

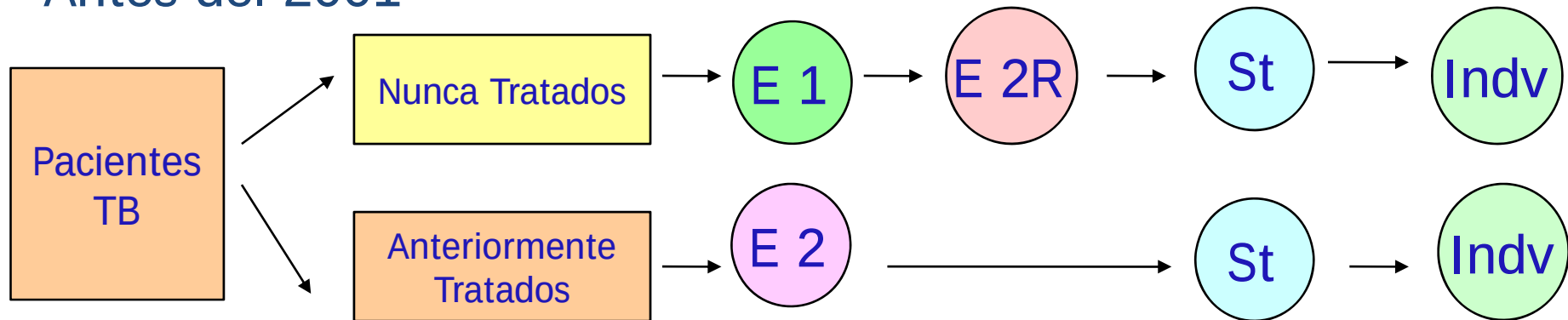
Telediagnóstico de tuberculosis

Mirko Zimic, PhD. MSc. MHS.

Jefe de la Unidad de Bioinformática
Profesor Sección de Bioquímica y Biología Molecular
Universidad Peruana Cayetano Heredia
mirko.zimic@upch.pe

Esquemas de Tratamiento anti-Tuberculosis en el Perú

Antes del 2001



A partir de Marzo 2001 (Nov 2000)

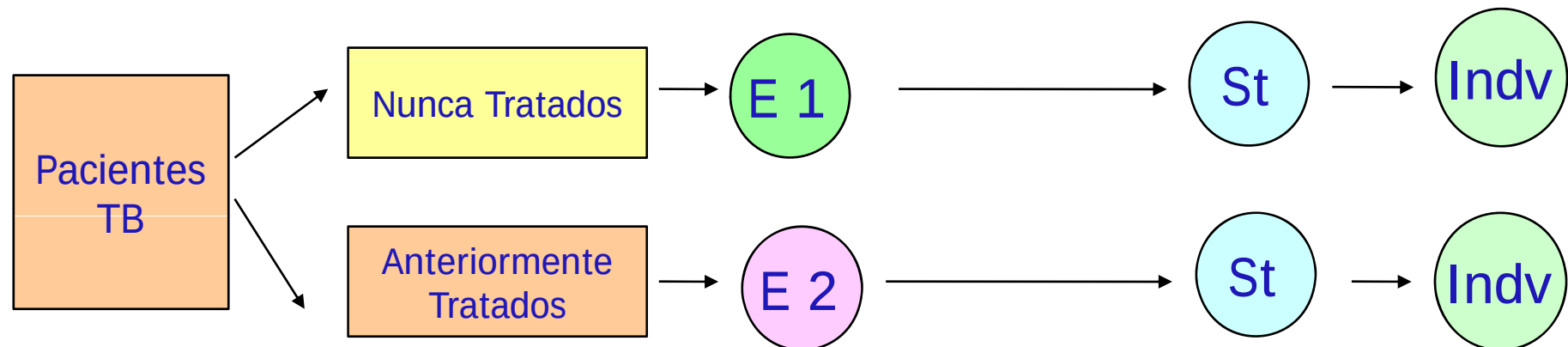
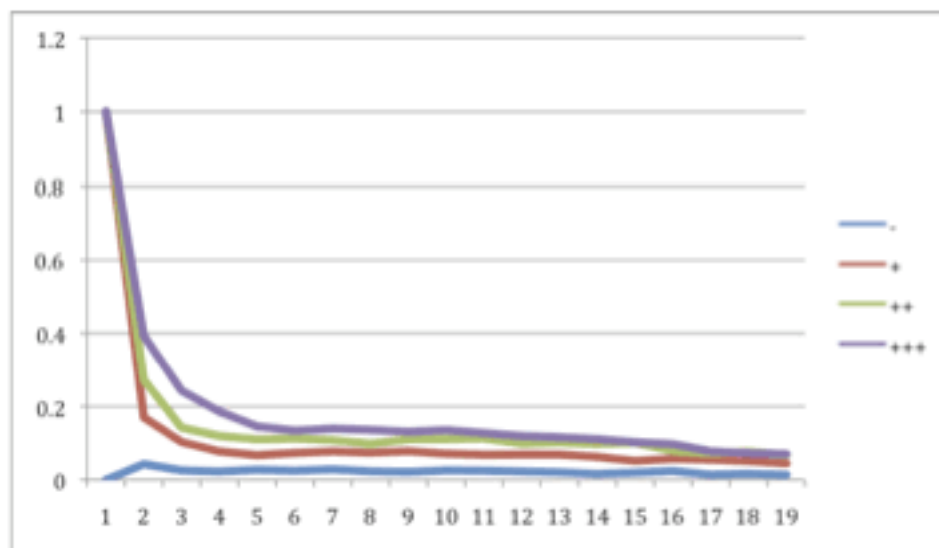


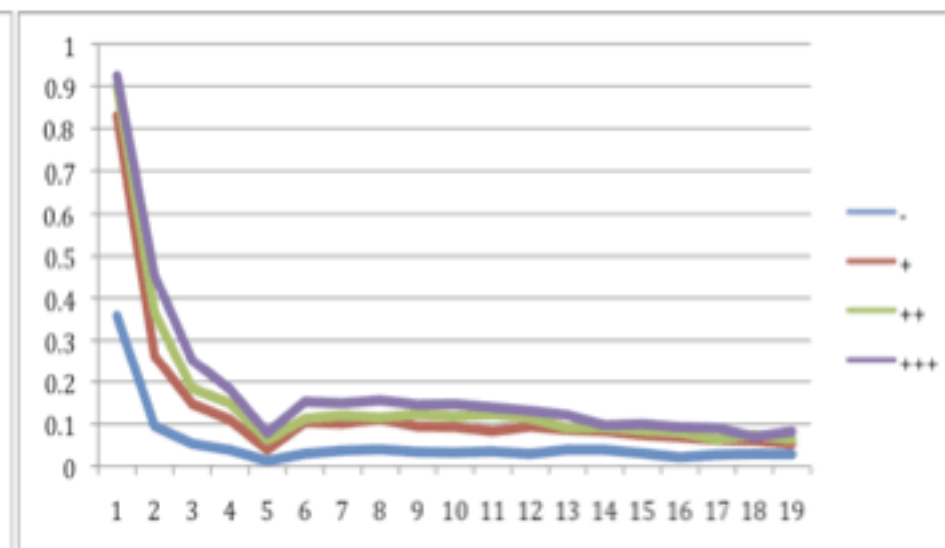
Table 1

Predictor covariate	Simple logistic regression OR (P-value)	Multiple logistic regression (3rd month) OR (P-value)	Multiple logistic regression (1st month) OR (P-value)	Multiple logistic regression (baseline) OR (P-value)
Sex	1.03 (0.676)	1.15 (0.411)	1.11 (0.417)	1.04 (0.663)
Age	1.00 (0.108)	0.99 (0.095)	1.00 (0.711)	1.00 (0.150)
Stand 5 vs 7	0.49 (0.000)	0.47 (0.028)	0.47 (0.005)	0.54 (0.001)
Bk init.	3.16 (0.000)	1.65 (0.050)	1.74 (0.007)	2.22 (0.000)
Cult init.	4.60 (0.000)	-	-	-
Bk 1 st m	3.25 (0.000)	-	-	NE
Cult 1 st m	4.48 (0.000)	2.76 (0.000)	3.29 (0.000)	NE
Bk 2 nd m	5.04 (0.000)	-	NE	NE
Cult 2 nd m	7.58 (0.000)	-	NE	NE
Prev retreat	0.49 (0.000)	2.39 (0.006)	2.16 (0.002)	1.66 (0.004)
Clin evol 3 rd stationary	3.16 (0.000)	3.10 (0.000)	NE	NE
Clin evol 3 rd Unfavorable	18.63 (0.000)	2.71 (0.032)	NE	NE
X-ray evol 3 rd station.	3.18 (0.000)	1.95 (0.001)	NE	NE
X-ray evol 3 rd unfavor.	21.63 (0.000)	13.13 (0.000)	NE	NE
Standard. scheme	6.57 (0.000)	23.54 (0.000)	17.92 (0.000)	12.57 (0.000)
Empiric scheme	1.46 (0.123)	3.89 (0.046)	3.43 (0.021)	2.42 (0.024)
Resist. R	2.58 (0.000)	-	-	1.63 (0.008)
Resist. H	2.23 (0.000)	2.18 (0.005)	2.13 (0.001)	1.78 (0.003)
Resist Z	1.63 (0.000)	2.12 (0.000)	2.07 (0.000)	1.88 (0.000)
Resist E	1.75 (0.000)	1.55 (0.015)	1.64 (0.000)	1.81 (0.000)

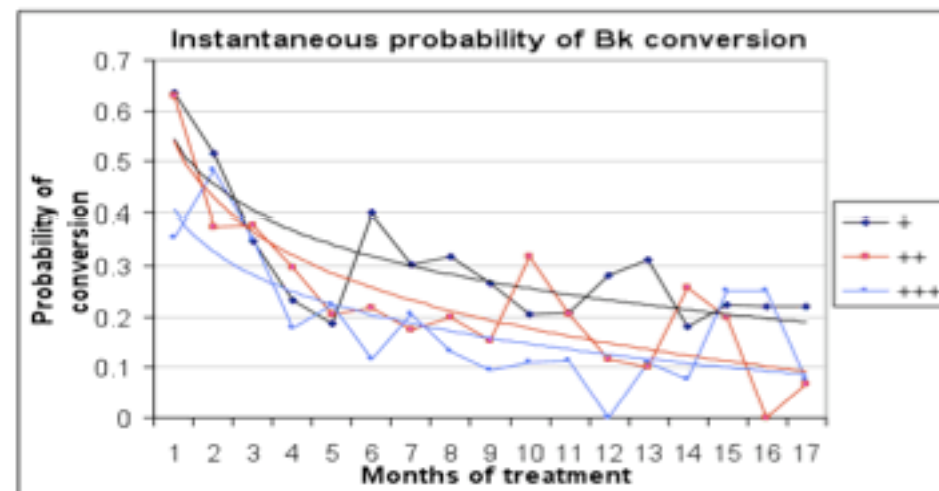
A



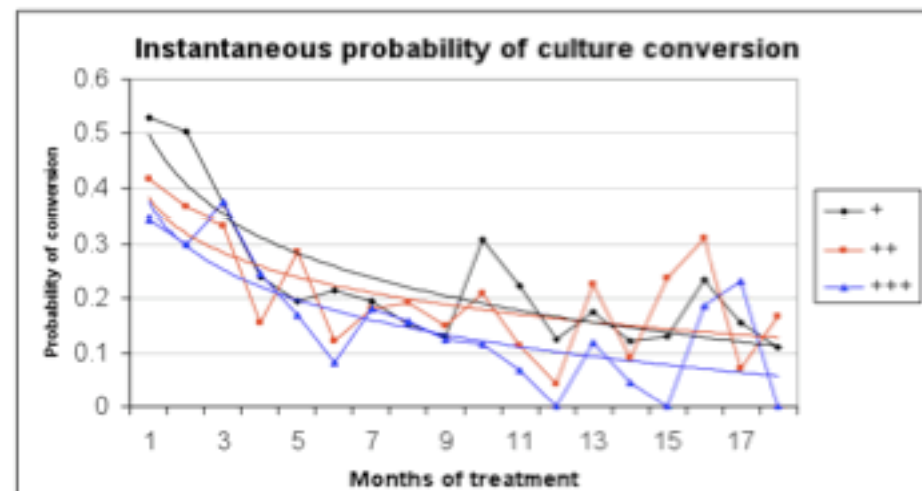
B



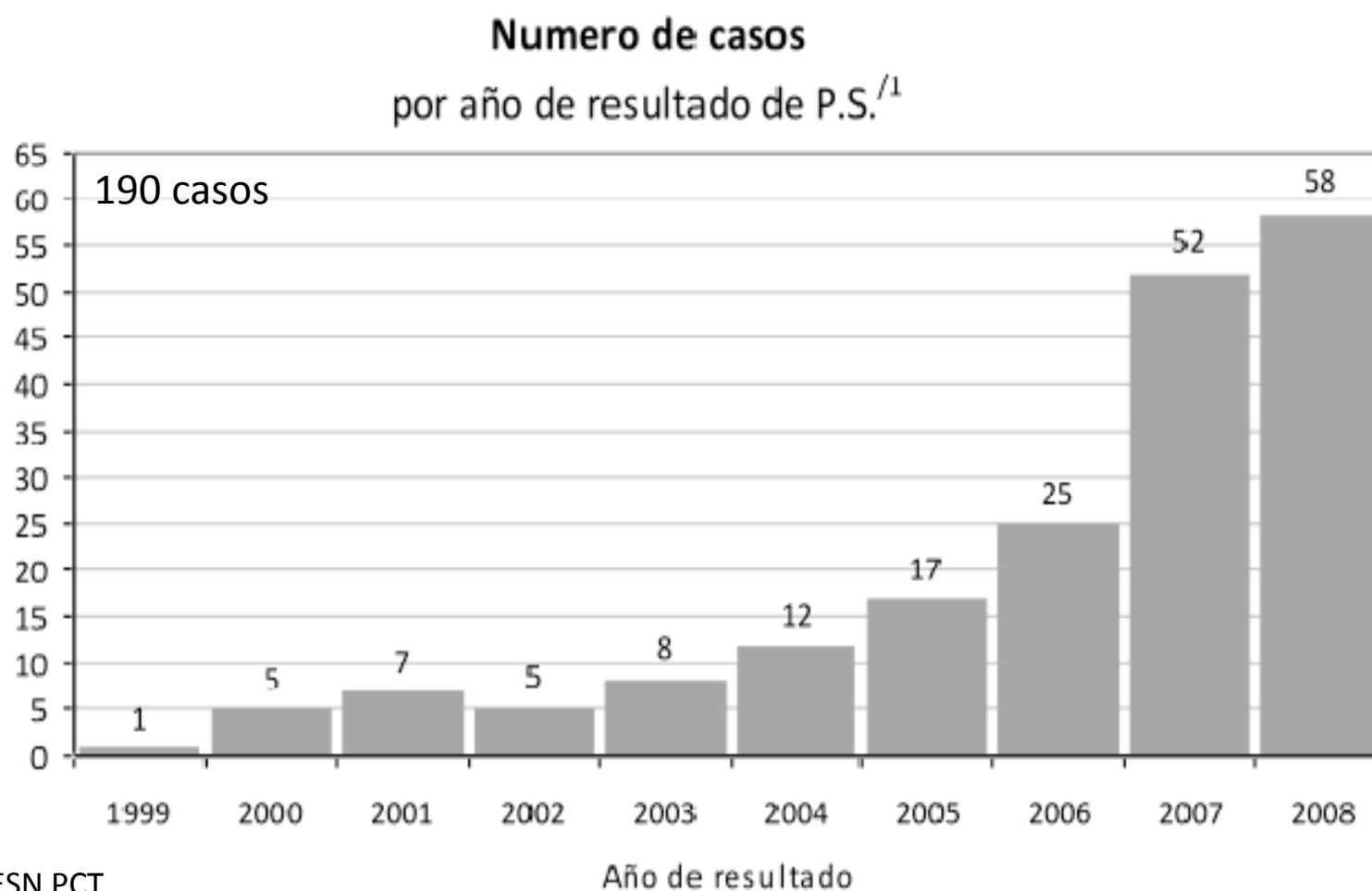
C



D



TB XDR en el Perú



Fuente: ESN PCT

Octubre 2008

Requerimiento urgente:

- Diagnóstico MDR
susceptibilidad rápidas

- Inicio temprano de un
tratamiento oportuno

Mycobacterium forma cordones en cultivos líquidos

Vol. 192, 2010

CORDING IN NONPATHOGENIC MYCOBACTERIA 1757

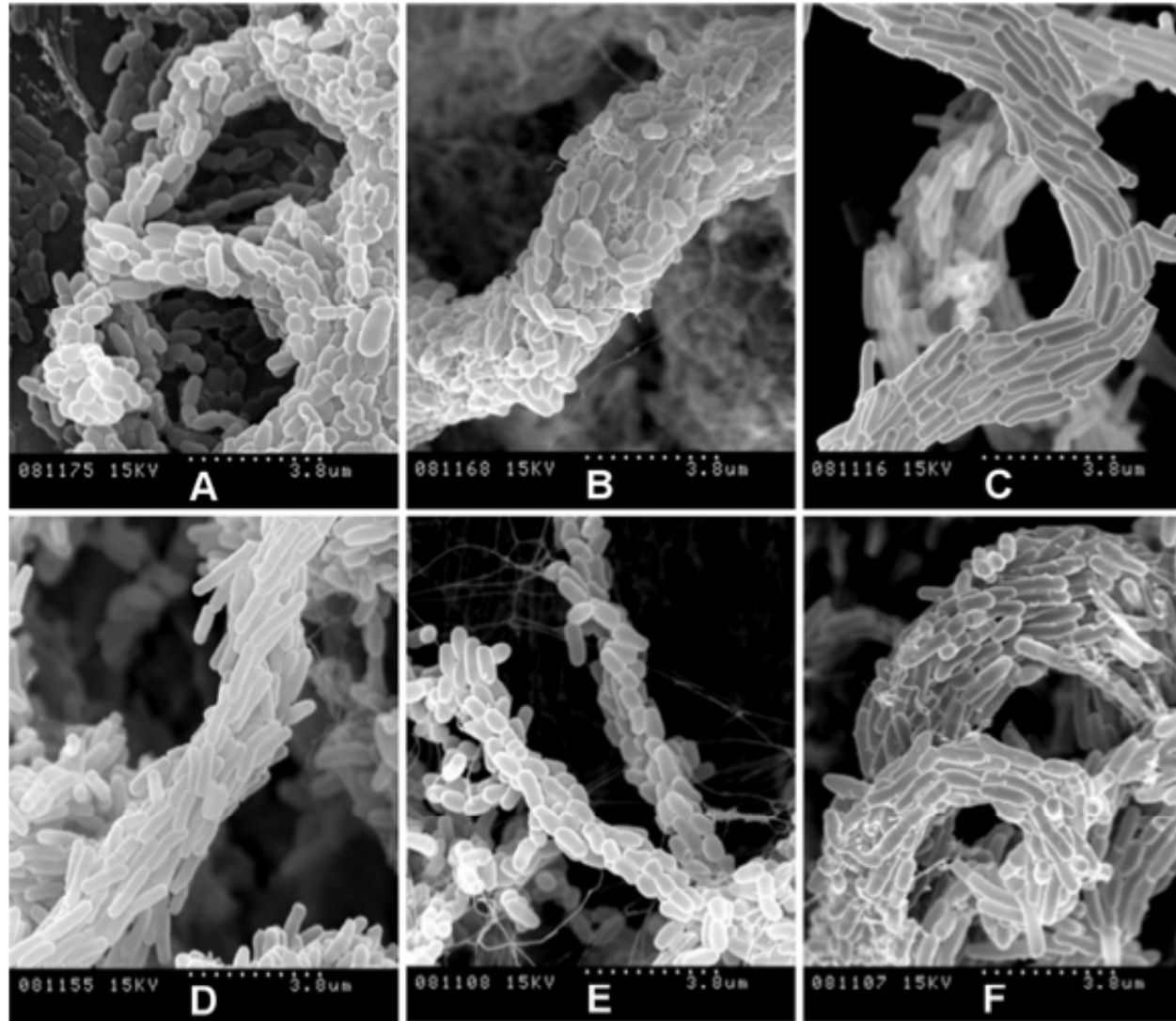
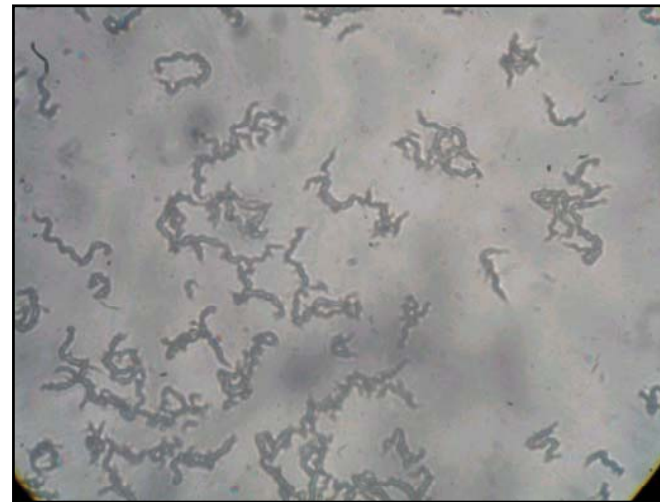
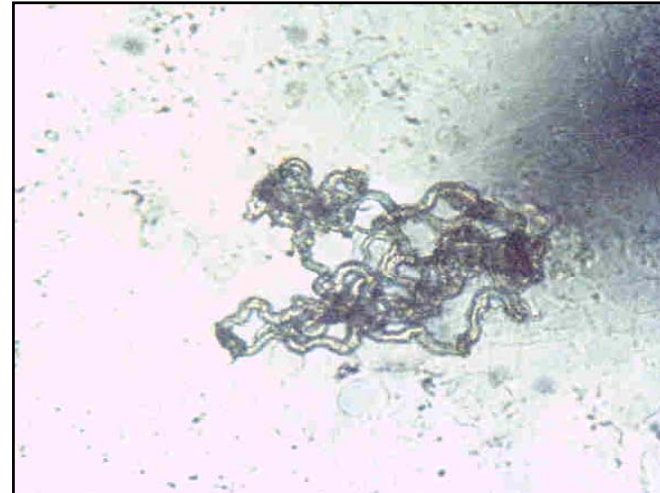
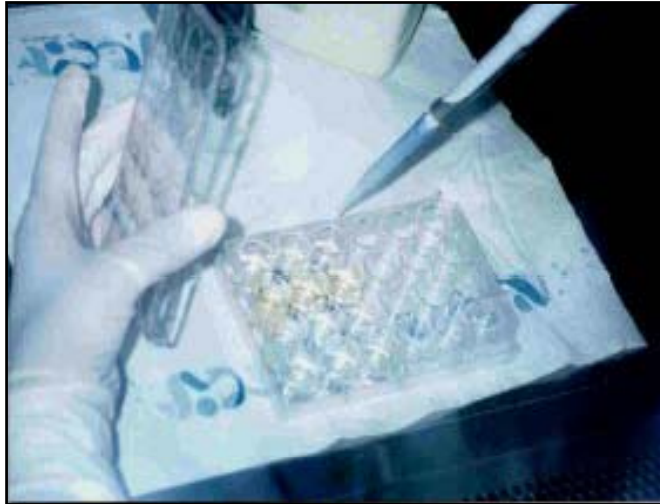
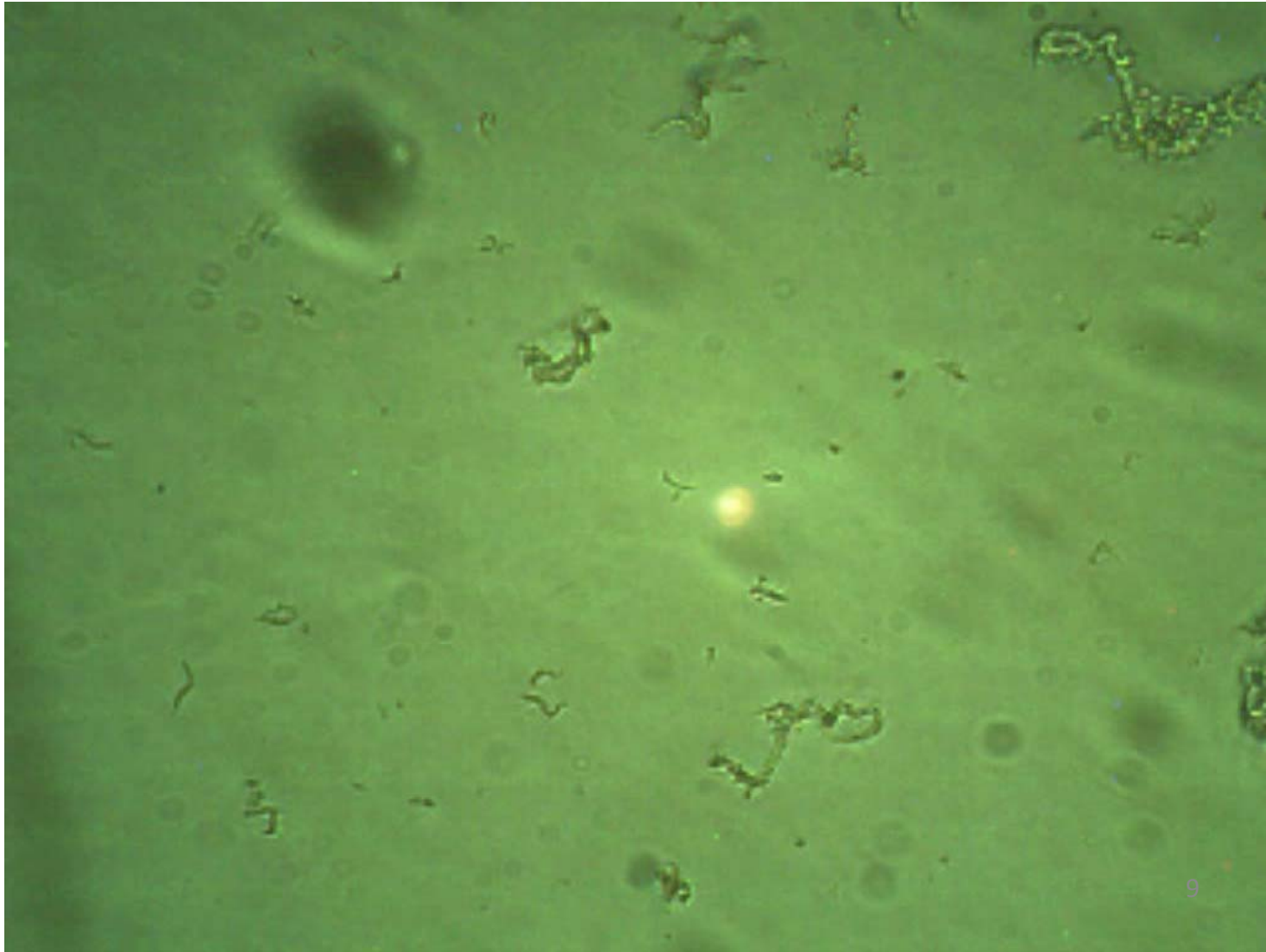


FIG. 6. High magnification of spreading pellicles, fixed with conventional methods for SEM, with bacilli arranged along the long axis of the cord. SEM micrographs at high magnification show details of cords formed in liquid medium by rough colonies of *M. chubuense* (A), *M. gilvum* (B), *M. marinum* (C), *M. obuense* (D), *M. parafortuitum* (E), and *M. vaccae* (F) in samples processed following conventional SEM procedures of fixation with aldehydes. The images are representative of images obtained from four different cultures.

MODS



Crecimiento de colonias de M. Tuberculosis en un
cultivo MODS por 72 horas
(campos tomados cada 15 minutos)



Ventajas

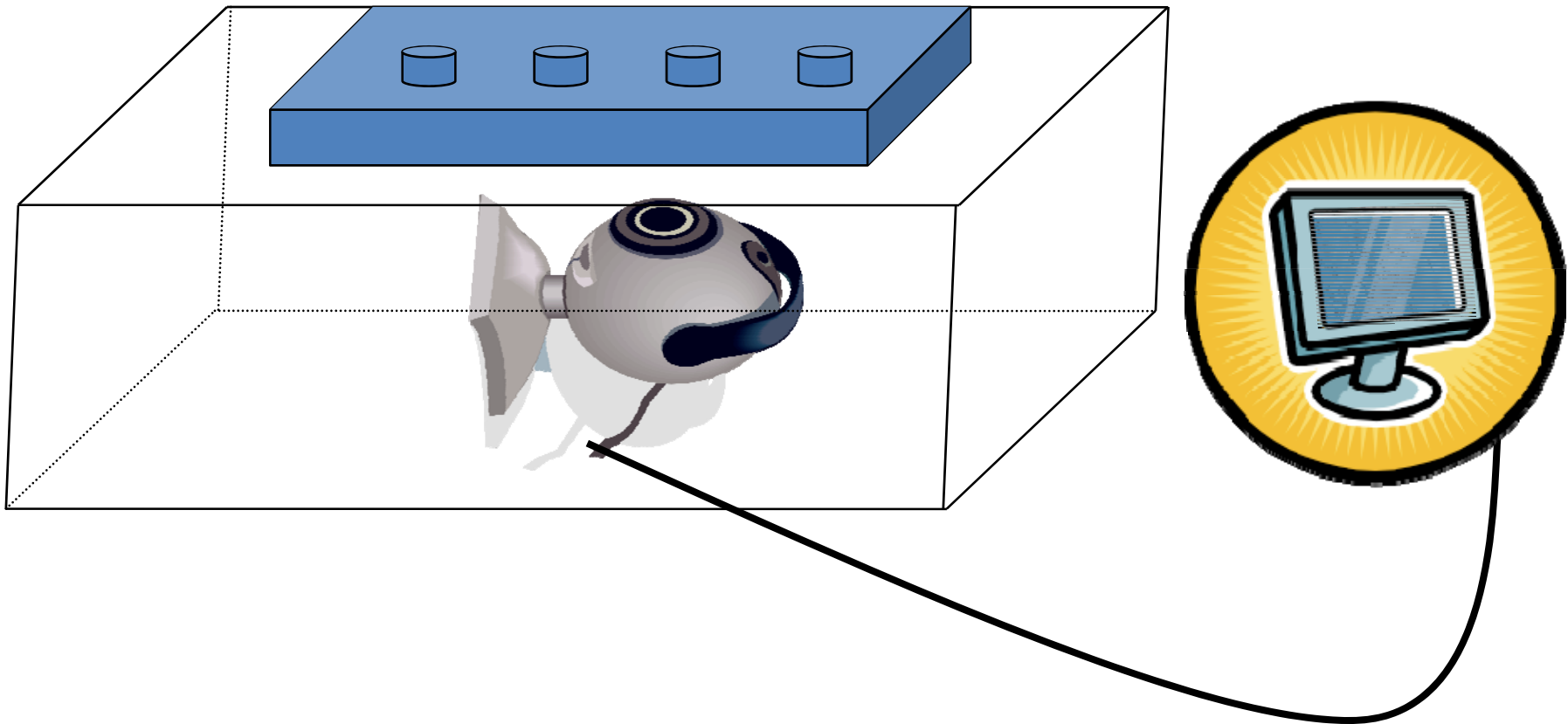
VS

Desventajas

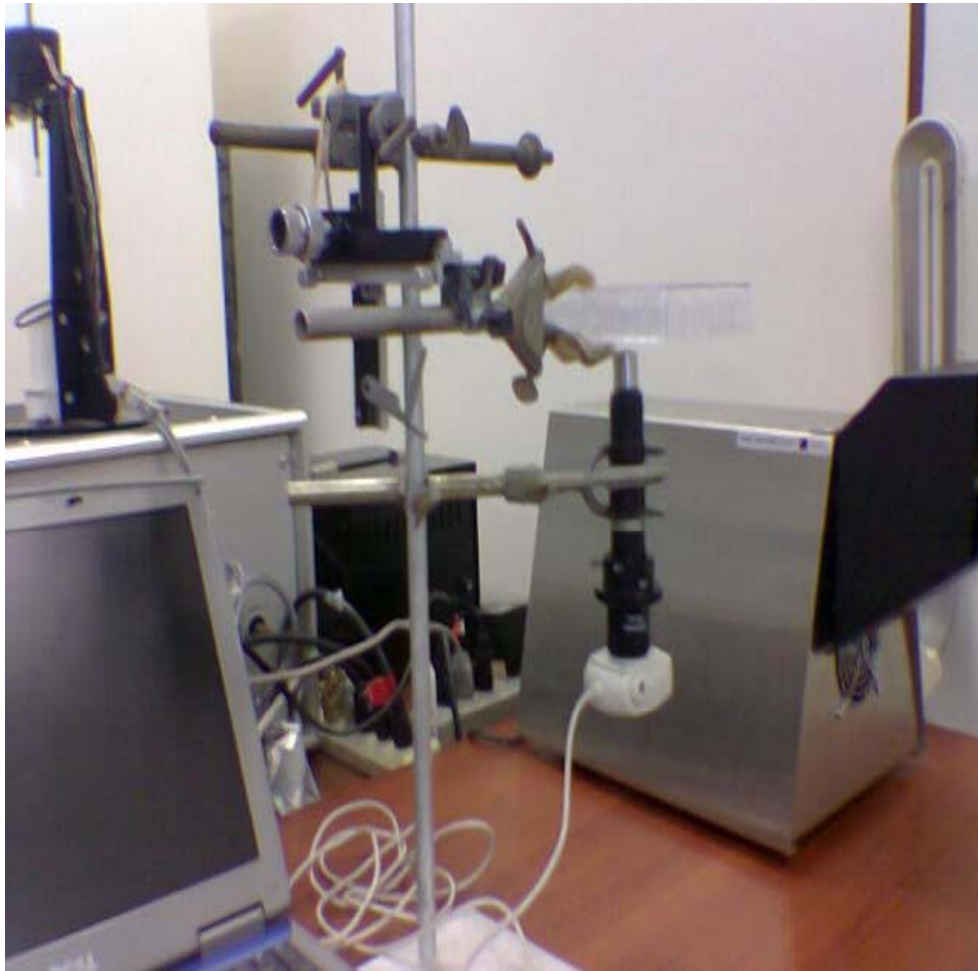
- Menor tiempo (7–13)
- Menor costo (< \$1)

- Reconocimiento Especializado.
- Microscopio Invertido (\$5000-8000)

Microscopio invertido “alternativo”



Modelo Artesanal Microscopio Invertido







Microscopio de Radio Sharp costo s/40.00 aprox.



Se tuvo que
descartar su uso
pues a los 2
meses de trabajo
presento
inconvenientes
de conservación.

Adquisición de Imágenes

- Para la adquisición de las imágenes se utilizó una cámara digital marca Genius DV 600 provista de un sensor tipo CMOS con un máximo de resolución en fotografía de 3.3 Mega píxel.
- Propiedades: Adquisición de imágenes en modo cámara digital, salida de video, modo web cam, tarjeta de memoria .



Construccion del Modelo



Prototipo final de un microscopio invertido digital de bajo costo



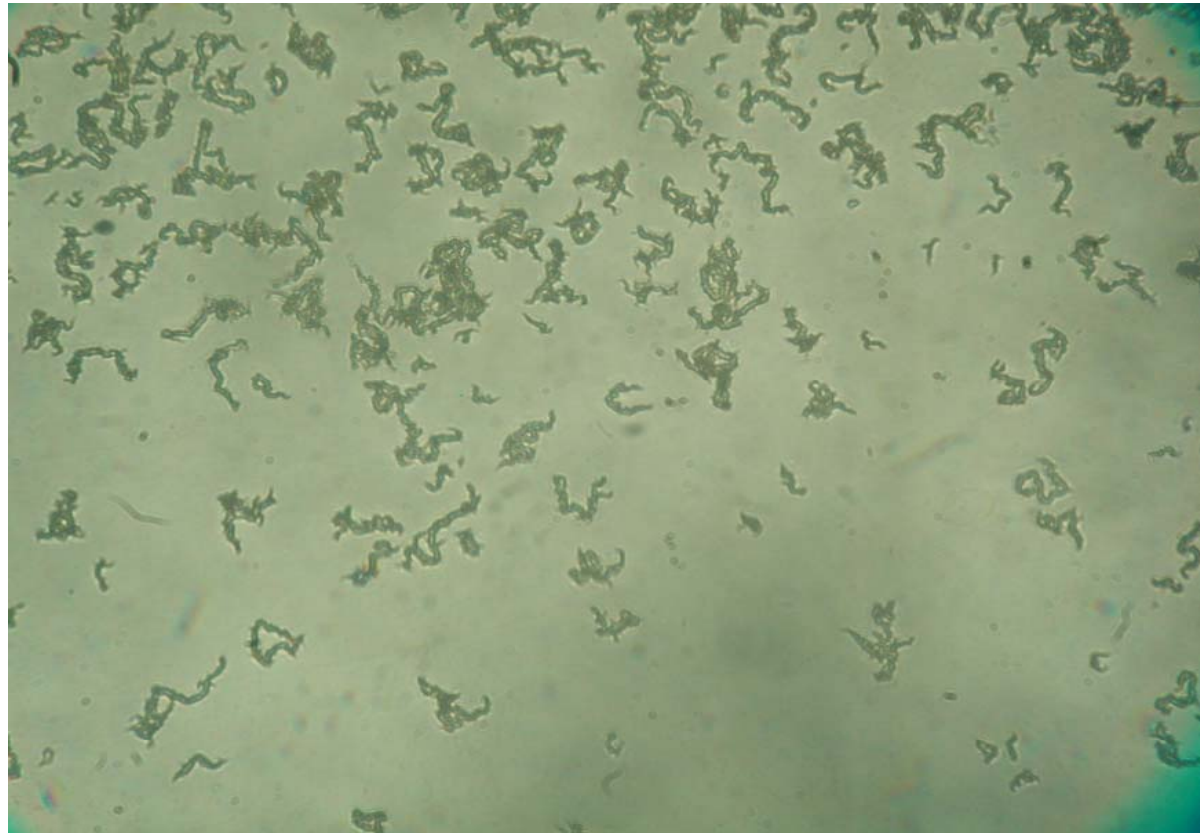
**Development of low-cost MODS plate reader to detect early growth of
*Mycobacterium tuberculosis***

Mirko Zimic^{a*}, Abner Velazco^b, Germán Comina^b, Jorge Coronel^a, Patricia Fuentes^a, Carmen G Luna^a, Patricia Sheen^a, Robert H Gilman^{a,c}, David AJ Moore^{a,c,d}

- a** Laboratorios de Investigación y Desarrollo
Facultad de Ciencias y Filosofía
Universidad Peruana Cayetano Heredia
Av. Honorio Delgado 430
San Martín de Porras
Lima 31, Perú
- b** Laboratorio de Películas Delgadas
Facultad de Ciencias
Universidad Nacional de Ingeniería
Av. Tupac Amaru 210, Rimac
Lima 25, Perú
- c** Department of International Health
Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health
615 North Wolfe St., Room 5515
Baltimore, MD 21205
USA
- d** Department of Infectious Diseases and Immunity
Wellcome Centre for Clinical Tropical Medicine
Imperial College London
Faculty of Medicine (Hammersmith Campus)
DuCane Road
London W12 0NN, UK

Cultivo MODS: *M. tuberculosis*

- Fotografia 10x-5dias



Reconocimiento de Patrones

SELECCION INICIAL

TAMAÑO

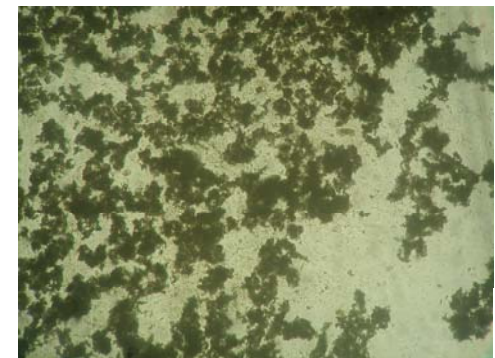


1. Comas

2. Cordones



3. Conglomerados



Características - Cordones

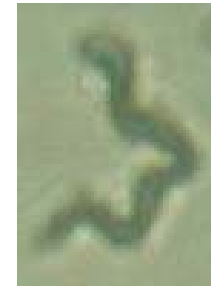
➤ Puntigudos> En los extremos (Delgados).

➤ Longitud> Aproximada.

➤ Espesor

➤ Birrefringencia > Desdoblamiento de un rayo luminoso. Puntos de mayor claridad en su interior.

➤ Forma > Sinuosa.



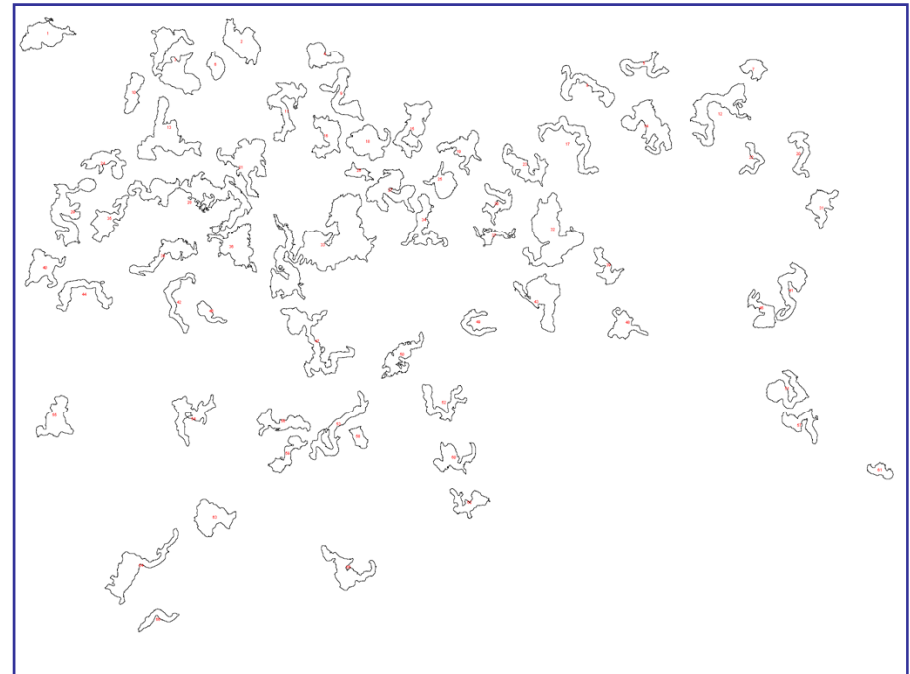
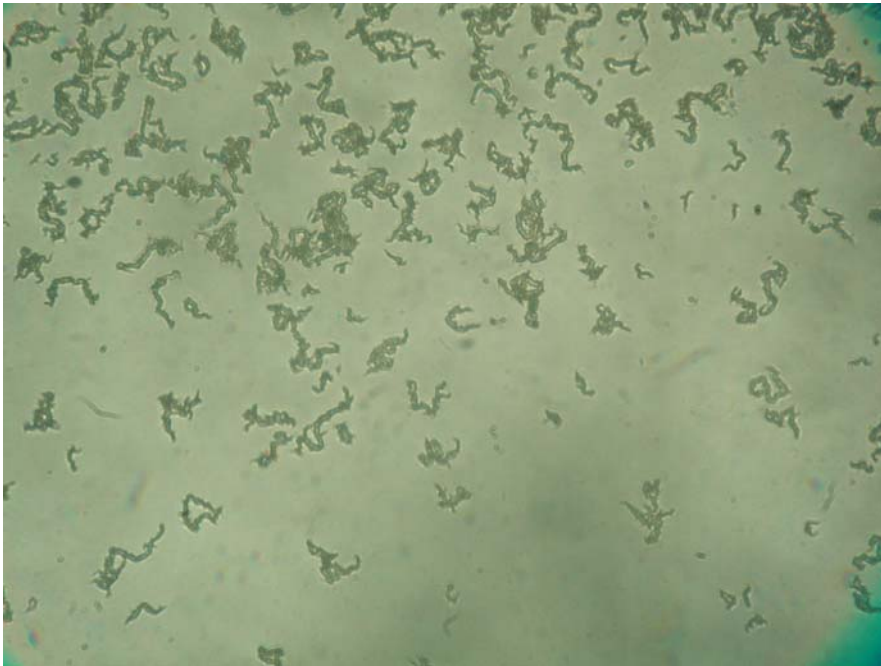
Procesos por Automatizar

➤ Tratamiento de Imagen

➤ Reconocimiento de Patrones

Proceso 1

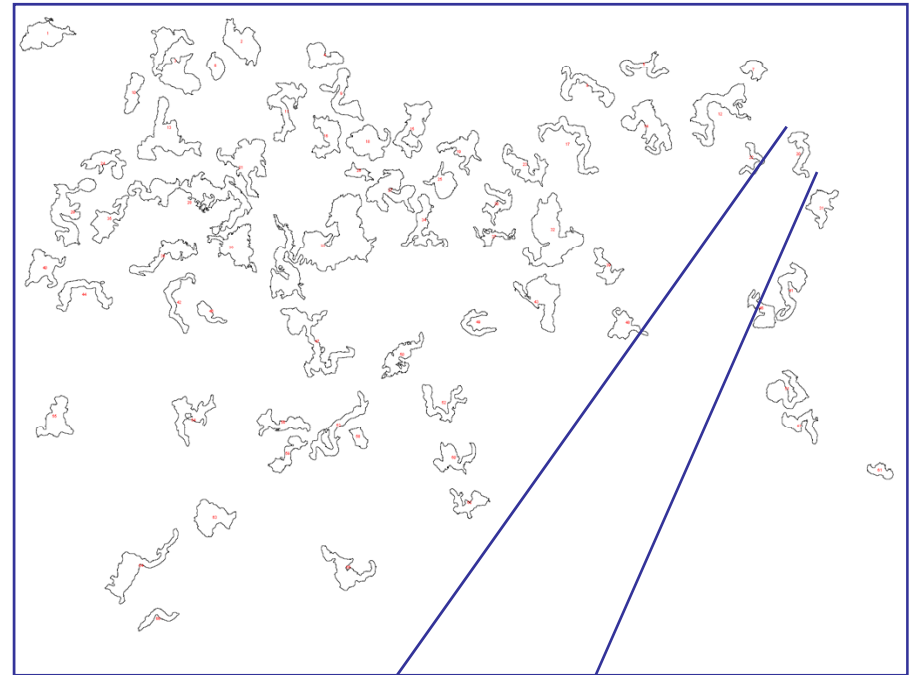
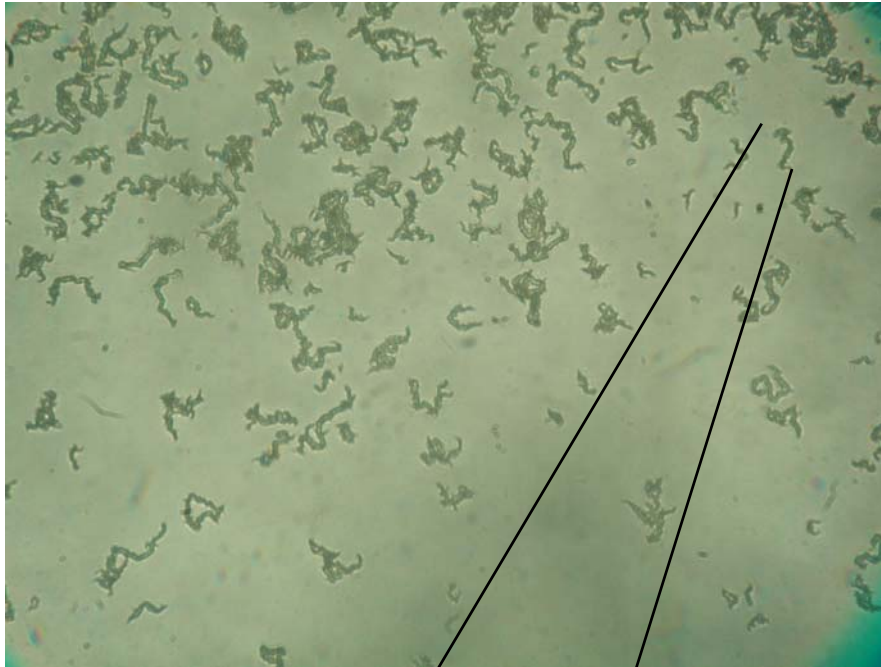
➤ Tratamiento de Imagen



Proceso a relizar semejante al Image J software libre

Selección Inicial - Tamaño

- Algoritmo de Encapsulamiento (3-55 segundos), solo cordones.



Características - Cordones

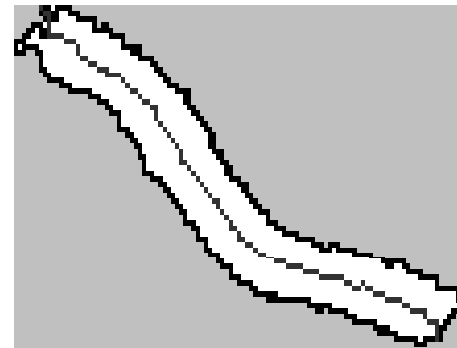
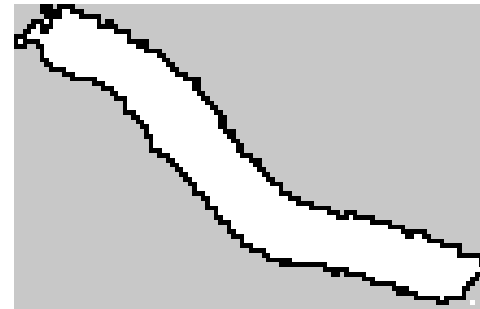
- Punta > En los extremos.
- Tamaño > Aproximada.
- Bi-refringencia > Puntos de mayor claridad en su interior.
- Espesor
- Forma > Sinuosa.



Preeliminaries

Esqueleto de una Figura

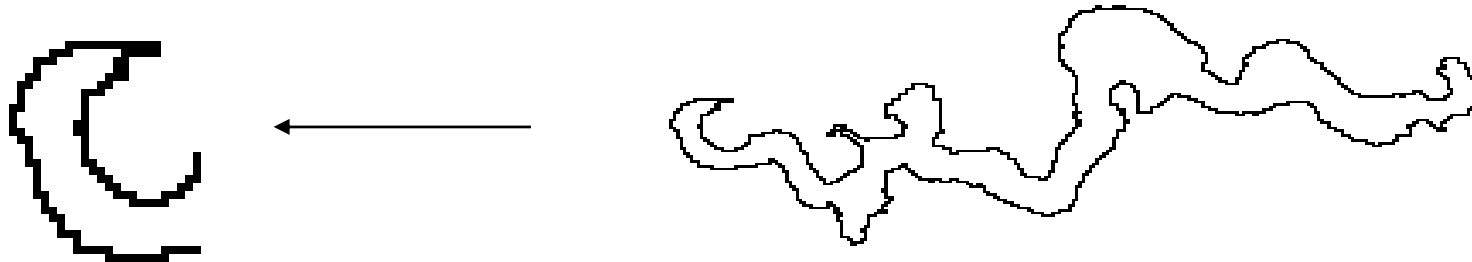
- Es importante para el estudio de cada bacteria encontrar el esqueleto, linea que represente mejor la forma de la bacteria.



Características - Cordones

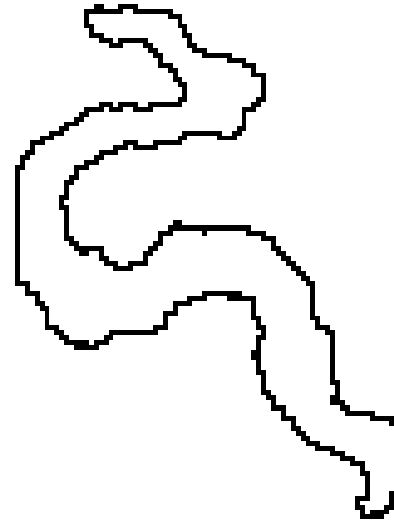
➤ Punta > En los extremos puntiagudo.

Para hallar el o los puntos con mayor probabilidad donde encontraremos una punta en una bacteria necesitamos conocer su borde.



Algoritmo de borde

- Procedimientos de recorrido con dirección.

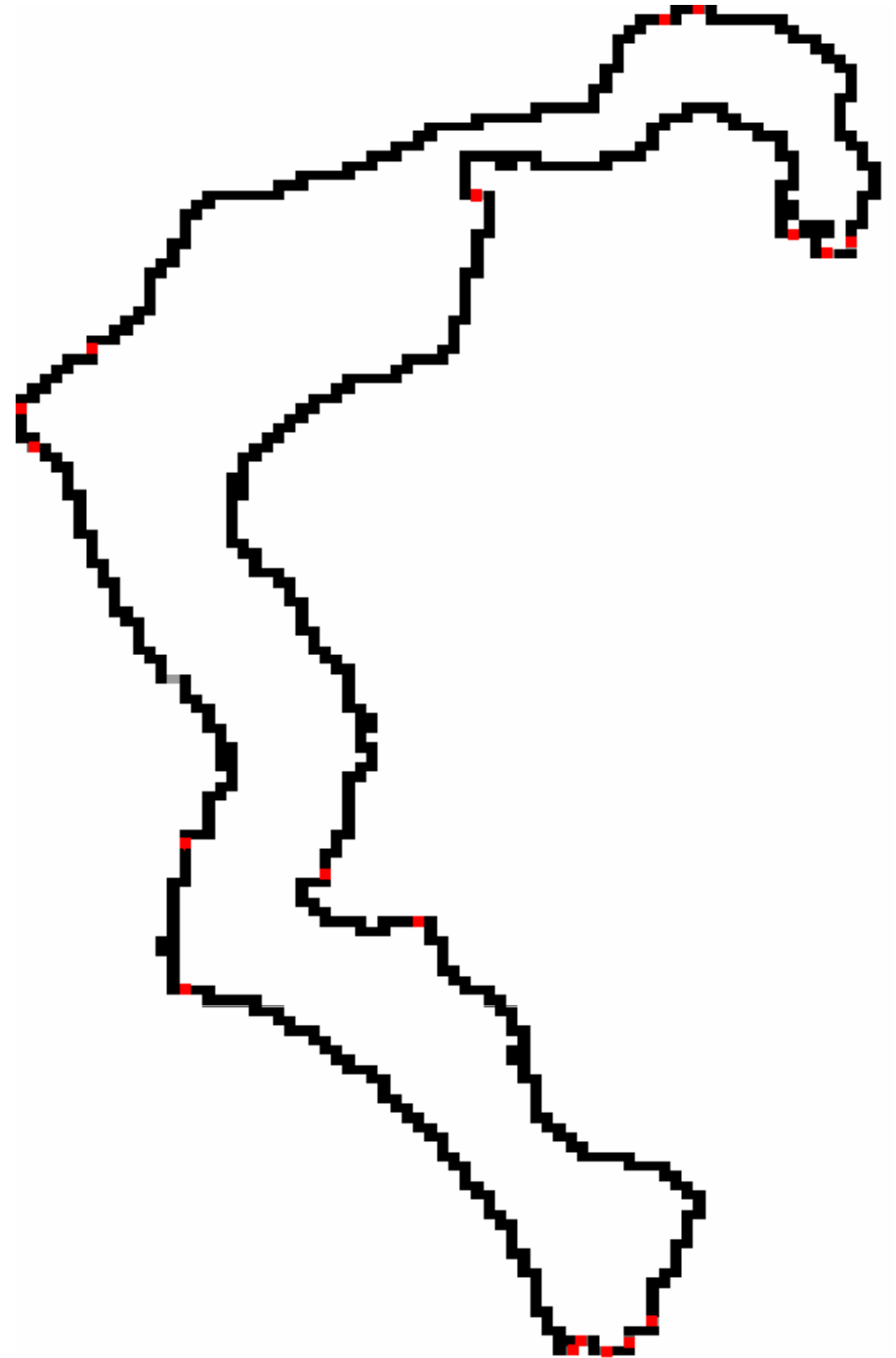


**Vector
Borde**

Algoritmo Puntas

1. Criterio de dirección –

Selección Gruesa
dependiendo de la figura

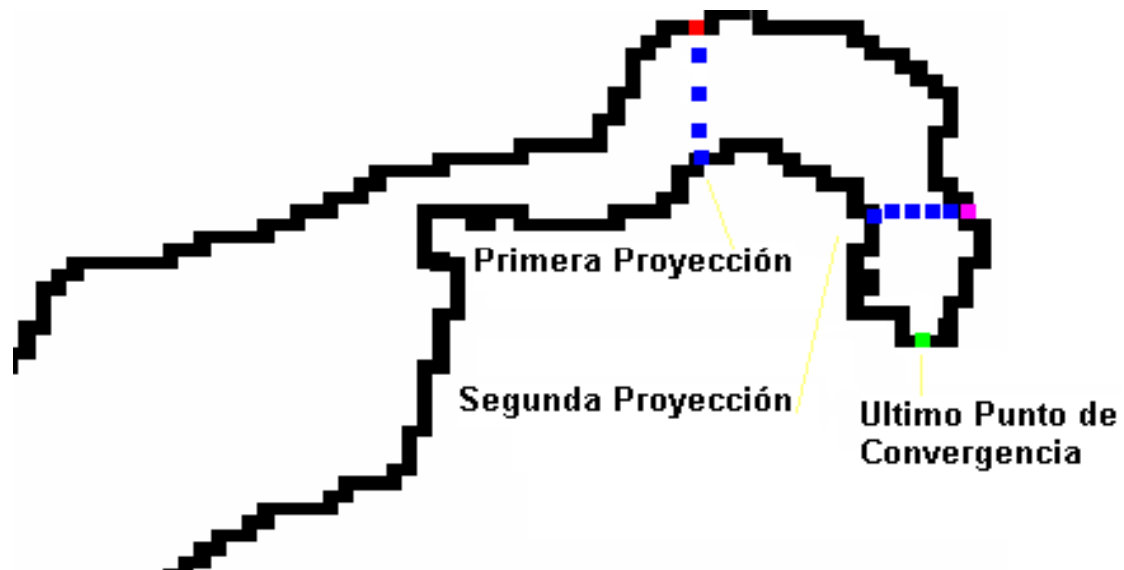


Algoritmo Puntas

2. Convergencia –

Movimiento por criterio de
distancias minimas.

(Idea tomada del algoritmo de Puntos Interiores para
optimizacion de funciones)



Algoritmo Puntas

3.Convexidad –

Principio "Toda Punta es el sentido
de barrido convexa"



Algoritmo Puntas

4. Distancia entre pixeles -

Puntas no son gruesas

Distancias en el sentido de barrido menores a una valla

Analisis Estadistico (n=80)

Promedio de las distancias

15 pixeles

	sensibilidad	0.9
% agreemen	especificidad	0.88888889
0.897435897	Val. Pred. +	0.96428571
	Val. Pred. -	0.72727273

Desviación Estandar

	sensibilidad	0.96666667
% agreemen	especificidad	0.94444444
0.961538462	Val. Pred. +	0.98305085
	Val. Pred. -	0.89473684

Algoritmo Puntas

1. Criterio de dirección.
2. Convergencia.
3. Convexidad.
4. Distancia y desviación estándar entre pixeles.

Al final del recorrido he podido identificar las puntas con un porcentaje de acierto de mas de 89%

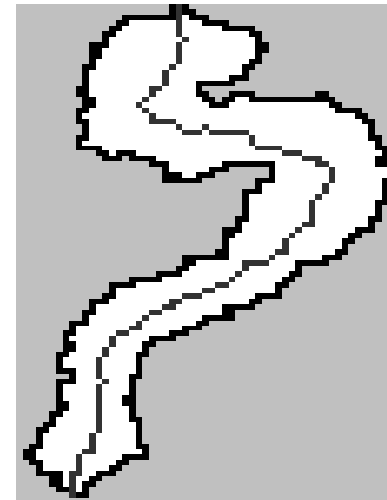
Características - Cordones

- **Longitud.**

Con un patron de medidas reales ya teniendo el esqueleto se puede establecer la medida de cada pixel dependiendo de la posicion en la que se encuentre.

Solo tenemos que medir el esqueleto principal.

A mejor esqueleto mejor aprox. longitud

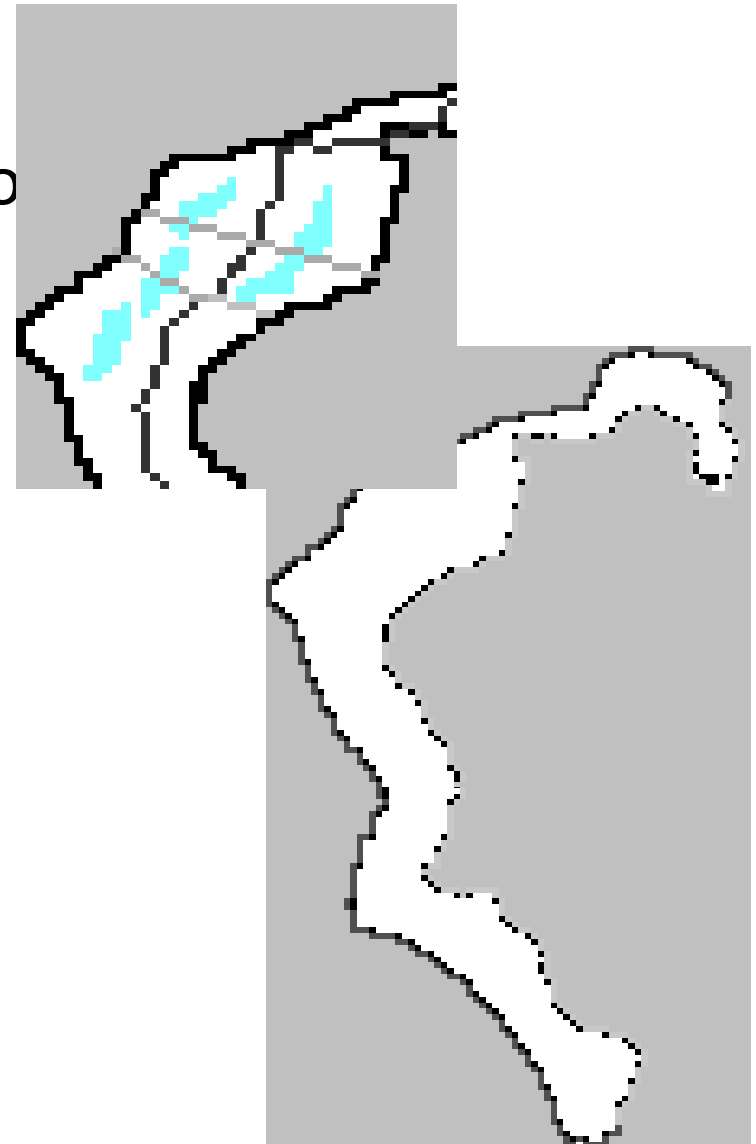


Características - Cordones

- **Birrefringencia.**

Con el esqueleto hemos segmentado a la bacteria en dos partes arriba y abajo, trazando rectas perpendiculares a cada sector de la bacteria podemos mediante un estudio del color saber se posee birrefringencia.

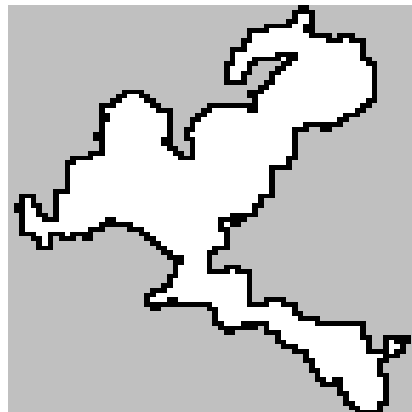
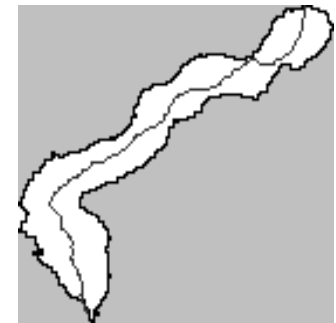
Mejor esqueleto, vectores de arriba y abajo, mejores lineas.



Características - Cordones

- **Espesor.**

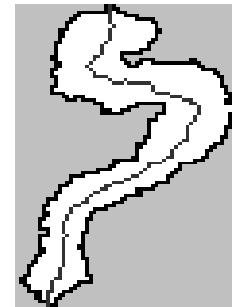
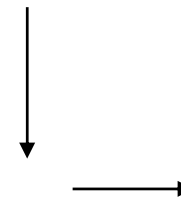
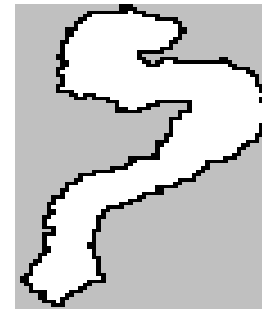
Del algoritmo del esqueleto encontramos el espesor que nos dira que tan confiable es el esqueleto, pues a un espesor moderado , la bacteria sera mas lineal.



Características - Cordones

- **Forma.**

Un buen esqueleto nos brindara la forma de la figura estudiandolo con algoritmos de interpolación de datos (spline cúbicos).



Training y Testing Set (1500 imágenes c/u)

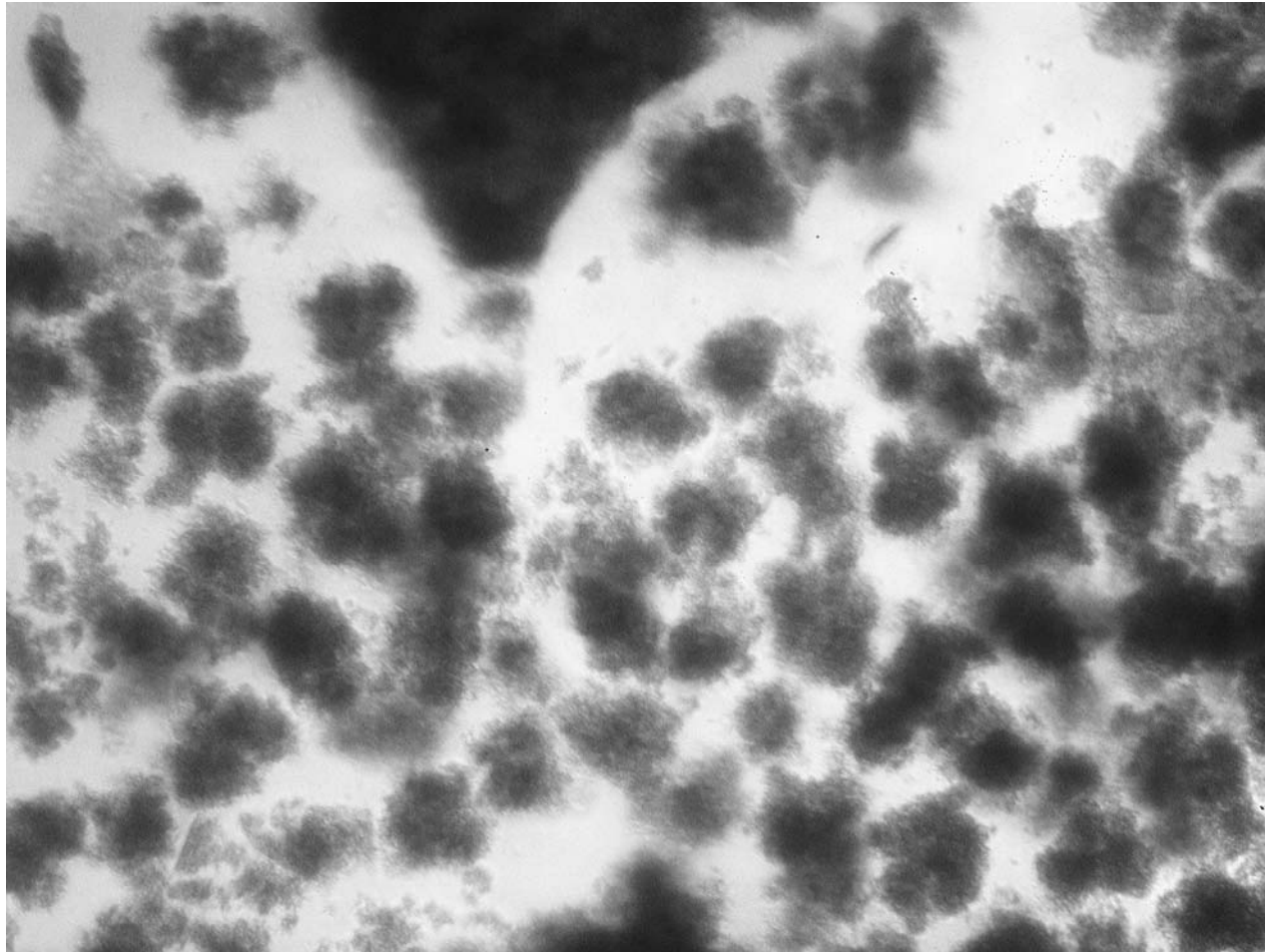
- Analizamos :
M. tuberculosis Vs (Detritus,
sedimento, otras micobacterias)
- Sensibilidad: 99.7
- Especificidad: 99.4
- Indice de Youden: 0.984

Reacciones cruzadas con otras mycobacterias

M. Kansasii



M. Avium



M. Cheloniae



Reacciones Cruzadas

Bacteria	Especificidad
Avium	97.06
Chelonae	99.14
Kansasi	93.75
Sedimento	98.25
TBC estructuras no-cordones	97.89

Automatic identification of *Mycobacterium tuberculosis* in MODS culture

Alicia Alva¹, Carlos Olivares¹, Andrés Gutierrez¹, Fredy Aquino¹, Luz Caviedes¹, David Moore^{2,3}, Robert H. Gilman^{2,4}, Mirko Zimic^{1,*}

1. Abstract

Mycobacterium tuberculosis bacilli (MTB) belongs to the Mycobacterium genus which comprises more than 80 species and is the causative agent of tuberculosis disease (ref). MTB enters the alveoli by airborne transmission causing pulmonary tuberculosis, the most common manifestation of the disease, however MTB can affect other organs and tissues (ref).

Tuberculosis (TB) is a re-emergent disease in developed countries and highly endemic in the developing world with enormous importance in global public health causing the death of 2 million people every year, more than any other infectious disease. Each year, 8.8 million people are diagnosed with active TB. Additionally 2 billion people are infected and have latent

Lector de placas remoto

No se necesita microscopio invertido

Sin embargo

1. si el resultado es en duda
2. durante el periodo de capacitación
3. para automatizar



Se necesita una computadora poderosa mas software para hacer cualquier análisis automático

Se transmiten por internet las imágenes de MODS capturados por el webcam al servidor remoto. La centralización del análisis supera la necesidad de computación poderosa - luego de hacer el análisis se devuelve el resultado como mensaje de texto.





available at www.sciencedirect.com



journal homepage: www.elsevierhealth.com/journals/trst



SHORT COMMUNICATION

Can the power of mobile phones be used to improve tuberculosis diagnosis in developing countries?

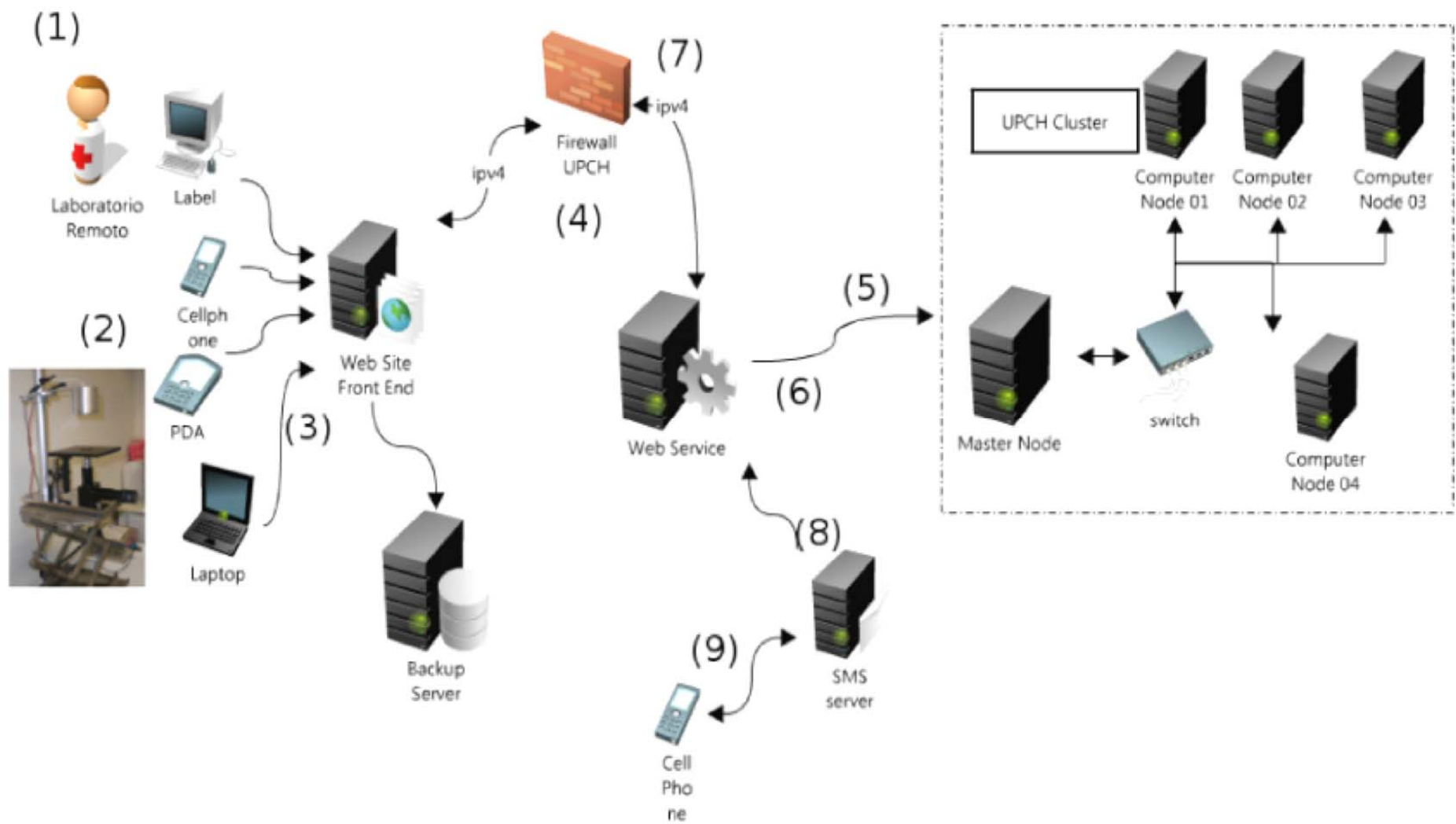
Mirko Zimic^{a,*}, Jorge Coronel^a, Robert H. Gilman^{a,b,c},
Carmen Giannina Luna^a, Walter H. Curioso^d, David A.J. Moore^{a,b,c}

^a Laboratorio de Investigación de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Av. Honorio Delgado 430, San Martín de Porras, Lima 31, Perú

^b Department of International Health, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, 615 North Wolfe St., Room 5515, Baltimore, MD 21205, USA

^c Department of Infectious Diseases and Immunity, Imperial College London Wellcome Centre for Clinical Tropical Medicine, Faculty of Medicine (Hammersmith Campus), DuCane Road, London W12 0NN, UK

^d Facultad de Medicina, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Av. Honorio Delgado 430, San Martín de Porras, Lima 31, Perú



Cluster computacional para el reconocimiento de patrones y diagnóstico remoto

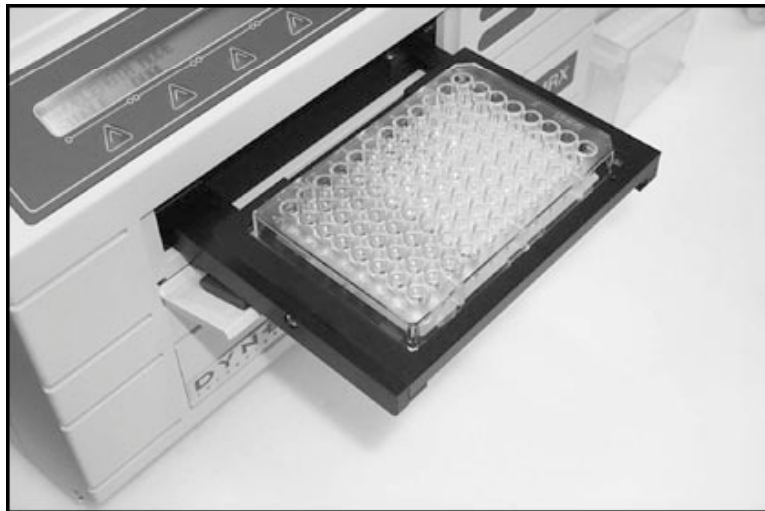
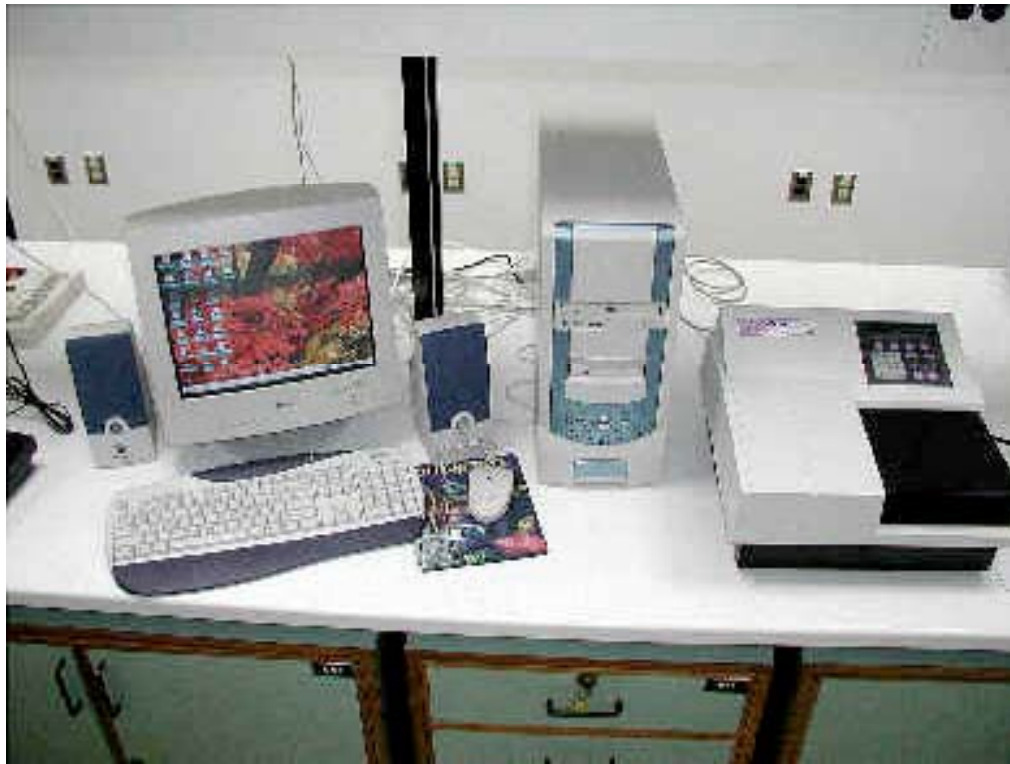


A WEB SERVICE TO PERFORM AUTOMATIC TELEDIDAGNOSTICS OF TUBERCULOSIS

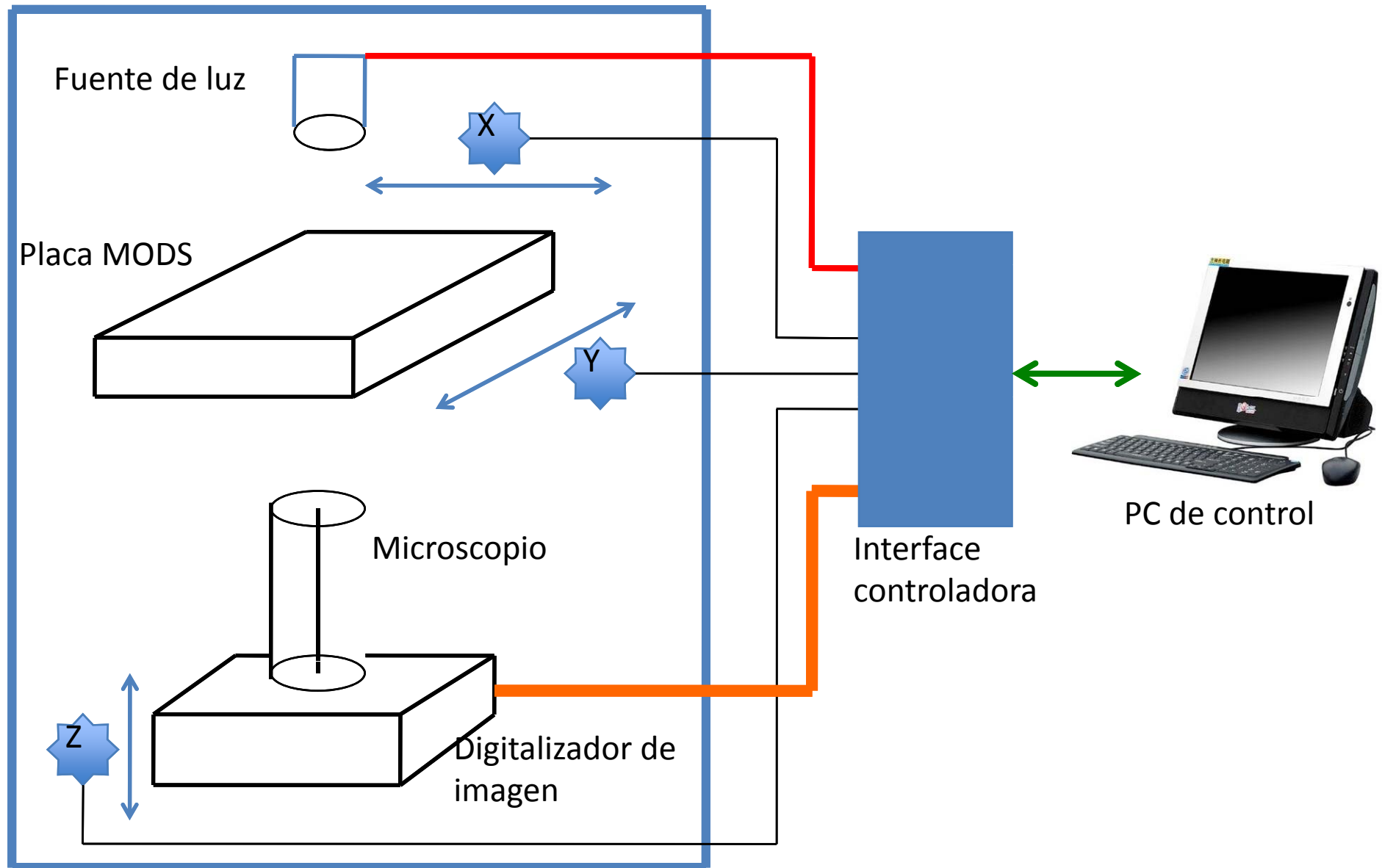
Mabel Raza¹, Carlos Olivares¹, Kathy Alva¹, Andrés Gutierrez¹, Wilfredo Evangelista¹, André Angeles², Romel Romero³, Patricia Sheen⁴, Jesus Castagnetto⁵, Robert H. Gilman^{1,6}, Mirko Zimic¹

•

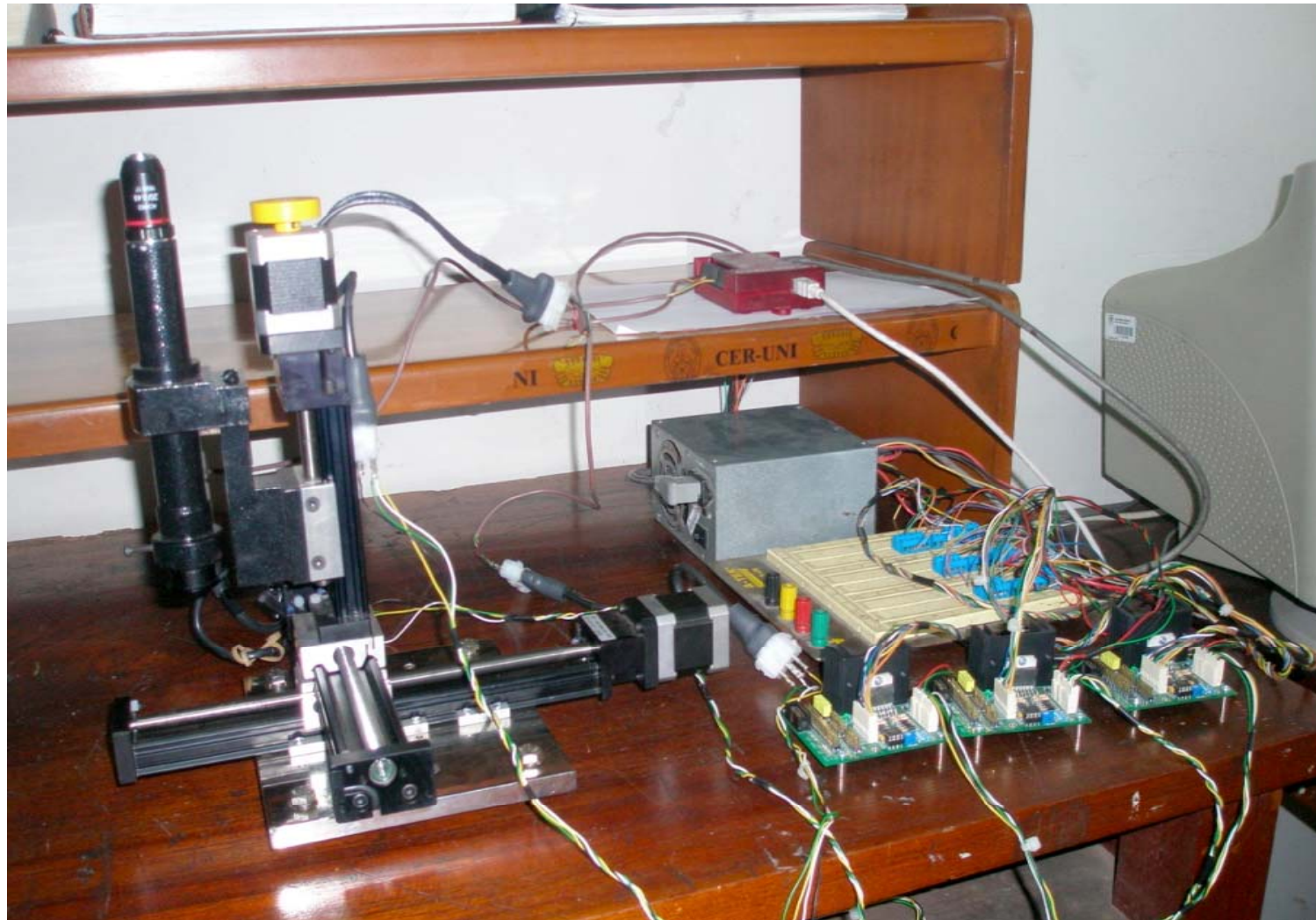
1. Unidad de Bioinformática. Laboratorios de Investigación y Desarrollo. Facultad de Ciencias y Filosofía. Universidad Peruana Cayetano Heredia.
2. Sección de Telecomunicaciones. Facultad de Ingeniería. Pontificia Universidad Católica del Perú
3. Facultad de Ingeniería Electrónica. Universidad Nacional de Ingeniería.
4. Laboratorio de Enfermedades Infecciosas. Laboratorios de Investigación y Desarrollo.

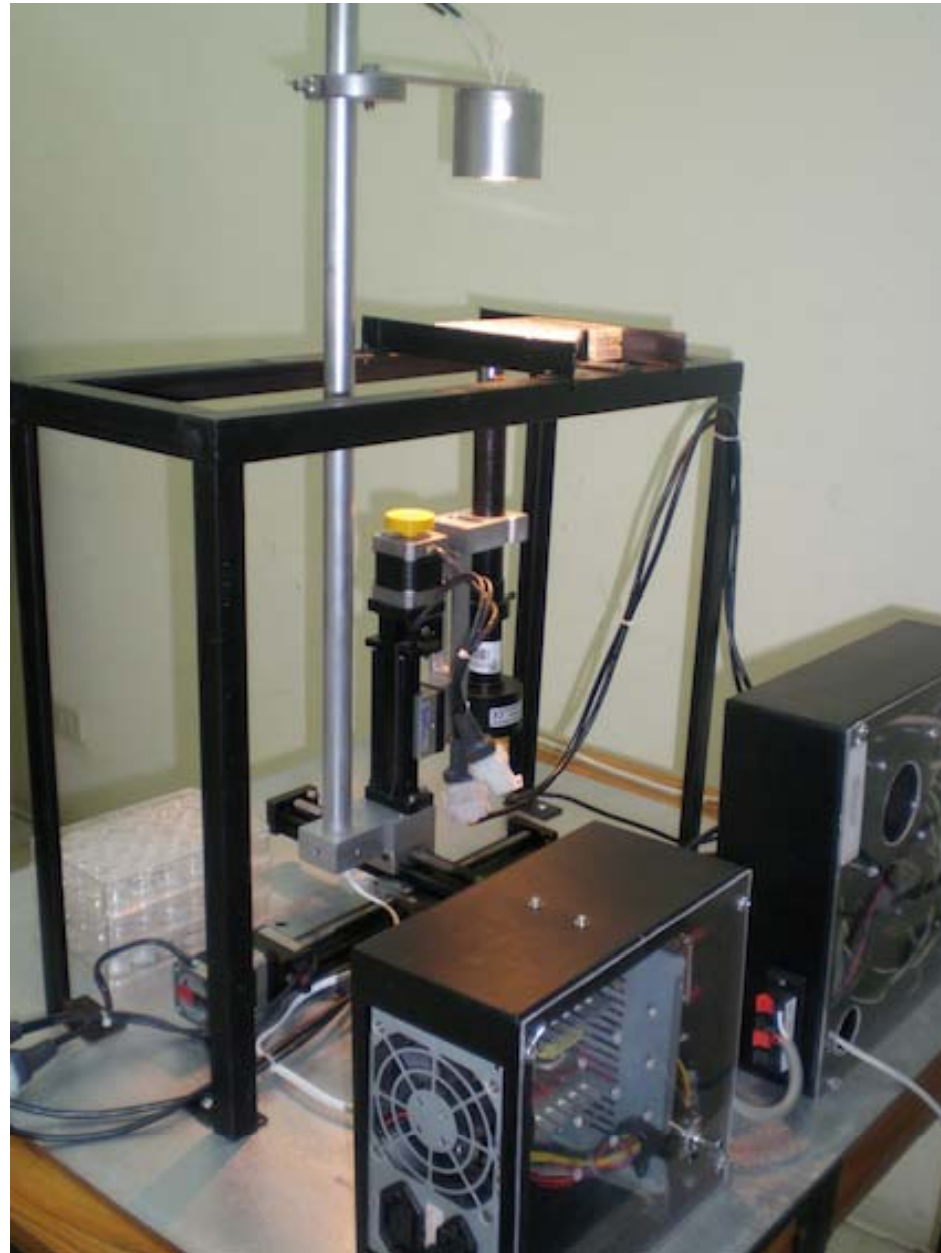


Máquina automática lectora de placas MODS



Prototipo del 'MODS plate reader' automático





Development of an automatic MODS plate reader for high throughput detection of early growth of *Mycobacterium tuberculosis*

Germán Comina^b, Daniel Mendoza^b, Abner Velazco^b, Jorge Coronel^a, Patricia Sheen^a, Robert H Gilman^{a,c}, David AJ Moore^{a,c,d}, Mirko Zimic^{a*}

- a Laboratorio de Investigación y Desarrollo
Facultad de Ciencias y Filosofía
Universidad Peruana Cayetano Heredia
Av. Honorio Delgado 430
San Martín de Porras
Lima 31, Perú
- b Laboratorio de Películas Delgadas
Facultad de Ciencias
Universidad Nacional de Ingeniería
Av. Tupac Amaru 210, Rimac
Lima 25, Perú
- c Department of International Health
Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health
615 North Wolfe St., Room 5515
Baltimore, MD 21205
USA
- d Department of Infectious Diseases and Immunity
Wellcome Centre for Clinical Tropical Medicine
Imperial College London
Faculty of Medicine (Hammersmith Campus)
DuCane Road
London W12 0NN, UK

Equipo de trabajo

SOFTWARE DE DIAGNÓSTICO

- Kathy Alva (U.Bioinfo UPCH)
- Fredy Aquino (U. Bioinfo UPCH)
- Carlos Olivares (U. Bioinfo UPCH)
- Andrés Gutierrez (U. Bioinfo UPCH)
- Mirko Zimic (U. Bioinfo UPCH)

ÓPTICA/ELECTRÓNICA

- Abner Velazco (Dpto. Física UNI)
- Daniel Mendoza (Dpto. Física UNI)
- Germán Comina (Dpto. Física UNI)
- Mirko Zimic (U. Bioinfo UPCH)

SISTEMA COMPUTACIONAL

- . Carlos Olivares (U. Bioinfo UPCH)
- . Willy Evangelista (U. Bioinfo UPCH)
- . Mabel Raza (U. Bioinfo UPCH)
- . Luis Vega (U. Bioinfo UPCH)
- . Jesus Castagnetto (DUI UPCH)

Financiamiento:

**R03 NIH (2006), Welcome Trust (2006)
FINCYT (2008), FRIDA (2008), TWAS (2009),
TDR (2009), Fogarty (2009)**

MICROBIOLOGÍA

(Lab. Tuberculosis LID-UPCH)

- Jorge Coronel
- Giannina Luna
- Patricia Fuentes
- David Moore
- Patricia Sheen
- Robert Gilman

