

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.327.3+616.34]-008.87-078:001.573

Затевалов А.М., Селькова Е.П., Афанасьев С.С., Алешкин А.В., Миронов А.Ю., Гусарова М.П., Гудова Н.В.

ОЦЕНКА СТЕПЕНИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ МИКРОФЛОРЫ РОТОГЛОТКИ И КИШЕЧНИКА С ПОМОЩЬЮ МЕТОДОВ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского»
Роспотребнадзора, 125212, Москва, Российская Федерация

Изучена микрофлора фекалий и ротоглотки, концентрация летучих жирных кислот в слюне от пациентов консультативно-диагностического центра ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора. Разработана компьютерная программа классификации по степени микробиологических нарушений на основе полученных данных с использованием искусственных нейронных сетей и дискриминантного анализа. Выявлено снижение вероятности ложной классификации при увеличении степени микробиологических нарушений микрофлоры кишечника и отсутствие подобной корреляции для микробиологических и метаболических нарушений микрофлоры ротоглотки.

Ключевые слова: дифференциальная диагностика; летучие жирные кислоты; медицинская кибернетика.

Для цитирования: Затевалов А.М., Селькова Е.П., Афанасьев С.С., Алешкин А.В., Миронов А.Ю., Гусарова М.П., Гудова Н.В. Оценка степени микробиологических нарушений микрофлоры ротоглотки и кишечника с помощью методов математического моделирования. Клиническая лабораторная диагностика. 2016; 61 (2): 117-121.

DOI 10.18821/0869-2084-2016-61-2-117-121.

Zatevalov A.V., Selkova E.P., Afanasiev S.S., Aleshkin A.V., Mironov A.Yu., Gusarova M.P., Gudova N.V.

THE EVALUATION OF MICROBIOLOGICAL DISORDERS OF MICROFLORA OF OROPHARINX AND INTESTINE USING MATHEMATICAL MODELING TECHNIQUE

G.N. Gabrichevskii Moscow research institute of epidemiology and microbiology of Rospotrebnadzor, 125212 Moscow, Russia

The analysis was applied to microflora of feces and oropharynx and concentration of volatile fatty acids in saliva from patients of consultative diagnostic center of G.N. Gabrichevskii Moscow research institute of epidemiology and microbiology. The computer classification program is developed on the basis of determining degree of microbiological disorders on the basis of received data and using artificial neural networks and discriminant analysis. The analysis established decreasing of probability of false classification in case of increasing of degree of microbiological disorders of microflora of intestine and absence of such a correlation for microbiological and metabolic disorders of microflora of intestine.

Key words: differential diagnostic; volatile fatty acids; medical cybernetics

For citation: Zatevalov A.V., Selkova E.P., Afanasiev S.S., Aleshkin A.V., Mironov A.Yu., Gusarova M.P., Gudova N.V. The evaluation of microbiological disorders of microflora of oropharynx and intestine using mathematical modeling technique. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2016; 61 (2) : 117-121. (in Russ.)

DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-2-2015

For correspondence: Mironov A.Yu., doctor of medical sciences, professor, e-mail: andy.60@mail.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Financing. The study had no sponsor support.

Received 15.12.15

Accepted 15.12.15

Введение. По данным Минздрава РФ, за 2010 г. причина смертности в 56,6% случаев – заболевания сердечно-сосудистой системы [1]. Одними из факторов риска являются метаболический синдром и сахарный диабет, которые развиваются из-за неправильного образа жизни, нерационального питания, плохой экологии и других причин [12]. Развитию метаболического синдрома предшествует дисбиоз кишечника и ротоглотки, а также других нестерильных полостей организма. Начало исследованию дисбиозов и методов их коррекции положено в 1916 г. Nissle, который изучал соотношение нетипичных и типичных *Escherichia coli*. С открытием новых видов микроорганизмов возникла необходимость в систематизации данных о микробиоценозах, что привело к классификации дисбиозов по степени микробиологических нарушений (СМН). С распространением молекулярно-

биологических и физико-химических методов исследования сложилось понимание о микробиоценозе как о сложной и закрытой системе, так как большинство микроорганизмов не может быть изолировано и идентифицировано культуральным методом, а их трофические и межклеточные связи не выявляются. Микробиоценоз является чувствительным сенсором, способным формировать маркеры заболеваний на ранних стадиях. К маркерам можно отнести химические соединения, которые образуются в связи с изменениями в микробиоценозе или в соотношении химических веществ-метаболитов, которые постоянно синтезируются в результате жизнедеятельности микроорганизмов.

Системный подход в изучении микробиоценозов объединен общим названием ОМИКС-технологии [2, 3]. Человек и его микробиоценоз представляются как единая интегрированная система, а совокупность микроорганизмов как единый орган – микробно-тканевый комплекс. Принцип ОМИКС-технологий заключается в оценке средствами био-

Для корреспонденции: Миронов Андрей Юрьевич, д-р мед. наук, проф., andy.60@mail.ru

физики больших массивов данных о генах, белках, метаболитах биологического объекта. Из всех современных биофизических методов исследования генома, протеома, метаболома наиболее эффективными являются методы многомерной статистики (дисперсные, регрессионные) и программы распознавания образов. Исследованием метагенома занимается метагеномика, эпигеномика [3]. Постгеномными исследованиями, исследованием белкового состава микробиоценоза занимается протеомика [4]. Маркеры метаболической природы исследуются метаболомикой, в случае исследования части метаболома – метаболомикой [5]. Исследование метаболитов проводится методами многомерной классификации объектов – искусственными нейронными сетями (ИНС) и многомерной регрессии – дискриминантным анализом, который предназначен для классификации образцов от пациентов с различными диагнозами по решающему правилу. Решающее правило, предназначенное для классификации объектов, – линейные классификационные уравнения, которые получают в результате дискриминации объектов с известными диагнозами или степенями микробиологических/метаболических нарушений, подбирая коэффициенты по критерию наименьшей вероятности их ложной классификации [6, 11].

Степени микробиологических нарушений нуждаются в четких правилах классификации, поскольку на практике встречаются результаты, по которым нельзя однозначно определить СМН из-за частичного сходства либо с одной, либо с другой степенью, что вносит элемент субъективности и является непростой экспертной задачей. Преимущество классификации по алгоритму ИНС или по линейным классификационным функциям дискриминантного анализа концентраций летучих жирных кислот (ЛЖК) заключается в том, что формируется однозначный алгоритм, учитывающий все скрытые нелинейные зависимости в соотношении содержания различных микроорганизмов или концентраций ЛЖК в субстрате. Величины вероятности ложной классификации предполагают возможность количественно оценивать изменения микробиоценозов.

Цель работы – оценка шкалы классификации нарушений микробиоценоза кишечника с помощью моделирования концентраций микроорганизмов в кале искусственными нейронными сетями; сравнение степени микробиологических и метаболических нарушений микробиоценоза ротоглотки методами многомерной статистики – нейронных сетей концентраций микроорганизмов в мазке со слизистой оболочки задней стенки глотки и дискриминантного анализа концентраций ЛЖК в слюне.

Материал и методы. В поперечном исследовании отобрано 3157 результатов анализов бактериологического исследования кала пациентов консультативно-диагностического центра ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора. Результаты посева подвергнуты экспертной оценке врачом-бактериологом для определения СМН по параметрам, приведенным в отраслевом стандарте [7]. Из них в группу «норма» определено 1786 пациентов, в группу «I степень дисбиоза» – 984, в группу «II степень дисбиоза» – 358, в группу «III степень дисбиоза» – 29 человек. Указанная экспертная оценка принята в качестве группирующего параметра выборки для построения ИНС с помощью пакета ST Neural Networks программы Statistica 8.0. В качестве переменных ИНС приняты значения десятичных логарифмов концентраций микроорганизмов в кале. Значения округлялись до целого числа, отсутствующие микроорганизмы обозначали как 0.

Аналогично собраны и исследованы результаты бактериологического исследования материала из зева от 140 пациентов консультативно-диагностического центра ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора. Экспертная оценка бактериологических посевов проводилась согласно данным, приведенным в методических рекомендациях [8].

Результаты биохимического анализа слюны 140 пациентов, для которых проводилась экспертная оценка по СМН, классифицировали с помощью дискриминантного анализа концентраций ЛЖК (пакет ST Multivariate Exploratory Techniques программы STATISTICA 8.0).

Определяли концентрации ЛЖК в слюне методом газожидкостной хроматографии, основанном на разделении веществ в потоке газа-носителя на гетерогенизированных поверхностях адсорбционных колонок благодаря различным скоростям адсорбционно-десорбционных процессов. Для определения содержания ЛЖК в содержимом кишечника применялось разделение подкисленного супернатанта пробы на хроматографе [9, 10]. В экспериментах использовали газовый хроматограф Кристалл 5000.2 с пламенно-ионизационным детектором на капиллярной металлизированной колонке FFPA диаметром 0,25 мм, длиной 32 м. Параметры хроматографирования: термостат – изотерма 155°C, температура испарителя и детектора 250°C, скорость газа-носителя 60 см/с, давление в колонке 136 кПа. В биосубстрате хроматографически определяли в порядке времен удержания уксусную (C₂), пропионовую (C₃), изомаляную (iC₄), масляную (C₄), изовалериановую (iC₅), валериановую (C₅), изокапроновую (iC₆), капроновую (C₆) кислоты.

Статистическая обработка проводилась с использованием программ Microsoft Excel 2010 и программы Statistica 8.0.

При анализе групп, сформированных во время исследования, использован один из методов многомерной статистики – дискриминантный анализ, что позволило оценить качество разделения групп, выделить наиболее информативные признаки деления результатов анализов на группы.

Проверка точности представленных групп проводилась с помощью линейных классификационных функций, оценка информативности признаков оценивалась по F-критерию Фишера.

Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез $p = 0,05$.

В дискриминантном анализе рассчитывали характеристики, необходимые для интерпретации групп и их различий: D^2 – квадрат расстояния Махалонобиса, канонические линейные классификационные функции (ЛКФ), факторную нагрузку канонических ЛКФ, координаты центроидов.

Классификация результатов бактериологического анализа микрофлоры кишечника при помощи создания, подбора и обучения искусственных нейронных сетей (ИНС). Для оптимизации работы с результатами бактериологического анализа логарифмы концентраций микроорганизмов, выявленных в анализах, округляли до целого числа, а концентрации не выявленных микроорганизмов заменяли на 0.

Тестовая и обучающая выборки формировались из одной базы данных 3050 пациентов, из которых 2440 (80%) выбраны случайным образом для обучающей и 610 (20%) – для контрольной. В результате обработки данных пакетом St. Automate Neural Networks программы Statistica выбрана ИНС с многослойным перцептроном (MPL93-14-4) с 14 входными нейронами, 93 скрытыми, 4 выходными. При обучении контролировали величины ошибки по лифтовым картам и сравнивали производительности (корректной классификации объектов) предлагаемых архитектур нейросетевых алгоритмов. ИНС MPL93-14-4 показала максимальную производительность для обучающей (99,9%) и тестовой выборки (97,4%). Классификация объектов (результатов бактериологического анализа микрофлоры кишечника) представлена в табл. 1.

Распределение корректно и некорректно классифицированных объектов по группам представлено в классификационной матрице (табл. 2).

Рассмотрим гистограмму распределения ложной классификации объектов.

Таблица 1

Классификация объектов по степени микробиологических нарушений искусственной нейронной сетью MPL93-14-4

Группы	I степень		II степень		III степень		Норма	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Корректно	515	90,351	204	99,024	21	100	1617	99,63
Некорректно	55	9,649	2	0,976	0	0	6	0,37
Всего...	570		206		21		1623	

Из анализа доли *корректной* классификации результатов бактериологического анализа кала можно отметить минимальную величину ложной классификации для III степени микробиологических нарушений (рис. 1) как группы “норма”, так и остальных групп (рис. 2, 3). Прослеживается тенденция увеличения вероятности ложной классификации со снижением степени микробиологических нарушений и минимальную для группы II СМН (см. рис. 1). Максимальная величина определена у группы I СМН, что объясняется максимальным числом случаев, имеющих одинаковые показатели с группами “норма” или II СМН.

Классификация результатов бактериологического анализа микрофлоры задней стенки глотки при помощи создания, подбора и обучения искусственных нейронных сетей. Для исходной классификации результатов бактериологического анализа мазков с задней стенки глотки использовались правила, предложенные в методических рекомендациях [8].

Таблица 2

Матрица классификации объектов по группам искусственной нейронной сетью MPL93-14-4

Результаты выходного нейрона	Доля объектов с заданной классификацией, определенной ИНС MPL 93-14-4, %			
	I степень	II степень	III степень	Норма
1.MLP 93-14-4-1	98,47	0,38	0,00	1,15
1.MLP 93-14-4-2	5,08	94,92	0,00	0,00
1.MLP 93-14-4-3	0,00	0,00	100,00	0,00
1.MLP 93-14-4-5	2,59	0,00	0,00	97,41

Таблица 3

Классификация объектов по степени микробиологических нарушений искусственной нейронной сетью MPL 58-30-4

Группы	I степень		II степень		III степень		Норма	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Корректно	105	98,6	10	100,0	98	98,0	122	99,3
Некорректно	2	1,4	0	0,0	2	2,0	1	0,0
Всего...	107		10		100		123	

Таблица 4

Матрица классификации объектов по группам искусственной нейронной сетью MPL 58-30-4

Результаты выходного нейрона	Доля объектов с заданной классификацией, определенной ИНС MPL 58-30-4, %			
	I степень	II степень	III степень	Норма
1. MPL 58-30-4-1	98,47	0,00	0,00	0,00
1. MPL 58-30-4-2	1,53	100,00	0,00	0,00
1. MPL 58-30-4-3	0,00	0,00	98,36	0,67
1. MPL 58-30-4-5	0,00	0,00	1,64	99,33

Согласно этим правилам, при определении степени микробиологических нарушений учитывались не только соотношения микроорганизмов, но и показатели иммунитета. Для оптимизации работы с результатами бактериологического анализа логарифмы концентраций выявленных микроорганизмов округлялись до целого числа, концентрации не выявленных микроорганизмов заменялась на 0.

Тестовая и обучающая выборки формировались из одной базы данных, включающей 424 пациента, из которых 340 (80%) выбраны случайным образом для обучающей и 85 (20%) – для контрольной.

В результате обработки данных пакетом Automate Neural Networks программы Statistica выбрана ИНС с многослойным перцептроном (MPL 58-30-4) с 13 входными нейронами, 58 скрытыми, 4 выходными. При обучении ИНС MPL 58-30-4 достигнуты результаты максимально корректной классификации объектов для обучающей (98,8%) и тестовой выборки (99,2%) из всех вариантов ИНС предлагаемых библиотек программы Statistica. Классификация объектов (результатов бактериологического анализа микрофлоры кишечника) представлена в табл. 3.

Распределение корректно и некорректно классифицированных объектов по группам представлено в классификационной матрице (табл. 4).

Из анализа величин вероятности ложной классификации для групп микробиологических нарушений микробиоценоза ротоглотки можно отметить минимальную величину для II степени и максимальную для III (рис. 3). Максимальное значение величины ложной классификации (ВЛК) в группе “норма” имеет III степень СМН, а для группы III СМН максимальное значение ВЛК имеет группа “норма” (рис. 4). Это объясняется максимальным числом случаев, которые имеют одинаковые показатели в группах “норма” и “III СМН”, что свидетельствует о несоответствии количественного выражения степени микробиологических нарушений и глубины изменений в соотношениях микроорганизмов.

Классификация биохимического анализа слюны дискриминантным анализом концентраций ЛЖК в слюне. При проведении дискриминантного анализа концентраций ЛЖК в слюне различия между группами с I, II, III СМН микробиоценоза ротоглотки и нормой подтверждены для уксу-

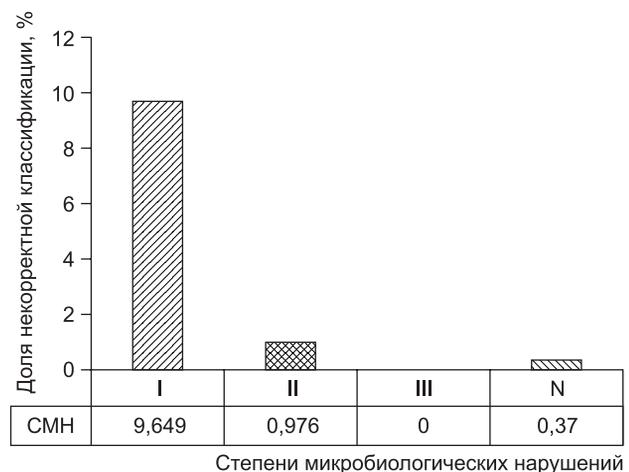


Рис. 1. Доля корректной классификации результатов бактериологического анализа кала по степеням микробиологических нарушений.

МИКРОБИОЛОГИЯ

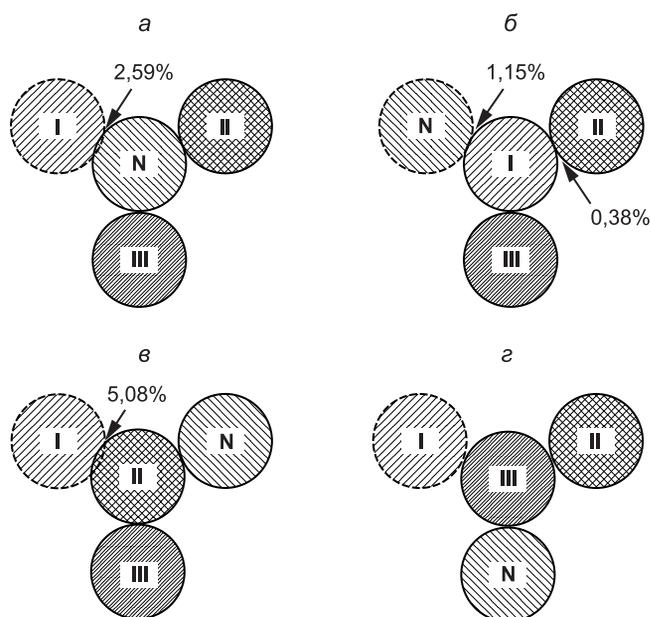


Рис. 2. Распределение вероятностей ложной классификации результатов бактериологического анализа кала для групп, ранжированных по степени микробиологических нарушений.

а – норма – N, б – I CMH – I, в – II CMH – II, г – III CMH – III.

ной (C_2), изомаляной (iC_4), масляной (C_4), валериановой (C_5), изокапроновой (iC_6) кислот необходимыми условиями по параметрам корреляционно-ковариационных связей переменных, а также низким значением лямбды Уилкса.

При проверке линейными классифицирующими функциями неверно разнесено в 1-й группе, I степень (I) – 1 пациент. Точность группирования составила 99,30% (табл. 5).

Оценка информативности признаков в двух группах, выбранных для анализа, представлена в табл. 6.

Из табл. 6 следует, что все представленные в ней переменные являются информативными параметрами с уровнями значимости менее 0,0000001. Наиболее информативным признаком является C_4 – концентрация масляной кислоты

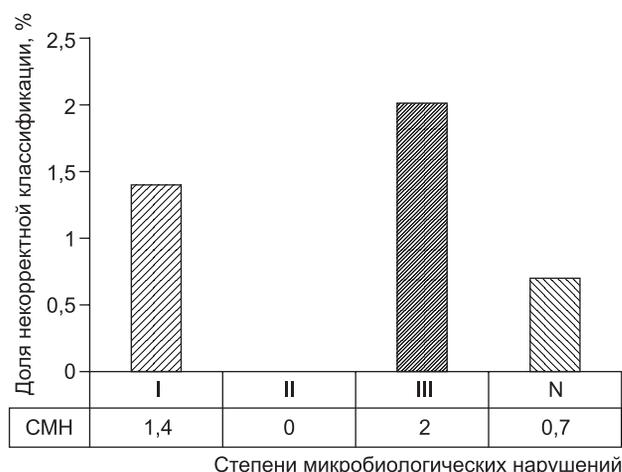


Рис. 3. Доля корректной классификации результатов бактериологического анализа кала по степеням микробиологических нарушений.

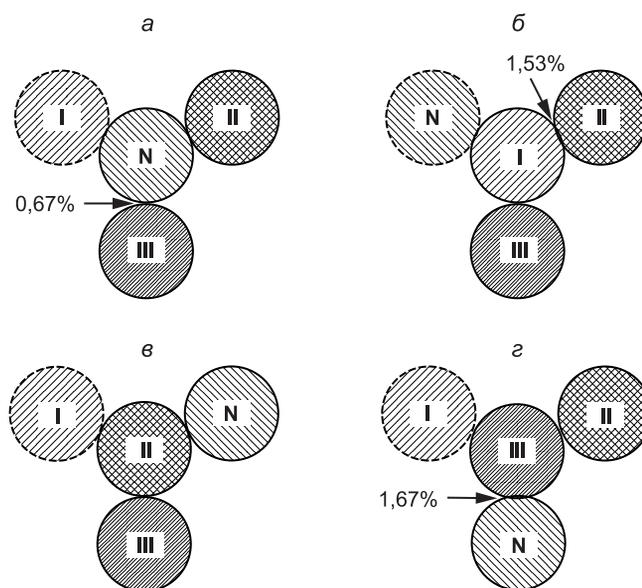


Рис. 4. Распределение вероятностей ложной классификации результатов бактериологического анализа кала для групп, ранжированных по степени микробиологических нарушений.

а – норма – N, б – I CMH – I, в – II CMH – II, г – III CMH – III.

($F = 131,917$). Коэффициенты линейных дискриминантных функций представлены в табл. 7.

С использованием полученных коэффициентов линейные классификационные формулы будут выглядеть следующим образом (формула 1):

$$F1 = -23,945 + 3,0737 \cdot C_2 - 49,616 \cdot iC_4 - 3,2024 \cdot C_4 + 38,8721 \cdot C_5 + 159,562 \cdot iC_6$$

$$F2 = -40,032 + 3,7652 \cdot C_2 - 77,455 \cdot iC_4 + 10,1561 \cdot C_4 + 3,9959 \cdot C_5 + 201,682 \cdot iC_6$$

$$F3 = -3,09 + 1,1693 \cdot C_2 - 17,438 \cdot iC_4 + 0,1046 \cdot C_4 + 6,0642 \cdot C_5 + 51,9942 \cdot iC_6$$

Таблица 5

Распределение результатов классификации анализов линейными классификационными уравнениями по группам

Группа	%	I степень (I)	II степень (II)	III степень (III)	Норма (N)
I степень (I)	92,31	12	0	1	0
II степень (II)	100	0	4	0	0
III степень (III)	100	0	0	117	0
Норма (N)	100	0	0	0	7
Всего...	99,30	12	4	118	7

Таблица 6

Оценка чувствительности решающих правил

Переменные	Показатели, ммоль/г	F-включения	p
C_2	Уксусная кислота	66,7405	0
iC_4	Изомаляная кислота	31,9185	0
C_4	Масляная кислота	131,917	0
C_5	Валериановая кислота	21,132	0
iC_6	Изокапроновая кислота	29,3258	0

Таблица 7

Коэффициенты линейных классификационных функций

Пере- менные	Показатели, ммоль/г	I степень (F1)	II сте- пень (F2)	III сте- пень (F3)	Норма (FN)
C ₂	Уксусная кислота	3,0737	3,7652	1,1693	0,5739
iC ₄	Изомасляная кислота	-49,616	-77,455	-17,438	-58,531
C ₄	Масляная кислота	-3,2024	10,1561	0,1046	29,8685
C ₅	Валериано- вая кислота	38,8721	3,9959	6,0642	-17,228
iC ₆	Изокапроно- вая кислота	159,562	201,682	51,9942	68,7191
	Постоянная	-23,945	-40,032	-3,09	-35,989

Таблица 8

Квадрат расстояний Махаланобиса между группами

Код группы	Квадрат расстояний			
	I степень (F1)	II степень (F2)	III степень (F3)	норма (FN)
I степень (F1)	0,00	23,26	19,73	84,70
II степень (F2)	23,26	0,00	39,80	55,45
III степень (F3)	19,73	39,80	0,00	57,67
Норма (FN)	84,70	55,45	57,67	0,00

$$FN = -35,989 + 0,5739 \cdot C_2 - 58,531 \cdot iC_4 + 29,8685 \cdot C_4 - 17,228 \cdot C_5 + 68,7191 \cdot iC_6,$$

где концентрации кислот в слюне, ммоль/г: C₂ – уксусной; iC₄ – изомасляной; C₄ – масляной; C₅ – валериановой; iC₆ – изокапроновой.

Отнесение объекта к определенной группе выполняется по максимальному значению линейных классификационных функций – max Fi (i = 1, k) [6] после их расчета по набору переменных для каждой группы, где k – количество групп. В нашем случае k = 4. Расстояния между группами приведены в табл. 8.

Получен результат, свидетельствующий о том, что группы «норма» и «I степень» находятся на большем расстоянии (84,7), чем группа «норма» и «III степень» микробиологических нарушений (57,67) (см. табл. 8).

Выводы

1. Шкала классификации микробиологических нарушений микробиоценоза кишечника разработана с помощью программы подбора и обучения нейросетей по 4 степеням: норма, I, II, III СМН.

2. Вероятность ложной классификации объектов снижается с увеличением разницы количества степеней микробиологических нарушений.

3. Шкала классификации микробиологических и метаболических нарушений микробиоценоза ротоглотки разработана с помощью программы подбора и обучения нейросетей и дискриминантного анализа концентраций ЛЖК в слюне по 4 степеням: норма, I, II, III СМН.

4. Вероятность ложной классификации выше, а квадрат расстояния Махаланобиса между центроидами групп «норма – I степень» меньше, чем для групп «норма – III степень», что не позволяет проводить корреляцию между степенями микробиологических и метаболических нарушений микробиоценоза ротоглотки и величиной изменений состава и метаболической активности микрофлоры.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 2, 4–5 см. REFERENCES)

1. Гриневич В.Б., Сас Е.И., Кон В.Е., Ефимов О.И. *Коррекция микробиоценоза кишечника, как базовая составляющая комплексной терапии метаболического синдрома и кардиоваскулярных заболеваний: Учебно-методическое пособие для врачей.* СПб.: 2012.
3. Шестаков С.В. Метагеномика микробиома человека. *Успехи современной биологии.* 2010; (6): 531–43.
6. Айвазян С.А., Бухштабер В.М., Енюков И.С., Мешалкин Л.Д. *Прикладная статистика: Классификация и снижение размерности: Справочное издание.* М.: Финансы и статистика; 1989.
7. Приказ МЗ РФ № 231 от 9 июня 2003 г. Об утверждении отраслевого стандарта «Протокол ведения больных дисбактериозом кишечника». М.; 2003.
8. Зверев В.В., Несвижский Ю.В., Воропаева Е.А., Афанасьев С.С., Алешкин В.А., Караулов А.В. и др. *Микроэкология и гуморальный иммунитет слизистых открытых полостей человека в норме и при патологических состояниях: Учебное пособие для системы послевузовского профессионального образования врачей.* Астрахань, Москва: АГМА; 2011.
9. Кондракова О.А., Бабин В.Н., Дубинин А.В. и др. Новые подходы к диагностике и лечению дисбактериозов. В кн.: *Сборник трудов по материалам конференции «Лабораторная молекулярная микроэкология».* М.; 2000: 215.
10. Иконников Н.С., Ардатская М.Д., Дубинин А.В., Бабин В.Н., Минушкин О.Н., Кондракова О.А. и др. Способ разделения смеси жирных кислот, фракций C₂–C₇ методом газо-жидкостной хроматографии. Патент РФ № 2145511; 2000.
11. Михалевиц И.М., Рожкова Н.Ю. *Основы прикладной статистики: методические рекомендации.* Иркутск; 2006.
12. Дятлов И.А., Миронов А.Ю., Шепелин А.П., Алешкин В.А. Состояние и тенденции развития клинической и санитарной микробиологии в Российской Федерации и проблема импортозамещения. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2015; 60 (8): 61–4.

Поступила 15.12.15

REFERENCES

1. Grinevich V.B., Sas E.I., Kon V.E., Efimov O.I. *Correction of Complex Microbial-bowel Tissue, as a Basic Component of the Complex Therapy of Metabolic Syndrome and Cardiovascular Diseases: Educational handbook for doctors [Korreksiya mikrobnno-tkanevogo kompleksa kishhechnika, kak bazovaya sostavlyayushchaya kompleksnoy terapii metabolicheskogo sindroma i kardiovaskulyarnykh zabolevaniy: Uchebno-metodicheskoe posobie dlya vrachey].* St. Petersburg; 2012. (in Russian)
2. Quackenbush J. Extracting biology from high-dimensional biological data. *J. Exp. Biol.* 2007; 210 (Pt. 9): 1507–17.
3. Shestakov S.V. Human microbiome metagenomics. *Uspekhi sovremennoy biologii.* 2010; (6): 531–43. (in Russian)
4. Tyers M., Mann M. From genomics to proteomics. *Nature.* 2003; 422 (6928): 193–7.
5. Qin J., Li R., Raes J., Arumugam M., Burgdorf K.S., Manichanh C. et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *MetaHIT Consortium. Nature.* 2010; 464 (7285): 59–65.
6. Ayvazyan S.A., Bukhshtaber V.M., Enyukov I.S., Meshalkin L.D. *Applied Statistics: Classification and Dimension Reduction: Reference books [Prikladnaya statistika: Klassifikatsiya i snizhenie razmernosti: Spravochnoe izdanie].* Moscow: Finansy i statistika; 1989. (in Russian)
7. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation № 231 dated June 9, 2003. On approval of the industry standard “Treatment Protocol intestinal dysbiosis”. Moscow; 2003. (in Russian)
8. Zverev V.V., Nesvizhskiy Yu.V., Voropaeva E.A., Afanas'ev S.S., Aleshkin V.A., Karaulov A.V. et al. *Microbiology and Humoral Immunity of Mucous Open Spaces of Human Normal and Pathological Conditions. Textbook for postgraduate education of physicians [Mikroekologiya i gumoral'nyy immunitet slizistykh otkrytykh polostey cheloveka v norme i pri patologicheskikh sostoyaniyakh. Uchebnoe posobie dlya sistemy poslevuzovskogo professional'nogo obrazovaniya vrachey].* Astrakhan', Moscow: AGMA; 2011. (in Russian)
9. Kondrakova O.A., Babin V.N., Dubinin A.V. et al. New approaches to the diagnosis and treatment of dysbiosis. In: *Proceedings on the Conference “Molecular Laboratory Microenvironment” [Sbornik trudov po materialam konferentsii “Laboratornaya molekulyarnaya mikroekologiya”].* Moscow; 2000: 215. (in Russian)
10. Ikonnikov N.S., Ardatskaya M.D., Dubinin A.V., Babin V.N., Minushkin O.N., Kondrakova O.A. et al. A Method of Separating a Mixture of Fatty Acids, C₂–C₇ Fractions by Gas-liquid Chromatography. Patent RF № 2145511; 2000. (in Russian)
11. Mikhalevich I.M., Rozhkova N.Yu. *Basics of Applied Statistics: guidelines [Osnovy prikladnoy statistiki: metodicheskie rekomendatsii].* Irkutsk; 2006. (in Russian)
12. Dyatlov I.A., Mironov A.Yu., Shepelin A.P., Aleshkin V.A. Status and trends of Clinical Microbiology and health in the Russian Federation and the problem of import substitution. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2015; 60 (8): 61–4. (in Russian)

Received 15.12.15