

Гиско В.Н. Фауна эймерий основных видов продуктивных животных в Полесском регионе Беларуси / Природная среда Полесья: особенности и перспективы развития: тезисы докладов IV Международной научной конференции (Брест, 10-12 сентября, 2008 г.). – Брест: Альтернатива, 2008. – С. 228. 14. Ятусевич А.И., Мироненко В.М., Кирищенко В.Г. Проблема мониезиоза жвачных и пути ее решения // Ученые записки УО ВГАВМ: научно-практический журнал. Том 45, выпуск 1, часть 1. – Витебск, 2009. – С. 205 – 208. 15. Ятусевич А.И., Субботин А.М., Мироненко В.М. Общность фаун гельминтов диких и домашних жвачных в Полесском регионе Беларуси / Природная среда Полесья: особенности и перспективы развития: тезисы докладов IV Международной научной конференции (Брест, 10-12 сентября, 2008 г.). – Брест: Альтернатива, 2008. – С. 229.

УДК 619:616.993.192.1:636.2

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВИДА ЭЙМЕРИЙ НА ОСНОВЕ ДВУХМЕРНОГО МАТЕМАТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА СТРОЕНИЯ ООЦИСТ

Мироненко В.М.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

Корчевская Е.А.

УО «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова»,
г. Витебск, Республика Беларусь

Впервые сформулирована концепция дифференциации вида эймерий и гельминтов с использованием системы идентификационных показателей, представляющих собой математические выражения морфометрических зависимостей строения ооцист эймерий и яиц гельминтов. Разработан способ идентификации вида эймерий на основе двухмерного математического анализа строения ооцист с использованием нового идентификационного показателя, представляющего собой отношение квадрата периметра контура к площади поверхности ооцисты.

The concept for eimeria and helminth differentiation has been postulated using identification indexes system as a mathematical expression of some morphometric rules of oocystae and eggs morphology. The method for species identification has been worked out using two-dimensional mathematical expression with a new identification index as a division of the perimeter contour square multiplication on the oocyst surface.

Введение. К настоящему времени описано более десяти тысяч видов паразитических простейших. Среди них важное значение имеют представители семейства Eimeriidae. Их количество только у сельскохозяйственных животных превышает пятьдесят видов. Эффективные меры борьбы с эймериозами предусматривают комплекс мероприятий, важнейшими из которых являются своевременная диагностика и мониторинг контаминированности объектов внешней среды возбудителем. Эти мероприятия непосредственно связаны с определением вида эймерий.

Сложившийся в начале двадцатого века алгоритм определения вида эймерий и набор используемых для этого критериев не претерпели значительных изменений до настоящего времени, несмотря на их несовершенство. Так, в современных условиях для идентификации вида эймерий учитывают: локализацию эндогенных стадий; продолжительность споруляции; форму, цвет ооцист; строение оболочки, длину, ширину ооцист и спор; наличие или отсутствие шапочки, микропиле, полярной гранулы, Штидовского (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.). Получение такого количества показателей и их анализ рутинными методами требуют значительного количества времени и не всегда обеспечивают высокую результативность. Единственная расчетная величина, предложенная ранее, – индекс формы, представляет собой алгебраический примитив, вычисляемый отношением длины ооцисты к ее ширине.

Во всем мире опыт совершенствования методологии идентификации возбудителей паразитозов крайне недостаточен и исчисляется единичными работами. 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*.

Проведенные нами в последние годы исследования убедительно доказывают высокую эффективность идентификации ооцист эймерий и яиц гельминтов путем использования идентификационных показателей (ИП), представляющих собой математические выражения морфометрических зависимостей строения ооцист эймерий, яиц гельминтов и других объектов. Использование же системы идентификационных показателей позволяет при помощи ЭВМ проводить идентификацию значительного количества объектов с минимальными погрешностями и временными затратами.

Вышеуказанное обуславливает актуальность разработки новых идентификационных показателей дифференциации ооцист эймерий.

Материал и методы. 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/не вхождения 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.

При разработке нового идентификационного показателя подбирались математические параметры, минимальный набор которых позволил бы выразить математически морфометрические зависимости строения 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. Для распознавания объектов нами предложен новый идентификационный показатель, представляющий собой отношение квадрата периметра контура к площади поверхности объекта, ограниченного данным контуром.

Для нахождения площади ооцисты и длины кривой, описывающей ее контур, вводится система координат. Ее начало помещается в точку пересечения максимальной длины и максимальной ширины объекта. Таким образом исследуемый объект разбивается на четыре области (в общем случае неравные). Для каждой области разбиения вычисляются площадь и длина дуги.

Алгоритм идентификации объектов состоит в следующем:

1. Составляется математическая модель одной четвертой длины, описывающей контур объекта с помощью интерполяционного полинома. В результате получается в аналитическом виде формула $y(x)$, выражающая зависимость координаты y от координаты x .

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

В поставленной задаче 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, $f(x_k)$ – значение функции в узлах интерполирования, n – число точек интерполирования.

2. Вычисляется длина дуги части контура объекта по формуле:

$$l = \int_0^{h/2} \sqrt{1 + y'(x)^2} dx, \quad (2)$$

где h – ширина объекта, $y'(x)$ – производная функции (1). Значение интеграла в формуле (2) находится с помощью квадратурных формул (формула Симпсона, формула прямоугольников, формула трапеций), которые основываются на замене интеграла конечной суммой:

$$I = \sum_{k=0}^n c_k f(x_k), \quad (3)$$

где c_k – числовые коэффициенты, x_k – точки разбиения.

Формула для метода центральных прямоугольников имеет вид:

$$\int_a^b f(x) dx \approx \sum_{k=1}^n f(x_{k-\frac{1}{2}}) h. \quad (4)$$

Также для расчетов можно использовать метод левых и правых прямоугольников. Формула трапеций имеет вид:

$$\int_a^b f(x) dx \approx \sum_{k=1}^n \frac{f(x_k) + f(x_{k-1})}{2} h. \quad (5)$$

Формула Симпсона выражается следующим выражением:

$$\int_a^b f(x)dx \approx \sum_{k=1}^n \frac{h}{6} \left(f(x_{k-1}) + 4f\left(x_{k-1/2}\right) + f(x_k) \right). \quad (6)$$

3. Вычисление площади объекта, ограниченной контуром. Площадь криволинейной трапеции выражается интегралом:

$$S = \int_0^{h/2} y(x)dx. \quad (7)$$

Значение интеграла (7) также вычисляется с помощью квадратурных формул.

Таким образом, вычисляется площадь и длина дуги каждой части объекта. После чего рассчитывается площадь всего объекта, ограниченного контуром и длина всего контура.

Далее рассчитывается идентификационный показатель, представляющий собой отношение квадрата периметра контура к площади поверхности объекта, ограниченного данным контуром.

Данные для соотнесения с тем или иным классом были получены путем исследования данных обработки представителей каждого из классов. Обобщенные статистические данные приведены в Таблице 1.

Таблица 1 - Обобщенные статистические данные

Вид эймерий	Индекс формы	ИП	
		Среднее значение	Ошибка средней
<i>E. aubumesis</i>	1,61	19,886	1,030
<i>E. bovis</i>	1,41	15,743	0,536
<i>E. brasiliensis</i>	1,39	7,557	1,049
<i>E. bukidnonesis</i>	1,38	8,053	0,633
<i>E. canadensis</i>	1,41	12,727	0,314
<i>E. cylindrica</i>	1,75	23,287	1,049
<i>E. ellipsoidalis</i>	1,42	16,743	0,724
<i>E. wyomingensis</i>	-	15,487	0,525

Преимущество применения предложенного нами идентификационного показателя, в сравнении с предложенным ранее и используемым в настоящее время индексом формы, продемонстрировано на примере основных видов эймерий, паразитирующих у крупного рогатого скота. Так, он позволяет эффективно дифференцировать виды *E. bovis* и *E. canadensis*, что невозможно сделать при помощи индекса формы. Относительно всех других использованных тест-объектов идентификационный показатель проявляет более высокую специфичность, чем индекс формы, а следовательно, и достоверность идентификации.

Заключение. Впервые сформулирована концепция дифференциации вида эймерий и гельминтов с использованием системы идентификационных показателей, представляющих собой математические выражения морфометрических зависимостей строения ооцист эймерий и яиц гельминтов. Разработан способ идентификации вида эймерий на основе двумерного математического анализа строения ооцист с использованием нового идентификационного показателя, представляющего собой отношение квадрата периметра контура к площади поверхности ооцисты.

Литература. 1. Абрамеев, С.В. Обработка изображений: технология, методы, применение / С.В. Абрамеев, 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. Гобзев, 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 жгутиков 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 способ 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. Рекомендация про заходи профілактики та терапії еймеріозу великої рогатої худоби / Р.А. Слободян, Н.М. Сорока, В.М. Мироненко, О.П. Литвиненко. – Київ: «ВЕТІНФОРМ», 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. 18. 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. 19. 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. 20. 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. 21. Georgi, J.R. Identification of strongylid eggs by multivariate analysis of morphometrics. Programme and abstracts, 1987, - p. 51.

УДК: 576.895.93

ВЛИЯНИЕ МОНОИНВАЗИИ STRONGYLOIDES MARTIS И ПАРАЗИТОЦЕНОЗА STRONGYLOIDES MARTIS И EIMERIA VISON НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЗАРАЖЕНИЯ

Полоз С.В.

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»,

г. Минск, Республика Беларусь

Анисимова Е.И., Кекшина А.М.

ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам»,

г. Минск, Республика Беларусь

Экспериментальное инвазирование норок Strongyloides martis и ассоциацией Strongyloides martis и Eimeria vison приводит к выраженным гематологическим изменениям. Паразитоценоз вызывает более глубокие изменения морфологического состава крови по сравнению с моноинвазией.

Strongyloides martis and associations Strongyloides martis and Eimeria vison of the American mink during experimental invasions result in significant changes of hematological indices. Associations of the nematodes and coccids cause the deepest changes of blood morphological composition on comparative with monoinvasia

Введение. Характер патологического процесса при паразитозах определяется многофазными биологическими взаимоотношениями паразита и организма хозяина. Заражение животных происходит при условии, если они восприимчивы, возбудители достаточно вирулентны и имеется благоприятная среда для дальнейшего развития процесса. При смешанных инвазиях не наблюдается антагонистических отношений между гельминтами и их патологический эффект на организм хозяина суммируется /4/. Гельминт, развиваясь в организме хозяина, как биологический раздражитель, оказывает на него различного рода вредное воздействие. Формы этого воздействия зависят от совокупности биологических и физиологических процессов, происходящих в период развития гельминта, от защитных свойств и ответных реакций организма хозяина.

Исследование крови животных для раскрытия механизмов патогенного воздействия широко распространено и имеет решающее значение, в том числе и при инвазионных болезнях /2/. Картина крови, являясь симптоматическим отражением патологического процесса, протекающего в организме животного, характеризует тяжесть его течения и дает возможность для прогноза болезни. Ряд показателей крови указывают также и на иммунную реактивность самого макроорганизма, которая находится под влиянием многочисленных факторов внешней среды и всевозможных патогенных агентов /1, 3/.

Материалы и методы. Работа выполнена в звероводческом хозяйстве Гродненской области Республики Беларусь. Изучение морфологических показателей крови при ассоциативной форме стронгилоидоза и эймериоза норок проводили в условиях изолятора. В качестве экспериментальной модели были выбраны норки СТД. Кормление животных осуществлялось в соответствии с нормативными требованиями. Норки опытных и контрольной групп содержались в разных шедах. В шедах проводили механическую очистку два раза в день. Возможность спонтанного инвазирования норок стронгилоидесами и эймериями полностью исключалась. Копроскопические исследования проводили по методу Г.А.Котельникова, В.М.Хренова (1974).

Личинки нематод получали путем культивирования фекалий, смешанных с прокаленными древесными опилками в соотношении 1:2 при 30° С в течение 2-3 суток. Культуру ежедневно перемешивали и увлажняли. Филяриевидные личинки стронгилоидесов выделяли по методу Бермана. При проведении эксперимента использовали спорулированные ооцисты *Eimeria vison*, полученные по методу, предложенному А.И. Ятусевичем (1989). Заражение норок инвазионными культурами проводили индивидуально перорально.

Опыты проводили на норках в возрасте 6 месяцев, сформированных в две опытные и контрольную группы (по 7 зверей в каждой). Животных первой группы заразили инвазионными личинками стронгилоидесов в дозе 4 тыс./кг живой массы, животных второй группы - инвазионными личинками стронгилоидесов в аналогичной дозе + чистой культурой *Eimeria vison* в дозе 10000 ооцист, норки третьей группы служили контролем и заражению не подвергались.

Влияние инвазии на организм норок оценивали, определяя количество гемоглобина, эритроцитов и лейкоцитов на гематологическом анализаторе «Medonic CA 620» согласно инструкции. В мазках крови, окрашенных по Романовскому, выводили лейкоцитарную формулу. Для морфологического исследования кровь у норок отбирали из кончика хвоста (волосы на кончике хвоста выстригали, протирали сухой ватой и производили сечение). Кровь опытных и контрольных животных исследовали на 3, 5, 10, 14, 21 день после заражения. Полученные результаты исследований подвергали статистической обработке компьютерной программой Stat.Biom 2720.

Результаты исследований. В результате патогенного воздействия гельминтов на организм животных наиболее ранние изменения происходят в крови. У щенков норок, зараженных *Strongyloides martis*, на третий