

ВИДОВАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ЭЙМЕРИЙ НА ОСНОВЕ ЧЕТЫРЕХМЕРНОГО МАТЕМАТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА СТРОЕНИЯ ООЦИСТ

В.М. Мироненко¹, Е.А. Корчевская²

¹УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»

Витебск, Республика Беларусь

²УО «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова»

Витебск, Республика Беларусь

Аннотация. Разработаны: математическая модель, описывающая контур ооцист эймерий; высокоспецифический критерий дифференциации ооцист эймерий – идентификационный показатель (ИП); алгоритм четырехмерного математического анализа строения ооцист, позволяющие осуществлять идентификацию вида эймерий.

Summary. Developed: mathematical assay describing oocystal contour of eimeriae; high specific criterium for differentiation of eimeria oocystae – identification index (II); algorithm for four – dimensional analysis of eimeriae structurae, enabling the identification.

Введение. У человека, домашних животных и сельскохозяйственных растений описано около 500 видов паразитических простейших. Большая их часть – возбудители опасных заболеваний. В последние десятилетия значительно возрос интерес исследователей к патогенным протистам. Так, к настоящему времени простейших рода *Isospora* выявлено около 200 видов, хотя в 60-е годы было описано только шесть [5, 10, 15, 16, 17, 20, 21].

Одними из наиболее многочисленных и представляющих серьезную угрозу здоровью животных простейших являются эймерии [10, 20, 21]. Постановка диагноза на эймериоз предусматривает определение не только рода возбудителя, но и вида. Это связано со значительными различиями в биологии и патогенности разных видов. Так, эймерии могут локализоваться только в тонком или толстом кишечнике, в тонком и в толстом кишечнике, в печени, почках и т.д. Отдельные виды даже при не очень высокой инвазии могут вызывать тяжелое течение болезни, другие даже при высокой интенсивности инвазии не приводят к развитию симптоматики. По сути, каждый вид эймерий вызывает характерные для него изменения в организме хозяина [4, 5, 15, 16, 17].

В настоящее время при определении вида эймерий учитывают целый ряд их морфологических и биологических особенностей: локализацию эндогенных стадий; продолжительность споруляции; форму,

цвет ооцист; строение оболочки, длину, ширину ооцист и спор; наличие или отсутствие шапочки, микропиле, полярной гранулы, Штйдовского (Шнейдеровского) тела, остаточного тела в ооцисте, споре. Полученные результаты сопоставляют с данными, имеющимися в авторитетных работах (Levine, 1961, 1973; Davies et al., 1963; Pellerdy, 1965, 1974; Хейсин Е.М., 1967; Гобзем В.Р., 1972; Крылов М.В., 1996; Ятусевич А.И., 1993, 2006 и др.). Определение такого количества критериев требует значительных временных, а иногда и материальных затрат [5, 15, 16, 17].

В связи с вышеуказанным совершенствование методологии определения вида эймерий представляет актуальную задачу современной протозоологии. Особенно важное значение эта проблема приобретает в свете массовой автоматизации и компьютеризации современных научных и производственных процессов [2, 12]. Большинство работ, посвященных данной тематике, было направлено на оптимизацию определения вышеуказанных критериев. На сегодняшний день накоплен крайне малый мировой опыт в разработке новых алгоритмов видовой идентификации паразитов [6, 7, 8, 9, 11, 13, 14, 16, 19]. Так, Georgi J.R. (1987) предложил идентифицировать яйца стронгилят посредством многомерного морфометрического анализа. Параметры (основная ось, малая ось, периметр, поверхность, поверхность и периметр каждого полюса) трансформировались на логарифмы и подвергались ступенчатому дискриминантному анализу. Автором точно были идентифицированы от 75 до 100% исследуемых яиц *Haemonchus contortus*, *Ostertagia circumcincta*, *Trichostrongylus axei*, *T. colubriformis*, *Nematodirus spathiger*, *N. filicollis*, *Bunostomum trigonocephalum* [22].

На основании анализа морфологии ооцист различных видов эймерий и литературных данных в области теории распознавания образов нами была выдвинута гипотеза: точная идентификация вида эймерий при минимальных временных затратах может быть осуществлена на основе многофакторного (четырёх и более) математического анализа строения ооцист эймерий. Вышеуказанное определило цель исследований – проверки истинности данной гипотезы.

Задачи исследований:

1. построение математической модели, описывающей контур ооцист эймерий;
2. разработка нового высокоспецифического критерия дифференциации ооцист эймерий – идентификационного показателя (ИП);
3. разработка алгоритма идентификации вида эймерий на основе четырехмерного математического анализа строения ооцист.

Материалы и методика исследований. На первом этапе исследования оценивалась потенциальная возможность и сравнивалась эффективность четырех основных и общепризнанных подходов к распознаванию образов:

1. Сравнение с образцом (корреляция). Подход основан на геометрической нормализации изображения и вычислении "расстояния" получившейся нормализации до прототипа. Это очень трудоемкий с точки зрения вычислений метод, который использует сложные математические преобразования. Такой подход используется в ряде устройств для чтения печатных букв, однако имеет несколько недостатков. Главный из них заключается в том, что в ряде случаев трудно выбрать подходящий эталон из каждого класса образов и установить необходимый критерий соответствия. Эти трудности особенно существенны, когда образы, принадлежащие одному классу, могут значительно изменяться. Типичным примером этого является распознавание рукописных букв.

2. Статистические методы (признаковые). Сводятся к выделению "признаков" изображения (например, количество изломов линий, средняя длина линий, средняя площадь однородной области, и т.п.). Затем производится сравнение этих признаков с известными статистическими распределениями этих же признаков в образцах (понятно, что в таком случае образцов одного и того же объекта должно существовать достаточно большое число). Таким образом, подбирается наиболее близкий прототип для изображения.

3. Нейронные сети. Выбирается тип искусственной нейронной сети, и проводится ее обучение по известным образцам.

4. Структурные и синтаксические методы. Образец разбирается на более простые элементы, и строится правило зависимости от вхождения/невхождения того или иного элемента или последовательностей. Затем те же элементы ищутся в изображении, и применяются ранее выделенные правила.

Второй и четвертый подходы имеют немало сходства, поэтому иногда их объединяют в одну группу.

Для построения математической модели, описывающей контур ооцист эймерий, была изучена эффективность различных методов (интерполяционный многочлен Лагранжа, наименьших квадратов, Ньютона, Эйткена, интерполирование сплайнами различных порядков и др.) в решении задачи интерполирования.

Для нахождения функции $f(x)$, описывающей контур ооцист эймерий, необходимо решить задачу интерполирования.

Задача интерполирования состоит в том, чтобы по значениям функции $f(x)$ в нескольких точках отрезка восстановить ее значения в

остальных точках этого отрезка. Задача интерполирования возникает, например, в том случае, когда известны результаты измерения $y_k=f(x_k)$ некоторой физической величины $f(x)$ в точках x_k , и требуется определить ее значения в других точках.

При разработке нового высокоспецифического критерия дифференциации ооцист эймерий – идентификационного показателя подбирались математические параметры, минимальный набор которых позволил бы построить достаточно точную для поставленной цели математическую модель контура ооцист эймерий. Затем моделировались различные формы математических взаимосвязей между выбранными параметрами для максимального отражения специфичности строения объекта. Признаки, служащие для идентификации, предполагались безразмерными величинами. Были протестированы ряд параметров: площадь, ограниченная контуром, длина контура, эксцентриситет, радиус кривизны, длина объекта, ширина объекта, сумма квадратов отклонений от главной оси и др.

Результаты исследований и их обсуждение. Предварительный анализ разработанного алгоритма с реализацией интерполяционного многочлена различными методами (наименьших квадратов, Ньютона, Эйткена, интерполирование сплайнами различных порядков и др.) показал наибольшую результативность использования интерполяционного многочлена Лагранжа.

Для поставленной задачи для нахождения функции, описывающей контур объекта, использовался интерполяционный многочлен Лагранжа, который имеет следующий вид:

$$L_n(x) = \sum_{k=0}^n \frac{\prod_{j \neq k} (x - x_j)}{\prod_{j \neq k} (x_k - x_j)} f(x_k), \quad (1)$$

где x_k – узлы интерполирования, n – число точек интерполирования.

Результаты исследований показали наибольшую целесообразность использования для идентификации ооцист эймерий статистического метода.

В данной работе для идентификации возбудителей эймериозов предлагается использовать показатель, который имеет значимость для задачи классификации и выражается следующей формулой:

$$mk = \frac{L}{h} \cdot \frac{\rho_1}{\rho_2}, \quad (2)$$

где ρ_1 и ρ_2 – соответственно наибольший и наименьший радиусы кривизны полюсов объекта, L – длина объекта, h – ширина объекта.

Разработанный алгоритм включает в себя следующие этапы.

1. Получить контурную форму объекта, которая содержит координаты границ изображения.

2. Вычислить показатель, необходимый для идентификации объекта (ИП):

2.1. Вычислить радиус кривизны противоположных полюсов объекта.

2.2. Измерить длину и ширину идентифицируемого объекта.

2.3. Рассчитать произведение отношений длины к ширине и наименьшего к наибольшему радиуса кривизны противоположных полюсов объекта.

3. Отнести объект к определенному классу паразитозов.

Для вычисления коэффициента по формуле (1) необходимо вычислить радиусы кривизны полюсов объекта. Плоскую кривую линию можно рассматривать как траекторию движения точки в плоскости; точка движется по касательной к кривой линии, обкатывая эту кривую без скольжения. Кривизна в каждой из точек плоской кривой определяется с помощью соприкасающейся в этой точке окружности. Соприкасающейся окружностью или кругом кривизны в данной точке называется предельное положение окружности, когда она проходит через данную точку и две другие бесконечно близкие к ней точки. Центр соприкасающейся окружности называется центром кривизны кривой в данной точке, а радиус такой окружности – радиусом кривизны кривой линии в данной точке и вычисляется по формуле:

$$k(x) = \frac{(1 + f'(x)^2)^{3/2}}{|f''(x)|}, \quad (3)$$

где $f'(x)$, $f''(x)$ являются соответственно первой и второй производной функции $f(x)$, описывающей плоскую кривую.

Разработанный алгоритм применялся к тренировочной коллекции. Тренировочная коллекция – коллекция объектов, для которых заведомо известна принадлежность к конкретному виду. Для множества образов объектов, охватывающих все виды ооцист эймерий, был вычислен коэффициент, с помощью которого объект может быть отнесен к множеству объектов, сходных по природе и признакам.

Ранее для идентификации возбудителей эймериозов использовался показатель «Индекс формы». В таблице представлены численные значения среднего выборочного значения коэффициентов, вычисленных по формуле (2) для данной тренировочной коллекции.

Таблица

Вид эймерий	Индекс формы	<i>mk</i>	
		Среднее выборочное	Ошибка средней
<i>E. bovis</i>	1,41	1,567	0,038
<i>E. ellipsoidalis</i>	1,42	1,537	0,034
<i>E. cylindrica</i>	1,75	2,038	0,024
<i>E. canadensis</i>	1,41	1,745	0,045
<i>E. auburnensis</i>	1,61	1,534	0,030
<i>E. bukidnonensis</i>	1,38	2,310	0,061
<i>E. brasiliensis</i>	1,39	2,223	0,071
<i>E. wyomingensis</i>	—	1,884	0,041

С помощью таблицы можно осуществить принятие решения о принадлежности входного образа тому или иному виду, используя условие минимальности отклонения от данных, приведенных на основании работы с тренировочной коллекцией.

Заключение. Разработаны: математическая модель, описывающая контур ооцист эймерий; высокоспецифический критерий дифференциации ооцист эймерий – идентификационный показатель (ИП); алгоритм четырехмерного математического анализа строения ооцист, позволяющие осуществлять идентификации вида эймерий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абламейко, С.В. Обработка изображений: технология, методы, применение / С.В. Абламейко, Д.М. Лагуновский. – Мн.: Амалфея, 2000. – 304 с.
2. Вапник, В.Н. Теория распознавания образов / В.Н. Вапник, А.Я. Червоненкис. – М.: Наука, 1974. – 415 с.
3. Выгодский, М.Я. Справочник по высшей математике / М.Я. Выгодский. – М.: Физ.-мат. лит., 1963. – 872 с.
4. Гобзем, В.Р. Кокцидиоз телят. - Минск: Ураджай, 1972. - 103 с.
5. Крылов, М.В. Определитель паразитических простейших (человека, домашних животных и сельскохозяйственных растений). - С.-П.: Наука, 1996. - С. 545.
6. Мироненко, В.М. Способ выявления жгутиковых и реснитчатых простейших в кишечном содержимом / Паразитарные болезни человека, животных и растений. Труды VI Международной научно-практической конференции. – Витебск: ВГМУ, 2008. – С. 301 – 302.
7. Мироненко, В.М. Способ споруляции эймерий и устройство для его осуществления / Сборник статей молодых ученых «Молодежь и наука в 21 веке», выпуск 2. Витебск, 2007. – С. 18-20.
8. Мироненко, В.М. Эймерии крупного рогатого скота в Республике Беларусь и способ изучения их экзогенного развития / Молодежь в науке – 2007: приложение к журналу «Вести Национальной академии наук Беларуси». В 4 частях. Часть 1. Серия биологических наук; серия медицинских наук. – Минск: Белорусская наука, 2008. – С. 182 – 186.
9. Мироненко, В.М. Программно-аппаратный комплекс диагностики паразитозов / В.М. Мироненко, А.И. Ятусевич, Е.А. Корчевская / Материалы III научно-практической конференции Международной ассоциации паразитологов (14-17 октября 2008 г.). – Витебск: ВГАВМ, 2008. - С. 113-115.

10. Мироненко, В.М. Эймериозно-гельминтозные миксинвазии крупного рогатого скота в Полесском регионе Беларуси и способы борьбы с ними / В.М. Мироненко, А.И. Ятусевич, И.А. Субботина / Природная среда Полесья: особенности и перспективы развития: тезисы докладов IV Международной научной конференции (Брест, 10-12 сентября, 2008 г.). – Брест: Альтернатива, 2008. – С. 171.
11. Рекомендації про заходи профілактики та терапії еймеріозу великої рогатої худоби/ Р.А. Слободян, Н.М. Сорока, В.М. Міроненко, О.П. Литвиненко. – КІІВ: «ВЕТІН-ФОРМ», 2007. – 19 с.
12. Самарский, А.А. Введение в численные методы: Учебное пособие / А.А. Самарский. – М.: Наука, 1987. – 286 с.
13. Способ споруляции ооцист эймерий: пат. 83150 Украина, МПК (2006) G01N 33/487 / Р.А. Слободян, В.М. Мироненко, Н.М. Сорока; заявитель Национальный аграрный университет. – № а 2007 03288; заявл. 27.03.07; опубл. 11.03.08 // Афіційний бюл. / Нац. центр інтелектуал. власності. – 2008. – № 11.
14. Степанов, А.В. Лабораторная диагностика гельминтозов сельскохозяйственных животных тропических стран: Методические указания. – Москва: МВА, 1983 – 60 с.
15. Хейсин, Е.М. Жизненные циклы кокцидий домашних животных. - Л.: Наука, Ленинградское отд-е, 1967. - С. 149-151.
16. Ятусевич, А.И. Эймериозы и изоспороз свиней: Автореф. дис. ...д-ра. вет. наук: 03.00.19 / Ленинград, 1989. – 36 с.
17. Ятусевич А.И. Протозойные болезни сельскохозяйственных животных: Монография. – Витебск: УО ВГАВМ, 2006. - 223 с.
18. Ятусевич, А.И. Фауна эймерий основных видов продуктивных животных в Полесском регионе Беларуси / А.И. Ятусевич, В.М. Мироненко, В.Н. Гиско / Природная среда Полесья: особенности и перспективы развития: тезисы докладов IV Международной научной конференции (Брест, 10-12 сентября, 2008 г.). – Брест: Альтернатива, 2008. – С. 228.
19. Мироненко, В.М. Использование компьютерных программ при изучении возбудителей паразитарных болезней // Молодежь и наука в 21 веке: сборник статей молодых ученых. Выпуск 3. – Витебск: ВГТУ, 2008. – 182 с.
20. Мироненко, В.М. Изучение эймериозно-гельминтозных инвазий желудочно-кишечного тракта у завозимого в Беларусь крупного рогатого скота породы герефорд // Молодежь и наука в 21 веке: сборник статей молодых ученых. Выпуск 3. – Витебск: ВГТУ, 2008. – 182 с.
21. Мироненко, В.М. Микстинвазии пищеварительного тракта крупного рогатого скота айрширской породы / В.М. Мироненко, А.С. Шенделева, Е.С. Михолап / III Машеровские чтения: материалы республиканской научно-практической конференции студентов, аспирантов, и молодых ученых, Витебск, 24 – 25 марта 2009 г. – Витебск: УО «ВГУ им. П.М. Машерова», 2009. – Естественные науки. – С. 128 – 130.
22. Georgi, J.R. Identification of strongylid eggs by multivariate analysis of morphometrics. Programme and abstracts, 1987, - p. 51.