

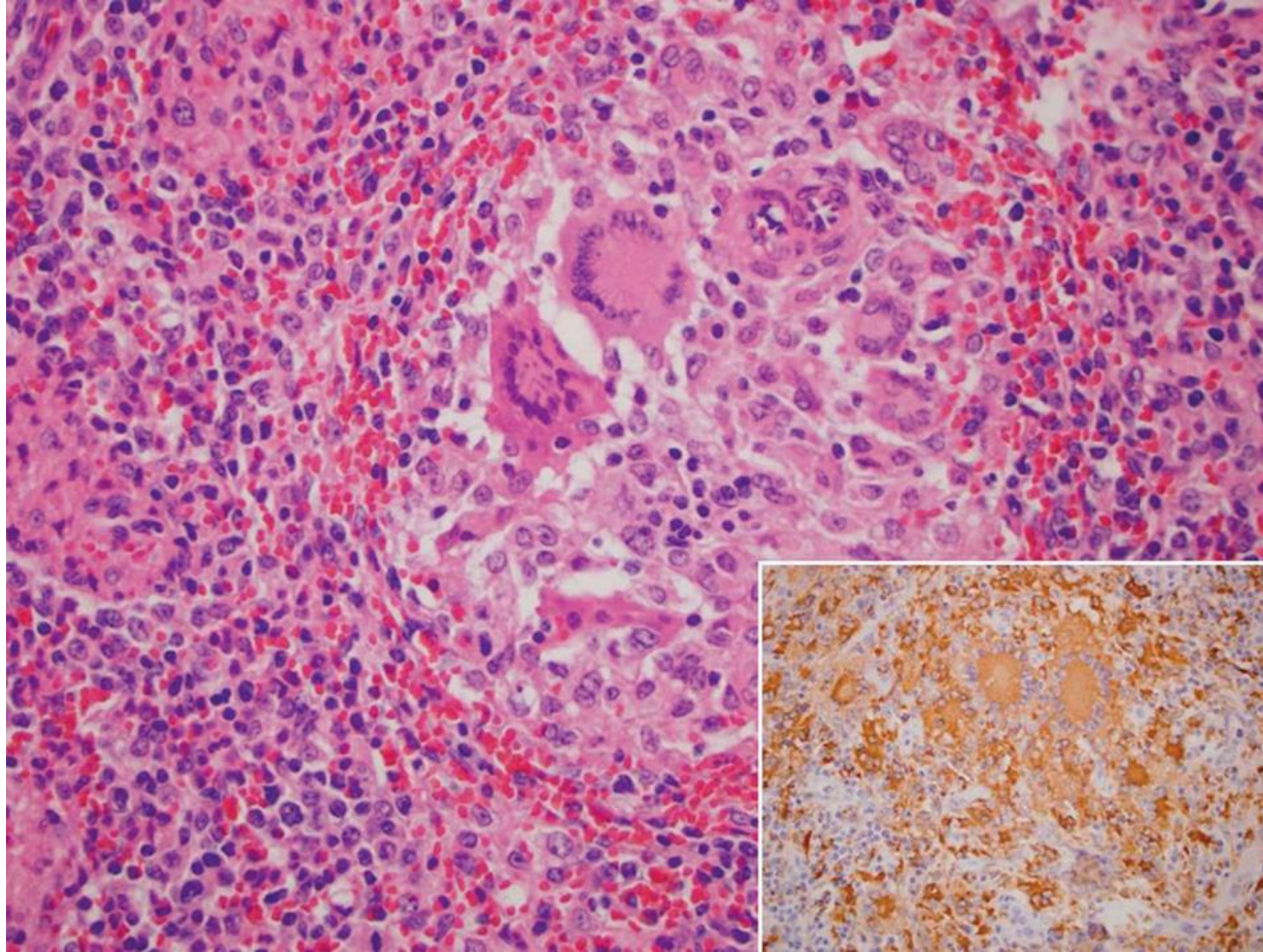
Digitális metszetelemzés és sejtszámlálás a PCV-2-SD (PMWS) diagnosztikájában



Horváth Dávid Géza, Dénes Lilla, Igriczi Barbara, Papp Márton,
Víctor Hidalgo-Martínez, Joaquim Segalés, Balka Gyula

Állatorvostudományi Egyetem (ÁTE), Patológiai Tanszék
ÁTE, Antimikrobiális rezisztencia, Állatorvosi közegészségügy és Élelmiszerlánc-biztonság Nemzeti Laboratóriuma
ÁTE, Bioinformatikai Központ
Universitat Autònoma de Barcelona
IRTA-CReSA

A sertés 2-es típusú circovírusához kötődő szisztémás betegség (PCV-2-SD)

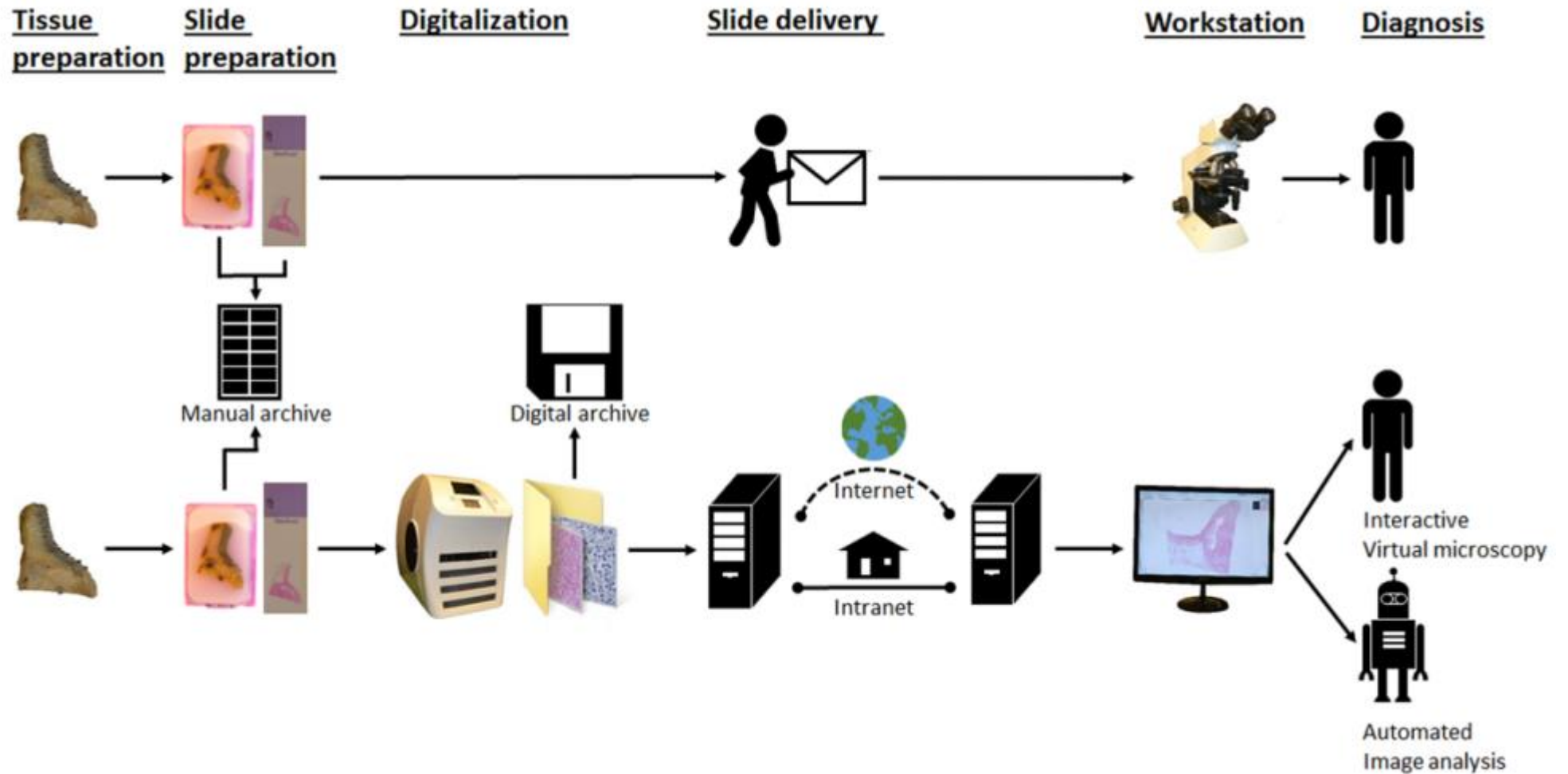


Opriessnig T, Meng XJ, Halbur PG. Porcine circovirus type 2 associated disease: update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. J Vet Diagn Invest. 2007 Nov;19(6):591-615. doi: 10.1177/104063870701900601. PMID: 17998548.

Digitális patológia

„Hagyományos”
patológia

Digitális
patológia



Bertram CA, Klopffleisch R. The Pathologist 2.0: An Update on Digital Pathology in Veterinary Medicine. Vet Pathol. 2017 Sep;54(5):756-766. doi: 10.1177/0300985817709888. Epub 2017 Jun 5. PMID: 28578626.

Célkitűzések

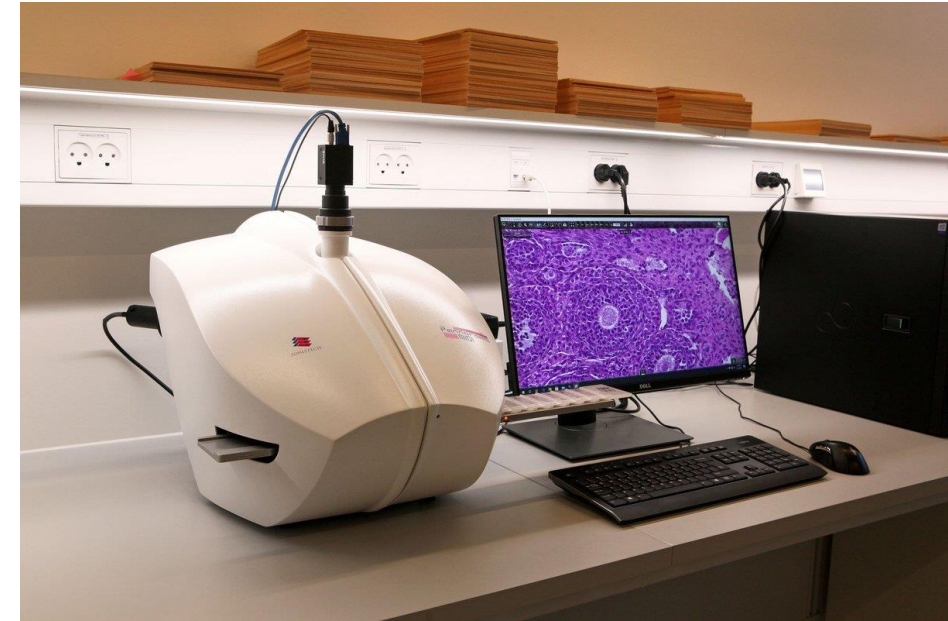
A PCV-2-SD digitális patológiai diagnosztikájának objektívebb és reprodukálhatóbb jellege

- PCV-2-SD-ben érintett sertések nyirokcsomószöveteiben az IHC-eljárással jelölt fertőzött sejtszám, -arány meghatározása
- Az objektív sejtszámok birtokában statisztikai elemzések a sejtszámok és az eddig alkalmazott szubjektív, szemikvantitatív (-, +, ++, +++), manuális bírálat, valamint az azonos FFPE-blokkokból meghatározott vírus DNS-kópiaszámok között

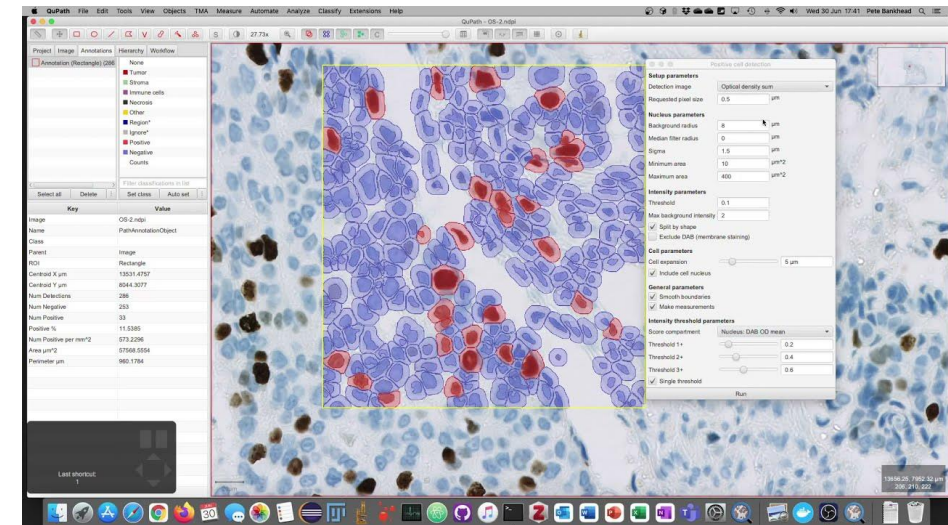
Anyag és módszer

- Kórszövettani metszetek
 - 54 PCV-2 IHC (53 állatból)
- Pannoramic Midi szkennер (3D Histech)
- QuPath szoftver
- FFPE qPCR
- R program (4.1.1)

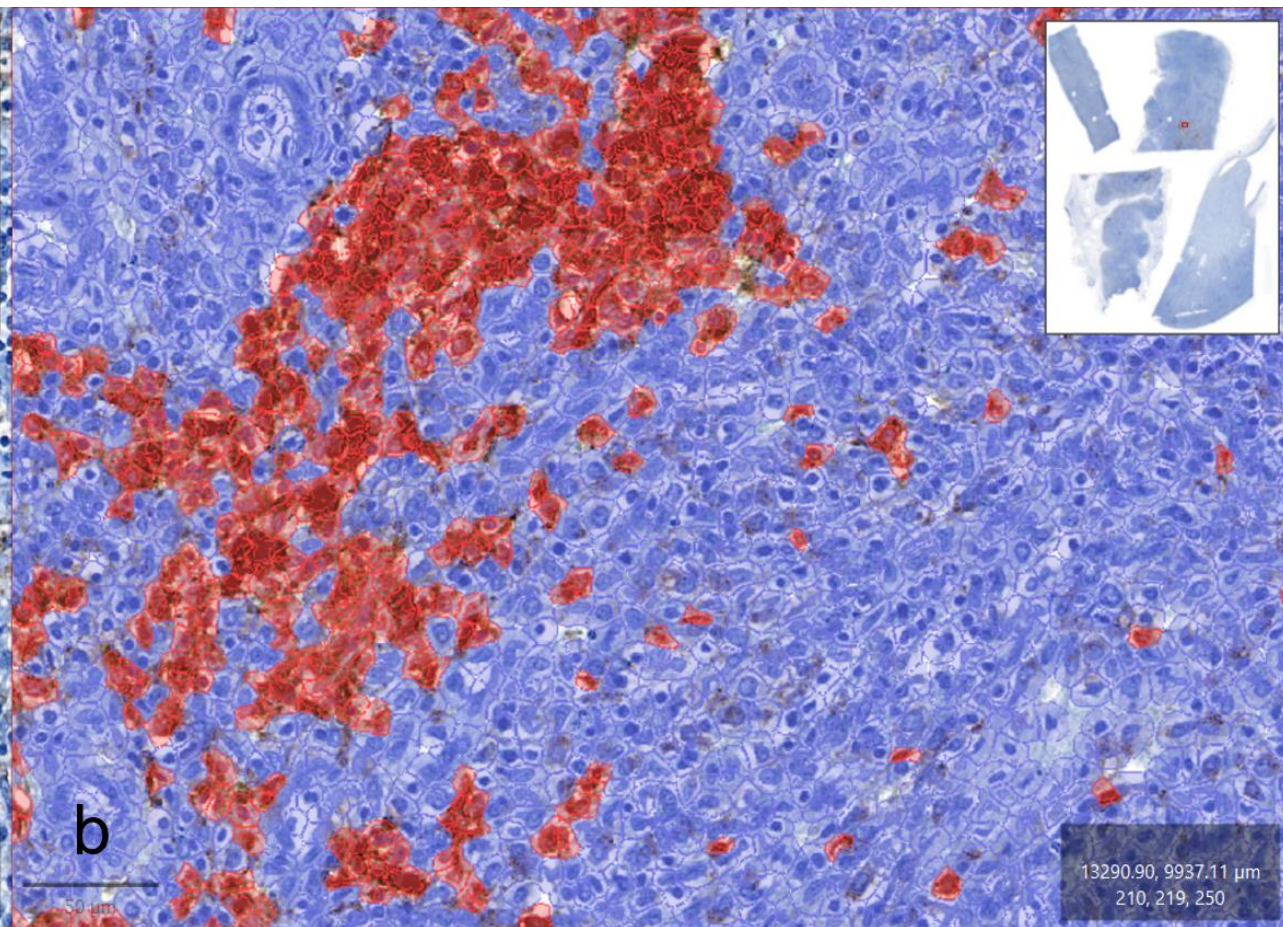
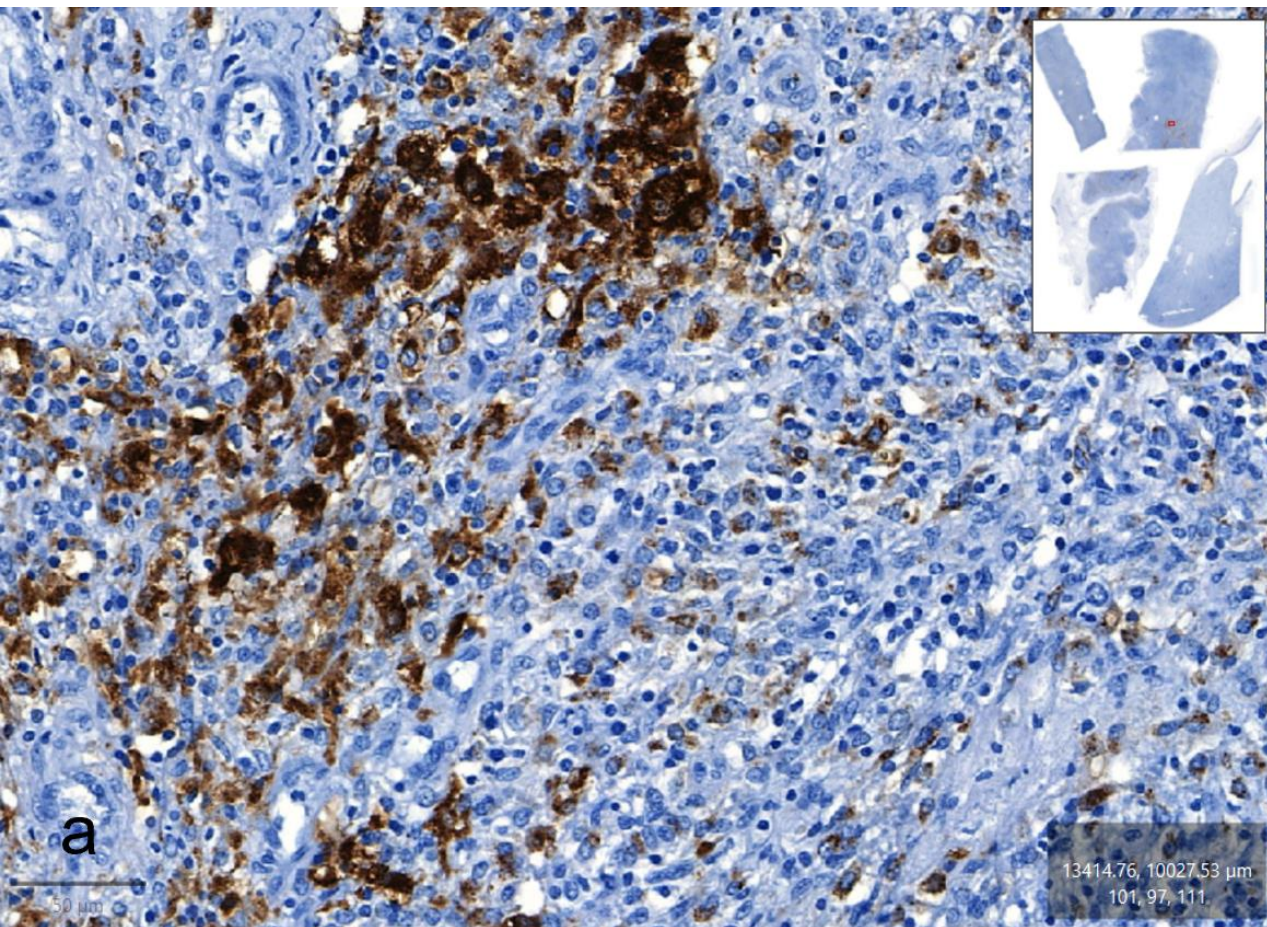
<https://qupath.github.io/>

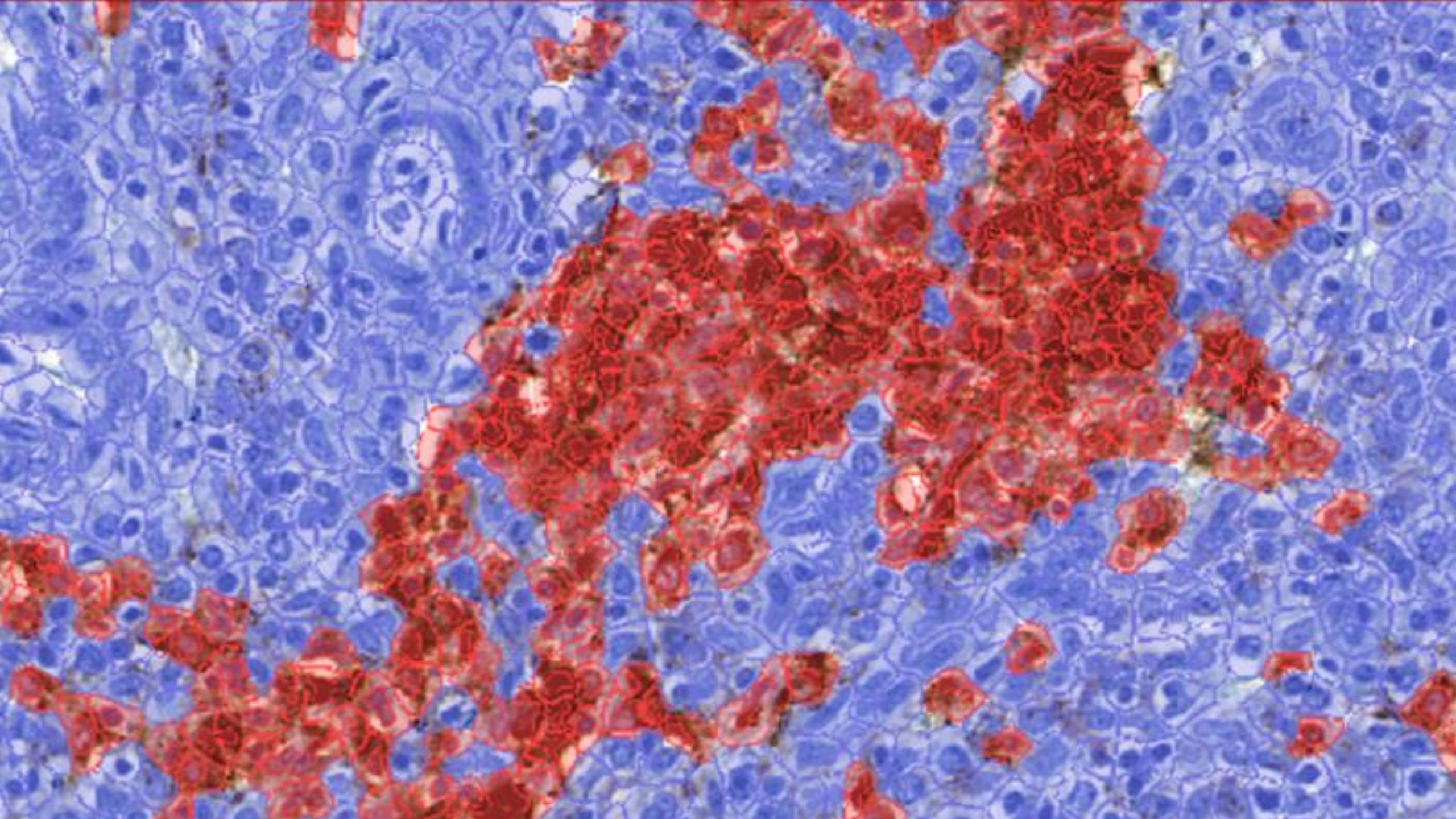


<https://food.au.dk/foodhay/instruments/biomarker-and-screening-platform/food-health-effect-lab/histology-slide-scanner>



https://qupath.readthedocs.io/en/0.3/docs/tutorials/cell_detection.html





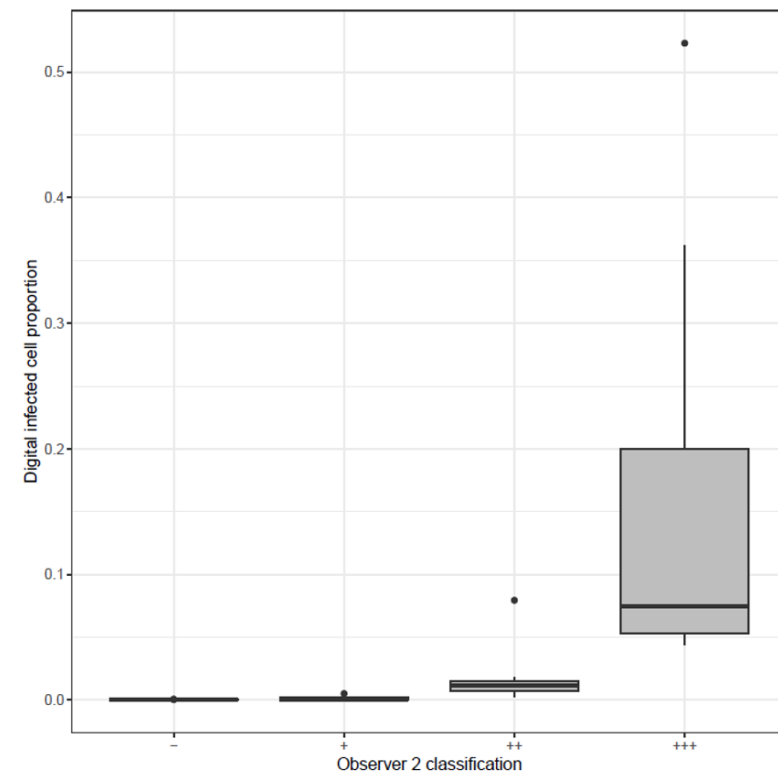
Eset	Sejt	p sejt	n sejt	p/összes sejt	p/n sejt	Vizsgáló1	Vizsgáló2	Ct	Kópiaszám
Case1	1131862	5872	1125990	0,5188	0,005214966	++	+	12,90	1,97E+07
Case2	1038163	10646	1027517	1,0255	0,010360899	++	++	17,63	1,93E+06
Case3	462001	69047	392954	14,9452	0,175712679	+++	+++	8,09	2,11E+08
Case4	335383	5182	330201	1,5451	0,015693472	++	++	12,59	2,30E+07
Case5	872616	38474	834142	4,409	0,046124041	+++	+++	14,21	1,04E+07
Case6	1605046	85512	1519534	5,3277	0,056275148	+++	+++	12,35	2,59E+07
Case7	636292	41	636251	0,0064	6,444E-05	-	-	21,52	2,84E+05
Case8	1158228	2696	1155532	0,2328	0,002333124	+	++	15,16	6,50E+06
Case9	1864635	92	1864543	0,0049	4,93418E-05	-	-	27,48	1,51E+04
Case10	295284	9	295275	0,003	3,04801E-05	-	-	27,73	1,34E+04
Case11	1225710	106	1225604	0,0086	8,6488E-05	-	-	neg	
Case12	510791	28	510763	0,0055	5,48199E-05	-	-	29,51	5,58E+03
Case13	363315	151	363164	0,0416	0,00041579	-	-	30,10	4,17E+03
Case14	340084	177873	162211	52,3027	1,096553255	+++	+++	15,21	6,34E+06
Case15	2089229	24938	2064291	1,1936	0,012080661	++	++	15,29	6,09E+06
Case16	695751	240494	455257	34,5661	0,528259862	+++	+++	8,09	2,11E+08
Case17	1539364	226	1539138	0,0147	0,000146835	-	-	19,13	9,21E+05
Case18	1637279	1160	1636119	0,0708	0,000708995	-	-	30,30	3,78E+03
Case19	1213812	246	1213566	0,0203	0,000202708	+	+	20,78	4,09E+05
Case20	1171083	38	1171045	0,0032	3,24496E-05	-	-	26,90	2,01E+04
Case21	2242192	225	2241967	0,01	0,000100358	-	-	27,26	1,69E+04
Case22	1240409	50	1240359	0,004	4,03109E-05	-	-	21,18	3,36E+05
Case23	2908044	6820	2901224	0,2345	0,002350732	++	+	15,06	6,82E+06
Case24	1134019	42	1133977	0,0037	3,70378E-05	-	-	24,67	6,03E+04
Case25	1053896	185	1053711	0,0176	0,00017557	+	-	28,80	7,91E+03
Case26	776217	5	776212	0,0006	6,44154E-06	-	-	31,12	2,53E+03
Case27	1354293	64	1354229	0,0047	4,72594E-05	-	-	26,73	2,19E+04

Case28	797575	3692	793883	0,4629	0,004650559	+	+	11,96	3,14E+07
Case29	1789164	2158	1787006	0,1206	0,001207606	+	+	18,01	1,60E+06
Case30	1038112	165	1037947	0,0159	0,000158968	+	+	21,85	2,42E+05
Case31	1639206	9981	1629225	0,6089	0,006126226	++	++	14,17	1,06E+07
Case32	1165970	800	1165170	0,0686	0,000686595	+	+	15,26	6,18E+06
Case33	835599	55	835544	0,0066	6,58254E-05	+	+	25,31	4,40E+04
Case34	2209830	262	2209568	0,0119	0,000118575	+	+	19,12	9,26E+05
Case35	1534578	23311	1511267	1,519	0,015424806	+++	++	12,13	2,88E+07
Case36	1017342	678	1016664	0,0666	0,000666887	+	+	17,75	1,82E+06
Case37	1863784	116677	1747107	6,2602	0,066782973	+++	+++	13,96	1,17E+07
Case38	2134883	434	2134449	0,0203	0,000203331	+	+	16,12	4,05E+06
Case39	2139121	228	2138893	0,0107	0,000106597	-	-	neg	
Case40	1007959	364588	643371	36,1709	0,56668392	+++	+++	7,55	2,75E+08
Case41	3135360	476243	2659117	15,1894	0,179098174	+++	+++	7,12	3,39E+08
Case42	568485	45169	523316	7,9455	0,08631305	+++	++	15,35	5,92E+06
Case43	504803	192	504611	0,038	0,000380491	-	+	20,08	5,77E+05
Case44	557247	1044	556203	0,1873	0,001877013	+	+	23,33	1,17E+05
Case45	1191039	61859	1129180	5,1937	0,054782231	+++	+++	11,49	3,95E+07
Case46	1313687	5913	1307774	0,4501	0,004521423	+	+	neg	
Case47	1648454	13282	1635172	0,8057	0,008122693	++	++	14,21	1,04E+07
Case48	1090152	52467	1037685	4,8128	0,050561587	+++	+++	13,42	1,53E+07
Case49	994664	17962	976702	1,8058	0,018390461	++	++	10,65	5,97E+07
Case50	1022486	2068	1020418	0,2023	0,00202662	+	+	16,99	2,64E+06
Case51	1075558	59756	1015802	5,5558	0,058826425	+++	+++	16,43	3,48E+06
Case52	2459422	212651	2246771	8,6464	0,094647385	+++	+++	9,65	9,77E+07
Case53-A	1481790	17546	1464244	1,1841	0,011982976	++	++	13,69	1,34E+07
Case53-B	1446628	9003	1437625	0,6223	0,006262412	++	++	14,29	9,97E+06

Eredmények

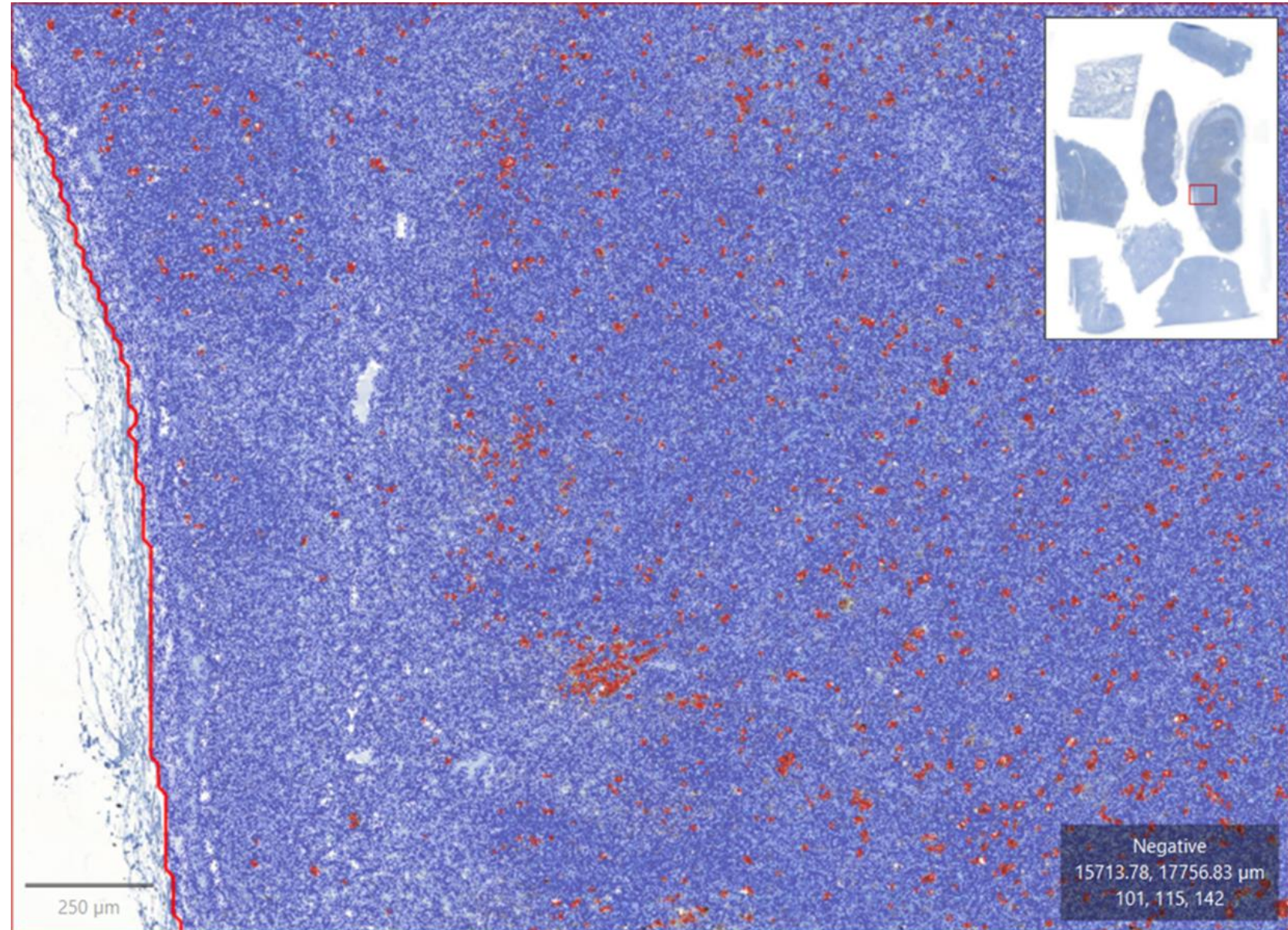
- A két független manuális bíráló 47/54 (87.04%) esetben azonos pontszámot adott ami erős egyetértést mutat (súlyozott $\kappa = 0.898$, Fleiss' kappa, $p < 0,0001$)
- A logisztikus regresszió alapján kevés fertőzött sejt volt jelen a negatívnak értékelt esetben, a fertőzött sejtek aránya pedig a növekvő manuális pontszámoknak megfelelően nőtt
- Szignifikáns pozitív korrelációt állapítottunk meg a fertőzött/nem fertőzött sejtarány és a qPCR által mért PCV-2 DNS kópiaszámok között ($\rho = 0,8461$, Spearman-korreláció, $p < 0,0001$)

	Esélyhányados (Odds ratio)	Esélyhányados standard hiba	p-érték
(Intercept/Metszéspont)	0,000138156	1,019616615	<0.00001
Vizsgáló 2 +	11,22050384	1,020463469	<0.00001
Vizsgáló 2 ++	94,5701931	1,019764008	<0.00001
Vizsgáló 2 +++	1022,553022	1,019631924	<0.00001



Összegzés

- A QuPath digitális képelemzés felhasználható a PCV-2 IHC jelek pontos számszerűsítésére
- A jelenleg alkalmazott manuális módszer hatékonysága ellenére egy digitális patológiai rendszer elősegítheti a PCV-2-SD objektívebb egyedi diagnosztizálását



Köszönöm a figyelmet!