

<https://doi.org/10.33878/2073-7556-2024-23-1-108-116>



## Пристеночная микробиота дивертикулов при воспалительных осложнениях дивертикулярной болезни (пилотное исследование)

Шакиров Р.Р.<sup>1,2</sup>, Панкратова Ю.С.<sup>1,2</sup>, Сенина А.М.<sup>3</sup>, Булыгина Е.А.<sup>3</sup>, Карасева О.С.<sup>3</sup>, Григорьева Т.В.<sup>3</sup>, Яруллина Д.Р.<sup>3</sup>, Карпухин О.Ю.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России (ул. Бутлерова, д. 49, г. Казань, 420012, Россия)

<sup>2</sup>ГАУЗ «Республиканская клиническая больница» МЗ РТ (Оренбургский тракт, д. 138, г. Казань, 420064, Россия)

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия)

### РЕЗЮМЕ

**ЦЕЛЬ:** выявление специфики пристеночной микробиоты воспаленных дивертикулов и оценка ее влияния на прогрессирование дивертикулярной болезни до воспалительных осложнений, требующих хирургической коррекции.

**ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ:** методами классической микробиологии и с помощью анализа библиотек последовательностей генов 16S рРНК, секвенированных на платформе Illumina MiSeq, проведено пилотное исследование пристеночной микробиоты дивертикулов в четырех резецированных препаратах сигмовидной кишки у пациентов, оперированных по поводу воспалительных осложнений дивертикулярной болезни.

**РЕЗУЛЬТАТЫ:** на фоне выраженного индивидуального характера микробиоты каждого пациента, во всех образцах в значительном количестве обнаружены энтеробактерии, а соотношение *Prevotella*-к-*Bacteroides* (P/B) было смещено в сторону преобладания *Bacteroides*. В трех образцах *Firmicutes* преобладали над *Bacteroidetes*. Так же в трех образцах равновесие в микробном пейзаже было значительно смещено в сторону одного рода: *Parvimonas*, *Akkermansia*, *Bacteroides* или *Bifidobacterium*.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** анализ микробиоты внутри воспаленных дивертикулов позволил выявить определенные сдвиги в кишечном микробиоме, которые могут способствовать прогрессированию воспаления в дивертикуле вплоть до его воспалительной деструкции. Полученные данные представляют интерес для понимания механизмов патогенеза заболевания, поиска новых методов эффективного купирования воспаления дивертикулов и профилактики его рецидивов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** микробиота кишечника, дивертикулярная болезнь

**ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ:** Исследование выполнено при финансовой поддержке РФ (грант № 22-16-00040). Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030)

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:** Шакиров Р.Р., Панкратова Ю.С., Сенина А.М., Булыгина Е.А., Карасева О.С., Григорьева Т.В., Яруллина Д.Р., Карпухин О.Ю. Пристеночная микробиота дивертикулов при воспалительных осложнениях дивертикулярной болезни (пилотное исследование). *Колопроктология*. 2024; т. 23, № 1, с. 108–116. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2024-23-1-108-116>

## Mucosal microbiota of the diverticula in inflammatory complications of diverticular disease (a pilot study)

Rais R. Shakirov<sup>1,2</sup>, Yuliia S. Pankratova<sup>1,2</sup>, Anastasiya M. Senina<sup>3</sup>, Eugenia A. Boulygina<sup>3</sup>, Olga S. Karaseva<sup>3</sup>, Tatiana V. Grigoryeva<sup>3</sup>, Dina R. Yarullina<sup>3</sup>, Oleg Y. Karpukhin<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Kazan State Medical University (Butlerova st., 49, Kazan, 420012, Russia)

<sup>2</sup>Republican Clinical Hospital (Orenburg tract, 138, Kazan, 420064, Russia)

<sup>3</sup>Kazan Federal University (Kremlevskaya st., 18, Kazan, 420008, Russia)

### ABSTRACT

**AIM:** to identify the specificity of the mucosal microbiota of inflamed diverticula and to assess its influence on the progression of diverticular disease to inflammatory complications requiring surgery.

**PATIENTS AND METHODS:** in this pilot study using classical culture methods and analysis of 16S rDNA libraries sequenced on the Illumina MiSeq platform, we characterized the mucosa-associated microbiota of four diverticula in resected colon specimens of patients.

**RESULTS:** in all the samples the abundance of Enterobacteria and the shift towards the predominance of Bacteroides in the ratio of Prevotella-to-Bacteroides (P/B) was detected. In three samples, Firmicutes prevailed over Bacteroidetes. Also, in three samples the balance in the microbial landscape was strongly shifted towards one genus: Bacteroidetes, Parvimonas, Akkermansia, or Bifidobacterium.

**CONCLUSION:** microbiota inside inflamed diverticula revealed the specific shifts in the intestinal microbiome that may contribute to the progression of inflammation in the diverticulum up to its inflammatory destruction.

**KEYWORDS:** gut microbiota, diverticular disease

**FUNDING STATEMENT:** This research was funded by Russian Science Foundation (grant N 22-16-00040). The work was performed in frames of the Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program (PRIORITY-2030)

**CONFLICT OF INTEREST:** The authors declare no conflict of interest

**FOR CITATION:** Shakirov R.R., Pankratova Y.S., Senina A.M., Boulygina E.A., Karaseva O.S., Grigoryeva T.V., Yarullina D.R., Karpukhin O.Y. Mucosal microbiota of the diverticula in inflammatory complications of diverticular disease (A pilot study). *Koloproktologia*. 2024;23(1):108–116. (in Russ.). <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2024-23-1-108-116>

**АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ:** Яруллина Дина Рашидовна, кафедра микробиологии Института фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казанский (Приволжский) федеральный университет, ул. Кремлевская, д. 18, Казань, 420008, Россия; тел.: +7 (927) 030-09-50; e-mail: kasfes@gmail.com, Dina.Yarullina@kpfu.ru.

**ADDRESS FOR CORRESPONDENCE:** Dina Yarullina, Department of Microbiology, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University, Kremlevskaya str. 18, Kazan, 420008, Russian; tel.: +7 (927) 030-09-50; e-mail: kasfes@gmail.com; Dina.Yarullina@kpfu.ru.

Дата поступления — 01.08.2023

Received — 01.08.2023

После доработки — 23.11.2023

Revised — 23.11.2023

Принято к публикации — 12.02.2024

Accepted for publication — 12.02.2024

## ВВЕДЕНИЕ

В последнее десятилетие большое внимание уделяется роли кишечной микробиоты в патогенезе метаболического синдрома, воспалительных, онкологических, нейродегенеративных и ряда других заболеваний [1]. Видовой состав и соотношение микроорганизмов, входящих в микробиоту кишечника, чрезвычайно многообразны и зависят от множества факторов. Генетика, возраст, прием антибиотиков, диета, сопутствующие заболевания могут влиять на микробиом, что делает его весьма динамичной и индивидуальной экосистемой [2]. Большинство публикаций рассматривают изменения лишь полостной микробиоты при различных патологических состояниях, в то время как пристеночная микробиота, обеспечивающая колонизационную резистентность, изучена значительно меньше. Известные различия между фекальной и пристеночной микробиотой [3] особо актуальны при дивертикулярной болезни (ДБ), для которой характерно формирование особой микробной среды в замкнутом пространстве дивертикула [4]. Исследования, посвященные роли кишечной микробиоты в прогрессировании ДБ, немногочисленны, а их результаты — противоречивы [5]. Как правило, они описывают изменения фекальной микробиоты. В доступной нам литературе обнаружена одна работа, посвященная анализу микробиоты

резецированных препаратов у пациентов с хроническим течением ДБ [6]. Кроме выявленных различий в микробном пейзаже кишечника между здоровыми людьми и пациентами с ДБ, на роль кишечной микробиоты в патогенезе ДБ указывают эффективность пробиотиков и топического антибиотика рифаксимина в терапии ДБ [7,8].

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявление специфики пристеночной микробиоты воспаленных дивертикулов и оценка ее влияния на прогрессирование ДБ до воспалительных осложнений, требующих хирургической коррекции.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Проведено клиничко-лабораторное исследование четырех образцов сигмовидной кишки пациентов, находившихся на лечении в отделении колопроктологии ГАУЗ «Республиканская клиническая больница Минздрава Республики Татарстан» с февраля 2020 г. по февраль 2022 г. Мужчин — 3, женщина — 1. Средний возраст —  $61,5 \pm 7,89$  лет. Клинические характеристики пациентов отражены в Таблице 1. Данное исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО Казанский ГМУ от

**Таблица 1.** Клинические характеристики обследованной группы пациентов  
**Table 1.** Clinical characteristics of the examined group of patients

| № | Пациент, возраст | Пол | Локализация дивертикула | Клинический диагноз                                                                                                    | Курс антибиотикотерапии перед операцией |
|---|------------------|-----|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 1 | К., 52           | М   | Сигмовидная кишка       | ДБ сигмовидной кишки, осложненная дивертикулитом и параколическим абсцессом                                            | да                                      |
| 2 | Г., 52           | М   | Сигмовидная кишка       | ДБ сигмовидной кишки, осложненная дивертикулитом, воспалительным инфильтратом и формированием воспалительной стриктуры | нет                                     |
| 3 | Б., 68           | М   | Сигмовидная кишка       | ДБ сигмовидной кишки, дивертикулит, хроническое непрерывное течение, рефрактерность к проводимой терапии               | нет                                     |
| 4 | Ш., 68           | Ж   | Сигмовидная кишка       | ДБ сигмовидной кишки, осложненная дивертикулитом и формированием воспалительной стриктуры                              | да                                      |

**Таблица 2.** Оценка микробиоты дивертикулов культуральным методом  
**Table 2.** Microbiota of diverticula assessed by culture method

| Группы микроорганизмов, КОЕ/г                | 1<br>К, 52            | 2<br>Г, 52            | 3<br>Б, 68        | 4<br>Ш, 68            |
|----------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|-----------------------|
| Общее микробное число аэробов                | $2,84 \times 10^{13}$ | $3,95 \times 10^{12}$ | $3,5 \times 10^9$ | $1,55 \times 10^{12}$ |
| Общее микробное число анаэробов              | $8 \times 10^{11}$    | $5,75 \times 10^{12}$ | $3 \times 10^9$   | $9,5 \times 10^{11}$  |
| Лактобациллы                                 | $1,42 \times 10^{12}$ | $10^{11}$             | $1,5 \times 10^9$ | $7,4 \times 10^{11}$  |
| <i>Bifidobacterium</i> spp.                  | $9,85 \times 10^{11}$ | 0                     | $4,1 \times 10^9$ | $5,5 \times 10^{10}$  |
| <i>Enterobacteriaceae</i>                    | $1,85 \times 10^{12}$ | $1,40 \times 10^{12}$ | $10^9$            | $4 \times 10^{11}$    |
| <i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp. | 0                     | $3 \times 10^9$       | 0                 | $5 \times 10^8$       |

**Таблица 3.** Показатели альфа-разнообразия пристеночной микробиоты дивертикулов  
**Table 3.** Alpha-diversity indices of the mucosal microbiota of the diverticula

| Показатели альфа-разнообразия              | 1<br>К, 52 | 2<br>Г, 52 | 3<br>Б, 68 | 4<br>Ш, 68 |
|--------------------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| Количество ОТЕ                             | 665        | 442        | 568        | 564        |
| Филогенетическое разнообразие (Faith's PD) | 41,0       | 29,8       | 32,9       | 29,9       |
| Индекс Чао1                                | 670,4      | 503,9      | 636,7      | 628,0      |
| Индекс Шеннона                             | 7,3        | 5,4        | 5,6        | 6,0        |
| Индекс Симпсона                            | 0,98       | 0,9        | 0,9        | 1,0        |

26.04.2022 протокол №4, от каждого пациента получено информированное согласие. В ходе оперативного вмешательства после резекции кишки в стерильных условиях из препарата резецированной кишки проводили забор пораженного дивертикула в едином блоке с окружающими тканями, не разрушая его целостности, затем образцы отправляли на микробиологическое исследование и геномное секвенирование в ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет». Транспортировку образцов проводили при температуре + 4°C продолжительностью не более 2 часов. Спектр культивируемых микроорганизмов образцов анализировали методами классической микробиологии с использованием питательных сред общего и специального назначения, как описано нами ранее [9]. Образцы предварительно обрабатывали протеиназой в течение 1 часа при 55°C, после чего проводили выделение ДНК с помощью набора Fast DNA SPIN Kit (MP Biomedicals). Подготовку метагеномных библиотек ДНК и высокопроизводительное секвенирование проводили по стандартному протоколу

производителя на приборе MiSeq (Illumina, США) с использованием пары праймеров, обеспечивающих амплификацию гипервариабельных участков V3 и V4 16S рРНК. Результаты секвенирования анализировали с помощью программного обеспечения QIIME 1.9.1. Выравненные последовательности сгруппировывали в операционные таксономические единицы (ОТЕ) с 97% сходством.

РЕЗУЛЬТАТЫ

С целью определения микробиоты внутри воспаленных дивертикулов, пристеночная микробиота четырех воспаленных дивертикулов сигмовидной кишки исследована рутинными методами классической микробиологии (Табл. 2) и с помощью анализа библиотек последовательностей генов 16S рРНК, секвенированных на платформе Illumina MiSeq (Табл. 3,4). Для оценки альфа-разнообразия (таксономического богатства микробных сообществ) рассчитали индексы таксономического разнообразия Чао1, Шеннона

**Таблица 4.** Основные таксоны, обнаруженные в дивертикулах с помощью секвенирования гена 16S рибосомной РНК\*  
**Table 4.** Major taxa detected in diverticula by 16S ribosomal RNA gene sequencing\*

| Таксоны                      | Относительное содержание, % |            |            |            |
|------------------------------|-----------------------------|------------|------------|------------|
|                              | 1<br>К, 52                  | 2<br>Г, 52 | 3<br>Б, 68 | 4<br>Ш, 68 |
| <i>Actinobacteria</i>        | 3,6                         | 0,9        | 0,6        | 11,5       |
| <i>Bifidobacteriales</i>     | 0,0                         | 0,0        | 0,0        | 10,3       |
| <i>Bifidobacteriaceae</i>    | 0,0                         | 0,0        | 0,0        | 10,3       |
| <i>Bifidobacterium</i>       | 0,0                         | 0,0        | 0,0        | 10,3       |
| <i>Coriobacteriales</i>      | 3,3                         | 0,7        | 0,6        | 1,1        |
| <i>Coriobacteriaceae</i>     | 3,3                         | 0,7        | 0,6        | 1,1        |
| <i>Collinsella</i>           | 2,3                         | 0,0        | 0,3        | 0,0        |
| <i>Bacteroidetes</i>         | 16,6                        | 17,6       | 13,3       | 42,7       |
| <i>Bacteroidales</i>         | 16,6                        | 17,6       | 13,3       | 42,7       |
| <i>Bacteroidaceae</i>        | 8,0                         | 10,7       | 9,7        | 40,1       |
| <i>Bacteroides</i>           | 8,0                         | 10,7       | 9,7        | 40,1       |
| <i>Porphyromonadaceae</i>    | 1,4                         | 3,6        | 0,6        | 0,3        |
| <i>Parabacteroides</i>       | 1,4                         | 1,2        | 0,6        | 0,3        |
| <i>Porphyromonas</i>         | 0,0                         | 2,4        | 0,0        | 0,0        |
| <i>Prevotellaceae</i>        | 5,4                         | 0,8        | 0,8        | 0,2        |
| <i>Prevotella</i>            | 5,4                         | 0,8        | 0,8        | 0,2        |
| <i>Rikenellaceae</i>         | 1,2                         | 1,0        | 0,2        | 1,2        |
| <i>[Odoribacteraceae]</i>    | 0,2                         | 1,3        | 0,2        | 0,0        |
| <i>[Paraprevotellaceae]</i>  | 0,3                         | 0,0        | 1,0        | 0,0        |
| <i>Firmicutes</i>            | 69,3                        | 55,5       | 48,9       | 37,6       |
| <i>Gemellales</i>            | 0,0                         | 3,4        | 0,3        | 0,0        |
| <i>Gemellaceae</i>           | 0,0                         | 3,4        | 0,3        | 0,0        |
| <i>Lactobacillales</i>       | 2,5                         | 0,6        | 0,0        | 0,4        |
| <i>Streptococcaceae</i>      | 1,6                         | 0,0        | 0,0        | 0,4        |
| <i>Streptococcus</i>         | 1,4                         | 0,0        | 0,0        | 0,4        |
| <i>Clostridiales</i>         | 66,3                        | 50,8       | 46,2       | 34,9       |
| <i>Christensenellaceae</i>   | 1,0                         | 1,4        | 3,0        | 0,0        |
| <i>Clostridiaceae</i>        | 2,4                         | 0,1        | 0,4        | 0,8        |
| <i>Lachnospiraceae</i>       | 27,4                        | 8,5        | 10,5       | 17,4       |
| <i>Blautia</i>               | 6,9                         | 0,0        | 0,3        | 8,3        |
| <i>Coprococcus</i>           | 4,8                         | 1,3        | 1,7        | 0,8        |
| <i>Dorea</i>                 | 1,3                         | 0,1        | 0,5        | 3,0        |
| <i>Roseburia</i>             | 4,7                         | 0,0        | 0,0        | 0,8        |
| <i>[Ruminococcus]</i>        | 1,0                         | 2,8        | 3,0        | 2,2        |
| <i>Peptostreptococcaceae</i> | 0,0                         | 4,3        | 0,6        | 0,0        |
| <i>Peptostreptococcus</i>    | 0,0                         | 4,3        | 0,6        | 0,0        |
| <i>Ruminococcaceae</i>       | 25,2                        | 8,8        | 25,5       | 12,7       |

| Таксоны                      | Относительное содержание, % |            |            |            |
|------------------------------|-----------------------------|------------|------------|------------|
|                              | 1<br>К, 52                  | 2<br>Г, 52 | 3<br>Б, 68 | 4<br>Ш, 68 |
| <i>Faecalibacterium</i>      | 9,1                         | 0,0        | 0,0        | 5,2        |
| <i>Oscillospira</i>          | 0,9                         | 2,3        | 1,4        | 1,6        |
| <i>Ruminococcus</i>          | 3,0                         | 0,3        | 10,7       | 2,3        |
| <i>Veillonellaceae</i>       | 1,0                         | 0,1        | 2,3        | 2,2        |
| <i>Dialister</i>             | 0,3                         | 0,0        | 0,1        | 1,5        |
| <i>Phascolarctobacterium</i> | 0,7                         | 0,0        | 2,3        | 0,0        |
| <i>[Mogibacteriaceae]</i>    | 0,3                         | 1,1        | 0,2        | 0,0        |
| <i>[Tissierellaceae]</i>     | 0,0                         | 23,1       | 1,4        | 0,0        |
| <i>Anaerococcus</i>          | 0,0                         | 2,1        | 0,0        | 0,0        |
| <i>Parvimonas</i>            | 0,0                         | 21,0       | 1,4        | 0,0        |
| <i>Erysipelotrichales</i>    | 0,4                         | 0,2        | 2,3        | 2,2        |
| <i>Erysipelotrichaceae</i>   | 0,0                         | 0,3        | 2,3        | 2,4        |
| <i>Proteobacteria</i>        | 9,5                         | 17,5       | 4,5        | 8,0        |
| <i>Rhizobiales</i>           | 0,6                         | 0,4        | 0,2        | 1,3        |
| <i>Burkholderiales</i>       | 1,3                         | 0,1        | 0,1        | 2,0        |
| <i>Alcaligenaceae</i>        | 0,2                         | 0,0        | 0,1        | 1,8        |
| <i>Sutterella</i>            | 0,2                         | 0,0        | 0,1        | 1,8        |
| <i>Oxalobacteraceae</i>      | 1,0                         | 0,0        | 0,1        | 0,2        |
| <i>Ralstonia</i>             | 1,0                         | 0,0        | 0,0        | 0,2        |
| <i>Desulfovibrionales</i>    | 0,0                         | 2,2        | 0,3        | 0,0        |
| <i>Desulfovibrionaceae</i>   | 0,0                         | 2,2        | 0,3        | 0,0        |
| <i>Desulfovibrio</i>         | 0,0                         | 1,2        | 0,0        | 0,0        |
| <i>Enterobacteriales</i>     | 5,4                         | 14,6       | 3,8        | 4,5        |
| <i>Enterobacteriaceae</i>    | 5,4                         | 14,6       | 3,8        | 4,5        |
| <i>Pseudomonadales</i>       | 1,4                         | 0,1        | 0,0        | 0,0        |
| <i>Synergistetes</i>         | 0,0                         | 0,0        | 1,5        | 0,2        |
| <i>Synergistales</i>         | 0,0                         | 0,0        | 1,5        | 0,2        |
| <i>Synergistaceae</i>        | 0,0                         | 0,0        | 1,5        | 0,0        |
| <i>Verrucomicrobia</i>       | 0,4                         | 8,3        | 30,6       | 0,0        |
| <i>Verrucomicrobiales</i>    | 0,4                         | 8,2        | 30,6       | 0,0        |
| <i>Verrucomicrobiaceae</i>   | 0,4                         | 8,2        | 30,6       | 0,0        |
| <i>Akkermansia</i>           | 0,4                         | 8,2        | 30,6       | 0,0        |
| Другие филы                  | 0,6                         | 0,3        | 0,7        | 0,0        |

Примечание: \* Представлены таксоны, относительное содержание которых по крайней мере в одном из образцов превышает 1%

Note: \* The taxa with average relative abundance above 1% at least in one of the samples are displayed

и Симпсона, показатель филогенетического разнообразия Faith's PD и количество OTE (операционных таксономических единиц). Альфа-разнообразие микробиоты в образце №1 было достоверно выше, чем в других образцах по показателю видового богатства (количеству обнаруженных видов или OTE), показателю филогенетического разнообразия Faith's PD (который учитывает не только число различных OTE, но и их таксономическое положение), а также индексам альфа-разнообразия Чоу1 и Шеннона, но не индексу Симпсона (Табл. 3). Для оценки бета-разнообразия (различий, расстояния между сообществами) рассчитали критерий несходства

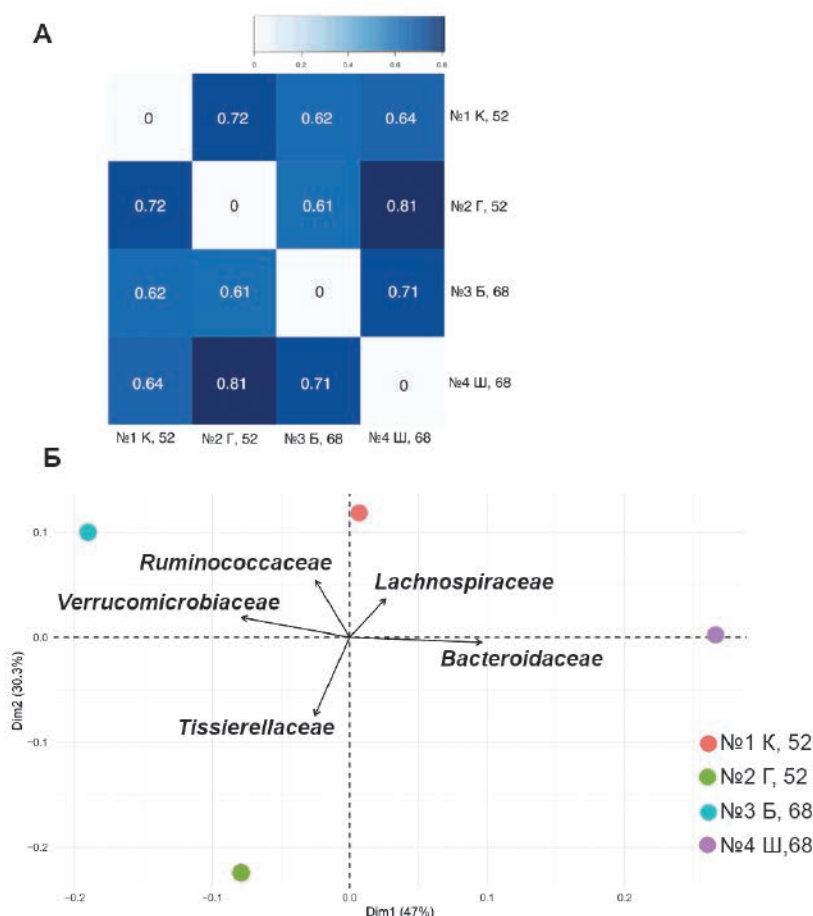
Брея-Кёртиса и с его помощью установили, что микробные сообщества воспаленных дивертикулов, полученных от разных пациентов, значительно отличаются друг от друга (Рис. 1А). Векторы на двойной диаграмме РСА демонстрируют семейства, которые в большей степени определяют различия между таксономическими профилями образцов (Рис. 1Б). При этом между семействами *Verrucomicrobiaceae/Bacteroidaceae* и *Lachnospiraceae/[Tissierellaceae]* отмечена негативная корреляция, а между семействами *Ruminococcaceae/Lachnospiraceae* и *Verrucomicrobiaceae/[Tissierellaceae]* корреляция не выявлена.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Клиническая симптоматика ДБ развивается при воспалении стенки дивертикула в результате локальной ишемии слизистой дивертикула по причине сдавления сосудов подслизистого слоя, травмы стенок дивертикула плотными каловыми камнями и микроперфораций [10]. Измененная микрофлора может способствовать микроперфорации и вялотекущему воспалению, нарушая барьерную функцию слизистой оболочки и стимулируя высвобождение воспалительных цитокинов [11]. В пользу этиологической значимости кишечной микробиоты в развитии ДБ свидетельствуют изменения в составе микробиоты у пациентов с ДБ [5], а также эффективность рифаксимины и некоторых пробиотиков при лечении ДБ [7,8]. Характеристика микробиоты полости дивертикулов в резецированных препаратах сигмовидной кишки пациентов с воспалительными осложнениями ДБ позволит определить специфику микробиоты

в замкнутом пространстве дивертикула и ее возможную триггерную роль в патогенезе острого дивертикулита (ОД).

Основу кишечной микробиоты у человека как в норме, так и при различных патологиях составляют филы *Firmicutes* и *Bacteroidetes*, а представленность фил *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria*, *Verrucomicrobia* и др. обычно ниже [12]. Действительно, в исследуемых образцах представители *Firmicutes* и *Bacteroidetes* суммарно составляли от 62,2% (№3) до 85,9% (№1) от всей микробиоты. Исследовав отношение *Firmicutes* к *Bacteroidetes* (F/B), которое широко используется в качестве характеристики состояния кишечной микробиоты [13], мы обнаружили, что в трех образцах *Firmicutes* преобладали над *Bacteroidetes*, а в образце №4 количество этих двух фил было примерно одинаковым. Высокие значения F/B встречаются при ожирении [14], сахарном диабете [15] и синдроме раздраженного кишечника [16]. Образец №3 был необычен



**Рисунок 1.** Бета-разнообразие микробиоты воспаленных дивертикулов. А — Тепловая карта, построенная на основе критерия несходства Брея-Кёртиса. Б — Двойная диаграмма PCA.

**Figure 1.** Beta-diversity of inflamed diverticula. A — Heatmap shows degree of dissimilarity based on Bray-Curtis index. Б — Principal-coordinate analysis (PCA) biplot. Arrows represent individual families driving the separation of samples along the principal components, and their length correlates with the feature loadings and the biplot axis. Colored dots represent different samples

наличием *Synergistetes* (1,5%) и высоким содержанием *Verrucomicrobia* (30,8%), а образец №4 характеризовался высоким содержанием *Actinobacteria* (11,5%) (Рис. 2А).

Представленность разных классов бактерий также сильно отличалась в четырех исследованных дивертикулах. Доминирующими классами были *Clostridia* (34,9–66,3%), *Bacteroidia* (13,3–42,7%) и *Gammaproteobacteria* (3,8–14,7%). Образец №4 отличался высоким содержанием *Actinobacteria* (10,3%), а №2 и №3 — *Verrucomicrobiae* (8,2% и 30,6%, соответственно).

Основную массу микробиоты составляли представители семейств *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Bacteroidaceae* и *Enterobacteriaceae*. Они обнаруживались во всех исследуемых образцах, однако их содержание в них существенно варьировало (Рис. 2Б). К многочисленным семействам также следует отнести *Verrucomicrobiaceae* и *[Tissierellaceae]*, которые, однако, отсутствовали в некоторых образцах (Табл. 4). По данным литературы, ДБ сопровождается увеличением численности семейства *Enterobacteriaceae* в кишечнике [17]. В полном соответствии с данным фактом во всех исследованных образцах отмечали значительное содержание энтеробактерий культуральным методом (Табл. 2) и с помощью секвенирования гена 16S рРНК (Табл. 4).

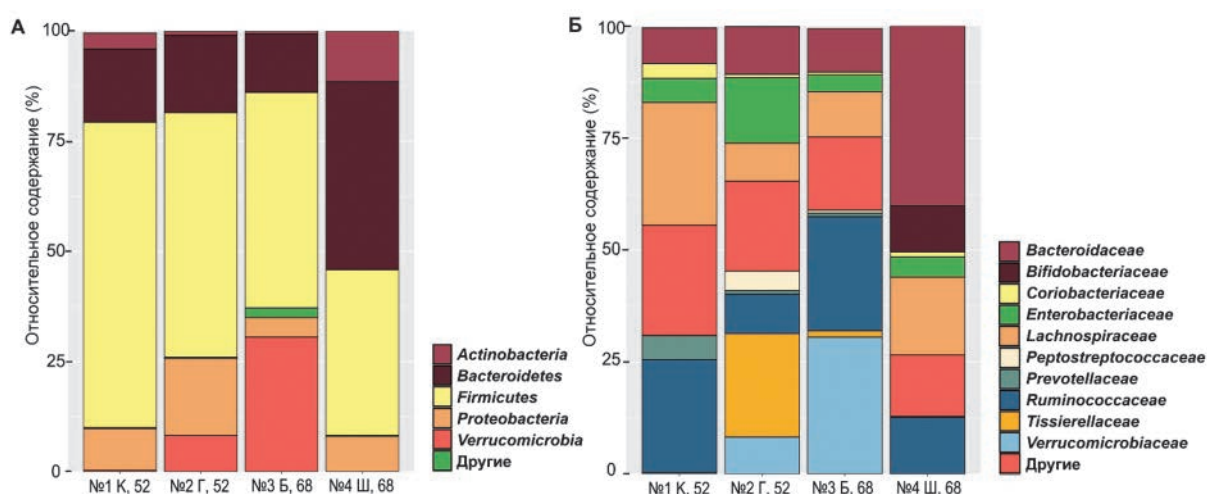
При анализе микробиоты воспаленных дивертикулов на уровне родов отметили, что в трех образцах (№2, №3, №4) равновесие в микробном пейзаже было сильно смещено в сторону одного рода, что подтверждается высокими значениями индекса Симпсона (Табл. 3). Так, в №2 доминирующим родом был *Parvimonas* (21,3%). Единственный вид этого

рода — *Parvimonas micra* — это грамотрицательные анаэробные кокки, которые часто обнаруживаются при смешанных анаэробных инфекциях, например, абсцессе брюшной полости [18]. Таким образом, обнаружение этих бактерий в воспаленном дивертикуле закономерно, но в остальных образцах они либо отсутствовали (№1 и №4), либо содержались в небольшом количестве (1,3% в №3).

В образцах №2 и №3 в большом количестве присутствовали бактерии *Akkermansia muciniphila* (8,1% и 30,8%, соответственно), причем в №3 этот вид доминировал в микробиоте дивертикула. Чрезмерный рост *A. muciniphila* приводит к деградации муцина, необратимому повреждению тканей организма, в частности, слизистой оболочки толстой кишки, способствует выделению эндотоксина [19].

В образце №4 отмечено высокое содержание *Bifidobacterium* (10,3%), которые уступают в количестве лишь *Bacteroides* (40,1%). Несмотря на известные благотворные эффекты бифидобактерий на здоровье человека [20], имеются свидетельства того, что при ОД их содержание в кишечнике повышается [21], а при симптоматической неосложненной дивертикулярной болезни (СНДБ) коррелирует с тяжестью симптоматики [22].

Известно, что при дивертикулите и СНДБ в фекальной микробиоте снижено содержание *Clostridium* кластера IV, к которому, в соответствии с современной систематикой, относят несколько родов семейства *Ruminococcaceae*, включая противовоспалительный и бутират-продуцирующий вид *Faecalibacterium prausnitzii* [23]. В исследованных дивертикулах, напротив, численность *Ruminococcaceae* была высокой (8,8–25,5%), а *F. prausnitzii* в значительном количестве



**Рисунок 2.** Содержание (%) фил (А) и семейств (Б) в воспаленных дивертикулах. На уровне фил показаны таксоны с относительным содержанием выше 1%. На уровне семейств показаны топ 10 наиболее многочисленных семейств.

**Figure 2.** Relative abundance (%) of phyla (А) and families (Б) in inflamed diverticula. At the phylum level, the taxa with average relative abundance above 1% are displayed. At the family level, the top ten taxa are exhibited.

присутствовал в №1 и №4 (9,1% и 5,2%, соответственно). В воспаленных дивертикулах обнаружены и другие бутират-продуцирующие бактерии — *Blautia*, *Coprococcus* и *Roseburia* (Табл. 4).

Анализируя соотношение *Prevotella*-к-*Bacteroides* (P/B), мы обнаружили, что воспаление дивертикула сопряжено со сдвигом в сторону преобладания *Bacteroides* (Табл. 4). Во всех исследованных образцах род *Bacteroides* содержался в значительных количествах (8,0–40,1%), а в образце №4 был самым многочисленным в микробном сообществе (40,1%), что хорошо согласуется с клинической картиной воспалительных осложнений ДБ. Грамотрицательные палочковидные аэробные бактерии *Bacteroides* spp., а также выделенные, согласно современной систематике, из данного рода в отдельные таксономические единицы *Parabacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp. и некоторые другие, часто выявляются при полимикробных инфекциях слизистых оболочек, в частности, при тяжелых интраабдоминальных инфекциях. Бактероидные инфекции встречаются в любых участках тела, включая центральную нервную систему, голову и шею, грудную клетку, внутренние органы, кожу и мягкие ткани, но очаг воспаления, как правило, располагается в ЖКТ, то есть участке, колонизированном данными бактериями [24].

Кроме того, содержание в кишечнике родов *Prevotella* и *Bacteroides* определяет энтеротип человека. Энтеротип 1 характеризуется относительно высокой численностью *Bacteroides* spp., а энтеротип 2 — *Prevotella* spp. [25]. Энтеротип 1 чаще встречается у людей, придерживающихся западной диеты с высоким потреблением животного белка и насыщенных жиров, а энтеротип 2 — при диете, богатой углеводами и клетчаткой [26]. Тем не менее, концентрация холестерина и проатерогенного метаболита триметиламин-N-оксида (ТМАО) в плазме крови при энтеротипе 2 была значительно выше, чем при энтеротипе 1 [27,28].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В проведенном пилотном исследовании предпринята попытка проследить индивидуальный состав пристеночной микробиоты дивертикул у пациентов с клиникой острых и хронических воспалительных осложнений ДБ. Анализ микробиоты внутри воспаленных дивертикулов позволил выявить определенные сдвиги в кишечном микробиоме, которые могут способствовать прогрессированию воспаления в дивертикуле вплоть до его воспалительной деструкции. На фоне выявленных существенных

различий между микробными сообществами воспаленных дивертикулов, во всех в значительном количестве содержались энтеробактерии, а соотношение *Prevotella*-к-*Bacteroides* (P/B) было смещено в сторону преобладания *Bacteroides*. В трех образцах *Firmicutes* преобладали над *Bacteroidetes* (в образцах №1, №2, №3) и отмечено доминирование отдельных родов: *Parvimonas* (21,0% в №2), *Akkermansia* (30,6% в №3), *Bacteroides* и *Bifidobacterium* (соответственно, 40,1% и 10,3% в №4). К лимитирующим факторам выполненного исследования относятся ограниченность исследованного участка кишечника и небольшое число пациентов. Для выявления достоверной информации о закономерностях динамики микробиоты в дивертикуле при воспалительных осложнениях необходимы исследования больших рандомизированных групп пациентов. Тем не менее, полученные данные о специфике пристеночной микробиоты в дивертикулах резецированных препаратов кишки представляют, на наш взгляд, клинический интерес и могут способствовать построению плана дальнейших исследований, направленных на понимание патогенеза заболевания, поиск новых методов эффективного лечения, купирования воспаления дивертикулов и профилактики рецидивов.

## УЧАСТИЕ АВТОРОВ

Концепция и дизайн исследования: Карпукхин О.Ю., Яруллина Д.Р.

Сбор и обработка материалов: Шакиров Р.Р., Панкратова Ю.С., Карасева О.С., Сенина А.М., Булыгина Е.А.

Статистическая обработка: Карасева О.С., Сенина А.М. Автор рисунков: Сенина А.М.

Написание текста: Карпукхин О.Ю., Яруллина Д.Р.

Редактирование: Карпукхин О.Ю., Яруллина Д.Р., Григорьева Т.В.

## AUTHORS CONTRIBUTION

Concept and design of the study: Oleg Y. Karpukhin, Dina R. Yarullina

Collection and processing of the material: Rais R. Shakirov, Yuliia S. Pankratova, Anastasiya M. Senina, Eugenia A. Boulygina, Olga S. Karaseva

Statistical processing: Anastasiya M. Senina, Olga S. Karaseva

Author of the figures: Anastasiya M. Senina

Writing of the text: Oleg Y. Karpukhin, Dina R. Yarullina

Editing: Oleg Y. Karpukhin, Dina R. Yarullina, Tatiana V. Grigoryeva

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ (ORCID)

Шакиров Раис Рафисович — ассистент кафедры хирургических болезней КГМУ, врач-колопроктолог

отделения колопроктологии РКБ МЗ РТ; ORCID 0000-0001-8344-2696

Панкратова Юлия Сергеевна — ассистент кафедры хирургических болезней КГМУ, врач хирург отделения хирургии №1; ORCID 0000-0001-7498-2412

Сенина Анастасия Михайловна — аспирант, научный сотрудник НИЛ «Мультиомиксные технологии живых систем» КФУ; ORCID 0000-0002-9491-1694

Булыгина Евгения Александровна — научный сотрудник НИЛ «Биомедицинские регенеративные технологии» КФУ; ORCID 0000-0003-3458-1176

Карасева Ольга Сергеевна — магистрант кафедры микробиологии Института фундаментальной медицины и биологии КФУ; ORCID 0000-0002-8968-065X

Григорьева Татьяна Владимировна — ведущий научный сотрудник НИЛ «Генетика микроорганизмов» Института фундаментальной медицины и биологии КФУ; ORCID 0000-0001-5314-7012

Яруллина Дина Рашидовна — к.б.н., доцент кафедры микробиологии Института фундаментальной медицины и биологии КФУ; ORCID 0000-0003-0717-302X

Карпукhin Олег Юрьевич — д.м.н., профессор кафедры хирургических болезней КГМУ, куратор отделения колопроктологии РКБ МЗ РТ; ORCID 0000-0002-7479-4945

## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS (ORCID)

Rais R. Shakirov — 0000-0001-8344-2696

Yuliia S. Pankratova — 0000-0001-7498-2412

Anastasiya M. Senina — 0000-0002-9491-1694

Eugenia A. Boulygina — 0000-0003-3458-1176

Olga S. Karaseva — 0000-0002-8968-065X

Tatiana V. Grigoryeva — 0000-0001-5314-7012

Dina R. Yarullina — 0000-0003-0717-302X

Oleg Y. Karpukhin — 0000-0002-7479-4945

## ЛИТЕРАТУРА

- Chen Y, Zhou J, Wang L. Role and mechanism of gut microbiota in human disease. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11:625913. doi: [10.3389/fcimb.2021.625913](https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.625913)
- Hasan N, Yang H. Factors affecting the composition of the gut microbiota, and its modulation. *Peer J.* 2019;7:e7502. doi: [10.7717/peerj.7502](https://doi.org/10.7717/peerj.7502)
- Yang M, Hong G, Jin Y, et al. Mucosal-associated microbiota other than luminal microbiota has a close relationship with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:515614. doi: [10.3389/fcimb.2020.515614](https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.515614)
- Ардатская М.Д., Ачкасов С.И., Веселов В.В., и соавт. Клинические рекомендации. Дивертикулярная болезнь. *Колопроктология.* 2021;20(3):10–27. doi: [10.33878/2073-7556-2021-20-3-10-27](https://doi.org/10.33878/2073-7556-2021-20-3-10-27)
- Reitano E, Francione E, Bona E, et al. Gut microbiota association with diverticular disease pathogenesis and progression: a systematic review. *Dig Dis Sci.* 2022. doi: [10.1007/s10620-022-07600-x](https://doi.org/10.1007/s10620-022-07600-x)
- Schieffer KM, Sabey K, Wright JR, et al. The microbial ecosystem distinguishes chronically diseased tissue from adjacent tissue in the sigmoid colon of chronic, recurrent diverticulitis patients. *Sci Rep.* 2017;7(1):8467. doi: [10.1038/s41598-017-06787-8](https://doi.org/10.1038/s41598-017-06787-8)
- Piccioni A, Franza L, Brigida M, et al. Gut microbiota and acute diverticulitis: role of probiotics in management of this delicate pathophysiological balance. *J Pers Med.* 2021;11(4):298. doi: [10.3390/jpm11040298](https://doi.org/10.3390/jpm11040298)
- Moniuszko A, Rydzewska G. The effect of cyclic rifaximin therapy on symptoms of diverticular disease from the perspective of the gastroenterology outpatient clinic: a “real-life” study. *Prz Gastroenterol.* 2017;12(2):145–51. doi: [10.5114/pg.2017.68167](https://doi.org/10.5114/pg.2017.68167)
- Yarullina DR, Shafigullin MU, Sakulin KA, et al. Characterization of gut contractility and microbiota in patients with severe chronic constipation. *PLoS ONE.* 2020;15(7):e0235985. doi: [10.1371/journal.pone.0235985](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235985)
- Wedel T, Barrenschee M, Lange C, et al. Morphologic basis for developing diverticular disease, diverticulitis, and diverticular bleeding. *Viszeralmedizin.* 2015;31(2):76–82. doi: [10.1159/000381431](https://doi.org/10.1159/000381431)
- Sheth A, Floch M. Probiotics and diverticular disease. *Nutr Clin Pract.* 2009;24(1):41–4. doi: [10.1177/0884533608329230](https://doi.org/10.1177/0884533608329230)
- Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, et al. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev.* 2010;90(3):859–904. doi: [10.1152/physrev.00045.2009](https://doi.org/10.1152/physrev.00045.2009)

rev.00045.2009

- Di Pierro F. Gut microbiota parameters potentially useful in clinical perspective. *Microorganisms.* 2021;9(11):2402. doi: [10.3390/microorganisms9112402](https://doi.org/10.3390/microorganisms9112402)
- Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, et al. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature.* 2006;444(7122):1022–3. doi: [10.1038/4441022a](https://doi.org/10.1038/4441022a)
- Pascale A, Marchesi N, Marelli C, et al. Microbiota and metabolic diseases. *Endocrine.* 2018;61(3):357–371. doi: [10.1007/s12020-018-1605-5](https://doi.org/10.1007/s12020-018-1605-5)
- Duan R, Zhu S, Wang B, et al. Alterations of gut microbiota in patients with irritable bowel syndrome based on 16s rRNA-targeted sequencing: A systematic review. *Clin Transl Gastroenterol.* 2019;10(2):e00012. doi: [10.14309/ctg.0000000000000012](https://doi.org/10.14309/ctg.0000000000000012)
- Linninge C, Roth B, Erlanson-Albertsson C, et al. Abundance of *Enterobacteriaceae* in the colon mucosa in diverticular disease. *World J Gastrointest Pathophysiol.* 2018;9(1):18–27. doi: [10.4291/wjgp.v9.i1.18](https://doi.org/10.4291/wjgp.v9.i1.18)
- Ang MY, Dymock D, Tan JL, et al. Genome sequence of *Parvimonas micra* strain A293, isolated from an abdominal abscess from a patient in the United Kingdom. *Genome Announc.* 2013;1(6):e01025–13. doi: [10.1128/genomeA.01025-13](https://doi.org/10.1128/genomeA.01025-13)
- Wang Q, Huang S-Q, Li C-Q, et al. *Akkermansia muciniphila* may determine chondroitin sulfate ameliorating or aggravating osteoarthritis. *Front Microbiol.* 2017;8:1955. doi: [10.3389/fmicb.2017.01955](https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01955)
- Chen J, Chen X, Ho CL. Recent development of probiotic bifidobacteria for treating human diseases. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021;9:770248. doi: [10.3389/fbioe.2021.770248](https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.770248)
- Gueimonde M, Ouwehand A, Huhtinen H, et al. Qualitative and quantitative analyses of the bifidobacterial microbiota in the colonic mucosa of patients with colorectal cancer, diverticulitis, and inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2007;13:3985–9. doi: [10.3748/wjg.v13.i29.3985](https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i29.3985)
- Kvasnovsky CL, Leong LEX, Choo JM, et al. Clinical and symptom scores are significantly correlated with fecal microbiota features in patients with symptomatic uncomplicated diverticular disease: A pilot study. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2018;30:107–12. doi: [10.1097/MEG.0000000000000995](https://doi.org/10.1097/MEG.0000000000000995)

23. Barbara G, Scaioli E, Barbaro MR, et al. Gut microbiota, metabolome and immune signatures in patients with uncomplicated diverticular disease. *Gut*. 2017;66(7):1252–61. doi: [10.1136/gutjnl-2016-312377](#)
24. Falagas ME, Siakavellas E. *Bacteroides*, *Prevotella*, and *Porphyromonas* species: a review of antibiotic resistance and therapeutic options. *Int J Antimicrob Agents*. 2000;15(1):1–9. doi: [10.1016/s0924-8579\(99\)00164-8](#)
25. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011;473(7346):174–80. doi: [10.1038/nature09944](#)

## REFERENCES

1. Chen Y, Zhou J, Wang L. Role and mechanism of gut microbiota in human disease. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:625913. doi: [10.3389/fcimb.2021.625913](#)
2. Hasan N, Yang H. Factors affecting the composition of the gut microbiota, and its modulation. *Peer J*. 2019;7:e7502. doi: [10.7717/peerj.7502](#)
3. Yang M, Hong G, Jin Y, et al. Mucosal-associated microbiota other than luminal microbiota has a close relationship with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10:515614. doi: [10.3389/fcimb.2020.515614](#)
4. Ardatskaya M.D., Achkasov S.I., Veselov V.V., et al. Klinicheskie rekomendatsii. Divertikulyarnaya bolezнь. *Koloproktologiya*. 2021;20(3):10–27. (In Russ.). doi: [10.33878/2073-7556-2021-20-3-10-27](#)
5. Reitano E, Francone E, Bona E, et al. Gut microbiota association with diverticular disease pathogenesis and progression: a systematic review. *Dig Dis Sci*. 2022. doi: [10.1007/s10620-022-07600-x](#)
6. Schieffer KM, Sabey K, Wright JR, et al. The microbial ecosystem distinguishes chronically diseased tissue from adjacent tissue in the sigmoid colon of chronic, recurrent diverticulitis patients. *Sci Rep*. 2017;7(1):8467. doi: [10.1038/s41598-017-06787-8](#)
7. Piccioni A, Franza L, Brigida M, et al. Gut microbiota and acute diverticulitis: role of probiotics in management of this delicate pathophysiological balance. *J Pers Med*. 2021;11(4):298. doi: [10.3390/jpm11040298](#)
8. Moniuszko A, Rydzewska G. The effect of cyclic rifaximin therapy on symptoms of diverticular disease from the perspective of the gastroenterology outpatient clinic: a “real-life” study. *Prz Gastroenterol*. 2017;12(2):145–51. doi: [10.5114/pg.2017.68167](#)
9. Yarullina DR, Shafigullin MU, Sakulin KA, et al. Characterization of gut contractility and microbiota in patients with severe chronic constipation. *PLoS ONE*. 2020;15(7):e0235985. doi: [10.1371/journal.pone.0235985](#)
10. Wedel T, Barrenschee M, Lange C, et al. Morphologic basis for developing diverticular disease, diverticulitis, and diverticular bleeding. *Viszeralmedizin*. 2015;31(2):76–82. doi: [10.1159/000381431](#)
11. Sheth A, Floch M. Probiotics and diverticular disease. *Nutr Clin Pract*. 2009;24(1):41–4. doi: [10.1177/0884533608329230](#)
12. Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, et al. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev*. 2010;90(3):859–904. doi: [10.1152/physrev.00045.2009](#)
13. Di Pierro F. Gut microbiota parameters potentially useful in clinical perspective. *Microorganisms*. 2021;9(11):2402. doi: [10.3390/microorganisms9112402](#)
14. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, et al. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006;444(7122):1022–3. doi: [10.1038/4441022a](#)
15. Pascale A, Marchesi N, Marelli C, et al. Microbiota and metabolic diseases. *Endocrine*. 2018;61(3):357–371. doi: [10.1007/s12020-018-1605-5](#)
16. Duan R, Zhu S, Wang B, et al. Alterations of gut microbiota

26. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
27. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
28. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
29. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
30. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
31. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
32. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
33. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
34. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
35. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
36. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
37. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
38. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
39. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
40. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
41. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
42. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
43. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
44. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
45. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
46. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
47. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
48. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
49. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
50. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
51. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
52. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
53. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
54. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
55. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
56. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
57. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
58. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
59. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
60. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
61. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
62. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
63. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
64. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
65. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
66. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
67. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
68. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
69. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
70. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
71. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
72. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
73. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
74. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
75. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
76. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
77. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
78. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
79. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
80. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
81. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
82. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
83. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
84. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
85. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
86. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
87. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
88. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
89. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
90. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
91. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
92. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
93. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
94. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
95. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
96. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
97. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)
98. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–8. doi: [10.1126/science.1208344](#)
99. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(5):576–85. doi: [10.1038/nm.3145](#)
100. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, et al. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9. doi: [10.1128/AEM.03549-13](#)