Methods.

The difference on proportion of MHC+ cells and costymolatories cells (CD40, CD80 and CD86) between differents treatment group, were analysed by a generalized linear mixed model with two random effects: the plate and the well within the plate, and Treatment as fixed effect, using poisson family as log link function.

e(intercept+estimated coeff) can be interpreta as proportion of cells in respective treatment group

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **cellMHC+** | | **cellCD40+** | | **cellCD80+** | | **cellCD86+** | |
| *Predictors* | *Estimate* | *95%CI* | *Estimate* | *95%CI* | *Estimate* | *95%CI* | *Estimate* | *95%CI* |
| (Intercept) | -1.23 | -1.68 – -0.78 | -0.24 | -0.83 – 0.35 | -1.10 | -2.19 – -0.01 | -0.52 | -1.22 – 0.19 |
| Positive Control | Reference |  | Reference |  | Reference |  | Reference |  |
| Medium | **-1.92 \*\*\*** | -2.29 – -1.55 | **-2.25 \*\*\*** | -2.89 – -1.60 | **-1.27 \*\*** | -2.22 – -0.33 | **-2.60 \*\*\*** | -3.46 – -1.74 |
| Leishmania | -0.18 | -0.52 – 0.17 | **-1.46 \*\*\*** | -2.07 – -0.85 | **-1.33 \*\*** | -2.22 – -0.44 | **-1.36 \*\*\*** | -2.16 – -0.55 |
| AsaiapHM4 +L | 0.11 | -0.24 – 0.45 | -0.31 | -0.91 – 0.30 | -0.64 | -1.52 – 0.25 | -0.54 | -1.35 – 0.26 |
| Asaia WSP +L | **0.39 \*** | 0.04 – 0.73 | -0.12 | -0.73 – 0.48 | -0.40 | -1.29 – 0.49 | -0.39 | -1.20 – 0.42 |
| **Random Effects** | | | | | | | | |
| σ2 | 0.05 | | 0.24 | | 0.51 | | 0.42 | |
| τ00 | 0.05 well:plate | | 0.24 well:plate | | 0.51 well:plate | | 0.42 well:plate | |
|  | 0.11 plate | | 0.17 plate | | 0.82 plate | | 0.17 plate | |
| ICC | 0.67 | | 0.41 | | 0.62 | | 0.29 | |
| N | 8 well | | 9 well | | 9 well | | 9 well | |
|  | 3 plate | | 4 plate | | 4 plate | | 4 plate | |
| Observations | 18 | | 24 | | 24 | | 24 | |
| *\* p<0.05   \*\* p<0.01   \*\*\* p<0.001* | | | | | | | | |

in sostanza per tutte le variabili c’è una riduzione significativa della proporzione di cellule nel gruppo Medium rispetto al controllo positivo ( il che è sensato che ci sia) ad esempio per cellMHC+ …

la prop di cell nel controllo è exp(-1.23)=0.30 mentre nel gruppo Medium è exp(-1.23-1.92) = 0.04.

In cellMHC:

Nel gruppo AsaiaWSP+L si osserva un significativo aumento della prop di cellule rispetto al gruppo di controllo positivo exp(-1.92+0.39)=0.43. Se a differenza tra 0.30 e 0.40 è rilevante biologicamente non si può stabilire statisticamente… Nel gruppo AsaiapHM4+L la maggior proporzione non risulta essere significativa.

Come potete notare nelle costimolatorie i grupp AsaiapHM4 e AsaiaWSP non hanno proporzioni di cellule significativamente diverse dal gruppo di controllo, ma credo che questo sia “positivo” per la discussione indica che la stimolazione operata da Asaia è per lo meno della stessa dimensione di quella che ci si aspetta dal gruppo di controllo positivo.

La parte della tabella Random Effects, non è rilevante ai fini dell’interpretazione dei risultati ma la terrei perché indica la variabilità attribuibile alle differenti piastre e pozzetti i cui sono stati eseguiti gli esperimenti