



ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის
სახელმწიფო უნივერსიტეტი
მედიცინის ფაკულტეტი

ალექსანდრე უჯმაჯურიძე

ფაგოთერაპიის ეფექტურობა და უსაფრთხოება
საშარდე გზების ინფექციების მქონე პაციენტებში

(მულტიცენტრული, პროსპექტული, ორმაგად ბრმა, რანდომიზებული კვლევა)

მედიცინის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად
წარმოდგენილი დისერტაციის
ავტორეფერატი

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:

თეიმურაზ ჩიგოგიძე, მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი
არჩილ ჩხოტუა, მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი,

თბილისი 2022

1 შესავალი

1.1 თემის აქტუალობა

საშარდე გზების ინფექცია (სგი) ერთ-ერთი ყველაზე გავრცელებული ბაქტერიული დაავადებაა მსოფლიოში, რაც, ჯანმრთელობის პრობლემის გარდა, მძიმე ფინანსურ ტვირთად აწევს საზოგადოებრივი ჯანდაცვის სისტემას.

ყოველწლიურად, ა.შ.შ-ში, სგი-ის გამო, ხორციელდება 7 მილიონამდე ვიზიტი ექიმთან, რაც წარმოადგენს ექიმთან ვიზიტების საერთო რაოდენობის 1%-6%-ს. აღნიშნული სამედიცინო კონსულტაციების ხარჯი კი ყოველწლიურად ~1.6 მილიარდ ა.შ.შ. დოლარს შეადგენს.

სგი უფრო ხშირად გვხვდება ქალებში და მისი სიხშირე მატულობს ასაკთან ერთად. 65 წელზე მეტი ასაკის ქალების 20%-ს აღნიშნება სგი, რაც, საერთო პოპულაციაში მის სიხშირეზე (11%) თითქმის ორჯერ მეტია. ზრდასრული ასაკის ქალების 50%-ს, ცხოვრების მანძილზე, ერთხელ მაინც აღნიშნებათ სიმპტომური სგი, რომელსაც სჭირდება შესაბამისი მკურნალობა.

ქვედა საშარდე ტრაქტის სიმპტომები (ქსტს) ზრდასრული მამაკაცების ერთერთი გავრცელებული ჯანმრთელობის პრობლემაა, რაც მნიშვნელოვნად აქვეითებს მათი ცხოვრების ხარისხს. უხშირესად მამაკაცის ქსტს ასოცირდებოდა პროსტატის გადიდებით განპირობებულ მოშარდვის აქტის გაუარესებასთან. საშუალოდ, 50 წლის მამაკაცების 25%-ს აღნიშნება პროსტატის გადიდება, ხოლო ასაკის მატებასთან ერთად, დაავადების განვითარების რისკი მატულობს. 80 წლის ასაკისთვის, პროსტატის გადიდება აღნიშნება მამაკაცთა პოპულაციის ნახევარს. პროსტატის გადიდებასთან ასოცირებული ქსტს-ის ქირურგიული მკურნალობის ოქროს სტანდარტად მიჩნეულია პროსტატის ტრანსურეტრული რეზექცია (ტურ). აღნიშნულ პაციენტებს აქვთ სგი-ის განვითარების მაღალი რისკი. გარდა ნარჩენი შარდის არსებობისა, რაც ბაქტერიული ფლორის განვითარებისთვის ხელსაყრელ გარემოს წარმოადგენს, ამ პაციენტების უმრავლესობას, ოპერაციულ მკურნალობამდე, სჭირდება შარდის ბუშტის სხვადასხვა ხანგრძლივობის კათეტერიზაცია. კათეტერის ერთჯერადი ჩადგმა მოიცავს ინფექციის განვითარების 1-2%-იან რისკს, ხოლო ღია სისტემის მქონე კათეტერიზაციისას, სგი-ის განვითარების რისკი 100%-ია. აღნიშნულიდან გამომდინარე, უდავოა, რომ პროსტატის გადიდების მქონე მამაკაცებში, სგი წარმოადგენს ერთერთ უხშირეს და მნიშვნელოვან ჯანმრთელობის პრობლემას.

ბოლო წლებში მთელს მსოფლიოში შეინიშნება ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტობის განვითარების მატების შემამფოთებელი ტენდენცია. იგი ქმნის ალტერნატიული, უსაფრთხო და მაღალეფექტური მკურნალობის მეთოდების ძიების აუცილებლობას. არსებობს კვლევები, რომელთა მიხედვითაც, სგი-ის მკურნალობაში შესაძლოა უსაფრთხოდ და ეფექტურად იქნას გამოყენებული ბაქტერიოფაგი, თუმცა, მსგავსი კვლევები მოიცავს პაციენტთა მცირე რაოდენობას და არ ჩატარებულა რანდომიზირებული წესით.

ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტული ბაქტერიული შტამების ფართო გავრცელებამ წამოწია სამეცნიერო ინტერესი ბაქტერიოფაგის, როგორც ალტერნატიული ანტიბაქტერიული საშუალების მიმართ.

პრობლემის აქტუალობიდან გამომდინარე, გადაწყდა ფაგოთერაპიის, როგორც სტანდარტული ანტიბიოტიკოთერაპიის ალტერნატივის ეფექტურობის შესწავლა სგი-ის დროს, პროსტატის კეთილთვისებიანი გადიდების (პკგ) მქონე პაციენტებში, რომლებსაც ჩაუტარდათ პროსტატის ტურ. ამ მიზნის მისაღწევად, დაიგეგმა ორმაგად ბრმა, რანდომიზებული, პლაცებოთი კონტროლირებული, კლინიკური კვლევა, რომელიც მოიცავდა სამ ფაზას:

- პირველი ფაზა: კომერციული პიო-ბაქტერიოფაგის ადაპტაცია პაციენტებში გავრცელებული ბაქტერიული ეტიოლოგიის სგი-ის გამომწვევების მიმართ;
- მეორე ფაზა: პკგ-ის მქონე პაციენტების კომერციულად ხელმისაწვდომი და ადაპტირებული პიო-ბაქტერიოფაგით მკურნალობა;
- მესამე ფაზა: მულტიცენტრული, პროსპექტული, რანდომიზებული, ორმაგად ბრმა, პლაცებოთი კონტროლირებული კლინიკური კვლევა.

1.2 კვლევის მიზანი

აღნიშნული კვლევის მიზანია შეფასდეს ფაგოთერაპიის ეფექტურობა და უსაფრთხოება სგი-ის მქონე პაციენტებში, რომელთაც პკგ-ის გამო ჩაუტარდათ პროსტატის ტურ-ის ოპერაცია.

1.3 კვლევის დიზაინი და ამოცანები

ჩატარდა მულტიცენტრული, ორმაგად ბრმა, რანდომიზებული, პროსპექტული, პლაცებოთი კონტროლირებული, კლინიკური კვლევა.

დასახული მიზნის მისაღწევად, განისაზღვრა კვლევის შემდეგი ამოცანები:

- პკგ-ის მქონე პაციენტებში სგი-ის გამომწვევი მიკროორგანიზმების შესწავლა;
- სგი-ის გამომწვევი ბაქტერიების რეზისტენტობის შესწავლა ანტიბიოტიკებისა და პიო-ბაქტერიოფაგის პრეპარატის მიმართ;
- პიო-ბაქტერიოფაგის პრეპარატის ადაპტაციის ციკლების ჩატარება მიკროორგანიზმებისადმი მისი მგრძობელობის გაზრდის მიზნით;
- პკგ-სა და სგი-ის მქონე პაციენტთა მკურნალობა პიო-ბაქტერიოფაგით, მისი უსაფრთხოებისა და ეფექტურობის შეფასება (პილოტური კვლევა);
- პიო-ბაქტერიოფაგის უსაფრთხოებისა და ეფექტურობის შედარება სტანდარტულ თერაპიასთან (ანტიბიოტიკოთერაპია), ორმაგად ბრმა, რანდომიზებული, პლაცებოთი კონტროლირებული, კლინიკური კვლევის ფარგლებში.

1.4 კვლევის სამეცნიერო სიახლე

აღნიშნულ კვლევაში:

- პირველად დადგინდა საქართველოში პკგ-ის თანმხლები სგი-ის გამომწვევი მიკროორგანიზმების სპექტრი;

- პირველად შეფასდა საქართველოში სგი-ის გამომწვევი მიკროორგანიზმების ანტიბიოტიკორეზისტენტობა;
- პირველად შეფასდა კვგ-ის მქონე პაციენტების სგი-ის გამომწვევი პათოგენების მგრძობელობა ბაქტერიოფაგის საწყისი და ადაპტირებული პრეპარატის მიმართ;
- პირველად ჩატარდა სგი-ის მქონე პაციენტებში პიო-ბაქტერიოფაგით მკურნალობის შემდგომ პათოგენების ტიტრის ცვლილების სტატისტიკური ანალიზი;
- პირველად ჩატარდა კვგ-ის და სგი-ის მქონე პაციენტებში, ტურ-ის შემდგომი ანტიბიოტიკოთერაპიის, პლაცებოსა და პიო-ბაქტერიოფაგით მკურნალობის ეფექტურობის, უსაფრთხოების, კლინიკური და მიკრობიოლოგიური შედეგების შედარებითი ანალიზი.

ეს არის პირველი კვლევა, მსოფლიოში რეგისტრირებული 14 კლინიკური კვლევიდან, რომელმაც ობიექტურად დაასაბუთა ფაგოთერაპიის, როგორც სგი-ის მკურნალობის მეთოდის კლინიკური უსაფრთხოება.

2 კვლევის მასალა და მეთოდები

კვლევის მეთოდოლოგია, დიზაინი და პროტოკოლი განხილულია უეც-ის ეთიკური კომიტეტის მიერ, რომლის თანხმობის შემდეგაც დაიწყო მისი ჩატარება.

ნაშრომი წარმოადგენს სამ ეტაპიან კვლევას და დამყარებულია მულტიცენტრული, ორმაგად ბრმა, რანდომიზირებული, პლაცებოთი კონტროლირებული კლინიკური კვლევის შედეგების ანალიზზე.

2.1 პირველი ეტაპი - ბაქტერიოფაგის ლიზისური აქტივობის შესწავლა.

2012 წლის თებერვლიდან 2013 წლის იანვრის ჩათვლით, 50 პაციენტს (22 ქალი და 28 კაცი) ქვემო საშარდე გზების ნეიროგენული დისფუნქციით, რომლებსაც აღენიშნებოდათ სგი-ის კლინიკური ნიშნები, ჩაუტარდათ შარდის ბაქტერიოლოგიური კვლევა. ნიმუშების დამუშავების შედეგად, მიღებულ იქნა 41 *E. coli* და 9 *K. Pneumoniae* შტამის კულტურა. შარდის ნიმუშის აღება ხდებოდა სტერილური კათეტერიზაციით, ბალგრისტის საუნივერსიტეტო კლინიკაში, და მაქსიმუმ 16 საათის განმავლობაში იგზავნებოდა ციურიხის უნივერსიტეტის მიკრობიოლოგიის ლაბორატორიაში. აღნიშნულ პაციენტებს შარდის ნიმუშის აღებამდე 4 კვირის მანძილზე არ ჰქონდათ ჩატარებული ანტიბიოტიკოთერაპია. პაციენტების საშუალო ასაკი შეადგენდა 55 ± 18 წელს. ქვემო საშარდე გზების დისფუნქციის მიზეზი 38 (76%) შემთხვევაში იყო ზურგის ტვინის დაზიანება, 8 (16%) შემთხვევაში გაფანტული სკლეროზი და 4 (8%) შემთხვევაში - ზურგის ტვინის სტენოზი. აღნიშნული 50 პაციენტიდან 34 (68%) იტარებდა ასეპტიკურ თვითკათეტერიზაციას, 12 (24%) პაციენტს ედგა შარდის ბუშტის კათეტერი (ტრანსსურეთრული $n=4$, სუპრაპუბიკული $n=8$) და 4 (16%) პაციენტი შარდავდა სპონტანურად.

კვლევის მთავარ მიზანს წარმოადგენდა ფაგის ლიზისური აქტივობის შეფასება, რომელიც იდენტიფიცირდება ბაქტერიის ლიზისის შედეგად დატოვებული კვალის

მორფოლოგიით. როგორც წესი, სუფთა ზონები განსხვავდება ინტენსივობით და სტრუქტურით. აღნიშნული კვლევის ფაზა წინ უძღოდა ბაქტეროფაგის შემდგომი ადაპტაციის ცილების და პაციენტთა მკურნალობის ეტაპის დაგეგმვას.

2.2 მეორე ეტაპი - ფაგის ადაპტაცია და მკურნალობის საწყისი ეტაპი

2016 წლის სექტემბრიდან 130 პაციენტს, რომლებიც მზადდებოდნენ პროსტატის ტრანსურეთრული რეზექციისათვის უროლოგიის ეროვნულ ცენტრში, ჩაუტარდათ სკრინინგი კვლევაში ჩართვის მიზნით. კვლევაში ჩართული ყველა პაციენტი გაეცნო ინფორმირებული თანხმობის ფორმას და ხელმოწერით დაადასტურა კვლევაში მონაწილეობა.

ცხრა პაციენტს რომლებსაც აღენიშნათ ბაქტეროფაგის კოქტეილის მიმართ მგრძობიარე ინფექცია, ჩაუტარდა მკურნალობა ღია, არადაფარული მეთოდით. კვლევიდან გამორიცხვის კრიტერიუმები იყო: სიმპტომური სგი, პიო-ბაქტეროფაგის მიმართ რეზისტენტული მიკროორგანიზმის არსებობა, და 18 წელზე დაბალი ასაკი. ოპერაციამდე შეგროვდა ინფორმაცია პსა-ის, სპსჯ-ის, მოშარდვის მაქსიმალური სიჩქარის და ნარჩენი შარდის მოცულობის შესახებ. რეზეცირებული პროსტატის ქსოვილები შესწავლილ იქნა ჰისტოლოგიურად. შარდის განმეორებითი ბაქტერიოლოგიური კვლევა ჩატარდა ოპერაციიდან მე-7 დღეს, ხოლო გვერდითი მოვლენების არსებობის შემთხვევაში - იმავე დღეს. შედარდა შარდის პათოგენური ფლორის ტიტრის მაჩვენებლები მკურნალობამდე და მკურნალობის შემდგომ.

კვლევაში ჩართულ პაციენტებში დაგეგმილი პროსტატის ტურ ტარდებოდა ქირურგიული პრაქტიკის მიღებული სტანდარტების მიხედვით, მონოპოლარული ინსტრუმენტების გამოყენებით. დაბალი წნევის ირიგაციის შექმნისთვის, ყველა პაციენტში, ინტრაოპერაციულად, მოთავსდა ბოქვენზედა კათეტერი. ოპერაციის შემდგომ, შარდის ბუშტის ირიგაციისთვის გამოყენებულ იქნა ბოქვენზედა და ურეთრული კათეტერები. ტრანსურეთრული კათეტერი ამოღებულ იქნა 24-48 საათში. ბოქვენზედა კათეტერი ნარჩუნდებოდა 7 დღის მანძილზე პიო-ბაქტეროფაგის პრეპარატის შეყვანის მიზნით. პიო-ბაქტეროფაგის პრეპარატის შეყვანა წარმოებდა ექიმის, ან ექთნის მიერ, ორჯერ დღეში (8:00 და 20:00 სთ-ზე), შვიდი დღის მანძილზე, მეორე პოსტოპერაციული დღიდან. გამოიყენებოდა 20 მლ სამკურნალო პრეპარატი, რომელიც შეყვანის შემდგომ შარდის ბუშტში რჩებოდა 30-60 წუთის მანძილზე.

2.3 მესამე ეტაპი - რანდომიზებული კლინიკური კვლევა

კვლევის მესამე ეტაპზე ჩატარდა ორგანოგად ბრმა, რანდომიზებული, პლაცებოთი კონტროლირული კლინიკური, კვლევა. კვლევაში ჩაერთვნენ პაციენტები, რომელთაც პკგ-ის კლინიკური დიაგნოზით უნდა ჩატარებოდათ ოპერაციული მკურნალობა - პროსტატის ტური. პაციენტთან დაკავშირებული ყველა პროცედურა, მანიპულაცია და ოპერაცია ჩატარდა ლ. მანაგაძის უროლოგიის ეროვნულ ცენტრში, თბილისი, საქართველო. ბაქტეროფაგის მომზადება, პიო-ბაქტეროფაგის და ბაქტეროფაგის მგრძობიარეობის ტესტირება ჩატარდა გ. ელიავას სახელობის ბაქტეროფაგის,

მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტში (ებმვი), თბილისი, საქართველო.

ყველა პაციენტს მიეწოდა სრული წერილობითი ინფორმაცია კვლევის და მკურნალობის პროცედურის შესახებ. ყველა პაციენტისგან, რომლებიც ჩაერთვნენ კვლევაში, აღებულ იქნა წერილობითი ინფორმირებული თანხმობა. კვლევის პროტოკოლი დამტკიცდა დაწესებულების ეთიკური კომისიის მიერ, როგორც კარგი კლინიკური პრაქტიკის საერთაშორისო გაიდლაინებთან და ჰელსინკის დეკლარაციასთან შესაბამისობაში მყოფი.

კვლევის მიმდინარეობის სტანდარტიზებისთვის დასახულ იქნა მკურნალობის სქემა. კვლევაში ჩართვის კრიტერიუმების დაკმაყოფილების და ინფორმირებული თანხმობის შემდგომ, პაციენტები ნაწილდებოდნენ სამ ჯგუფში. ჯგუფის შესაბამისი მკურნალობის კურსის ჩატარების შემდგომ, შარდის განმეორებითი ბაქტერიოლოგიური კვლევის შედეგები მიხედვით, სტერილური შარდის მქონე პაციენტებისათვის კვლევა სრულდებოდა, ხოლო პოზიტიური კულტურის მქონე პაციენტებს უტარდებოდათ მიღებული სამედიცინო სტანდარტის შესაბამისი ანტიბაქტერიული მკურნალობა შარდის სტერილობის მიღწევამდე, რის შემდეგაც კვლევა ითვლებოდა დასრულებულად.

ჩართვის კრიტერიუმები

წინასწარ განისაზღვრა პაციენტთა კვლევაში ჩართვის და გამორიცხვის კრიტერიუმები. კვლევაში ჩაერთვნენ მამაკაცები (18 წელზე მეტი ასაკის), რომელთაც დადგენილი ჰქონდათ პკგ-ს დიაგნოზი და მზადდებოდნენ ოპერაციული მკურნალობის - პროსტატის ტურის ჩასატარებლად. მათ ასევე აღენიშნებოდათ არასისტემური, ტემპერატურის გარეშე მიმდინარე სეი (მათ შორის კათეტერთან ასოცირებული), დადგენილი როგორც შარდში არსებული უროპათოგენური ბაქტერიების $>10^4$ კოლონია/მლ-ში და შესაძლო თანმხლები სიმპტომები, როგორცაა: მოშარდვის იმპერატიული მოტივაციები და შეუკავებლობა, გახშირებული შარდვა, ნიქტურია, და სხვა. შარდში აღმოჩენილი უროპათოგენთა ყველა ნაირსახეობა იყო პიობაქტერიოფაგის კოქტეილში შემავალი ფაგების მოქმედების არეალის შესაბამისი (*Enterococcus spp*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus spp* და *Streptococcus spp*) და *in vitro* კვლევისას იჩენდა მგრძნობელობას აღნიშნული პრეპარატის მიმართ. პაციენტები, რომელთაც აღენიშნათ სხვა უროპათოგენების ზრდა, როგორცაა მაგ. *Klebsiella spp*, არ ერთვებოდნენ კვლევაში. შესაძლო ხშირი და მნიშვნელოვანი გართულებების თავიდან აცილების მიზნით, ნაცვლად პიობაქტერიოფაგით სისტემური თერაპიისა, შეირჩა პრეპარატის ინტრავენოზული შეყვანის მეთოდი. ამ არჩევანზე გავლენა იქონია ტრანსურეთრული რეზექციის ჩატარებისას, პოსტოპერაციულ პერიოდში ბოქვენზედა და ურეთრული კათეტერების შარდის ბუშტის ირიგაციის მიზნით გამოყენების არსებულმა პრაქტიკამ.

გამორიცხვის კრიტერიუმები

პაციენტები სისტემური ინფექციის სიმპტომებით როგორცაა: სხეულის ტემპერატურა $>38^{\circ}\text{C}$ შემცივნებითა და კანკალით, ზოგადი სისუსტე, ანთებითი მარკერების მომატებული ციფრები (C-რეაქტიული ცილა >100 მგ/ლ), მწვავე პროსტატიტი, ან სხვა მწვავედ პროგრესირებადი დაავადება, კვლევაში არ ერთვებოდნენ. კვლევაში არ ერთვებოდნენ ასევე, სიცოცხლისთვის საშიში დაავადებების (ფილტვების, გულ-სისხლძარღვთა, და სხვა) მქონე პაციენტები. გამორიცხვის კრიტერიუმებში შედიოდა ასევე, თანმხლები სოკოვანი სეპსი, ან ბოლო 7 დღის მანძილზე ჩატარებული ანტიბიოტიკოთერაპია.

რანდომიზაცია და ჯგუფების შენიღბვა

კვლევის მიმდინარეობისას მოხდა პაციენტების გადანაწილება საკვლევ ჯგუფებში ბლოკური რანდომიზაციის წესით, 1:1:1 პროპორციით. პიოზაქტერიოფაგი და პლაცებო ინიშნებოდა ბრმა წესით, ხოლო ანტიბიოტიკოთერაპია ტარდებოდა ღია წესით, რადგან სამკურნალო პრეპარატის (ანტიბიოტიკი) გამოყენების სპეციფიკიდან გამომდინარე, ვერ მოხერხდა მისი ბრმად დანიშვნა.

რანდომიზაციის თანმიმდევრობა გენერირებულ იქნა სტატისტიკური პროგრამული უზრუნველყოფის Stata-ს “randomize” ფუნქციის გამოყენებით. პაციენტებს მიენიჭა შესაბამისი ჯგუფი რანდომიზაციის ალგორითმზე დაყრდნობით, ებმვი-ის ორი თანამშრომლის მიერ. პიოფაგი და პლაცებო პრეპარატები მზადდებოდა იდენტურ სინჯარებში და მიეწოდებოდა უეც-ს. ანტიბიოტიკის ჯგუფში შესულ პაციენტებზე ინფორმაცია მიეწოდებოდა კლინიკის შესაბამის კვალიფიციურ მედპერსონალს. დანარჩენ ჯგუფებში შემავალი მკურნალობის პრეპარატები, პიოფაგი და პლაცებო, შენიღბული რჩებოდა მკვლევარის, კლინიკის მედპერსონალის და სამეთვალყურეო ჯგუფისთვის. სპონსორების, სტატისტიკოსების და მიკრობიოლოგებისთვის, რომლებიც ახდენდნენ ლაბორატორიულ გამოკვლევებს მკურნალობის დაწყებისა და დასრულებისას, ასევე დახურული იყო ინფორმაცია პაციენტთა მკურნალობის სამივე ჯგუფის შესახებ.

მკურნალობის პროცესი

პაციენტებს უტარდებოდათ შარდის ბაქტერიოლოგიური კვლევა უროპათოგენური ბაქტერიების, მათი კონცენტრაციისა და ანტიბიოტიკორეზისტენტობის განსაზღვრა. ამ მიზნით გამოიყენებოდა ქრომოგენური UriSelect 4 ნიადაგი (BioRad Laboratories, Marnes-la-Coquette, საფრანგეთი). პოზიტიურ შარდის კულტურები იღებებოდა გრამის წესით ხოლო ამოთესილი ბაქტერიები ფასდებოდა მოფროლოგიურად. პიოფაგის პოტენციურად სამიზნე პათოგენის აღმოჩენის შემთხვევაში, შარდის კულტურა იგზავნებოდა ინ-ვიტრო მგრძნობელობის ტესტის ჩასატარებლად. აღნიშნული ფასდებოდა კოქტეილის მიერ ბაქტერიის უჯრედული ლიზისის ტესტით. იმ შემთხვევაში, თუ 24 საათში ინ-ვიტრო მგრძნობელობის ტესტი აჩვენებდა დადებით შედეგს, პაციენტები რანდომიზაციის პრინციპით თავსდებოდნენ შესაბამის საკვლევ ჯგუფებში.

სგი-ის მკურნალობისათვის გამოიყენებოდა პიო-ბაქტერიოფაგის კოქტეილი, რომელიც მოიცავს გამომწვევი ბაქტერიების ფართო სპექტრს (საქართველოს ფარმაცევტული პროდუქტის რეგისტრაციის ნომერი R-022600), რომელიც იწარმოება ელიავა ბიოპრეპარატების (თბილისი, საქართველო) მიერ და იყიდება საქართველოს სააფთიაქო ქსელში.

პიოფაგი შედგება მრავალი ბაქტერიოფაგისგან, რომლებიც აქტიურია ბაქტერიების გარკვეული სპექტრის მიმართ. იგი მოიცავს ძირითად უროპათოგენებს, როგორცაა: *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *S. aureus*, *Streptococcus spp.* (*Enterococcus spp.* ჩათვლით, რომელიც აღინიშნებოდა როგორც *Streptococcus* ჯგუფი D). მისი მინიმალური ტიტრი შეადგენს 10^4 კწე/მილილიტრზე სტრეპტოკოკური ბაქტერიოფაგებისათვის და 10^5 კწე/მლ-ზე ყველა სხვა ბაქტერიოფაგებისთვის. ენდოტოქსინების შემცველობის მაქსიმალური დონე შეესაბამებოდა ბაქტერიოფაგისთვის დადგენილ რეგულაციურ ნორმებს და არ აღემატებოდა 0.5 ენდოტოქსინის ერთეულს/მლ-ზე. ასევე, როგორც უკვე იქნა აღწერილი, ტარდებოდა მუდმივი ადაპტაციის ციკლები პრეპარატის ეფექტურობისა და ახალი უროპათოგენების მიმართ მგრძობელობის სპექტრის გაზრდის მიზნით.

პლაცებო ჯგუფის გამოყენების გადაწყვეტილება იყო გამართლებული იმით, რომ კვლევაში არ იყვნენ ჩართული პაციენტები სისტემური ინფექციის სიმპტომებით და ინფექციის გამწვავების მაღალი რისკის მქონე პაციენტები. გარდა ამისა, კვლევის პროცესში წარმოებდა პაციენტთა მუდმივი მეთვალყურეობა, რათა საჭიროების შემთხვევაში, მომხდარიყო მკურნალობის ტაქტიკის მყისიერი შეცვლა. ბაქტერიოფაგის და პლაცებოს ჯგუფში გამოყენებულ იქნა ბაქტერიოფაგის კოქტეილის ბუფერული სითხე კერძოდ, 0.9% ფიზიოლოგიური ხსნარი. პლაცებო პრეპარატი გამოიყურებოდა პიოფაგის იდენტურად, ჰქონდა იგივე სუნი, ფერი, იწარმოებოდა იგივე სინჯარით. იყო სტერილური, ბაქტერიებისგან და ენდოტოქსინებისგან თავისუფალი.

პაციენტებში, რომლებიც გამოეთიშებოდნენ კვლევას (მაღალი ტემპერატურის ან სხვა რაიმე გართულების შემთხვევაში) საჭიროების მიხედვით ანტიბიოტიკოთერაპია ტარდებოდა მკურნალობის არსებული სტანდარტების შესაბამისად. ანტიბიოტიკების შერჩევა ხდებოდა შარდის ნათესის მგრძობელობის მიხედვით. გამოიყენებოდა ცეფტრიაქსონი (1 გ ერთჯერ დღეში ი.ვ.), ამოქსიცილინ-კლავულანის მყავა (1 გ ორჯერ დღეში პერორალურად), ან ციპროფლოქსაცინი (500 მგ ორჯერ დღეში პერორალურად). მკურნალობის ხანგრძლივობა შეადგენდა 5-7 დღეს, ან ხანგრძლივდებოდა სიმპტომების (მაგ. მაღალი ტემპერატურა) ნორმალიზებამდე.

კვლევაში ჩართულ ყველა პაციენტისთვის, ოპერაციის ჩატარებამდე, ისაზღვრებოდა შემდეგი კლინიკო-ლაბორატორიული პარამეტრები: პროსტატის ექოსკოპიური მოცულობა, სისხლში პსა-ის დონე, მოშარდვის დღიური, სპსჯ კითხვარის შედეგები, უროფლოუმეტრიული პარამეტრები, მოშარდვის შემდგომი ნარჩენი შარდის ოდენობა, შარდის საერთო ანალიზის მონაცემები, და სხვა. დოკუმენტირებულ იქნა რეზიცირებული პროსტატის ქსოვილის წონა და ჰისტომორფოლოგიური კვლევის შედეგები. შარდის ლაბორატორიული კვლევები ტარდებოდა განმეორებით მკურნალობის დასრულებისას (ოპერაციიდან მე-7 დღეს, დასრულებისას, ან ნებისმიერი მიზეზით პაციენტის კვლევიდან გამოთიშვისას).

ოპერაციის მსვლელობისას ბაქტერიოფაგის შეყვანა არ ხდებოდა რადგან, მიუხედავად მუდმივი ირიგაციით განპირობებული დაბალი ინტრავეზიკალური წნევისა, საირიგაციო სითხის გარკვეული რაოდენობა მაინც შეიძლება აბსორბირდეს ვენურ სინუსებში.

სამივე ჯგუფის ყველა პაციენტს ჩაუტარდათ ოპერაციული მკურნალობა სტანდარტული მონოპოლარული ტურ-ის ტექნიკის გამოყენებით.

ანტიბიოტიკის ჯგუფში შემავალ პაციენტებს ოპერაციამდე 60 წთ-ით ადრე ეძლეოდათ ანტიბიოტიკი ანტიბიოტიკოგრამის მიხედვით ერთჯერადად, ევროპის უროლოგთა ასოციაციის პერი-პროცედურული პროფილაქტიკის რეკომენდაციების შესაბამისად პაციენტებისთვის, რომლებსაც უტარდებოდათ პროსტატის ტურ (Bonkat *et al.*, 2020, p. 44).

ოპერაციის მსვლელობისას შარდის ბუშტში საირიგაციო სითხის მუდმივი ცირკულაციისა და დაბალი ბუშტში და წნევის შენარჩუნების მიზნით. ოპერაციის დაწყებამდე, თავსდებოდა პუნქციური ბოქვენზედა კათეტერი (16Ch ფოლეთის კათეტერი). პოსტოპერაციულად, 24 სთ განმავლობაში, მიმდინარეობდა შარდის ბუშტის ირიგაცია NaCl-ის 0.9%-იანი ხსნარით. ოპერაციიდან მეორე დღეს, შარდის ბუშტის ირიგაციის მოხსნის შემდგომ, პაციენტები ინტრავეზიკალურად შეყვანილ ღებულობდნენ 20 მლ პიოფაგს ან პლაცებოს, მათი საკვლევი ჯგუფის შესაბამისად.

პიოფაგის და პლაცებოს ჯგუფებში ჩართულ პაციენტებს არ უტარდებოდათ პროფილაქტიკური ან პოსტოპერაციული ანტიბიოტიკოთერაპია. ხოლო ანტიბიოტიკის ჯგუფში განთავსებული პაციენტები არ იღებდნენ ინტრავეზიკალურ თერაპიას.

შარდის ლაბორატორიული კვლევიდან მკურნალობის დაწყება ხდებოდა არაუგვიანეს 6 დღის ვადაში. ბაქტერიოფაგის კოქტილის ინტრავეზიკალური შეყვანის ტექნიკის სწავლება სამედიცინო მედპერსონალისთვის (იმ პერიოდში, როცა პაციენტი იმყოფებოდა კლინიკაში), ან თვითონ პაციენტისთვის (კლინიკიდან გაწერის შემდგომ) ხდებოდა კვალიფიციური უროლოგის მიერ, რომელიც არ მონაწილეობდა კვლევის შედეგების დამუშავებაში. პრეპარატის (პიოფაგი/პლაცებო) შეყვანა ხდებოდა ბოქვენზედა კათეტერის საშუალებით, ორჯერ დღეში, 24 საათის ინტერვალით (08:00 და 20:00 საათზე), 7 დღის მანძილზე, დაწყებული მეორე პოსტოპერაციული დღიდან. მედპერსონალს და პაციენტს ეძლეოდათ მითითება, რომ პრეპარატი გაჩერებულიყო შარდის ბუშტში 30-60 წუთის განმავლობაში ბოქვენზედა და/ან ურეთრული კათეტერების ჩაკეტვით. ფაგისა და პლაცებოს ჯგუფებში პაციენტებს არ ჩატარებიათ ანტიბიოტიკით პროფილაქტიკური მკურნალობა.

მკურნალობის დასრულებისას ყველა პაციენტთან შეგროვდა შემდეგი ინფორმაცია: შარდის საერთო ანალიზი, შარდის ბაქტერიოლოგიური კვლევა, სპსჯ ქულები. ყველა პაციენტს ჩაუტარდა მკურნალობა მიღებული სამედიცინო სტანდარტების მიხედვით.

კვლევის პროცესში განუწყვეტლად ხდებოდა ყველა კლინიკურ-ლაბორატორიული მონაცემის შეყვანა ონლაინ, სპეციალურად ამ კვლევისათვის შექმნილ მონაცემთა ელექტრონულ ბაზაში (RedCap). აღნიშნული მონაცემთა ბაზა გამოიყენებოდა როგორც პაციენტთა საწყისი სკრინინგის პროცესში, მათი კვლევაში ჩართვის ან გამორიცხვის კრიტერიუმების შეგროვების, ასევე კვლევაში ჩართვის

შემდგომ, რანდომიზაციის საწარმოებლად. RedCap მონაცემთა ბაზა ასევე გამოიყენებოდა სამკურნალო ჯგუფებში პაციენტების განთავსებისას პრეოპერაციული, ოპერაციული და მკურნალობის დასრულებისას შეგროვებული მონაცემების შესაყვანად, შემდგომი სტატისტიკური დამუშავების მიზნით. კვლევის დიზაინიდან გამომდინარე, მასში მონაწილე მკვლევარებს ჰქონდათ წვდომა მონაცემთა ბაზის მხოლოდ იმ ნაწილთან, რომელიც უზრუნველყოფდა ინფორმაციის მიუკერძოებელ შეყვანას.

კვლევის მთავარ გამოსავალს წარმოადგენდა ანტიბაქტერიული თერაპიის შედეგი მკურნალობის მე-7 დღეს, ან პაციენტის კვლევიდან გამორთვისას. მკურნალობის წარმატებულ შედეგად ჩაითვალა შარდის კულტურის ნორმალიზება, დადგენილი შარდში ბაქტერიების რაოდენობის დათვლით (მაგ. ბაქტერიების კოლონიების რაოდენობა მილილიტრში).

კვლევის გამოსავალს ასევე წარმოადგენდა კლინიკური პარამეტრების ცვლილებების ანალიზი. იგი ეყრდნობოდა მკვლევარის მიერ აღრიცხული სუბიექტური და ობიექტური მონაცემების ანალიზს, როგორებიცაა მაგ. პაციენტის ქსტს, ტკივილის ინტენსივობა და სხვა, მკურნალობამდე და მკურნალობის შემდეგ.

მკურნალობის პროცესში დაფიქსირებული გართულებების ანალიზის შედეგად, მიღებულ იქნა ინფორმაცია მკურნალობის სამივე მეთოდისთვის დამახასიათებელი გვერდითი მოვლენების სიხშირისა და სიმძიმის შესახებ. გვერდითი მოვლენების კლასიფიკაცია მოხდა საერთაშორისოდ ვალიდირებული და მიღებული სისტემის მიხედვით.

მონაცემთა სტატისტიკური დამუშავება და ანალიზი ჩატარდა ბალგრისტის უნივერსიტეტის სტატისტიკური გუნდის მიერ, კვლევის დასრულებისა და მონაცემთა ბაზის გახსნის შემდგომ. მასში არ მონაწილეობდნენ მკურნალობის პროცესში ჩართული მკვლევარები, რამაც უზრუნველყო სტატისტიკური დამუშავების შემდეგ მიღებული შედეგების მაღალი სანდოობა.

კვლევის პროტოკოლი შემუშავდა იმგვარად, რომ ერთის მხრივ, წარმოეჩინა ბაქტერიოფაგით მკურნალობის შესაძლო უპირატესობა პლაცებოსთან შედარებით, ხოლო მეორეს მხრივ, შეემოწმებინა ფაგოთერაპიის შესაძლო იდენტური ეფექტურობა სტანდარტულ ანტიბიოტიკოთერაპიასთან. ამ საკითხზე დღემდე არსებული კვლევების სიმწირის გათვალისწინებით, ჩვენ ვივარაუდეთ, რომ მკურნალობის ეფექტურობა იქნებოდა 60%-ის ფარგლებში პიოფაგის, ხოლო 20%-ის ფარგლებში - პლაცებოს ჯგუფში. რაც შეეხება ეფექტურობის იდენტურობას, ჩვენ ვივარაუდეთ 35%-იანი მაჩვენებელი ფაგოთერაპიასა და ანტიბიოტიკოთერაპიას შორის. აღნიშნული 2 ჰიპოთეზიდან გამომდინარე, კვლევის 80%-იანი სტატისტიკური სიმძლავრის მიღწევისთვის და თითოეული ნულოვანი ჰიპოთეზისთვის I ტიპის შესაძლო 5%-იანი ცდომილების გათვალისწინებით, განისაზღვრა, რომ თითოეულ საკვლევ ჯგუფში უნდა შესულიყო მინიმუმ 27 პაციენტი. პაციენტები, რომლებიც გამოეთიშებოდნენ კვლევას, ან არ მიიღებდნენ მათთვის განსაზღვრულ მკურნალობას, უნდა ჩანაცვლებულიყვნენ, რათა შენარჩუნებულიყო კვლევის სტატისტიკური „სიმძლავრის“ დონე.

აბსოლუტური რიცხვები გაანალიზირდა საშუალო მაჩვენებლებითა და სტანდარტული გადახრით (SD). კატეგორიული ცვლადების აღწერა მოხდა

კოეფიციენტების და პროცენტების სახით. ეფექტურობა და უსაფრთხოების ანალიზი ჩატარდა მოდიფიცირებული სამკურნალო პოპულაციის გამოყენებით, რაც მოიცავდა ყველა რანდომიზებულ პაციენტს, რომლებმაც მიიღეს მინიმუმ ერთი დოზა ბაქტერიოფაგი, პლაცებო, ან ანტიბიოტიკი. პაციენტების მონაცემები, რომლებსაც ჩაუტარდათ რანდომიზაცია, მაგრამ რაიმე მიზეზით (მაგალითად გადადებული ოპერაცია) არ მიუღიათ ჯგუფის შესაბამისი მკურნალობა, არ იქნა შეტანილი სტატისტიკური დამუშავების პროცესში. თუ მკურნალობის რეჟიმი შეიცვალა თუნდაც ერთი პრეპარატის მიღების შემდეგ, ან თუ პაციენტი არ გამოცხადდა მკურნალობის სრული კურსის დასრულების შემდგომ საკონტროლო კვლევებზე, აღნიშნული მკურნალობა ჩაითვალა არადასრულებულად.

კვლევის სარწმუნოების ანალიზისთვის, ჩატარდა განზრახული მკურნალობის სრული სტატისტიკური ანალიზი რანდომიზაციის შემდგომ კვლევიდან გამორიცხული პაციენტების მონაცემების ჩათვლით. კერძოდ, კვლევიდან ამოვარდნილი ყველა პაციენტი განხილულ იქნა ან როგორც წარმატებით ნამკურნალები, ან როგორც უშედეგოდ ნამკურნალები.

პირველადი შედეგებისა და უსაფრთხოების პარამეტრების შედარება ჯგუფებს შორის მოხდა ლოგისტიკური რეგრესიის სტატისტიკური მეთოდის გამოყენებით. ჩატარდა შემდეგი მაჩვენებლების ანალიზი: ცხოვრების ხარისხის პარამეტრები, შარდის საერთო ანალიზი, შარდის პასაჟი (სპონტანური ან კათეტერით). დაკორექტირებული და დაუკორექტირებელი შანსების თანაფარდობა (Odds ratio – OR) წარმოდგენილ იქნა შესაბამისი 95%-იანი სარწმუნოების ინტერვალით (Confidence Interval - CI). ჰოსმერ-ლემეშოვის Goodness-of-fit ტესტმა აჩვენა კვლევის კარგი მოდელისთვის შესაბამისი შედეგები. ჯგუფებს შორის მონაცემების ანალიზი ჩატარდა კრუსკალ-ვალისის ტესტის, ან ვარიაციული ანალიზის ტესტის გამოყენებით.

კვლევის მონაცემების შეგროვება და დამუშავება მოხდა REDCap მონაცემთა ბაზის ელექტრონული მართვის სისტემის გამოყენებით (<https://redcap.balgrist.ch/>).

REDCap წარმოდგენს კომპლექსურ მონაცემთა ბაზას, რომელიც იქნმნება კონკრეტული კვლევის მოთხოვნების და საჭიროებების მიხედვით. ჩვენი კვლევის ფარგლებში ბაზაში შეტანილ იქნა დემოგრაფიული მონაცემები, ლაბორატორიული და უროდინამიური კვლევის შედეგები, პაციენტთა მოშარდვის დღიურის, სპსჯ, ინტრაოპერაციული და პოსტოპერაციული პერიოდის მონაცემები. კვლევის ყველა ეტაპზე ცალკე ივსებოდა გართულებების და გვერდითი მოვლენების ველები. მონაწილე მკვლევართა ჯგუფებს კვლევის ორმაგად ბრმა დიზაინის შესაბამისად შეზღუდული ჰქონდათ წვდომა სხვა ჯგუფისთვის ხელმისაწვდომ ინფორმაციასთან (სურათი 6).

სტატისტიკური ანალიზი ჩატარდა პროგრამა Stata version 14.2 საშუალებით. P-ს 0.05-ზე დაბალი მნიშვნელობა მიჩნეულ იქნა სტატისტიკურად საწრმუნოდ. კვლევა რეგისტრირებულია კლინიკური კვლევების საერთაშორისო, ონლაინ საიტზე ClinicalTrials.gov, ნომრით: NCT03140085.

3 კვლევის შედეგები

3.1 პირველი ეტაპის შედეგები

კვლევის პირველი ეტაპზე 41 *E. coli* ბაქტერიებზე ჩატარებულმა ანტიბიოტიკოგრამამ აჩვენა შტამების მგრძობელობა და რეზისტენტობა შვიდი სატესტო ანტიბიოტიკის მიმართ.

მიღებული მონაცემები ფართოდ ვარირებდა ყველა ანტიბიოტიკის მიმართ სრულად სენსიტიური შედეგიდან, ექვსი ანტიბიოტიკის მიმართ რეზისტენტულ შედეგამდე. კომერციულად გაყიდვადი ბაქტერიოფაგის კოქტეილების ლიზისური აქტივობა 41 *E. coli* შტამებზე ვარირებდა 66%-სა (27 სენსიტიური შტამი პიო-ბაქტერიოფაგზე) და 93%-ს (38 სენსიტიური შტამი ენკო-ბაქტერიოფაგზე) შორის.

პიო-ბაქტერიოფაგის კოქტეილის ადაპტაციის პროცესის შემდგომ, ლიზისური აქტივობა გაიზარდა 27 დან 38 მგრძობიარე შტამამდე (66 დან 93%-მდე), მათ შორის, ზემოთ ხსენებული სამიდან ორი სრულად რეზისტენტული შტამის ჩათვლით. საერთო ჯამში, მხოლოდ ერთი *E. coli* შტამის გარდა ყველა შტამის ლიზისი გახდა შესაძლებელი ოთხი კომერციულად არსებული ბაქტერიოფაგის კოქტეილის გამოყენებით. მხოლოდ ერთი *E. coli* 35 ESBL შტამი დარჩა რეზისტენტული მიუხედავად ჩატარებული პიო-ბაქტერიოფაგის კოქტეილის ადაპტაციის ციკლისა.

ბაქტერიოფაგების და ანტიბიოტიკების მგრძობელობა/რეზისტენტობის მაჩვენებლები არ აღმოჩნდა ერთმანეთთან კორელაციაში. მაგალითად, *E. coli* შტამი #33 რეზისტენტული იყო ყველა სატესტო ანტიბიოტიკების მიმართ გარდა ნიტროფურანტონინისა (NF) მაშინ, როცა იგივე შტამი ყველა სატესტო ბაქტერიოფაგის მიმართ იყო სენსიტიური (ცხრილი 6, სურათი 3). ამავე დროს, *E. coli* შტამი #35 იყო ყველა ტესტირებული ბაქტერიოფაგის მიმართ რეზისტენტული თუმცა ორი ანტიბიოტიკის, ამოქსიცილინის (AMC) და სულფამეტოქსაზოლის (SXT) მიმართ აჩვენა მაღალი სენსიტიურობა

3.2 მეორე ეტაპის შედეგები

118 პაციენტის შარდის ბაქტერიოლოგიური კვლევისას აღმოჩენილი უროპათოგენებიდან 41%-ში აღინიშნა *E. coli*-ის კულტურის ზრდა. 29% შემთხვევაში - *Enterococcus spp.*, 20%-ში *Streptococcus spp.*, 8%-ში *Pseudomonas aeruginosa*, 7%-ში *Staphylococcus spp.*, 4%-ში *Proteus spp.*, ხოლო 9%-ში ორი პათოგენის ერთდროული (შერეული) ზრდა.

ფაგოთერაპიაში მიღებული პრაქტიკის მიხედვით, პიოფაგის კოქტეილს რეზისტენტული შტამების გამოყენებით ზემოქმედების სპექტრის შემდგომი გაუმჯობესების მიზნით მუდმივად უტარდება ადაპტაციის ციკლები. სგი-ს მქონე 45 პაციენტის შარდის კულტურის ტესტირებით ინახა, რომ პიოფაგქტერიოფაგის მიმართ მიღებული პათოგენების რეზისტენტობამ შეადგინა 60%, მხოლოდ 24%-მა აჩვენა მაღალი მგრძობელობა ("S") და 16%-მა აჩვენა საშუალო მგრძობელობა („I“), სრულმა მგრძობელობამ შეადგინა 40%.

ოთხი ადაპტაციის ციკლის შემდგომ, სადაც გამოყენებული იქნა 118 საშუალო მგრძობელობის და რეზისტენტული შტამი, სენსიტიური შტამების პროცენტული

წილი გაიზარდა 24%-დან დან 41%-მდე, ხოლო საშუალოდ სენსიტიური შტამების 16%-დან 34%-მდე. აქედან გამომდინარე, ნაცვლად საწყისი 40%-ისა სრულმა მგრძობელობამ შეადგინა 75% ($p<0.05$). ამასთან ერთად, რაც არანაკლებ მნიშვნელოვანია, რეზისტენტული ბაქტერიების პროცენტული წილი შემცირდა 60%-დან 25%-მდე ($p<0.05$). აღნიშნული ცვლილებები ჩაითვალა დამაკმაყოფილებლად პრეპარატის კლინიკური გამოყენების დასაწყებად.

პაციენტებში ჩატარებული ტურ-ის დროს რეზეცირებული პროსტატის ქსოვილის ჰისტოლოგიურმა კვლევებმა ყველა შემთხვევაში აჩვენა პკპ სურათი. ხუთ პაციენტში აღინიშნა მაღალი გრეიდის პროსტატის ინტრაეპითელური ნეოპლაზია, თუმცა ავთვისებიანი სიმსივნე ნანახი არ იქნა. მკურნალობამდე შარდის ბაქტერიოლოგიური კვლევისას, *E. coli* გამოვლინდა ოთხ პაციენტში, *Streptococcus spp* ორ პაციენტში, *Enterococcus spp.* ორ პაციენტში და *P. aeruginosa* - ერთ პაციენტში. მკურნალობის შემდგომ ოთხი პაციენტის შარდში არ აღინიშნა პათოლოგიური ფლორის ზრდა. ოთხ პაციენტში კვლავ აღინიშნა *E. coli*-ის და ერთ პაციენტში *Enterococcus spp.*-ის შემცველი მიკროფლორა. ჩატარებული მკურნალობის შედეგად ბაქტერიების ტიტრის შემცირება აღინიშნა ცხრიდან ექვს პაციენტში (67%).

არცერთ პაციენტში ბაქტერიოფაგთან ასოცირებული გვერდითი მოვლენები არ დაფიქსირებულა. ერთ პაციენტში (#9) მკურნალობის მესამე დღეს აღინიშნა მაღალი ტემპერატურა (38.5°C) და დაწყებულ იქნა ანტიბიოტიკოთერაპია (III თაობის ცეფალოსპორინი), რის შედეგადაც სიმპტომების ალაგება მოხდა 48 საათში. შარდის ბაქტერიოლოგიურმა კვლევამ აჩვენა *P. aeruginosa*, რომელიც ცნობილია ეგზოტოქსინების გამოყოფით, რაც, სავარაუდოდ, თან სდევდა ბაქტერიის ლიზის და ასეთივე შედეგი შეიძლებოდა დამდგარიყო ანტიბიოტიკით ინდუცირებული ლიზისის შემდეგაც.

3.3 მესამე ეტაპის - რანდომიზებული კლინიკური კვლევის შედეგები

2017 წლის 2 ივნისიდან 2018 წლის 14 დეკემბრამდე კვლევაში ჩართვის მიზნით ჩატარდა 474 პაციენტის სკრინინგი. პაციენტების მიკრობიოლოგიური კვლევის დეტალები და შარდში ამოთესილი ბაქტერიების პიოფაგისადმი მგრძობელობის შედეგები მოცემულია ცხრილში #8.

აღნიშნული 474 პაციენტიდან 255 (54%) პაციენტს აღენიშნა მონო-პათოგენური ბაქტერიული კულტურის ზრდა, რომლებიც პოტენციურად ხვდებიან პიოფაგის კოქტილის მოქმედების სპექტრში (*Enterococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus spp.*, and *Streptococcus spp.*).

ბაქტერიოფაგის მგრძობელობის ტესტი ჩატარდა 255 დან 234 მონო-პათოგენური ზრდის მქონე პაციენტში.

მიღებული 84 *Enterococcus spp.* შტამის 57 (68%) იყო სენსიტიური პიოფაგის მიმართ, 16-მა (19%) გამოავლინა საშუალო მგრძობელობა, ხოლო 11 (13%) იყო რეზისტენტული. 72 *Streptococcus spp.*-დან სენსიტიური იყო 29 (40%) შტამი, საშუალო მგრძობელობის - 27 (38%), რეზისტენტული - 16 (22%). *Escherichia coli*-ის 58-დან სენსიტიურობა გამოავლინა 31-მა (53%) შტამმა, საშუალო მგრძობელობა - 16-მა (27%), რეზისტენტული იყო 11 (19%) შტამი. *Proteus mirabilis*-ის 12 შტამიდან სენსიტიური აღმოჩნდა 4 (33%), საშალოდ მგრძობიარე - 5 (42%), ხოლო რეზისტენტული - 3 შტამი

(25%). *Pseudomonas aeruginosa*-ს 5 შტამიდან სენსიტიური იყო 1 (20%), ხოლო დარჩენილ 4 (80%) შტამს აღენიშნებოდა საშუალო მგრძობელობა. *Staphylococcus spp.*-ის 3 შტამიდან 1 (20%) იყო სენსიტიური და 4 (80%) კი საშუალო მგრძობელობის. საერთო ჯამში ინ-ვიტრო მგრძობელობის ტესტმა გამოავლინა შემდეგი შედეგები პიოფაგის მიმართ: სენსიტიური 53% (123/234), საშუალო მგრძობელობა 30% (70/234) და რეზისტენტული 18% (41/234).

კვლევაში არ ჩართულ 361 პაციენტიდან 144 (40%) პაციენტს არ აღენიშნა ბაქტერიული კულტურის ზრდა. 111 (31%) პაციენტს აღენიშნებოდა რეზისტენტული ან საშუალოდ სენსიტიური ბაქტერიოლოგიური კულტურის ზრდა. 75 (21%) პაციენტს აღენიშნა მულტიპათოგენური ფლორა. 16 (4%) შემთხვევაში განმეორებით ნათესში არ აღინიშნა პათოგენური ფლორის ზრდა. 12-მა პაციენტმა (3%) უარი განაცხადა კვლევაში მონაწილეობაზე. 3 პაციენტის (1%) ოპერაცია გაუქმდა და/ან გადაიდო ხანგრძლივი ვადით, სგი-თან კავშირში არ მყოფი სხვადასხვა მიზეზებით.

კვლევაში ჩართული 113 პაციენტი რანდომიზაციის გზით განთავსდა სამ ჯდგუფში, კერძოდ: 37 (33%) პაციენტი - პიოფაგის, 38 (34%) - პლაცებოს, ხოლო 38 (33%) - ანტიბიოტიკის ჯგუფებში. აღნიშნული პაციენტებიდან, შესაბამისი მკურნალობის მინიმუმ ერთი დოზა მიიღო და შეყვანილ იქნა განზრახული მკურნალობის პოპულაციაში 97 (86%) პაციენტი. სამივე ჯგუფის პაციენტების საბაზისო კლინიკურ მახასიათებლებს შორის არც ერთ პარამეტრში სტატისტიკურად სარწმუნო განსხვავება არ ინახა.

პიოფაგის ჯგუფიდან მკურნალობა დაასრულა 28 (76%) პაციენტმა. ხუთი (14%) პაციენტის შემთხვევაში, მოხდა ოპერაციის თარიღის ცვლილება. ორმა (5%) პაციენტმა მიიღო ანტიბიოტიკი ოპერაციამდე. ორ (5%) პაციენტთან აღინიშნა ინტრაოპერაციული გართულება, საჭირო გახდა სისხლმდენი უზნების განმეორებითი კოაგულაციის წარმოება, რის შემდეგაც გადაწყდა პაციენტის გადაყვანა სტანდარტული მკურნალობის სქემაზე.

პლაცებო ჯგუფში მკურნალობა სქემის მიხედვით დაასრულა 32-მა (84%) პაციენტმა. ხუთ (13%) პაციენტთან შეიცვალა ოპერაციის გეგმა და/ან თარიღი. ერთმა (2%) პაციენტმა მიიღო ანტიბიოტიკი ოპერაციამდე.

ანტიბიოტიკის ჯგუფში ჩართული 38 პაციენტიდან დაგეგმილი სქემით მკურნალობა დაასრულა 37-მა (97%) პაციენტმა. ერთ (3%) პაციენტთან შეიცვალა ოპერაციის თარიღი.

მოდულირებული განზრახული მკურნალობის პოპულაციაში პაციენტების საშუალო ასაკმა შეადგინა 69 (62-76), 68 (59-77) და 68 (60-76) წელი პიოფაგის, პლაცებოსა და ანტიბიოტიკის ჯგუფებში, შესაბამისად (p-NS). სიმპტომურ პაციენტებში სპსჯ-ის საშუალო მაჩვენებელმა შეადგინა 19 (13-25), 17 (8-26) და 17 (9-25) ქულა პიოფაგის, პლაცებოსა და ანტიბიოტიკის ჯგუფებში, შესაბამისად (p-NS). პაციენტების მომარდვის მაქსიმალური სიჩქარის საშუალო მაჩვენებელი შეადგენდა: პიოფაგის ჯგუფში 9 მლ/წმ-ს (6-12 მლ/წმ), პლაცებო ჯგუფში 9 მლ/წმ-ს (5-13 მლ/წმ), ხოლო ანტიბიოტიკის ჯგუფში 9 მლ/წმ-ს (6-12 მლ/წმ) (p-NS). ნარჩენი შარდის საშუალო მოცულობა ყველაზე მაღალი იყო პლაცებო ჯგუფის პაციენტებში და შეადგენდა საშუალოდ 200 მლ-ს (30-370 მლ), პიოფაგის ჯგუფში 165 მლ-ს (25-305 მლ), ხოლო ანტიბიოტიკის ჯგუფში 125 მლ-ს (0-270 მლ) (p-NS).

მომარდვის დღიურის მონაცემებით, პიოფაგის ჯგუფის პაციენტებს, დღის მანძილზე მომარდვის აქტი აღინიშნებოდათ საშუალოდ 6-ჯერ (4-8), ხოლო ღამით 4-ჯერ (3-5). თითო მომარდვაზე შარდის რაოდენობა შეადგენდა საშუალოდ 180 მლ-ს (95-265 მლ). პლაცებოს ჯგუფში, დღის მანძილზე, მომარდვის ეპიზოდების საშუალო რაოდენობა იყო 6 (5-7), ხოლო ღამით 4 (3-5). შარდის რაოდენობა თითო მომარდვაზე საშუალოდ 165 მლ-ს შეადგენდა (110-220 მლ). ანტიბიოტიკის ჯგუფში, პაციენტები შარდავდნენ დღის მანძილზე საშუალოდ 7-ჯერ (5-9), ღამით 4-ჯერ (3-5), ხოლო მომარდვისას შარდის საშუალო რაოდენობა იყო 180 მლ (100-260 მლ) (p-NS).

პროსტატის მოცულობა პიოფაგის, პლაცებოსა და ანტიბიოტიკის ჯგუფების პაციენტებში იყო 72 (36-108), 76 (38-114) და 79 (46-112) სმ³, შესაბამისად (p-NS).

პსა-ს დონე სისხლში იყო 6 (0-16) , 4 (0-8) და 6 (0-13) მკგ/ლ. პიოფაგის, პლაცებოსა და ანტიბიოტიკის ჯგუფებში, შესაბამისად (p-NS).

ოპერაციამდე შარდის ბუშტის კათეტერი ედგა: პიოფაგის ჯგუფის 9 (32%) პაციენტს, საშუალოდ 31 (8-54) დღით; პლაცებოს ჯგუფის 14 (44%) პაციენტს საშუალოდ 37 (8-66) დღით; და ანტიბიოტიკის ჯგუფის 14 (38%) პაციენტს, საშუალოდ 24 (9-39) დღით.

პიოფაგის ჯგუფში, შარდის საერთო ანალიზით, ლეიკოციტურია აღენიშნა 16 (57%) პაციენტს, ერითროციტურია 12 (43%) პაციენტს, დადებითი ნიტრიტი 10 (36%) პაციენტს. პლაცებოს ჯგუფში ლეიკოციტურია აღენიშნა 20 (63%), ერითროციტურია 24 (75%) და ნიტრიტი 9 (28%) პაციენტს. ანტიბიოტიკის ჯგუფში ლეიკოციტურია აღენიშნა 17 (46%) პაციენტს, ერითროციტურია 22-ს (59%), ხოლო ნიტრიტი 8 (22%) პაციენტს (p-NS).

ოპერაციის ხანგრძლივობამ პიოფაგის პაციენტებში შეადგინა საშუალოდ 50 (36-64) წთ. რეზეცირებული ქსოვილის საშუალო წონა იყო 38 (23-53) გრ. იგივე მაჩვენებლები პლაცებოს ჯგუფში იყო 54 (39-69) წთ, და 36 (27-45) გრ, ხოლო. ანტიბიოტიკის ჯგუფში - 56 (42-70) წთ, და 33 (16-50) გრ (p-NS).

რეზეცირებული ქსოვილის ჰისტოლოგიური კვლევით პკპ ინახა პიოფაგის ჯგუფის 17 (61%) პაციენტში, ქრონიკული პროსტატიტის 10 (36%) პაციენტში, ხოლო ავთვისებიანი სიმსივნე - 1 (4%) პაციენტში. პლაცებოს ჯგუფში: პკპ ინახა 20 (63%), ქპ - 8 (25%), ხოლო ავთვისებიანი სიმსივნე 4 (13%) პაციენტში. ანტიბიოტიკის ჯგუფში: პკპ ინახა 26 (70%), ქპ - 11 (30%), ხოლო ონკოლოგიური პათოლოგია - 0 პაციენტში.

მიღებული ბაქტერიული კულტურის 45%-ში აღინიშნა *Enterococcus spp.* ზრდა, 26%-ში *Escherichia coli*, 24%-ში *Streptococcus spp.* ხოლო დანარჩენმა კულტურებმა შეადგინა 3%, 1% და 1% *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus spp.* და *Pseudomonas aeruginosa* შესაბამისად.

ფაგის ჯგუფში ყველაზე მაღალ 54%-ში ინახა *Enterococcus spp.* ზრდა, *E. coli*-მ შეადგინა საერთო ჯგუფის 18%, ხოლო *Streptococcus spp.* კი - 29%.

პლაცებოს ჯგუფში 44% შემთხვევაში აღინიშნა *Enterococcus spp.*. 31%-ში *E. coli*, 22%-ში *Streptococcus spp.* და *Proteus mirabilis* 3%-ში.

ანტიბიოტიკის ჯგუფში აღინიშნა ექვსივე სახის პათოგენის ზრდა, მათი პროცენტული შეფარდება შემდეგნაირად განაწილდა: *Enterococcus spp.* - 27%, *E. coli* - 27%, *Streptococcus spp.* - 22%, *Proteus mirabilis* - 5%, *Staphylococcus spp.* - 3%, *Pseudomonas aeruginosa* - 3%.

მკურნალობის წარმატების დონე განისაზღვრებოდა ბაქტერიული კულტურის ნორმალიზების მაჩვენებლებით. შვიდღიანი მკურნალობის შემდგომ, სულ შარდის კულტურის ნორმალიზება მიღწეულ იქნა 97 პაციენტიდან 27 (28%) შემთხვევაში. მათგან, პიოფაგის ჯგუფის 28 პაციენტიდან 5 (18%) პაციენტში, პლაცებოს ჯგუფის 32 პაციენტიდან 9 (28%) პაციენტთან შედარებით (odds ratio [OR] 1.60 [95% CI 0.45–5.71]; $p=0.47$) და ანტიბიოტიკის ჯგუფის 37 პაციენტიდან 13 (35%) პაციენტთან შედარებით (2· 66 [0· 79–8· 82]; $p=0.11$). აღნიშნული განსხვავებები სტატისტიკურად სარწმუნო არ იყო. ყველა პაციენტში რომლებთანაც მიღწეულ იქნა მიკრობიოლოგიური ფლორის ნორმალიზება, ასევე აღინიშნა სგი-ს სიმპტომების გამოსწორება.

113 რანდომიზებული პაციენტიდან 97 პაციენტის მონაცემები, რომლებმაც მიიღეს ჯგუფისთვის განსაზღვრული მკურნალობის ერთი დოზა მაინც, ჩაერთო კვლევის მოდიფიცირებულ განზრახული მკურნალობის ანალიზში. პაციენტთათვის ($n=16$), რომლებიც გამოეთიშნენ კვლევას რანდომიზაციის შემდგომ, გამოყენებულ იქნა განზრახული მკურნალობის ანალიზის ($n=113$) ორი განსხვავებული შეფასების მეთოდი.

შეფასების პირველი მეთოდის მიხედვით (საუკეთესო ვარიანტი), სამკურნალო ჯგუფებს შორის აღინიშნებოდა მცირე განსხვავება. შეფასების მეორე მეთოდის მიხედვით (უარესი ვარიანტი) გამოვლინდა ანტიბიოტიკის ჯგუფის სტატისტიკურად სარწმუნოდ ($P=0.037$) მეტი ეფექტურობა პიოფაგის ჯგუფთან შედარებით, თუმცა, შეფასების ორივე მეთოდის შედეგები ნაკლებ სანდოა და წარმოებულმა ანალიზმა აჩვენა, რომ გამოყენებული მოდიფიცირებული განზრახული მკურნალობის ანალიზი კლინიკურად ყველაზე სარწმუნოა შედეგების ფუნდამენტური ფალსიფიცირების გარეშე.

მკურნალობის დასრულებისას 97 პაციენტიდან 58 (60%) პაციენტს აულაგდა სგი-ის სიმპტომები. კერძოდ, პიოფაგის ჯგუფის 28 პაციენტიდან 16 (57%), პლაცებოს ჯგუფის 32 პაციენტიდან 19 (59%) და ანტიბიოტიკის ჯგუფის 37 პაციენტიდან 25 (68%) პაციენტს აღარ აღინიშნებოდათ სგი-თან დაკავშირებული სიმპტომები რომლებსაც აღნიშნავდნენ მკურნალობის დაწყებამდე.

მიკრობიოლოგიური შედეგების პოსტ-ჰოკ სტატისტიკური ანალიზისას ინახა, რომ პათოგენების ტიტრის შემცირება აღინიშნა პიოფაგის 7 (25%), პლაცებო ჯგუფის 12 (38%) ($P=0.3$), და ანტიბიოტიკის ჯგუფის 18 (49%) ($P=0.056$) პაციენტში (ცხრილი 11, 12, 13). უცვლელი დარჩა პიოფაგის ჯგუფის 7 (25%), პლაცებოს ჯგუფის 6 (18%), ხოლო ანტიბიოტიკის ჯგუფის 6 (16%) პაციენტში. ბაქტერიული კულტურის ტიტრის ზრდა აღინიშნა პიოფაგის ჯგუფის 8 (29%) პაციენტის, პლაცებოს ჯგუფის 1 (3%) და ანტიბიოტიკის ჯგუფის 2 (5%) პაციენტში.

კვლევაში ჩართული პაციენტების მკურნალობის პროცესში აღნიშნული გართულებები შეფასდა კლავინ-დინდოს შკალით, რომლის მიხედვითაც, ჩართული 97 პაციენტიდან 22 (23%) შემთხვევაში აღინიშნა მხოლოდ I, II და III ხარისხის გართულებები. IV და V ხარისხის გართულებებს ადგილი არ ჰქონია.

გართულებებში შედიოდა: ტკივილის მომატება, რომელიც არ ზღუდავდა პოსტოპერაციული გააქტიურების პროცესს, ტკივილის მომატება რომელიც საჭიროებდა ანალგეტიკების გამოყენებას, მაღალი ტემპერატურის $>38^{\circ}\text{C}$ გამო

ანტიბიოტიკის გამოყენება ან ანტიბიოტიკის ჯგუფის შეცვლა, ასევე გახანგრძლივებული ჰემატურიის გამო განმეორებითი ოპერაციული ჩარევა.

გამოვლენილი გართულებების სახე და სიხშირე იყო ერთმანეთის მსგავსი. მონაცემების შედარებისას, ჯგუფებს შორის სტატისტიკური განსხვავება არ ინახა. პიოფაგის ჯგუფის 28 პაციენტიდან ამა თუ იმ გრეიდის გართულება აღენიშნა 6 (21%) პაციენტს, პლაცებო ჯგუფის 32 პაციენტიდან - 13 (41%) პაციენტს, ხოლო ანტიბიოტიკის ჯგუფის 37 პაციენტიდან - 11 (30%) პაციენტს (ცხრილი 14). ყველაზე ხშირ გართულებას და კვლევიდან გამოთიშვის მიზეზს წარმოადგენდა ტემპერატურის მატება ($>38^{\circ}\text{C}$) და ანტიბიოტიკოთერაპიის დაწყების ჩვენება.

არცერთ გართულებას არ გამოუწვევია პაციენტის ჰოსპიტალიზაციის გახანგრძლივება. მოდიფიცირებული განზრახული მკურნალობის კრიტერიუმების მიხედვით, პაციენტები რომლებიც გამოეთიშნენ მკურნალობას (რვა [8%] პაციენტი 97-დან) კვლევის უსაფრთხოების ანალიზის ჩატარებისას, ჩაითვალნენ როგორც გვერდითი მოვლენის მქონე პაციენტები. კვლევიდან გამოთიშვის მიზეზები იყო: სისტემური ინფექციის ნიშნები (მაგ. ტემპერატურა $>38^{\circ}\text{C}$, ც-რექტიული ცილა >100 მგ/ლ), სხვა მწვავედ განვითარებული დაავადებები, მწვავე სიცოცხლისთვის საშიში დაავადებები, ან პაციენტის უარი კვლევაში მონაწილეობის გაგრძელებაზე.

მიღებული შედეგების განხილვა

ბაქტერიოფაგის ლიზისური აქტივობა სხვადასხვა ბაქტერიების მიმართ დემონსტრირებულია ინ ვიტრო კვლევებში, თუმცა, კლინიკური კვლევები სგი-ის მკურნალობაში ბაქტერიოფაგის გამოყენების შესახებ, ძალიან მწირია. ჩვენი კვლევის პირველმა ეტაპმა აჩვენა სგი-ის მქონე პაციენტების შარდის ნიმუშებიდან მიღებული 41 *E. coli* შტამის მიმართ რამდენიმე კომერციული ბაქტერიოფაგის პრეპარატის ლიზისური აქტივობა. ჩატარებული სპოტ-ტესტით გაანალიზდა ბაქტერიოფაგისა და ბაქტერიების ურთიერთქმედების შედეგები, რომლებიც კატეგორიზდა როგორც CL, SCL, OL, და IP. ყველა ეს ეფექტი მიჩნეულ იქნა პოზიტიურ შედეგად, რაც ნიშნავს, რომ ბაქტერიოფაგის პრეპარატით მოხდა ბაქტერიის ლიზისი, სხვადასხვა ეფექტურობის ხარისხით. CL შემთხვევაში ბაქტერიამ ვერ შეძლო რეზისტენტობის განვითარება ინკუბაციის პერიოდში (18 სთ), რაც ნიშნავს იმას, რომ ამ სახის ბაქტერიოფაგ-ბაქტერიის ურთიერთქმედება იყო ყველაზე ეფექტური. შემგომი ეფექტი (SCL) შეესაბამება ბაქტერიოფაგის შედარებით ნაკლებ ლითიურ აქტივობას, რისი მიზეზიც შესაძლოა ყოფილიყო სპეციფიური ბაქტერიოფაგის ნაკლები კონცენტრაცია პრეპარატში, ან ბაქტერიის მიერ ფაგის მიმართ მუტაციების გამომუშავების სწრაფი უნარი. საინტერესოა, რომ ჩვენი კვლევის დროს, ოთხივე კომერციულმა ბაქტერიოფაგის პრეპარატმა (ადაპტაციამდე), აჩვენა აქამდე არსებული მსგავსი კვლევის შესაბამისი ლიზისური აქტივობის მაჩვენებლები.

გარდა ამისა, კვლევის პირველი ეტაპის მნიშვნელოვან შედეგად უნდა ჩაითვალოს ბაქტერიოფაგის ლიზისური აქტის გაზრდის შესაძლებლობა მისი ადაპტაციის პროცესის შედეგად. კერძოდ, როგორც ჩვენმა კვლევამ აჩვენა, მოხდა პიობაქტერიოფაგისადმი ბაქტერიების მგრძობელობის გაზრდა 65.9%-დან 92.7%-მდე. ბაქტერიოფაგის კოქტილის აქტივობის მატება და მოქმედების სპექტრის გაფართოვება, პრეპარატის დახვეწის მიზნით ჩატარებული ადაპტაციის ციკლის

შედეგია. აღნიშნული დადასტურდა ბაქტერია-ბაქტერიოფაგის ურთიერთქმედების ხარისხის გაუმჯობესებით IP და OL-ზე და ზოგიერთ შემთხვევაში CL-ზეც კი. სწორედ ადაპტაციის პროცესის შემდგომ აჩვენა კომერციულმა პიო-ბაქტერიოფაგის პრეპარატმა ლიზისური აქტივობა 41 შტამიდან 40 (97.6%) *E. coli*-ს შტამის მიმართ.

გარდა ადაპტაციისა, პრეპარატის ეფექტურობის გაზრდა შესაძლებელია ახალი ჯგუფის ბაქტერიოფაგების დამატებით რომლებიც იჩენენ ძლიერი ზემოქმედების უნარს პათოგენური შტამების მიმართ.

გამომდინარე იქიდან, რომ ბაქტერიოფაგის მოქმედების მექანიზმი ძირეულად განსხვავდება ანტიბიოტიკისაგან, მათ მიმართ რეზისტენტობის მექანიზმებიც განსხვავებულია. ამას ადასტურებს ჩვენი კვლევის შედეგებიც. კერძოდ, ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობის მქონე შტამებიდან ყველას, გარდა ორი შტამისა, ჰქონდა სხვადასხვა რეზისტენტობა ბაქტერიოფაგების მიმართ. ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტობის პროფილისგან განსხვავებული მაჩვენებლები მიუთითებს რეზისტენტობის განვითარების უფრო ღრმა, გენეტიკური ფაქტორების და მექანიზმების არსებობაზე. ამ მექანიზმების დეტალური კვლევა სცდება ჩვენი კვლევის მიზნებს. *E. coli* სპეციფიური გენოტიპების და სეროტიპების შემდგომმა შესწავლამ შესაძლოა მოგვცეს უფრო დეტალური ინფორმაცია აღნიშნული მექანიზმების შესახებ. სრულმა გენომის სეკვენირებამ კი შესაძლოა გამოავლინოს ბაქტერიების დამცველობითი მექანიზმები და მათ მიმართ ბაქტერიოფაგების საწინააღმდეგო მექანიზმები რომლებიც მონაწილეობენ ამ ურთულეს პროცესში.

კვლევაში გამოყენებული კომერციული ბაქტერიოფაგების კოქტეილები - პიო-, ინტესტი-, სეს- და ენკო- ბაქტერიოფაგები, 50 წელზე მეტია უსაფრთხოდ გამოიყენება კლინიკურ პრაქტიკაში სერიოზული გვერდითი მოვლენების გარეშე. კოქტეილში შემავალ ყველა ბაქტერიოფაგს გააჩნია მხოლოდ ლიზისური აქტივობა, მათ არ გააჩნიათ უნარი შეაღწიონ და დარჩნენ ბაქტერიის გენომში. მიუხედავად სგი-ს მკურნალობაში ფაგოთერაპიის პოტენციური ეფექტურობისა და ამ საკითხში აღმოსავლეთ ევროპის ქვეყნების მრავალწლიანი გამოცდილებისა, მკურნალობის ამ მეთოდის პროგრესის ყველაზე დიდ შემაფერხებელ ფაქტორად გვევლინება დასავლეთის მთელ რიგ ქვეყნებში სამკურნალო საშუალებების მიმართ წაყენებული მკაცრი რეგულაციები. კერძოდ, ორმაგად-ბრმა, რანდომიზებული, პლაცებოთი კონტროლირებული, კლინიკური კვლევების ჩატარების აუცილებლობა, რაც მეტად ძვირადღირებული და ხანგრძლივი გზაა. ასევე აუცილებელია ბაქტერიოფაგით მკურნალობის მეთოდოლოგიის, ხანგრძლივობის, დოზირებისა და შესაძლო გვერდითი მოვლენების შესწავლა. დასავლეთ ქვეყნებში ფაგოთერაპიის დანერგვის დასაჩქარებლად, ბაქტერიოფაგები არ უნდა იქნან განხილული როგორც ქიმიური მედიკამენტი, არამედ მოქმედების მექანიზმიდან გამომდინარე, როგორც ვაქცინები (მაგ. გრიპის საწინააღმდეგო), რომლის შემადგენლობის განახლება ხდება ყოველწლიურად. მსგავსად ვაქცინებისა, განახლებული კომპონენტების მიუხედავად, ისინი არ უნდა საჭიროებდნენ ყოველი რევიზიის შემდგომ ახალი კლინიკური კვლევების ჩატარებას. გარდა ამისა, შესაძლოა ბაქტერიოფაგების კლასიფიკაცია სხვადასხვა მიზნით გამოყენებისთვის. მაგალითად, როგორც მედიკამენტი სისტემური გამოყენებისთვის, ხოლო როგორც სამკურნალო საშუალება ადგილობრივი გამოყენებისთვის (მათ შორის სგი-ს დროს).

კვლევის მეორე ეტაპზე მიღებულ იქნა ორი მნიშვნელოვანი შედეგი. პირველად ჩვენს ქვეყანაში გაანალიზირდა პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიის მქონე პაციენტებში საშარდე გზების ინფექციის გამომწვევი მიკროორგანიზმების სახეები და მათი სიხშირე. აღმოჩნდა, რომ სგი-ის მქონე პაციენტებიდან 41% შემთხვევაში გამომწვევია *E. coli*, 29%-ში - *Enterococcus spp.*, 20%-ში *Streptococcus spp.*, 8%-ში *Pseudomonas aeruginosa*, 7%-ში *Staphylococcus spp.*, 4%-ში *Proteus spp.*, ხოლო 9%-ში-სხვა პათოგენური მიკროორგანიზმები.

კვლევის ეს ფაზა ასევე დაგეგმილი იყო კომერციული პიო-ბაქტერიოფაგის პრეპარატის კლინიკური ეფექტურობისა და უსაფრთხოების შეფასებისთვის, ასევე კლინიკური და მიკრობიოლოგიური შედეგების გაანალიზებისთვის შემდგომი ორმაგად ბრმა, პლაცებოთი კონტროლირებული, რანდომიზებული კლინიკური კვლევის წინ. პიო-ბაქტერიოფაგის კოქტილის შემადგენლობის შესწავლა არ ჩატარებულა. პრეპარატის შემადგენლობაში ადაპტაციის პროცესის შედეგად ყველა ინდივიდუალური ბაქტერიოფაგი სხვადასხვა ტიტრით არის წარმოდგენილი, რაც აღწერილია მანამდე ჩატარებული პიო-ბაქტერიოფაგის კოქტილის მეტაგენომურ ანალიზში.

ჩვენს მიერ ჩატარებულმა ინ-ვიტრო ანალიზმა აჩვენა, რომ უროპათოგენური ბაქტერიოების სენსიტიურობამ კომერციული პიო-ბაქტერიოფაგის პრეპარატის მიმართ შეადგინა 41%. ადაპტაციის ციკლის შემდგომ აღინიშნა სენსიტიურობის ზრდა 75%-მდე. კვლევის საპილოტე, ინ-ვივო სერიაში ბაქტერიების ტიტრი შემცირდა ცხრიდან ექვს პაციენტში ბაქტერიოფაგით მკურნალობის შემდეგ (67%). ბაქტერიოფაგთან ასოცირებული გვერდით მოვლენებს ადგილი არ ჰქონია. ერთ პაციენტს, რომელსაც დაუდგინდა უროპათოგენ *P. aeruginosa* -ს არსებობა შარდში, ჩატარებული პროსტატის ოპერაციიდან მესამე დღეს აღინიშნა მაღალი ტემპერატურა (38.5°C), რის გამოც შეუწყდა ბაქტერიოფაგით მკურნალობა და დაენიშნა ანტიბიოტიკოთერაპია მესამე თაობის ცეფალოსპორინით. ანტიბიოტიკოთერაპიის დაწყებიდან 48 სთ-ში სხეულის ტემპერატურა დაუბრუნდა ნორმის ფარგლებს (24 სთ-ში: 37.8°C; 48 სთ-ში: <37.5°C). აღნიშნული შესაძლოა დაკავშირებული იყო *P. aeruginos*-ს მიერ ლიზისის პროცესში გამოყოფილი ენდოტოქსინის სისტემურ ეფექტთან.

ფაგოთერაპიის შემდგომ შარდის განმეორებითი ბაქტერიოლოგიური კვლევისას გამოიკვეთა მკურნალობის დადებითი ტენდენცია, კერძოდ, ბაქტერიების რაოდენობის შემცირება. ერთ შემთხვევაში, განმეორებითი ბაქტერიოლოგიური ანალიზისას დადგინდა, რომ ბაქტერიის რაოდენობა შემცირდა დეტექციის ლიმიტის ქვემოთ (10^4 ხარისხი). ორ შემთხვევაში საწყისი ინფექცია, *E. coli* (ტიტრი 10^7) და *Enterococcus* (ტიტრი 10^6), ბაქტერიოფაგით მკურნალობის შემდგომ საერთოდ აღარ გამოვლენილა. აღსანიშნავია, რომ ამ ორი პაციენტის ასაკი იყო 69 წელი და 80 წელი, არაპათოგენური მიკროფლორა რომელიც მათ შარდში გამოვლინდა, შესაძლოა ოპერაციის შემდგომი არასრულყოფილად აღდგენილი მოშარდვის აქტის შედეგი ყოფილიყო. ერთ პაციენტში *E. coli* ტიტრი არ შეიცვალა ბაქტერიოფაგით მკურნალობის შედეგად. კიდევ ერთ შემთხვევაში საწყისი ინფექცია გამოწვეული *Enterococcus* (ტიტრი 10^6 ბაქტ/მლ) ფაგოთერაპიის შემდგომ შეიცვალა *E. coli*-ს შტამით (ტიტრი 10^7 ბაქტ/მლ), რაც შესაძლოა მეორადი ინფექციით იყო გამოწვეული.

მიუხედავად იმისა, რომ კვლევის ამ ფაზაში მიღებული შედეგების ვარიაბელობა, კვლევის დიზაინი და ჩართული პაციენტების მცირე რაოდენობა არ იძლევა შესაძლებლობას დამტკიცდეს შესაძლო სტატისტიკურად სარწმუნო განსხვავებები, მიღებული შედეგებით გამოკვეთილი ტენდენცია მნიშვნელოვანი იყო და სრულად შეესაბამებოდა დასავლეთ ევროპაში ჩატარებული მსგავსი დიზაინის კვლევების შედეგებს. რაც კიდევ უფრო მეტად მნიშვნელოვანია, ორფაზიანმა კვლევამ დაადასტურა მოსაზრება, რომ ფაგოთერაპია ფართო სპექტრის კოქტეილის გამოყენებით არ იწვევს სერიოზულ გვერდით მოვლენებს და არის პაციენტებისათვის უსაფრთხო.

კვლევის ამ ეტაპზე მიღებულმა შედეგებმა საფუძველი მოგვცა გადავსულიყავით მე-3, კლინიკურ ეტაპზე.

კვლევის მესამე ფაზა იყო ორმაგად ბრმა, რანდომიზებული, პლაცებოთი კონტროლირებული კლინიკური კვლევა. უნდა აღინიშნოს, რომ ეს არის პირველი მსგავსი დიზაინის კლინიკური კვლევა ფაგოთერაპიის ეფექტურობის შესაფასებლად არა მარტო უროლოგიაში, არამედ ზოგადად მედიცინაში. ამდენად, კვლევის ამ ფაზაში მიღებული შედეგები უაღრესად მნიშვნელოვანია. კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ ეფექტურობის თვალსაზრისით, ფაგოთერაპია არ ჩამოუვარდება მკურნალობის სტანდარტულ მეთოდს როგორცაა ანტიბიოტიკოთერაპია. თუმცა, ვერ დადასტურდა პლაცებოსთან მისი უპირატესობა ეფექტურობისა და უსაფრთხოების მხრივ. მიღებული შედეგები მრავალმხრივია და უნდა შეფასდეს კონკრეტული კლინიკური ჩვენების, კვლევის დიზაინის გათვალისწინებისა და საკვლევი პროდუქტის კონტექსტში. გათვალისწინებულ უნდა იქნას, ასევე, თუ როგორ აისახება ისინი ფაგოთერაპიის ზოგად პარადიგმაზე. მიუხედავად იმისა, რომ კვლევის შედეგები არ იძლევა საშუალებას რეკომენდაცია გავუწიოთ ბაქტერიოფაგების ინტრავეზიკალური ინსტილაციის გამოყენებას გართულებული სგი-ის მქონე პაციენტებში, ის ავლენს ფაგოთერაპიის შესაძლო ეფექტურობის შემდგომი კვლევების ჩატარებისთვის მნიშვნელოვან და აუცილებელ ასპექტებს.

კვლევის წარმატებით შესრულებისთვის საკვლევი პოპულაცია და მკურნალობის ჩვენებები შეირჩა დანერგილი პრაქტიკის გათვალისწინებით, რათა საკვლევი ჯგუფი მსგავსი ყოფილიყო სტანდარტული მკურნალობისა (მაგ., შარდის ბუშტის კათეტერიზაცია). დადებითი შედეგების მაჩვენებლები მოულოდნელად დაბალი იყო აქტიური მკურნალობის ორივე ჯგუფში (ანტიბიოტიკის და ბაქტერიოფაგის). ასევე მოულოდნელია ბაქტერიოფაგისა და პლაცებოს თანაბარი ეფექტურობა, რაც ჩვენი ვარაუდით, განპირობებულია პოსტოპერაციული ირიგაციის შედეგად შარდის ბუშტში ბაქტერიული კულტურის რაოდენობრივი შემცირების ეფექტით. აღნიშნულ თეორიას მხარს უჭერს რანდომიზირებული, კონტროლირებული კვლევის შედეგები, რომლებმაც აჩვენა, რომ შარდის ბუშტის ნაწლავოვანი რეზერვუარის მქონე პაციენტებში, ონკანის წყლით შარდის ბუშტის ყოველდღიური გამორეცხვაც კი ამცირებს შადში ბაქტერიების რიცხვს და ანტიბიოტიკოთერაპიის საჭიროებას. ბაქტერიული კულტურის მექანიკური შემცირების ეფექტი მოსალოდნელი იყო ასევე პიოფაგის ხსნარისთვისას, რაც კითხვის ნიშნის ქვეშ დააყენებდა ფაგოთერაპიის ანტიბაქტერიულ მოქმედებას. მკურნალობის სხვადასხვა ეტაპზე ჩატარებულ შარდის მიკრობიოლოგიურ კვლევებს, რომლებიც აფასებს ბაქტერიოფაგის კონცენტრაციის

ცვლილებებს და მათ ეფექტურობას პათოგენური შტამების მიმართ, შეუძლია უკეთ აჩვენოს მათი ანტიბაქტერიული ეფექტი. გარდა ამისა, ქირურგიული ჩარევის შემდგომ დაკვირვების მცირე პერიოდს შესაძლოა ჰქონოდა ნეგატიური ეფექტი კვლევის ძირითადი და მეორადი შედეგების გამოვლენაზე.

გვერდითი მოვლენების ტიპის და სიმძიმის მხრივ, მათ შორის ცხელების შემთხვევების მხრივაც, მკურნალობის ჯგუფებს შორის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი განსხვავება არ დაფიქსირებულა. აღნიშნული შედეგი შეესაბამება ფაგოთერაპიის შესახებ დღეისათვის ლიტერატურაში არსებულ მონაცემებს. ეს ეხება პირველი ფაზის კვლევის შედეგებსაც, რომელშიც გამოყენებულია იგივე კომერციული ნაზალური და ორალური მიწოდების ბაქტერიოფაგი *Staphylococcus aureus*-ით დაავადებულ პაციენტებში. თუმცა, ჩვენს კვლევაში სისხლის ლაბორატორიული მონაცემების, სისტემური იმუნური და ანთების მარკერების ჩართვას, შესაძლოა პაციენტის უსაფრთხოების მხრივ უფრო სრულყოფილი ინფორმაცია მოეცა, რაც სასურველია გათვალისწინებული იყოს შემდგომ კვლევებში. სამკურნალო პრეპარატის ლოკალურად, ინტრავენიკალურად შეყვანისას, სისტემური რეაქციის გამოვლენის შანსები ძალზედ მცირეა. კვლევისას რაიმე სპეციფიურ სისტემურ გვერდით მოვლენას ადგილი არ ჰქონია.

კლინიკური კვლევები ფაგოთერაპიის ეფექტურობის შესახებ ადამიანებში ძალზედ მწირია. შესაბამისად, წინასწარი სტატისტიკური გათვლების ჩატარება დასახული მიზნების მიღწევისათვის აუცილებელი რაოდენობების განსაზღვრისათვის, ძალზედ ძნელია. ჩვენი კვლევის დაწყების დროისათვის ჩატარებული სამი რანდომიზებული კონტროლირებული კვლევიდან, არცერთს არ შეუფასებია ბაქტერიოფაგის შესაძლო ეფექტურობა სგი-ს მკურნალობაში. იმ დროისათვის, როცა ჩვენი კვლევის დიზაინის დაგეგმვა მიმდინარეობდა, მხოლოდ ერთი კვლევის მონაცემები იყო ხელმისაწვდომი. სავარაუდოდ მონაცემების სიმცირე იყო ერთერთი ფაქტორი, რომელმაც კვლევის დიზაინის შემუშავებისას, აუცილებელ პაციენტთა რაოდენობების წინასწარ გაანგარიშებაზე იქონია ზეგავლენა, რასაც, თავის მხრივ, ხელი შეუწყო ბაქტერიოფაგის მკურნალობის ეფექტურობის ზედმეტად ოპტიმისტური მოლოდინის არსებობამ. ამრიგად, ვფიქრობთ, რომ ობიექტური შედეგების მიღწევისათვის აუცილებელია უფრო კონსერვატიული შედეგების მოლოდინი და კვლევაში პაციენტთა მეტი რაოდენობის ჩართვა. მომავალში, ფაგოთერაპიის ერთეული შემთხვევების აღწერა (ე.წ. case report), ფაზა 0-ისა და ინფიცირებული პაციენტების პირველი ფაზის კვლევები დაგვეხმარება უფრო ზუსტად განვსაზღვროთ კვლევაში ჩასართავი პაციენტების რაოდენობები.

კვლევა ჩატარდა ალექსანდრე წულუკიძის სახელობის უროლოგიის ეროვნული ცენტრის ბაზაზე, რასაც გარკვეული შეზღუდვები ახლდა თან. კლინიკაში მკურნალობისთვის პაციენტების მომართვა ხდებოდა ქვეყნის სხვადასხვა რეგიონიდან, რის გამოც, შეზღუდული იყო მკურნალობის დრო და მკურნალობის შემდგომი დაკვირვების საშუალება. კერძოდ, ეს გამორიცხავდა პაციენტებზე ხანგრძლივი დაკვირვების შესაძლებლობას, ართულებდა დიფერენცირებას, იყო თუ არა ზოგიერთი სიმპტომი ქირურგიული მკურნალობის თუ ინფექციის შედეგი. ყოველთვის ვერ ხერხდებოდა კვლევის პროტოკოლის ზუსტად შესრულება ლოკალური თავისებურებებისა და საავადმყოფოს შეზღუდული რესურსების გამო.

ამის გამო, კვლევის პერიოდში, ადგილი ჰქონდა პროტოკოლის გადახრის მაღალ მაჩვენებელს, რამაც გამოიწვია სწორედ მონაცემთა მოდიფიცირებული, განზრახული მკურნალობის ანალიზის საჭიროება. აღნიშნული მონაცემების დამუშავებამ დაადასტურა პირველადად მიღებული კვლევის შედეგების სარწმუნოება და მაღალი სანდოობა.

აღმოსავლეთ ევროპაში კომერციული ბაქტერიოფაგების კოქტეილების წარმოების გავრცელებული პრაქტიკის მიხედვით, პიოფაგის კოქტეილი შედგება მრავალი განსხვავებული ბაქტერიოფაგისგან, რომლებიც მოქმედებენ რიგი პათოგენური ბაქტერიების წინააღმდეგ. თითოეული ამ ბაქტერიოფაგის რაოდენობა (ტიტრები) ზუსტად არის განსაზღვრული. ამავდროულად, ჩატარებული მეტაგენომური ანალიზით დადგენილია, რომ პრეპარატი არ შეიცავს გენეტიკურად მავნე ელემენტებს. ჩვენი კვლევის პროცესში, მიმდინარეობდა ბაქტერიოფაგის კოქტეილის ახალი ფაგებით გამდიდრება, რათა გაზრდილიყო პრეპარატის ეფექტურობა ბაქტერიების ადგილობრივი შტამების მიმართ. ეს მიდგომა მიზნად ისახავს ბაქტერიოფაგის კოქტეილის ეფექტურობის ზრდას დროთა განმავლობაში, ახლად აღმოცენებული პათოგენების სამკურნალოდ. ბაქტერიოფაგის კოქტეილის გამოყენების ეს სტრატეგია განსხვავდება ევროპისა და ჩრდილოეთ ამერიკაში ჩატარებული კვლევების დროს გამოყენებული მეთოდებისგან, სადაც ძირითადად იყენებენ ერთი სპეციფიური ბაქტერიოფაგის შემცველ პრეპარატს, ან პერსონალიზებული მედიცინის შემთხვევაში კონკრეტული პაციენტის პათოგენის მიმართ მოქმედი ბაქტერიოფაგის პრეპარატს.

მიუხედავად ბაქტერიოფაგის კოქტეილის შემადგენლობისა, ჩვენი კვლევისას წარმოებდა პრეპარატის ეფექტურობის შემოწმება თითოეულ პაციენტში მიღებული პათოგენის შტამებზე ინ-ვიტრო მეთოდით. აქამდე არსებულ კვლევებში სწორედ ანტიბაქტერიული აქტივობა იყო ნაჩვენები, როგორც მკურნალობის წარმატების ძირითადი კრიტერიუმი. ჩვენმა კვლევამ აჩვენა, რომ პათოგენების ინ-ვიტრო მგრძობელობამ ანტიბიოტიკის და ბაქტერიოფაგის მიმართ ბევრ პაციენტში არ გამოავლინა მკურნალობის დადებითი ეფექტურობის პირდაპირპროპორციული შედეგი. ინ-ვიტრო სენსიტიურობა არ აღმოჩნდა უშუალოდ ინ-ვივო კვლევისას პრეპარატის მაღალი ანტიბაქტერიული ეფექტურობის უტყუარი მანიშნებელი. ინ-ვიტრო და ინ-ვივო შედეგების ეს შეუსაბამობა საჭიროებს შემდგომ უფრო სიღრმისეულ გამოკვლევას, დიაგნოსტიკისა და სამკურნალოდ პაციენტთა შერჩევის გასაუმჯობესებლად. გარდა ამისა, კვლევის დროს, პიოფაგის სამკურნალოდ შარდის ბუშტში შეყვანისას მოხდა მისი შარდით განზავება, რის გამოც, ბევრ პაციენტში, ინ-ვივო გარემოში, ვერ მოხერხდა მაღალი სამკურნალო ეფექტის შენარჩუნება. ინფექციის ადგილას ბაქტერიოფაგის კონცენტრაცია, პრეპარატის ინფექციის კერასთან წვდომა და პათოგენების რაოდენობა წარმოადგენს უმნიშვნელოვანეს პარამეტრებს ბაქტერიოფაგის თერაპიული ეფექტის განსაზღვრისთვის. ასევე მხედველობაში არის მისაღები ხანგრძლივი კათეტერიზაციის დროს მასში ბიოფილმების წარმოშობა რამაც, შესაძლოა, შეამციროს ფაგოთერაპიის ეფექტი.

ფაგოთერაპიის, როგორც ანტიბაქტერიული მკურნალობის ერთერთი მეთოდის გამოყენება უაღრესად მნიშვნელოვანია სამედიცინო, სამეცნიერო და ეკონომიკური თვალსაზრისით. ფაგოთერაპიას გააჩნია პოტენციალი წარმოჩინდეს როგორც

ანტიმიკრობული მკურნალობის დამატებითი მეთოდი მსოფლიოში ანტიმიკრობული რეზისტენტობის ზრდის მაჩვენებლების ფონზე. გარდა ამისა, მას შეუძლია არ დააზიანოს ორგანიზმის მიკრობიომის მთლიანობა და თავიდან აგვარიდოს ანტიბიოტიკებით განპირობებული ტოქსიურობა. თუმცა, ფაგოთერაპიის ეს პოტენციური უპირატესობები უნდა დადასტურდეს სწორი დიზაინისა და მეთოდოლოგიის კლინიკური კვლევების შედეგად მიღებული მტკიცებულებებით.

ჩვენს მიერ ჩატარებულმა რანდომიზებულმა, კონტროლირებულმა კვლევამ ბაქტერიოფაგის ეფექტურობის შესახებ სგი-ის მკურნალობაში, მოგვცა მრავალმხრივი და მნიშვნელოვანი ინფორმაცია. ასე მაგ. მან კიდევ ერთხელ დაადასტურა ბაქტერიოფაგის გამოყენების უსაფრთხოება. ამ შედეგებმა დასახა მომავალი კლინიკური კვლევის პერსპექტივები და მიმართულებები. კერძოდ, შემდგომი კვლევებისთვის აუცილებელია შერჩეს სგი-ის მქონე პაციენტები, რომელთაც არ უტარდებათ ოპერაციული მკურნალობა. გარდა ამისა, უნდა გაგრძელდეს ბაქტერიოფაგების ადაპტაციის პროცესი და გამოყენებულ იქნას ბაქტერიოფაგის უფრო მაღალკონცენტრირებული ხსნარები. აუცილებელია, ასევე, მკურნალობის სქემის მოდიფიკაციები როგორცაა: ბაქტერიოფაგების უფრო მაღალი დოზირება, შეყვანილი პრეპარატის უფრო ხანგრძლივი დაყოვნება უკეთესი ანტიბაქტერიული ეფექტის მისაღწევად და განმეორებითი საკონტროლო ლაბორატორიული კვლევები. ფაგოთერაპიის პოტენციური ჩვენებების სიმრავლე, ისევე როგორც ბაქტერიოფაგებისა და ინფექციური პათოგენების მრავალფეროვნება, ართულებს მიღებული შედეგების ერთმნიშვნელოვან ინტერპრეტაციას. შემდგომი კვლევების დაგეგმვისას, კარგად უნდა შეირჩეს ბაქტერიოფაგის გამოყენების მეთოდი იქნება ეს პრეპარატის წინასწარ განსაზღვრული შემადგენლობა თუ ბაქტერიოფაგების პერსონალიზირებული შერჩევა.

კვლევის სამივე ეტაპის შედეგები მნიშვნელოვანი დასკვნების გაკეთების საშუალებას იძლევა. ისინი წამახალისებელი უნდა იყოს ექიმებისა და სახელმწიფო სტრუქტურებისათვის, რათა დაიგეგმოს და ჩატარდეს შემდგომი, უფრო ფართომასშტაბიანი კლინიკური კვლევები ბაქტერიოფაგების გამოყენებით. ა.შ.შ.-ს სურსათისა და წამლის ადმინისტრაციამ ავტორიზაცია მისცა ბაქტერიოფაგის გამოყენებას პერსონალიზირებული თერაპიის მიზნით. ბელგიაში დამზებულია ინდივიდუალური პაციენტებისთვის სპეციალიზირებული ბაქტერიოფაგებით მკურნალობა. პრეპარატზე მეტი კონტროლის შესაძლებლობიდან გამომდინარე, პერსონალიზებული მიდგომა შესაძლოა წარმოადგენდეს ფაგოთერაპიის დანერგვის უკეთეს გზას, ვიდრე არსებული ბაქტერიოფაგის კოქტეილების გამოყენება.

დასკვნები

1. დღეს სააფთიაქო ქსელში არსებულ პიო-ბაქტერიოფაგის კოქტეილს აქვს ლიზისური აქტივობა სგი-ის მქონე პაციენტების შარდში არსებული *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *S. aureus*, *Streptococcus spp.* (*Enetrococcus spp.* ჩათვლით) შტამების მიმართ და ეფექტურია აღნიშნული უროპათოგენების წინააღმდეგ.
2. ბაქტერიოფაგების ადაპტაციის პროცესს ძალუმს გაზარდოს ბაქტერიოფაგის კოქტეილის ლიზისური აქტივობა კვლევაში ჩართული უროპათოგენების სხვადასხვა შტამების მიმართ.

3. საქართველოში პკგ-ის მქონე პაციენტებში ყველაზე ხშირად გვხვდება სგი-ის გამომწვევი შემდეგი მიკროორგანიზმები (კლების მიხედვით): *E. coli*, *Enterococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus spp.*, *Proteus spp.*
4. ფაგოთერაპია არის სგი-ს მკურნალობის ეფექტური და უსაფრთხო მეთოდი.
5. რანდომიზებულმა კლინიკურმა კვლევამ ვერ აჩვენა პიოფაგის კოქტეილის მოსალოდნელი ეფექტურობა ანტიბიოტიკოთერაპიასთან შედარებით ტურ-ის შემდგომ პაციენტების სგი-ის მკურნალობისას, თუმცა, დაამტკიცა ბაქტერიოფაგის პრეპარატის გამოყენების უსაფრთხოება.

რეკომენდაციები

- ფაგოთერაპია შესაძლებელია გამოყენებულ იქნეს გაურთულებელი სგი-ის სამკურნალოდ მონოთერაპიის სახით, ან ანტიბიოტიკებთან კომბინაციაში.
- ფაგოთერაპია უფრო ეფექტურია ბაქტერიების ინდივიდუალური შტამების მიმართ ჩატარებული ადაპტაციის შემდეგ.
- რეკომენდებულია პიო-ბაქტერიოფაგის კოქტეილის ადაპტაციის ციკლების ჩატარება მისი ეფექტურობის გაზრდის მიზნით.
- გამოყენებამდე, რეკომენდირებულია ბაქტერიოფაგების არსებული კომერციული პრეპარატების ეფექტურობის შესწავლა კონკრეტულ კლინიკაში ან პაციენტთა ჯგუფში ცირკულირებად შტამებზე და საჭიროების შემთხვევაში მათზე ადაპტაციის ჩატარება.
- ბაქტერიოფაგის გამოყენების ეფექტურობის შესწავლის მიზნით, რეკომენდებულია, შემდგომი რანდომიზებული, კონტროლირებადი კვლევების ჩატარება იმუნური სისტემის მაჩვენებლების, ფაგის მიმართ ბაქტერიის რეზისტენტობის განვითარების, ბიოფილმების წარმოშობის და ფაგის ეფექტურობის სხვა პოტენციურად ხელშემშლელი ფაქტორების გათვალისწინებით.
- რეკომენდებულია, გათვალისწინებულ იქნას აღნიშნული კვლევის დროს გამოყენებული მკურნალობის სქემა და პრეპარატის ადმინისტრირების გზები შემდგომში ფაგოთერაპიის ეფექტურობის გაზრდის მიზნით.
- მომავალში მსგავსი კვლევების ჩატარებისას, რეკომენდებულია კვლევა ჩატარდეს არაქირურგიულ პაციენტებში, რათა შესაძლებელი იქნეს გაუმჯობესებული შემადგენლობის, განსხვავებული რაოდენობის და კონცენტრაციის ბაქტერიოფაგის პრეპარატების გამოყენება.
- აუცილებელია მკურნალობის მოდიფიცირებული პროტოკოლების შემუშავება პრეპარატის განსხვავებული დოზების, გამოყენების ხანგრძლივობისა და მკურნალობის შემდგომი მეთვალყურეობის გათვალისწინებით.
- აღნიშნული კვლევისას გამოყენებული ბაქტერიოფაგების, სამკურნალო პათოგენების და განსხვავებული კლინიკური შემთხვევების სიმრავლემ გაართულა შედეგების ინტერპრეტაციის პროცესი. შემდგომ კვლევებში რეკომენდებულია შემცირდეს აღნიშნული პარამეტრების სიმრავლე, კერძოდ სამკურნალოდ არჩეულ იქნას მხოლოდ ერთი პათოგენი და მის მიმართ ფაგოთერაპიის კონკრეტული მეთოდი (მაგ., პერსონალიზებული ფაგების შემცველი პრეპარატი).

- ჩვენი კვლევის შედეგები იძლევა ძლიერ სტიმულს, რათა ჩატარდეს შემდგომი მასშტაბური კლინიკური კვლევები ბაქტერიოფაგების ეფექტურობის შესწავლის მიზნით არა მხოლოდ უროლოგიაში, არამედ მედიცინის სხვა დარგებშიც.

თემის სამეცნიერო პუბლიკაციების ჩამონათვალი

- 1) Leitner, L., Ujmajuridze, A., Chanishvili, N., Goderdzishvili, M., Chkonia, I., Rigvava, S., Chkhotua, A., Changashvili, G., McCallin, S., & Schneider, M. P. (2020). Intravesical bacteriophages for treating urinary tract infections in patients undergoing transurethral resection of the prostate: A randomised, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *The Lancet Infectious Diseases*.
- 2) Ujmajuridze, A., Leitner, L., Chanishvili, N., Goderdzishvili, M., Chkonia, I., Rigvava, S., Chkhotua, A., Changashvili, G., Schneider, M. P., & Liechti, M. D. (2019). Intravesical bacteriophages for treating urinary tract infections in patients undergoing transurethral resection of the prostate: a randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *European Urology Supplements*, 18(12), e3625.
- 3) Leitner, L., Ujmajuridze, A., Chanishvili, N., Goderdzishvili, M., Mehnert, U., Chkhotua, A., Sybesma, W., & Kessler, T. M. (2019). Adapted bacteriophages for treating urinary tract infections. *European Urology Supplements*, 18(1), e373.
- 4) Leitner, L., Ujmajuridze, A., Chanishvili, N., Goderdzishvili, M., Mehnert, U., Chkhotua, A., Sybesma, W., & Kessler, T. M. (2019). MP53-16 ADAPTED BACTERIOPHAGES FOR TREATING URINARY TRACT INFECTIONS. *The Journal of Urology*, 201(Supplement 4), e781–e781.
- 5) Ujmajuridze, A., Chanishvili, N., Goderdzishvili, M., Leitner, L., Mehnert, U., Chkhotua, A., Kessler, T. M., & Sybesma, W. (2018). Adapted bacteriophages for treating urinary tract infections. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1832.
- 6) Leitner, L., Sybesma, W., Chanishvili, N., Goderdzishvili, M., Chkhotua, A., Ujmajuridze, A., Schneider, M. P., Sartori, A., Mehnert, U., & Bachmann, L. M. (2017). Bacteriophages for treating urinary tract infections in patients undergoing transurethral resection of the prostate: a randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *BMC Urology*, 17(1), 90.
- 7) Sybesma, W., Zbinden, R., Chanishvili, N., Kutateladze, M., Chkhotua, A., Ujmajuridze, A., Mehnert, U., & Kessler, T. M. (2016). Bacteriophages as potential treatment for urinary tract infections. *Frontiers in Microbiology*, 7, 465.
- 8) Ujmajuridze, A., Jvania, G., Chanishvili, N., Goderdzishvili, M., Sybesma, W., Managadze, L., Chkhotua, A., & Kessler, T. (2016). Phage therapy for the treatment for urinary tract infection: Results of in-vitro screenings and in-vivo application using commercially available bacteriophage cocktails. *Eur. Urol. Suppl*, 15, e265.



Ivane Javakhishvili Tbilisi State University
Faculty of Medicine

Doctoral Programme “Clinical and Translational Medicine”

Aleksandre Ujmajuridze

Intravesical bacteriophages for treating urinary tract infections.

(Randomised, placebo-controlled, double-blind clinical trial)

Theses of the dissertation submitted for the academic degree of
Doctor of Medicine

Scientific Supervisors:

Professor Teimuraz Chigogidze, MD, PhD

Professor Archil Chkhotua, MD, PhD, ScD

თბილისი 2022

Introduction.

Urinary tract infections (UTI) are among the most prevalent microbial diseases and their financial burden on society is substantial. The continuing increase of antibiotic resistance worldwide is alarming. Thus, well-tolerated, highly effective therapeutic alternatives are urgently needed. Although there is evidence indicating that bacteriophage therapy may be effective and safe for treating UTIs, the number of investigated patients is low and there is a lack of randomized controlled trials.

Approximately 20% of women over the age of 65 have the condition, compared to 11% of the general population. Around 10% of postmenopausal women report having had a UTI in the previous year, and between 50% and 60% of adult women will experience at least one UTI in their lifetime.

Lower urinary tract symptoms (LUTS) are a common problem in adult men with a high impact on quality of life. Traditionally LUTS have been related to bladder outlet obstruction, which is often caused by prostatic enlargement. Prostatic enlargement occurs in about 25% of all men in their fifties, 30% in their sixties, and in 50% of men aged 80 years or older. Transurethral resection of prostate (TURP) is regarded the cornerstone of surgical treatment of LUTS secondary to benign prostatic obstruction. These patients have a relevant risk for urinary tract infections (UTIs). Beside the possible development of residual urine, which acts as a growth medium for bacteria, many of these patients rely on a short or long-term catheterization prior to further treatment. Single insertion of a catheter causes infection in 1–2% of cases, while catheters with open-drainage systems result in bacteriuria in almost 100% of the cases within 3–4 days.

Emergence and re-emergence of multiple antibiotic resistant bacterial infections and their rapid spread in the environment has led to a new rise of scientific interest toward bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics.

We decided to combine transurethral resection of prostate (TURP) with bacteriophage therapy, using bacteriophages as a replacement of perioperative antibiotics. The present study has been designed as prospective two-phase (first phase: bacteriophage adaptation, second phase: treatment with the commercially available but adapted Pyo bacteriophage) study preceding a randomized, placebo- controlled, double-blind clinical trial to assess efficacy and safety of adapted bacteriophages for treating UTIs in patients undergoing TURP.

Aim of Study

- We aimed to determine whether intravesical bacteriophage therapy with a commercial bacteriophage cocktail is safe and effective in treating UTI in BPH patients undergoing TURP.
- To Study uropathogenic flora in our patient population diagnosed with BPH.
- To investigate resistance of bacteria causing UTI to antibiotics and pyo-bacteriophage preparation;
- To perform adaptation cycles of pyo-bacteriophage cocktail to increase its sensitivity in uropathogenic bacteria.
- Treatment of patients with UTI and BPH with pyo-bacteriophage, evaluation of safety and efficacy (pilot study).
- To perform randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial to assess efficacy and safety of adapted bacteriophages for treating UTIs in patients undergoing TURP.

Scientific Novelty.

In this study

- For the first time, we determined the spectrum of uropathogenes in patients with BPH in Georgia.
- For the first time, evaluated the antibiotic sensitivity of uropathogenic bacteria.
- For the first time, evaluated Bacteriophage sensitivity of uropathogenes before and after adaptation cycles.
- For the first time, performed statistical analysis of bacterial titer change in patients treated with pyo-bacteriophage cocktail.
- For the first time, a comparative analysis of the efficacy, safety, clinical and microbiological results of post-TURP antibiotic therapy, placebo and pyo-bacteriophage treatment in patients with UTI and BPH was performed.

Materials and Methods

We did a randomised, placebo-controlled, clinical trial, at the Alexander Tsulukidze National Centre of Urology, Tbilisi, Georgia. Men older than 18 years of age, who were scheduled for transurethral resection of the prostate (TURP), with complicated UTI or recurrent uncomplicated UTI but no signs of systemic infection, were allocated by block randomisation in a 1:1:1 ratio to receive intravesical Pyo bacteriophage (Pyophage; 20 mL) or intravesical placebo solution (20 mL) in a double-blind manner twice daily for 7 days, or systemically applied antibiotics (according to sensitivities) as an open-label standard-of-care comparator. Urine culture was taken via urinary catheter at the end of treatment (ie, day 7) or at withdrawal from the trial. The primary outcome was microbiological treatment

response after 7 days of treatment, measured by urine culture; secondary outcomes included clinical and safety parameters during the treatment period. Analyses were done in a modified intention-to-treat population of patients having received at least one dose of the allocated treatment regimen. This trial is registered with ClinicalTrials.gov, NCT03140085.

First step – Investigation of Bacteriophage lytic activity

Between February 2012 and January 2013, 41 *E. coli* and 9 *K. pneumoniae* strains were isolated from urinary cultures of 50 patients (22 women and 28 men) suffering from UTIs defined according to the European Association of Urology Guidelines on Neuro-Urology. Urine samples were collected by sterile catheterization at the Balgrist University Hospital Zürich and sent within 16 h to the microbiological laboratory of the University of Zürich, Switzerland. None of the patients received antibiotic treatment within 4 weeks before urinary culture. The mean age of the 50 patients was 55 ± 18 years. The causes of lower urinary tract dysfunction were spinal cord injury in 38 (76%), multiple sclerosis in 8 (16%) and spinal stenosis in 4 (4%) patients. Of the 50 patients, 34 (68%) relied on aseptic intermittent self-catheterization, 12 (24%) on an indwelling (transurethral $n = 4$, suprapubic $n = 8$) catheter and 4 (16%) voided spontaneously.

The primary outcome measure was the assessment of lytic activity of the bacteriophages on the bacteria.

Second step - Adapted Bacteriophages for treating urinary tract infection

From September 2016, 130 patients planned for TURP were screened in preparation for the RCT at the TNCU. In the first phase, urine cultures from all patients (taken by mid-stream urine, or from the existing transurethral or suprapubic catheter) were evaluated. Overall, 118 (91%) of the 130 screened patients had positive urinary cultures with predefined uropathogens.

In the second phase, nine patients who had scored sensitive to the cocktail were further subjected to bacteriophage treatment in a non-blinded fashion.

Transurethral resection of prostate was performed according general surgical practice using a monopolar resectoscope (May and Hartung, 2006). For low pressure irrigation, a suprapubic trocar was placed in every patient. No perioperative antibiotic prophylaxis was given. After TURP a suprapubic catheter and a transurethral catheter were placed to maintain irrigation. The transurethral catheter was removed after 24–48 h. The suprapubic catheter was kept in place for 7 days to enable adapted Pyo bacteriophage instillation. Pyo bacteriophage was instilled by a health care provider two times per 24 h (i.e., 8.00 h, 20.00 h) for 7 days, starting the first day after surgery. The solution of 20 mL was retained in the bladder for approximately 30–60 min.

Third phase – Prospective, randomised, placebo-controlled, double-blind trial

We did a randomised, placebo-controlled, double-blind trial in patients undergoing transurethral resection of the prostate (TURP) in a multidisciplinary setting. All patient-related affairs were conducted at the Alexander Tsulukidze National Centre of Urology,

Tbilisi, Georgia. Bacteriophage preparation, the production of the bacteriophage cocktail Pyo bacteriophage (Pyophage; commercially available from Eliava BioPreparations, [Tbilisi, Georgia]) and bacterio- phage sensitivity testing was done at the Eliava Institute of Bacteriophages, Microbiology, and Virology, Tbilisi, Georgia.

All eligible patients were thoroughly informed about the study and the procedures and provided written informed consent in the case of study inclusion. The study protocol was approved by the institutional review board and ethics committee at the Alexander Tsulukidze National Centre of Urology, complied with the Inter- national Conference on Harmonization Guideline for Good Clinical Practice and the Declaration of Helsinki, and was published previously elsewhere.

Inclusion criteria for study participation were men (aged >18 years) scheduled for TURP, presenting with non-systemic and non-febrile UTI (including catheter-associated UTIs), defined as positive urine culture harbouring at least 10^4 colony-forming units per mL, and acute intensification of symptoms such as urgency, frequency, or dysuria. All patient urine cultures must have been positive for pathogens covered by the Pyophage cocktail (ie, *Enterococcus* spp, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* spp, and *Streptococcus* spp) and been sensitive to bacteriophage in vitro. Patients harbouring other typical UTI pathogens, such as *Klebsiella* spp, were not eligible. Local application via intravesical instillation of Pyo phage, rather than systemic application, was preferred to avoid potentially more frequent and relevant side effects. The common practice of placing a suprapubic catheter for low-pressure irrigation in patients undergoing TURP was a decisive factor in choosing this patient population.

Patients were randomly assigned to the study treatment groups in a 1:1:1 ratio in a block randomisation setting of nine patients per block, to receive either intravesical Pyophage cocktail, intravesical placebo of bacteriophage buffer, or systemically applied standard anti biotic treat- ment. Pyophage and placebo were given in a double-blind manner, while antibiotics were open label due to the inability to mask the administration route. The random sequence was generated by the "randomize" tool of the Stata software package. Patients were assigned to the trial groups as defined by the randomisation algorithm by two pre-designated employees of the Eliava Institute of Bacteriophages, Microbiology, and Virology. Pyophage and placebo were prepared in identical vials and delivered to the Alexander Tsulukidze National Centre of Urology. For patients allocated to antibiotic treatment, this information was passed on to the qualified employees at the trial centre. The investigator, site personnel, and monitoring staff were masked for the Pyophage and placebo treatments. The sponsor, statistician, and the microbiologists who did the microbiological evaluations at the beginning and end of the study were masked to all treatment allocations.

Treatment process

Urine cultures and subsequent antibiotic sensitivity testing were done. For quantification and qualification of uropathogenic bacteria, the chromogenic UriSelect 4 media (BioRad Laboratories, Marnes-la-Coquette, France) was used. Positive urine cultures were microscopically assessed for Gram stain and morphology. If predefined pathogens potentially targeted by Pyophage were detected, urine cultures were sent for in-vitro sensitivity testing against the Pyophage cocktail with a bacterial cell lysis screening assay. In case of a positive in-vitro sensitivity test concluded within 24 h after receipt of the urine culture, patients were randomly assigned to a treatment group.

The Pyophage cocktail (Georgian pharmaceutical product registration number R-022600), commercially available from Eliava BioPreparations (Tbilisi, Georgia) was used as the bacteriophage treatment intervention in order to cover a broad spectrum of uropathogenic bacteria that cause UTIs.

Pyophage is composed of multiple individual bacteriophages active against a range of bacteria. To enhance the spectrum, streptococcus type D (ie, Enterococcus spp) bacteriophages were added to the cocktail. The minimum titre was 10^4 plaque-forming units per mL for streptococcus bacteriophages and 10^5 units per mL for all other bacteriophages. The maximum level of endotoxin was in line with the Georgian regulations for Pyophage and did not exceed 0.5 endotoxin units per mL. Pyophage underwent regular stability and activity checks according to local regulatory requirements. Pyophage was regularly adapted according to an Appelmans' base liquid titration protocol for bacteriophages to enhance efficacy and coverage of newly emerging uropathogenic bacterial strains, as described previously.

The decision to use a placebo control was justified by the exclusion of patients at high risk of developing severe infection and those with signs of systemic infection, as well as the close monitoring of study participants to allow for immediate treatment modification if required. The bacteriophage buffer used in both the bacteriophage and placebo groups consisted of standard bacteriology media and 0.9% saline, as well as quinazoline as a conservator. The placebo solution was sterile, free from bacterial debris or endotoxins, and prepared to appear visually identical to the Pyophage product in colour, odour, and container.

Antibiotic therapy for the standard-of-care comparator group was administered according to the antibiotic sensitivity test of patient isolates, with either ceftriaxone (1 g once daily intravenously), amoxicillin and clavulanic acid (1 g twice daily orally), or ciprofloxacin (500 mg twice daily orally), each starting approximately 60 min before TURP surgery.

For all patients, prostate size, serum prostate specific antigen level, International Prostate Symptom Score (IPSS) questionnaire values, maximum urinary flow rate, post-void residual volume, bladder diary entries, and urinalysis values were collected before the TURP procedure. Resected prostate volume was documented and histological results were determined. Urine culture sampling was repeated at the end of the treatment period (ie, at the end of treatment on day 7 or at withdrawal from the trial). Preoperative administration

of intravesical Pyophage or placebo solution was withheld to avoid a potential systemic bacteriophage dissemination during TURP because, even under low-pressure irrigation, fluid is absorbed through venous sinuses.

Patients in all study groups underwent monopolar TURP. For low-pressure irrigation, a suprapubic catheter was placed, if not already present. Patients received twice daily administration of 20 mL of Pyophage or 20 mL of placebo, depending on treatment group, and no intravesical therapy if they were in the antibiotics group. A maximum period of 6 days was allowed between urine collection and the start of treatment. A specially trained investigator (not involved in the assessment of the clinical outcomes) delivered the solution and taught the health-care provider (for the time during the hospital stay) and the patient (for the time after discharge from hospital) how to instil the solution into the bladder. The solution was instilled using the suprapubic catheter twice per 24 h (at 0800 h and 2000 h) for 7 days, starting the first day after surgery. The health-care providers and patients were instructed to ensure the solution remained in the bladder for 30–60 min. No antibiotic prophylaxis was given to participants in the Pyophage and placebo groups.

The primary outcome was microbiological treatment response at the end of therapy on day 7 or at withdrawal from the trial. A successful treatment was defined by normalisation of urine culture, measured by quantitative microbiological urine assessment (ie, log colony-forming units per mL). Post-hoc analyses were done to investigate clinical symptoms with microbiological normalisation, and the magnitude of change in recorded urine cultures. Secondary outcomes included clinical parameters; clinical parameters were based on the investigator's evaluation of patient's clinical signs and symptoms reported in the bladder and pain diary (eg, an improvement or deterioration of UTI symptoms compared with the status presented at study entry).

The protocol was designed both as a superiority trial of bacteriophage versus placebo treatment and for non-inferiority of bacteriophage versus antibiotic treatment. Considering the limited evidence from previous studies, we assumed a treatment success rate of 60% for the Pyophage group and 20% for the placebo group. Regarding the non-inferiority hypothesis, we accepted a non-inferiority margin of 35% between bacteriophage and antibiotic treatment. With a power of 80% and a type I error probability for each null hypothesis of 5%, we determined a minimum sample size of 27 patients per group. Patients withdrawn after randomisation and whom did not receive the allocated intervention were replaced to fulfil the power calculations as needed.

Interval scaled variates are summarised with means and SDs. Categorical variates are described as ratios and percentages. Efficacy and safety analyses were done in a modified intention-to-treat population, which included all randomised patients who received at least one dose of bacteriophage, placebo, or antibiotic treatment. Patients who were randomised but did not receive any dose of the allocated treatment (eg, if their surgery was postponed) were excluded from analysis. If the treatment regimen was deviated from after receiving at least one dose of the allocated treatment, or if a patient did not attend the follow-up at the 7th day after surgery, this was considered to be a failure to treat.

We compared the primary and safety outcomes between groups using a logistic regression, including the baseline quality-of-life assessment, urinalysis parameters, and the

way of bladder emptying (ie, spontaneous vs indwelling catheter) as covariates in the analysis. Unadjusted odds ratios (ORs) and adjusted ORs are presented with corresponding 95% CIs. Assessment using the Hosmer– Lemeshow goodness-of-fit test indicated a good model fit. Between-group analyses were assessed using a Kruskal- Wallis test or analysis of variance test where appropriate.

Study data were collected and managed using REDCap electronic data capture tools hosted at the Balgrist University Hospital, Zürich, Switzerland. Statistical analyses were done using Stata version 14.2, with a p value of less than 0.05 considered significant. This study is registered with ClinicalTrials.gov, NCT03140085

Results and Discussion

First Phase

The antibiogram of the 41 E. Coli and 9 K. pneumoniae strains shows the ESBL production capability of the strains and their sensitivity or resistance for each of seven tested antibiotics. In summary, the strain susceptibility varies between sensitive for all antibiotics to resistant for at least six of the seven tested antibiotics. The lytic (killing) activity of the commercial bacteriophage cocktails on the 41 E. Coli strains varied between 66% (27 strains sensitive for Pyo bacteriophages) and 93% (38 strains sensitive for Enko bacteriophages). From the 29 E. Coli bacteriophages from the Eliava collection, the highest lytic activity came from the bacteriophages vB_E. Coli_4t, vB_E. Coli_4s, and vB_E. Coli_Pic with 42, 39, and 24% coverage, respectively. Three of the E. Coli strains (E. Coli 5, E. Coli 29, and E. Coli 35 ESBL) showed complete resistance to all bacteriophage from any of the 4 commercial bacteriophage cocktails and 29 E. Coli bacteriophages from the Eliava collection.

However, after adaptation of the Pyo bacteriophages the lytic activity could be increased from 27 to 38 sensitive strains (66 to 93%), including two of the three previously mentioned resistance strains. In total, all but one E. Coli strain could be lysed by one of the four commercial bacteriophage preparations and only strain E. Coli 35 ESBL remained resistant, even after the adaptation of the Pyo bacteriophage preparation.

Regarding K. pneumoniae strains, the best result was shown by bacteriophage v_B-KpS10 that could lyse all nine strains. Bacteriophage and antibiotic susceptibility/resistance did not correlate. For example, E. coli strain #33 was resistant to all tested antibiotics except nitrofurantoin (NF;), while the same strain was susceptible to all tested bacteriophages. On the contrary, E. coli strain #35 was resistant to all tested bacteriophages, but showed susceptibility to two antibiotics, i.e., amoxicillin (AMC) and sulfamethoxazole (SXT).

The in vitro lytic activity of bacteriophages has already been demonstrated in several studies but data on the application of bacteriophages for treating UTIs are scarce.

Second Phase

In vitro analysis showed a sensitivity for uropathogenic bacteria to the commercially available Pyo bacteriophage of 41%. Adaptation cycles of Pyo bacteriophage further enhanced its sensitivity to 75%. In our in vivo pilot series, the bacterial titers decreased after bacteriophage treatment in six out of nine patients (67%). No bacteriophage-associated

adverse events have been detected but one patient developed fever due to *P. aeruginosa* infection. The bacteriophage treatment was stopped, while a third-generation cephalosporin was prescribed. In 48 h after the start of antibiotic therapy, the body temperature was normalized.

The secondary bacteriology testing of urine samples, taken after the bacteriophage treatment, demonstrated a positive tendency in therapy of infection, in particular a decrease of bacterial counts varying between 1 and 5 logs. In one case the secondary bacteriology analysis after bacteriophage therapy showed that urine had become below the detection limit of the UriselectTM4 media (10⁴ CFU/mL for the uropathogens). In two cases the initial infections, *E. coli* (titer 10⁷ CFU/mL) and *Enterococcus* (titer 10⁶ CFU/mL), respectively, had disappeared after bacteriophage therapy; however, presence of non-pathogenic micro-flora was observed which did not require any further treatment. It is notable that in these two cases the non-pathogenic flora appeared in aged patients 69–80 years old, which may be a result of urination difficulties remaining even after the operation. In one case the titer of *E. coli* did not change after the bacteriophage treatment. In case the initial infection caused by *Enterococcus* (titer 10⁶ CFU/mL) after bacteriophage therapy was replaced by *E. coli* (titer 10⁷ CFU/mL), which may be attributed to a secondary infection.

In our prospective two-phase study preceding a placebo controlled, double-blind RCT, adaptation cycles enhanced the *in vitro* sensitivity of 118 strains to the commercially available Pyo-bacteriophage from 41% to 75%. In the *in vivo* pilot series, a promising clinical and microbiological effect and excellent tolerability of adapted Pyo-bacteriophage treatment could be shown.

Third phase

Between June 2, 2017, and Dec 14, 2018, 474 patients were screened for eligibility. 113 patients were randomly allocated to receive Pyophage (n=37), placebo (n=38), or antibiotic treatment (n=38). 97 (86%) of these patients received at least one dose of their allocated intervention and were included in the modified intention-to-treat population. Rates of treatment success, defined as urine culture normalisation, did not differ significantly between treatment groups. After 7 days of treatment, normalisation of urine culture was achieved in 27 (28%) of 97 patients: five (18%) of 28 patients in the Pyophage group compared with nine (28%) of 32 patients in the placebo group (odds ratio [OR] 1.60 [95% CI 0.45–5.71]; p=0.47) and 13 (35%) of 37 patients in the antibiotic group (2.66 [0.79–8.82]; p=0.11). All patients with microbiological normalisation also showed resolution from the predefined UTI symptoms (post-hoc analysis). An analysis of the full intention-to-treat population is provided in appendix 3, p 2. 58 (60%) of 97 of patients were free from the predefined UTI symptoms at the end of treatment: 16 (57%) of 28 patients in the Pyophage group, 19 (59%) of 32 patients in the placebo group, and 25 (68%) of 37 patients in the antibiotic group. Regarding the microbiological outcomes, a reduction of colony-forming units per mL (post-hoc analysis) was observed in seven (25%) of 28 patients, 12 (38%) of 32 patients, and 18 (49%) of 37 patients. Adverse events were reported in 22 (23%) of 97 patients and ranged from grade 1 to 3. Adverse events were similar in type and incidence between the three groups and were reported in six (21%) of 28 patients in the Pyophage

group, 13 (41%) of 32 of patients in the placebo group, and 11 (30%) of 37 patients in the antibiotic group. Most adverse events were sudden onset of fever (>38°C) and concomitant use of antibiotics. No adverse events resulted in prolongation of hospitalisation. According to the definition of the modified intention-to-treat population, patients lost to follow-up (eight [8%] of 97) were considered as adverse events in the safety analysis. Reasons for withdrawal included signs and symptoms of systemic infection (eg, temperature >38°C, C-reactive protein >100 mg/L), other rapidly progressing disease, immediately life-threatening illness, or withdrawal of informed consent.

Discussion

In this randomised, placebo-controlled, double-blind trial, intravesical bacteriophage therapy was non-inferior to standard-of-care antibiotic treatment, but was not superior to placebo, in terms of efficacy or safety in treating UTIs. Interpretation of these results is multi-factorial and the data should be evaluated in the context of the specific clinical indication, trial design considerations, and the study product, and how these reflect on the overarching paradigm of bacteriophage therapy. Although this study does not suggest efficacy for bacteriophage instillation to treat complicated UTIs in patients undergoing TURP, it does highlight important learning points for the future of bacteriophage therapy and subsequent trials.

The study population and clinical indication were chosen for logistical and feasibility reasons so that the intervention group would be in line with common practice (ie, placing of a catheter). However, the treatment success rate was unexpectedly low for both active treatment groups (ie, antibiotics and bacteriophages). More surprising was the similar primary outcome success for both bacteriophage and placebo instillation, which we hypothesise was due to a therapeutic effect of a mechanical reduction of the bacterial load following bladder irrigation. This is supported by Birkhäuser and colleagues,²³ who reported that daily bladder irrigation with tap water reduces the bacterial load and the subsequent need for antibiotic treatment for UTI in a randomised controlled trial in patients with ileal pouches. The effect of mechanical reduction of the bacterial load would also have been expected for the Pyophage solution, thus bringing into question any inherent direct antibacterial activity of the applied bacteriophages. Ongoing microbiological analyses evaluating post-treatment urine cultures regarding bacteriophage concentrations and their activity against isolated pathogenic strains will provide more insight into their antibacterial activity. Additionally, a short observation and follow-up period in close proximity to a surgical event might have confounded measures for the primary and secondary outcomes.

No significant difference in the type or severity of adverse events, including fever, was observed between any of the treatment groups. This is in line with all reports of bacteriophage therapy to date, including a phase 1 study testing nasal and oral application of the same commercial bacteriophage product in *Staphylococcus aureus* carriers. However, including blood tests and systemic immune and inflammatory markers in this study could have produced a more comprehensive understanding of safety in the patients, and these measures should be included in future studies. Local intravesical application makes systemic reactions to the treatment unlikely, and no septic adverse events occurred during this trial.

Limited data from bacteriophage treatments in humans are available to guide appropriate power calculations and predict effect sizes. None of the three randomised controlled trials completed to date have evaluated UTI, and only one case report was available at the time of study design. This scarcity of data, together with our bacteriophage enthusiasm, probably compounded the power calculation and led to an overestimation of the effect sizes for the Pyophage treatment group. Thus, more conservative assumptions and higher number of patients are needed. Phase 0 observational studies and phase 1 studies in colonised patients would help refine expectations of the effect size, as would data from additional well documented case reports, for future trials.

The study location of the Alexander Tsulukidze National Centre of Urology, where bacteriophage therapy is a long-approved treatment strategy, imposed several limitations on the trial. Treatment times and follow-up were limited due to the large geographical distances of patients from the trial site, which excluded the possibility for extended follow-up and resulted in difficulty differentiating whether symptoms were caused by surgery or infection in the primary outcome measure. Adherence to the study protocol was compromised because of local standard operational procedures in the hospital and limited hospital resources, thus resulting in a high degree of protocol deviation and creating the need for a modified intention-to-treat analysis. To evaluate the clinical plausibility, we did a complete intention-to-treat analysis, which supported the clinical plausibility of the primary analysis.

According to common practice for commercial bacteriophage cocktails in eastern Europe, the Pyophage cocktail consisted of many different bacteriophages with activity against a range of pathogenic bacteria; the precise concentration and identity of each bacteriophage is not established, but has previously been elaborated through metagenomic analysis and shown to be devoid of genetically harmful elements.²⁶ During the trial, Pyophage was regularly enriched with new bacteriophages that were adapted to increase activity against local epidemiological strains. This approach aims to increase the efficacy of the bacteriophage cocktail to treat newly emerging pathogens over time. This composition strategy differs largely from well characterised specific combinations—or even personalised selection—of bacteriophages that are the focus of development for European and North American clinical trials.

Regardless of composition, the activity of the investigational bacteriophage product against the patient isolate was verified *in vitro*. Although previous trials have cited this activity as an essential criterion for successful treatment, *in-vitro* sensitivity towards bacteriophage or antibiotics did not translate into a therapeutic effect for many patients receiving Pyophage or antibiotic treatment. This discordance between *in-vitro* results and *in-vivo* results requires further investigation for companion diagnostics and proper patient selection. Additionally, the low titres of the different bacteriophages in Pyophage might have led to relevantly low *in-vivo* concentrations due to dissemination in the bladder and dilution with urine, resulting in an insufficient decrease of the bacterial load. The concentration of bacteriophages at the site of infection, physical access to the site, and pathogen load are all important parameters for using and evaluating bacteriophage therapy.

The utility of bacteriophage therapy as an antibacterial treatment strategy is of important medical, scientific, economic, regulatory, and public interest. Bacteriophage

therapy has the potential to provide an alternative treatment to antibiotics in consideration of increasing antimicrobial resistance; a treatment that might provide added benefits for microbiome integrity and reduced toxicity compared with antibiotics. However, that potential remains to be validated by significant proof-of- efficacy results from well designed clinical trials.

This pragmatic randomised controlled trial for treating UTIs in patients undergoing TURP revealed little about the efficacy of bacteriophage therapy, but the safety profile of bacteriophage application was reiterated. Improvements for similar trials in future would include studying nonsurgical patient populations, the use of better characterised and more highly concentrated bacteriophages, and modifications to the start of therapy and follow-up, such as higher dosing, prolonged administration until microbial response, or measuring of recurrence. The many variables in clinical indications, bacteriophages, and infecting pathogens that complicated the interpretation of these results should be minimised by aiming for a better controlled explanatory trial, with a clear causation and a well defined method of bacteriophage application (either predefined composition or personalised selection of bacteriophages).

In conclusion, our findings are encouraging and provide important stimuli for physicians and authorities to support further large-scale clinical studies using bacteriophages for otherwise virtually untreatable infections, in order to further establish their efficacy. The recent approval by the Food and Drug Administration of a bacteriophage collection for personalised therapies, as well as the Belgian regulatory approach of allowing custom-made bacteriophage medicines for individual patients, shows that personalised approaches, rather than predefined bacteriophage cocktails, could be a better way to use the antibacterial effects of bacteriophages.

Conclusions

1. Commercially available Pyo-Bacteriophage cocktail has lytic activity over targeted uropathogens (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *S. aureus*, *Streptococcus spp.*, *Enterococcus spp.*)
2. Adaptation cycles can increase bacteriophage cocktail activity over targeted uropathogens.
3. In Georgian patient population most common bacteria causing UTI are: *E. coli*, *Enterococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus spp.*, *Proteus spp.*
4. Phagotherapy is safe and effective method of treatment of UTI.
5. This pragmatic randomised controlled trial for treating UTIs in patients undergoing TURP revealed little about the efficacy of bacteriophage therapy, but the safety profile of bacteriophage application was reiterated.

Recommendations

- Phage therapy can be used as monotherapy or in combination with antibiotics in patient having uncomplicated UTI.
- Phage therapy is more effective after performing adaptation cycles over selected bacteria.
- Bacteriophage adaptation cycles are recommended to increase treatment efficacy of the cocktail.
- It is recommended to evaluate efficacy of the phage cocktail in specific patient group before treatment and to perform adaptation cycles if necessary.
- Further randomized studies are recommended to evaluate bacterial resistance, immune responses, bacterial biofilms and other disruptive conditions during phage therapy.
- It is recommended to consider treatment scheme and phage cocktail administration regime used in this clinical study in designing future phage therapy clinical trials.
- Studying nonsurgical patient populations would be an improvement for similar studies in the future.
- The many variables in clinical indications, bacteriophages, and infecting pathogens that complicated the interpretation of these results should be minimised by aiming for a better controlled explanatory trial, with a clear causation and a well defined method of bacteriophage application (either predefined composition or personalised selection of bacteriophages).
- In conclusion, our findings are encouraging and provide important stimuli for physicians and authorities to support further large-scale clinical studies using bacteriophages for otherwise virtually untreatable infections, in order to further establish their efficacy.

Publication list:

- 1) Leitner, L., Ujmajuridze, A., Chanishvili, N., Goderdzishvili, M., Chkonia, I., Rigvava, S., Chkhotua, A., Changashvili, G., McCallin, S., & Schneider, M. P. (2020). Intravesical bacteriophages for treating urinary tract infections in patients undergoing transurethral resection of the prostate: A randomised, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *The Lancet Infectious Diseases*.
- 2) Ujmajuridze, A., Leitner, L., Chanishvili, N., Goderdzishvili, M., Chkonia, I., Rigvava, S., Chkhotua, A., Changashvili, G., Schneider, M. P., & Liechti, M. D. (2019). Intravesical bacteriophages for treating urinary tract infections in patients undergoing transurethral resection of the prostate: a randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *European Urology Supplements*, 18(12), e3625.
- 3) Leitner, L., Ujmajuridze, A., Chanishvili, N., Goderdzishvili, M., Mehnert, U., Chkhotua, A., Sybesma, W., & Kessler, T. M. (2019). Adapted bacteriophages for treating urinary tract infections. *European Urology Supplements*, 18(1), e373.
- 4) Leitner, L., Ujmajuridze, A., Chanishvili, N., Goderdzishvili, M., Mehnert, U., Chkhotua, A., Sybesma, W., & Kessler, T. M. (2019). MP53-16 ADAPTED BACTERIOPHAGES FOR TREATING URINARY TRACT INFECTIONS. *The Journal of Urology*, 201(Supplement 4), e781–e781.
- 5) Ujmajuridze, A., Chanishvili, N., Goderdzishvili, M., Leitner, L., Mehnert, U., Chkhotua, A., Kessler, T. M., & Sybesma, W. (2018). Adapted bacteriophages for treating urinary tract infections. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1832.
- 6) Leitner, L., Sybesma, W., Chanishvili, N., Goderdzishvili, M., Chkhotua, A., Ujmajuridze, A., Schneider, M. P., Sartori, A., Mehnert, U., & Bachmann, L. M. (2017). Bacteriophages for treating urinary tract infections in patients undergoing transurethral resection of the prostate: a randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *BMC Urology*, 17(1), 90.
- 7) Sybesma, W., Zbinden, R., Chanishvili, N., Kutateladze, M., Chkhotua, A., Ujmajuridze, A., Mehnert, U., & Kessler, T. M. (2016). Bacteriophages as potential treatment for urinary tract infections. *Frontiers in Microbiology*, 7, 465.
- 8) Ujmajuridze, A., Jvania, G., Chanishvili, N., Goderdzishvili, M., Sybesma, W., Managadze, L., Chkhotua, A., & Kessler, T. (2016). Phage therapy for the treatment for urinary tract infection: Results of in-vitro screenings and in-vivo application using commercially available bacteriophage cocktails. *Eur. Urol. Suppl*, 15, e265.