze schimmelinfectie wordt vastgesteld, en hoe eerder met de behandeling wordt begonnen, des te beter de prognose is. De diagnose is echter niet eenvoudig te stellen. Vaak is het alleen mogelijk om de “verdenking op een aspergillusinfectie” vast te stellen. Over het algemeen wordt op basis van deze verdenking de behandeling van een aspergilluslongontsteking gestart.

Onderzoeken die bij de verdenking op aspergilluslongontsteking volgens de huidige internationale standaard verricht moeten worden, zijn een CT-scan van de borstholte, het onderzoeken van eventueel opgehoest slijm en een bronchoscopie met longspoeling. Daarnaast onderzoeken wij routinematig tweemaal per week het bloed van alle neutropene patiënten op de aanwezigheid van *Aspergillus*.

Bij een bronchoscopie bekijkt een longarts, na verdoving van de keel, de binnenkant van de luchtwegen met een camera aan het uiteinde van een dun flexibel slangetje. Hierna spoelt hij de luchtwegen met een vloeistof. Deze vloeistof wordt onderzocht op de aanwezigheid van *Aspergillus* en andere infecties. Dit onderzoek is veilig en pijnloos, maar kan tijdens de procedure leiden tot een hoestreflex en na afloop leiden tot een tijdelijk geïrriteerde keel en enige heesheid. Zeldzame complicaties van een bronchoscopie zijn een longbloeding, een klaplong, hartritmestoornissen, schade aan de stembanden en een tekort aan zuurstof.

De elektronische neus is een modern apparaat dat gevoelig is voor vluchtige stoffen in een gas. Wanneer in een aantal flessen verschillende schimmels worden gekweekt, blijkt de elektronische neus te kunnen afleiden welke schimmel er in de fles zit, door analyse van de lucht boven de schimmels. De elektronische neus kan onder meer de “geur” van *Aspergillus* herkennen. Bij mensen blijkt de elektronische neus verschillende aandoeningen van de luchtwegen te kunnen onderscheiden door analyse van uitgeademde lucht, bijvoorbeeld longkanker en longemfyseem.

Wij willen onderzoeken of het mogelijk is om door analyse van uitgeademde lucht een longontsteking met *Aspergillus* vast te stellen. Dit willen wij doen door met behulp van de elektronische neus een aantal patiënten met een aspergillusinfectie te vergelijken met een aantal patiënten zonder een aspergillusinfectie. Om de groep patiënten zonder aspergillusinfectie in zoveel mogelijk opzichten te laten lijken op de groep patiënten met een aspergillusinfectie, willen wij dat ook dit patiënten zijn met koorts tijdens een neutropene periode. Indien de elektronische neus een aspergillusinfectie blijkt te kunnen herkennen, willen wij vervolgens onderzoeken of de elektronische neus betrouwbaarder en in een vroeger stadium dan nu mogelijk is, een aspergillusinfectie kan vaststellen. Wij hopen zo de prognose van patiënten met een aspergilluslongontsteking te kunnen verbeteren en wellicht in de toekomst een bronchoscopie achterwege te kunnen laten bij een deel van de patiënten met de verdenking op een aspergilluslongontsteking.

Tot slot willen wij onderzoeken of koorts, de neutropene fase, antibiotica en chemotherapie de uitslagen van de elektronische neus beïnvloeden. Dit is de reden om ook gezonde vrijwilligers te vragen deel te nemen aan dit onderzoek. Indien er geen verschillen blijken te bestaan tussen gezonde vrijwilligers en controlepatiënten, kan de elektronische neus mogelijk ook gebruikt worden voor het vaststellen van een aspergilluslongontsteking bij patiënten die niet in een neutropene fase verkeren.

Voor- en nadelen van dit onderzoek

Deelname aan dit onderzoek levert voor u geen direct voordeel op. De informatie die uit dit onderzoek verkregen wordt, kan in de toekomst mogelijk bijdragen aan een nauwkeuriger en vroegtijdiger behandeling van patiënten met een aspergillusinfectie.

Wat betekent deelname voor u?

Deelname aan dit onderzoek brengt met zich mee dat u 10 minuten door een pijpje moet ademen. Dit is een eenvoudige procedure die niet belastend voor u is. Er zijn geen mogelijke complicaties.

Privacy

Tot uw persoon herleidbare onderzoeksgegevens kunnen slechts met uw toestemming door daartoe bevoegde personen/instanties worden ingezien. Deze personen/instanties zijn medewerkers van het onderzoeksteam, leden van de Medisch Ethische Commissie van het Academisch Medisch Centrum en de Inspectie voor de Gezondheidszorg. Inzage kan nodig zijn om de betrouwbaarheid en kwaliteit van het onderzoek na te gaan. Onderzoeksgegevens zullen worden gehanteerd met inachtneming van de Wet Bescherming Persoonsgegevens en het privacyreglement van het Academisch Medisch Centrum. Persoonsgegevens die tijdens dit onderzoek worden verzameld, zullen worden vervangen door een codenummer. Alleen dat nummer zal gebruikt worden voor onderzoekdocumentatie, in rapporten of publicaties over dit onderzoek. Slechts degene die de sleutel van de code heeft (de studiecoördinator), weet wie de persoon achter het codenummer is.

Bewaren onderzoeksgegevens

Uw uitgeademde lucht kan aanvullend onderzocht en/of opgeslagen worden. Indien u daarvoor toestemming geeft worden de uitslagen en de lucht maximaal 15 jaar bewaard en kunnen ze in de toekomst gebruikt worden voor onderzoek met eenzelfde doel.

Goedkeuring

Dit onderzoek is positief beoordeeld door de Medisch Ethische Commissie van het Academisch Medisch Centrum. De voor dit onderzoek geldende internationale richtlijnen zullen nauwkeurig in acht genomen worden.

Vrijwillige deelname

U bent vrij deelname aan dit onderzoek toe te staan of te weigeren. Als u niet wilt deelnemen, hoeft u daarvoor geen reden te geven. Ook indien u toestemming geeft, kunt u die te allen tijde zonder opgave van redenen weer intrekken. Het niet meedoen aan dit onderzoek, of het stoppen met dit onderzoek nadat u eerst heeft besloten wel mee te doen, heeft geen enkele invloed op uw relatie met de artsen en onderzoekers verbonden aan dit onderzoek, of op eventuele toekomstige behandelingen in dit ziekenhuis.

Verzekering

De Medisch Ethische Commissie van het Academisch Medisch centrum heeft voor dit onderzoek ontheffing gegeven van de verplichting een verzekering af te sluiten, die de door het onderzoek veroorzaakte schade van de proefpersoon dekt. De reden van deze ontheffing is, dat de commissie van oordeel is, dat dit onderzoek naar zijn aard voor de proefpersoon zonder enig risico is.

Nadere informatie

Indien u nog vragen heeft over het onderzoek, kunt u die voorleggen aan uw arts of de verantwoordelijke onderzoekers. Dit zijn: drs. K. de Heer, hematoloog in opleiding; tel: 020-5665785; e-mail:

k.deheer@amc.uva.nl en prof.dr. M.H.J. van Oers, hoogleraar hematologie; tel: 020-5665785.

Indien u twijfelt over deelname kunt u een onafhankelijke arts raadplegen, die zelf niet bij het onderzoek betrokken is, maar die wel deskundig is op het gebied van dit onderzoek. Ook als u voor of tijdens de studie vragen heeft die u liever niet aan de uw arts of de onderzoekers stelt, kunt u contact opnemen met de onafhankelijke arts: prof.dr. D.J. Richel; tel 020-5665955.

Als u niet tevreden bent over het onderzoek kunt u terecht bij de afdeling patiëntenvoorlichting, tel 020-5663355.

Als u besluit deel te nemen aan het onderzoek, willen wij u vragen de bijgevoegde toestemmingsverklaring samen met de arts of onderzoeker in tweevoud te ondertekenen. U zult één exemplaar van de volledige patiënteninformatie ontvangen, terwijl het andere zal worden bewaard in het onderzoeksarchief van dit onderzoek.

Bijlagen

- Toestemmingsverklaring
- Brochure Medisch-wetenschappelijk onderzoek

Toestemmingsverklaring

voor deelname aan het wetenschappelijk onderzoek

De toepassing van de elektronische neus bij de vroeg-detectie van Aspergillose: de AENEAS-studie. (The Application of an Electronic Nose in the Early detection of Aspergillosis: the AENEAS study.)

Ik bevestig dat ik de informatiebrief voor gezonde vrijwilligers heb gelezen, en de informatie begrijp. Ik heb voldoende tijd gehad om over de deelname na te denken en ben in de gelegenheid gesteld vragen te stellen. Deze zijn, indien van toepassing, naar tevredenheid beantwoord.

Ik geef toestemming voor deelname aan het bovengenoemde medisch-wetenschappelijk onderzoek.

Ik weet dat mijn deelname geheel vrijwillig is en dat ik mijn toestemming op ieder moment kan intrekken zonder dat ik daar een reden voor hoef te geven.

Ik geef toestemming dat medewerkers van de Inspectie voor de Gezondheidszorg of leden van de Medisch Ethische Commissie Academisch Medisch Centrum inzage kunnen krijgen in mijn onderzoeksgegevens.

Ik geef toestemming om de gegevens te verwerken voor de doeleinden zoals beschreven in het informatieformulier.

Ik geef toestemming om de gegevens te bewaren tot maximaal 15 jaar na afloop van dit onderzoek.

Naam proefpersoon

Handtekening

Datum

.....

.....

.....

Verklaring arts:

De arts/onderzoeker verklaart de gezonde vrijwilliger informatie over het onderzoek te hebben gegeven en het onderzoek volgens het door de Medisch Ethische Commissie goedgekeurde protocol en internationale richtlijnen uit te voeren.

Naam arts/onderzoeker

Handtekening

Datum

.....

.....

.....

Toestemmingsverklaring

voor deelname aan het wetenschappelijk onderzoek

De toepassing van de elektronische neus bij de vroeg-detectie van Aspergillose: de AENEAS-studie. (The Application of an Electronic Nose in the Early detection of Aspergillosis: the AENEAS study.)

Ik bevestig dat ik de informatiebrief voor gezonde vrijwilligers heb gelezen, en de informatie begrijp. Ik heb voldoende tijd gehad om over de deelname na te denken en ben in de gelegenheid gesteld vragen te stellen. Deze zijn, indien van toepassing, naar tevredenheid beantwoord.

Ik geef toestemming voor deelname aan het bovengenoemde medisch-wetenschappelijk onderzoek.

Ik weet dat mijn deelname geheel vrijwillig is en dat ik mijn toestemming op ieder moment kan intrekken zonder dat ik daar een reden voor hoef te geven.

Ik geef toestemming dat medewerkers van de Inspectie voor de Gezondheidszorg of leden van de Medisch Ethische Commissie Academisch Medisch Centrum inzage kunnen krijgen in mijn onderzoeksgegevens.

Ik geef toestemming om de gegevens te verwerken voor de doeleinden zoals beschreven in het informatieformulier.

Ik geef toestemming om de gegevens te bewaren tot maximaal 15 jaar na afloop van dit onderzoek.

Naam proefpersoon

Handtekening

Datum

.....

.....

.....

Verklaring arts:

De arts/onderzoeker verklaart de gezonde vrijwilliger informatie over het onderzoek te hebben gegeven en het onderzoek volgens het door de Medisch Ethische Commissie goedgekeurde protocol en internationale richtlijnen uit te voeren.

Naam arts/onderzoeker

Handtekening

Datum

.....

.....

.....