PĒTĪJUMA PROTOKOLS

1. **Pētījuma nosaukums:** No redzamā uz paredzamo: agrīna peritonīta prognozēšana peritoneālās dialīzes pacientiem, izmantojot mašīnmācīšanās metodes (CLEAR-PD).

2. **Pētījuma veikšanā iesaistītās institūcijas, struktūrvienības.**

   Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīca (PSKUS) Nefroloģijas centrs, Apvienotā laboratorija. Rīgas Stradiņa universitāte (RSU) Mikrobioloģijas katedra. Elektronikas un datorzinātņu institūts (EDI).

3. **Pētījuma veikšanā iesaistītais personāls, galvenie izpildītāji.**
   Anna Jana Saulīte, Kārlis Rācenis, Juta Kroiča, Anna Popova, Dace Rezevska

   Paredzamais datu uzglabāšanas ilgums – 75 gadi.

4. **Pētījuma plānotais izpildes laiks:** No 01.06.2025. līdz 31.12.2027.

5. **Pētījuma īstenošanas vieta:** PSKUS un RSU

6. **Pētījuma finansējuma avoti (izņemot pētījumus, kas tiek īstenoti studiju procesa ietvaros).**

   Šobrīd nav finansējuma avota, pētījuma projekts ir iesniegts Fundamentālo un lietišķo pētījumu projektu atklātajā konkursā, rezultāts sekos.

7. **Pētījuma tēmas aktualitāte.**

   Peritoneālā dialīze (PD) ir bieži izvēlēta nieru aizstājējterapija, taču viena no tās nopietnākajām komplikācijām ir peritonīts, kas var izraisīt ultrafiltrācijas zudumu, katetra disfunkciju, peritoneālās membrānas bojājumus un pat nāvi[1]. Savlaicīga ārstēšana ir būtiska – katra kavēta stunda palielina letāla iznākuma risku par 6,8%[2]. Peritonīta diagnoze balstās uz trim kritērijiem: klīniskām pazīmēm, leikocītu skaitu dializātā (>100/μL ar >50% PMN), un pozitīvu dializāta uzsējumu[3].

   Pašlaik duļķainums tiek vērtēts vizuāli, izmantojot tā saukto "avīzes testu", kas ir subjektīvs dializāta novērtējums, kas var nereti būt kļūdains, īpaši pacientiem ar redzes traucējumiem vai hroniskām slimībām. Agrīna duļķainība var nebūt vizuāli redzama, kā rezultātā aizkavējas ārstēšana. Inovatīvas pieejas, piemēram, CloudCath sistēma vai "OpticLine" sensors, spēj konstatēt peritonītu agrāk[4], tomēr šīs tehnoloģijas nav plaši pieejamas augstās cenas dēļ[5]. Citas alternatīvas, piemēram, IL-6 un MMP-8 noteikšana paštestos, ir daudzsološas, bet dārgas[6].

   Nav standartizētas metodes dializāta duļķainības novērtēšanai. Šis projekta ietvaros paredzēts salīdzināt fizikālās un bioķīmiskās analīzes ar vizuālo novērtējumu un integrēt MM metodes, izmantojot attēlus, kas uzņemti ar parastiem viedtālruņiem. Tas ļautu automatizēt agrīno diagnostiku un atvieglot lēmumu pieņemšanu pacientiem un veselības aprūpes

speciālistiem. Līdzīgu risinājumu pasaulē šobrīd nav. Agrīna peritonīta noteikšana var samazināt komplikācijas, hospitalizāciju ilgumu un uzlabot pacientu dzīves kvalitāti.

Aptuveni 20% PD peritonītu ierosinātāji kļūst rezistenti pret antibakteriālo terapiju [5], visbiežāk to izraisa gram-pozitīvi koki[6], no kuriem ap 14% – *Staphylococcus aureus* (S. aureus)[9]. Šis patogēns izraisa smagākas infekcijas un ir saistīts ar ilgāku hospitalizāciju, katetra zudumu un augstāku mirstību[7,8]. Tā virulence saistīta ar biofilmu veidošanu un toksīnu izdalīšanu. Līdz pat 64% *S. aureus* celmu ir rezistenti pret meticilīnu[11], un 61,8% no tiem spēj veidot spēcīgas biofilmas[9]. Tas būtiski apgrūtina ārstēšanu un palielina hroniskas infekcijas risku.

Bakteriofāgi tiek pētīti kā alternatīva ārstēšanas un diagnostikas metode. Tie ir vīrusi, kas specifiski lizē baktērijas, neatkarīgi no to esamības biofilmās vai attīstoties antibiotiku rezistencei[10]. Izmaiņas baktēriju suspensijas turbiditātē vai optiskajā blīvumā ļauj ātri un specifiski noteikt baktēriju, piemēram, S. aureus bojāeju jeb līzi. Mūsu iepriekšējais pētījums parādīja, ka bakteriofāgu kokteiļi spēj lizēt arī biofilmu veidojošas baktērijas [9]. Tas apliecina vajadzību padziļināti pētīt fāgu izmantošanu PD infekciju diagnostikā un terapijā.

8. Pētījuma mērķis un metožu apraksts.

Mērķis: Izstrādāt inovatīvus, pacientiem pieejamus diagnostikas rīkus peritoneālās dialīzes (PD) izraisīta peritonīta agrīnai diagnostikai, integrējot standarta izmeklējumus ar fizikālām, bioķīmiskām un mašīnmācīšanās metodēm, kā arī izvērtēt bakteriofāgu efektivitāti PD peritonīta agrīnai diagnostikai un terapijai. Pētījumā tiks izmantotas vairākas fizikālas, bioķīmiskas, mikrobioloģiskas un attēlveidošanas metodes, lai agrīni diagnosticētu PD-asociētu peritonītu un attīstītu ML balstītu diagnostikas prototipu.

Uzdevumi:

1. **Diagnostisko metožu salīdzināšana un agrīnāko marķieru noteikšana.**

1.1. Mikrobioloģiskā un klīniskā analīze: leikocītu diferenciālais skaits (standarta metode), urīna testa strēmele ar automatizēto mikroskopiju, standarta un paplašināti mikrobioloģiskie kultivēšanas protokoli. Rezultāti tiks interpretēti kopā ar klīnisko ainu un biomarķieru profilu, lai samazinātu nepamatotu diagnozes noteikšanu.

1.2. Bioķīmiskā un citokīnos balstītā diagnostika ietvers paplašinātu dializāta klīnisko analīzi, tai skaitā laktātdehidrogenāzes (LDH), kopējā olbaltuma, C-reaktīvā olbaltuma (CRO), IL-6 un citu biomarķieru paneļa noteikšanu pacientiem ar PD-asociētu peritonītu un kontroles grupai (PD pacientiem bez peritonīta).

1.3. Dializāta fizikālā analīze, izmantojot densitometriju, turbidimetriju un spektrometriju peritonīta noteikšanai un salīdzināšanai ar kontroles grupu.

1.4. PD-asociēta peritonīta simulācija vizuālai un fizikālai duļķainības novērtēšanai.

2. **Bakteriofāgu balstītas diagnostikas un terapijas izvērtēšana simulētos peritoneālās dialīzes modeļos.**

2.1. *S. aureus* litiskā spektra noteikšana, izmantojot divslāņu agara punktu metodi (*spot assay)* un fāgu izsēšanas efektivitātes testus (EOP) uz pacientu baktēriju izolātiem, kuri iegūti PD asociēta peritonīta, tuneļa un katetra izejas vietu infekciju vai *S. aureus* nēsāšanas gadījumos. Lai paplašinātu izolātu dažādību, tiks iekļauti arī arhivēti izolāti no iepriekšējiem PD pētījumiem par *S. aureus* nēsāšanu.

2.2. Bakteriofāgu stabilitātes novērtēšana peritoneālās dialīzes šķīdumos. Fāgu titrs tiks monitorēts laika gaitā, lai noteiktu fāgu dzīvotspēju un aktivitāti dažādas koncentrācijas dekstrozes šķīdumos un šķīdumos bez dekstrozes.

2.3. Bakteriofāgu efektivitāte tiks pārbaudīta, apstrādājot *S. aureus* izolātus gan peritoneālās dialīzes šķidrumā, gan standarta barotnēs, izmantojot dažādas bakteriofāgu koncentrācija. Bakteriālās slodzes samazinājums tiks salīdzināts dažādās vidēs, lai modelētu iespējamos klīniskos apstākļus.

2.4. Empīriskā fāgu jutības noteikšana PD-asociēta peritonīta agrīnai diagnostikai. Tiks izstrādāts konceptuāls (*proof-of-concept*) diagnostikas modelis, kurā pacientu dializāta paraugi tiks ievadīti 96-bedrīšu mikroplatē, kas saturēs dažādus līdzskos *S. aureus* bakteriofāgus. Optiskā blīvuma izmaiņas un CFU/ml rādītāji tiks izmantoti, lai 24–48 stundu laikā noteiktu baktēriju klātbūtni un bakteriofāgu efektivitāti.

3. Mašīnmācīšanās (MM) integrācija diagnostikas procesā.

Mašīnmācīšanās rīks, kas prognozē peritonītu, balstoties uz bioķīmisko analīžu rezultātiem un datorredzes algoritmiem duļķaina dializāta noteikšanai, var sasniegt precizitāti, kas pielīdzināma pieredzējušu speciālistu vērtējumam.

3.1. Klasisko MM modeļu izstrāde peritonīta prognozēšanai, balstoties uz bioķīmisko analīžu rezultātiem.

Tiks izveidots un apstrādāts datu kopums, kurā tiks iekļauti peritoneālās dialīzes pacientu bioķīmiskie analīžu rezultāti. Tiks trenēti un novērtēti klasiskie mašīnmācīšanās algoritmi, piemēram, regresijas modeļi, *Random Forest* algoritms un atbalsta vektoru mašīnas (SVM), lai noteiktu to spēju prognozēt peritonīta klātbūtni. Tiks pielietotas pazīmju atlases metodes, lai identificētu informatīvākos bioķīmiskos marķierus.

3.2. Datorredzes algoritmu izstrāde duļķaina dializāta noteikšanai un to integrēšana ar klasiskajiem MM modeļiem.

Tiks izstrādāta datorredzes sistēma, kas balstīta uz konvolūciju neironu tīkliem (CNN), lai identificētu duļķainu dializātu. Sistēma tiks trenēta gan ar simulētiem, gan ar klīniskiem PD attēliem un validēta, izmantojot klīniskos attēlus. Datorredzes modeļa rezultāti tiks kombinēti ar klasisko MM modeļu prognozēm, veidojot hibrīdu sistēmu ar mērķi uzlabot kopējo diagnostikas precizitāti.

3.3.Integrētās MM sistēmas klīniskā validācija peritonīta prognozēšanai.

Apvienotā mašīnmācīšanās un datorredzes sistēma tiks validēta klīniskos apstākļos. Tās prognozes tiks salīdzinātas ar nefrologu noteiktajām diagnozēm, lai novērtētu jutību, specifiskumu un kopējo diagnostisko precizitāti. Papildus tiks izvērtēta arī sistēmas lietojamība un praktiskā piemērotība darbam klīniskajā vidē.

9. Pētījuma datu apstrāde; personas, kam būs pieejami dati.

Pētījumā tiks apstrādāti personas dati (piemēram, dzimums, vecums, hroniskas saslimšanas, dialīzes veids, laboratorisko analīžu rezultāti). Datu apstrādes mērķis ir nodrošināt zinātnisku izpēti un uzlabot diagnostikas iespējas, izstrādājot agrīnas peritonīta pazīmju atpazīšanas metodes. Dati būs pieejami Annai Janai Saulītei , Kārlim Rācenim, Annai Popovai.

Elektronikas un datorzinātņu institūtam nebūs pieejama pacientus identificējoša informācija, datu apstrāde tiks veikta izmantojot jēldatus.

10. Pētījuma ētiskie aspekti.

Pētījumā tiks apkopoti tikai tie dati, kas nepieciešami pētījuma mērķu sasniegšanai, nodrošinot datu konfidencialitāti un aizsardzību.

11. Pētījuma rezultātu izmantošanas iespējas; potenciālie rezultātu lietotāji.

Projekts veicinās digitālo tehnoloģiju attīstību nefroloģijā, stiprinās starpdisciplināru sadarbību un sekmēs mašīnmācīšanās risinājumu integrāciju veselības aprūpē. Ilgtspējība tiks nodrošināta, balstoties uz atvērtā pirmskoda risinājumiem, klīnisko validāciju un sadarbību ar medicīnas tehnoloģiju uzņēmumiem. Nākotnē izstrādātos diagnostiskos marķierus būs iespējams integrēt arī paštestēšanās rīkos, piemēram, kolorimetriskajās teststrēmelēs, tādējādi mazinot novēlotu diagnostiku, sekmējot pašuzraudzību un uzlabojot ārstēšanas iznākumus peritoneālās dialīzes pacientiem.

MM modelis tiks izstrādāts ciešā sadarbībā ar ārstiem un validēts reālā veselības aprūpes vidē, lai nodrošinātu tā praktisku un klīniski pielietojamu funkcionalitāti. Tiks īpaši ņemtas vērā lietotāju vajadzības un pieredze, veidojot risinājumu, kas kalpos kā efektīvs atbalsta rīks agrīnai lēmumu pieņemšanai nefroloģijā.

12. Pielikumi, t.sk.

- 1. pielikums. Informētās piekrišanas forma
- 2. pielikums. Klīnisko datu anketa

13. Atsauces:

1. Burkart, J. M., & Rivara, M. B. (2024). Peritonitis diagnosis. *UpToDate*.
2. Muthucumarana, K., et al. (2016). *Kidney Int Rep, 1*(1), 65–72.
3. Li, P. K.-T., et al. (2022). *Perit Dial Int, 42*(2), 110–153.
4. Mehrotra, R., et al. (2024). *Kidney Int Rep, 9*(4), 929–940.
5. Wang, H.-H., et al. (2019). *J Microbiol Immunol Infect, 52*(3), 486–493.
6. Simões-Silva, L., et al. (2018). Staph colonization in PD. *Can J Infect Dis Med Microbiol, 2018,* 5789094.
7. Govindarajulu, S., et al. (2010). *Perit Dial Int, 30*(3), 311–319.
8. Li, P. K., & Chow, K. M. (2011). *Nat Rev Nephrol, 8*(2), 77–88.
9. Racenis, K., et al. (2020). *Antibiotics, 9*(9), 582.
10. Hasan, M., & Ahn, J. (2022). Phage-bacteria dynamics. *Antibiotics, 11*(7), 915.
11. Chen, H. C., et al. (2018). *Perit Dial Int, 38*(4), 266–270.

Pētījuma protokola sagatavotājs: Anna Jana Saulīte *(paraksts, datums)*