

DOI: <https://doi.org/10.17816/clinutr321901>

Методы селекции пробиотических микроорганизмов с высокими адгезивными свойствами

М.С. Каночкина^{1, 2}, И.А. Фоменко¹, И.М. Чернуха³, Н.Г. Машенцева¹¹ Российский биотехнологический университет, Москва, Российская Федерация² Научно-исследовательская организация ООО «Микробные нутриенты иммунокорректоры», Москва, Российская Федерация³ Федеральный научный центр пищевых систем имени В.М. Горбатова, Москва, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Способность к адгезии к эпителию кишечника является классическим критерием отбора потенциальных пробиотических бактерий, что может привести к временной колонизации, которая будет способствовать иммуномодулирующим эффектам, а также стимулировать кишечный барьер и метаболические функции.

Цель исследования — разработка комплексного метода селекции высокоактивных пробиотических микроорганизмов, способных к пролиферации и дополнению аутохтонной микрофлоры кишечника индивида.

Материалы и методы. В настоящей исследовательской работе рассмотрено несколько методов селекции пробиотических микроорганизмов с целью определения максимально полезных и способных к пролиферации штаммов для последующего использования в клинической практике при коррекции нарушений метаболизма и купирования воспалительных процессов желудочно-кишечного тракта. Степень адгезии бактериальных штаммов пробиотиков определяли согласно стандартным методикам, описанным в Методических указаниях МУК 4.2.2602–10. При определении адгезивной активности молочнокислых бактерий на культурах клеток клеточную культуру выращивали на шестилуночном планшете до образования монослоя.

Результаты. Разработана схема отбора перспективных пробиотиков по уровню адгезивной активности штаммов, относящихся к наиболее часто используемым видам культур микроорганизмов в клинической практике. Определены показатели степени адгезии молочнокислых бактерий в интервале от 2,8 до 5,1 и дрожжевого пробиотического штамма *S. cerevisiae* var. *boulardii* на уровне 1,9. При оценке прилипания пробиотических бактерий *in vitro* с использованием муцина, адсорбированного на абиотических поверхностях, и канцерогенных клеточных линий человека, таких как CaCo-2 и HT-29, NCM460, молочнокислые бактерии также показали высокие результаты.

Заключение. Все штаммы используемых молочнокислых бактерий продемонстрировали высокие или средние показатели адгезии к клеткам эритроцитов крови барана, что подтверждает пробиотический потенциал указанных видов культур и соответствует требованиям нормативных правовых актов Российской Федерации. Низкие показатели степени адгезивности дрожжевой культуры свидетельствуют о быстром прохождении дрожжевых клеток через желудочно-кишечный тракт и неспособности культуры штамма повлиять на состав аутохтонной микрофлоры человека и животных. Для более детального определения адгезивных свойств пробиотической культуры возможно применение современных методик с помощью клеточных линий, включая эпителиоподобные клетки аденокарциномы ободочной кишки человека CaCo-2.

Ключевые слова: коллекция микроорганизмов; молочнокислые бактерии; дрожжи; селекция; пробиотики; адгезивные свойства; культуры клеток; эритроциты.

Как цитировать

Каночкина М.С., Фоменко И.А., Чернуха И.М., Машенцева Н.Г. Методы селекции пробиотических микроорганизмов с высокими адгезивными свойствами // Клиническое питание и метаболизм. 2023. Т. 4, № 1. С. 19–28. DOI: <https://doi.org/10.17816/clinutr321901>

DOI: <https://doi.org/10.17816/clinutr321901>

Selection methods for probiotic microorganisms with high adhesive properties

Marya S. Kanochkina^{1,2}, Ivan A. Fomenko¹, Irina M. Chernukha³, Natalia G. Mashentseva¹

¹ Russian Biotechnological University, Moscow, Russian Federation

² Research Organization "Microbial Nutrients Immunocorrectors" LLC, Moscow, Russian Federation

³ Federal Research Center for Food Systems, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

BACKGROUND: The ability to adhere to the intestinal epithelium is a classic criterion for the selection of potential probiotic bacteria, which can lead to temporary colonization, which will promote immunomodulatory effects, as well as stimulate the intestinal barrier and metabolic functions.

AIM: To develop a comprehensive method of selection of highly active probiotic microorganisms capable of proliferation and complementation of the autochthonous intestinal microflora of an individual.

MATERIALS AND METHODS: In this research paper, several methods of selection of probiotic microorganisms are considered in order to determine the most useful and proliferative strains for subsequent use in clinical practice in the correction of metabolic disorders and relief of inflammatory processes of the gastrointestinal tract. The degree of adhesion of bacterial strains of probiotics was determined according to the standard methods described in the Guidelines of MUC 4.2.2602–10. When determining the adhesive activity of lactic acid bacteria on cell cultures, the cell culture was grown on a six-hole plate before the formation of a monolayer.

RESULTS: A scheme for selecting promising probiotics by the level of adhesive activity of strains belonging to the most commonly used types of microbial cultures in clinical practice has been developed. The indicators of the degree of adhesion of lactic acid bacteria in the range from 2.8 to 5.1, and the yeast probiotic strain *S. cerevisiae* var were determined. *boulardii* at 1.9. When assessing the adhesion of probiotic bacteria *in vitro* using mucin adsorbed on abiotic surfaces and carcinogenic human cell lines such as CaCo-2 and HT-29, NCM460, lactic acid bacteria also showed high results.

CONCLUSION: All strains of lactic acid bacteria used showed high or average adhesion to sheep blood erythrocyte cells, which confirms the probiotic potential of these types of cultures and complies with the requirements of regulatory legal acts of the Russian Federation. The low degree of adhesion of the yeast culture indicates the rapid passage of yeast cells through the gastrointestinal tract and the inability of the strain culture to affect the composition of the autochthonous microflora of humans and animals. For a more detailed determination of the adhesive properties of probiotic culture, it is possible to use modern techniques using cell lines, including epithelial cells of human colon adenocarcinoma CaCo-2.

Keywords: collection of microorganisms; lactic acid bacteria; yeast; selection; probiotics; adhesive properties; cell cultures; erythrocytes.

To cite this article

Kanochkina MS, Fomenko IA, Chernukha IM, Mashentseva NG. Selection methods for probiotic microorganisms with high adhesive properties. *Clinical nutrition and metabolism*. 2023;4(1):19–28. DOI: <https://doi.org/10.17816/clinutr321901>

Received: 04.04.2023

Accepted: 21.04.2023

Published: 16.05.2023

ОБОСНОВАНИЕ

В Российском биотехнологическом университете ведётся работа по расширению коллекции промышленно-ценных микроорганизмов. Одним из важнейших направлений является селекция культур с пробиотическим потенциалом.

Пробиотики — препараты на основе живых микроорганизмов, предназначенные для коррекции аутохтонной микрофлоры человека и лечения ряда заболеваний.

Классификация пробиотиков включает три группы [1]:

1. Медицинские пробиотики — микробиологические препараты, в состав которых входят штаммы живых или инактивированных микроорганизмов. В данном случае речь идёт только о лекарственных препаратах, которые имеют чётко определённые показания к применению.
2. Пробиотики — биологически активные добавки — комплексные препараты на основе живых микроорганизмов, изготовленные на фармацевтических и иных предприятиях, которые используются в качестве биологически активных добавок к пище и, как правило, распространяются через аптечную сеть.
3. Алиментарные пробиотики — культуры микроорганизмов или обогащённые ими продукты, которые дополняют питание.

Селекция пробиотиков основывается на безопасности, функциональности и технологичности.

Требования к безопасности микроорганизмов, используемых в качестве пробиотиков:

- должны относиться к тем же видам, что и микроорганизмы — представители микрофлоры желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) здорового человека;
- должны быть непатогенными и нетоксигенными;
- не должны нести трансмиссивные гены антибиотикоустойчивости.

Селекция предпочтительных пробиотических микроорганизмов включает следующие функциональные свойства рассматриваемых культур (рис. 1):

- устойчивость к пищеварительным сокам, ферментам и желчи ЖКТ;
- адгезия на эпителии и приживление в пищеварительном тракте человека;
- иммуномодуляция и иммуностимуляция организма;
- оптимизация процессов обмена веществ;
- антагонизм к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам;
- антимутагенные свойства.

При селекции заквасочных и стартовых культур с пробиотическими свойствами, в том числе используемых в пищевой промышленности, должны учитываться такие технологические аспекты, как высокая степень выживаемости в технологическом процессе, антагонистическая активность по отношению к санитарно-показательной микрофлоре, стабильность в продуктах и жизнеспособность при хранении.



Рис. 1. Положительное влияние пробиотиков на здоровье человека [2].

Fig. 1. Positive effect of probiotics on human health [2].

Селекция пробиотических микроорганизмов проводится в соответствии со следующей нормативной правовой документацией:

- Методические указания МУ 2.3.2.2789–10 «Продовольственное сырьё и пищевые продукты. Методические указания по санитарно-эпидемиологической оценке безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов»;
- Методические указания МУК 4.2.2602–10 «Система предрегистрационного доклинического изучения безопасности препаратов. Отбор, проверка и хранение производственных штаммов, используемых при производстве пробиотиков»;
- ОФС.1.7.1.0008.15 «Пробиотики»;
- Методические указания МУК 4.2.1890–04 «Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам».

В качестве пробиотиков, заквасочных и стартовых культур с пробиотическими свойствами в большинстве случаев используются молочнокислые бактерии. Лактобациллы — неспорообразующие, грамположительные, неподвижные, палочковидные бактерии, различающиеся по факультативным анаэробным процессам. Способны расти в анаэробной и аэробной среде, продуцируя молочную кислоту в виде конечного продукта ферментации [3]. Желудочно-кишечный тракт человека колонизирован несколькими видами *Lactobacillus*, включая *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. paracasei* [4, 5]. Некоторые лактобациллы были одобрены Продовольственной и сельскохозяйственной организацией

ООН / Всемирной организацией здравоохранения как живые микроорганизмы, которые при введении в организм приносят пользу здоровью человека [6]. Именно это отличает живые микроорганизмы, непосредственно применяемые в качестве пробиотиков, от тех, которые используются при ферментации с целью получения пищевых продуктов.

Лактобациллы воздействуют на ЖКТ человека несколькими способами, например подавляют рост патогенных микроорганизмов за счёт способности к синтезу молочной, пропионовой и уксусной кислот. Накопление указанных органических кислот снижает pH среды, вследствие чего наблюдается подавление процесса роста и развития патогенных микроорганизмов [7–9]. Другой механизм — конкурентное предотвращение прикрепления патогенов к эпителию ЖКТ [10–14].

Микробиом кишечника является основным местом врождённого и приобретённого иммунитета [15–19]. Он покрыт слизью (муцином), которая содержит большую часть микробиоты и является местом адгезии пробиотических, условно-патогенных или патогенных микроорганизмов. Слизь представляет собой слой геля, необходимый для гидратации и смазки, а также как барьер против патогенных микроорганизмов и токсинов [20, 21, 10]. Он состоит в основном из воды, гликопротеинов, солей и липидов. Муцины представляют собой большие внеклеточные белки, которые сильно гликозилированы (около 80% солей

и липидов) [22, 23]. Схема слизистой оболочки ЖКТ и муцина представлена на рис. 2.

Белковые фрагменты муцинов обладают центральной гликозилированной областью, состоящей из повторов последовательности, богатых серином, треонином и пролином, N- и C-концевыми областями, а также содержат остатки цистеина и олигосахаридов [24–26].

Пробиотические бактерии играют потенциальную защитную роль против энтеропатогенов посредством различных механизмов, включая продукцию противомикробных соединений, снижение адгезии патогенных бактерий и конкуренцию за места связывания клеток-хозяев. Конкурентное вытеснение пробиотическими бактериями благотворно влияет не только на кишечник, но и на урогенитальный тракт и полость рта. Исследования *in vitro* с различными клеточными линиями кишечника широко использовались в последние десятилетия для оценки способности пробиотических бактерий к прилипанию и антагонизма к патогенам.

Адгезивность, т.е. прикрепление к эпителиальным клеткам ЖКТ, является одним из важных свойств пробиотических штаммов, поэтому определение адгезивных свойств считается необходимым этапом для исследования пробиотических микроорганизмов. Установлено, что адгезионная способность является штаммоспецифичным признаком, что следует учитывать при селекции пробиотических культур. В связи с этим требуется эффективный способ определения адгезивных свойств исследуемых пробиотических штаммов.

Целью данного исследования являлась разработка комплексного метода селекции высокоактивных пробиотических микроорганизмов, способных к пролиферации и дополнению аутохтонной микрофлоры кишечника индивида.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи.

1. Разработать схему отбора перспективных пробиотиков по уровню адгезивной активности штаммов, относящихся к наиболее часто используемым видам культур микроорганизмов в клинической практике.
2. Определить адгезивную активность пробиотических культур на эритроцитах крови.
3. Определить адгезивную активность пробиотических культур на клеточной линии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись культуры молочнокислых бактерий и дрожжей, обладающих пробиотическим потенциалом, в том числе основные виды, используемые в пищевой промышленности и клинической практике: *Lactococcus lactis*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus thermophilus*, *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*.

Показатели пробиотических культур микроорганизмов, такие как степень адгезии, определяли согласно

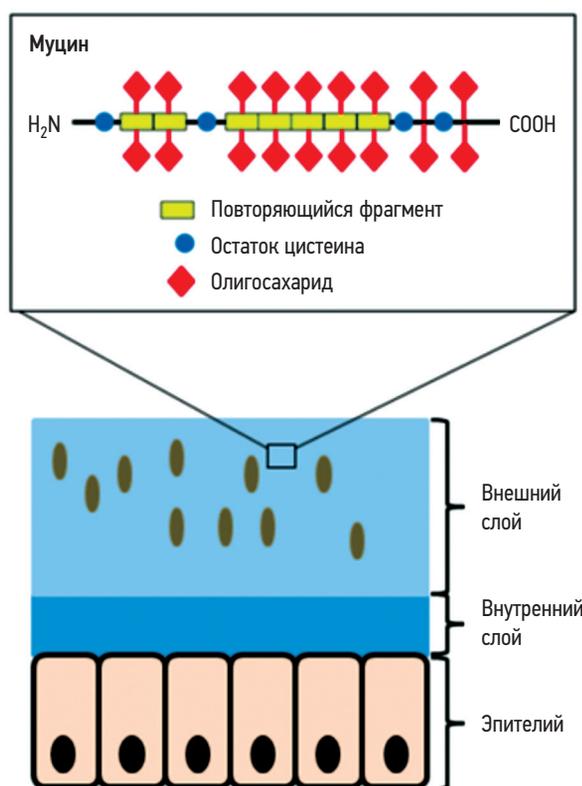


Рис. 2. Схема слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и структура муцина [22].

Fig. 2. The scheme of the mucous membrane of the gastrointestinal tract and the structure of mucin [22].

стандартным методикам, описанным в Методических указаниях МУК 4.2.2602–10 «Система предрегистрационного доклинического изучения безопасности препаратов. Отбор, проверка и хранение производственных штаммов, используемых при производстве пробиотиков».

При определении адгезивной активности молочнокислых бактерий на культурах клеток клеточную культуру выращивали на шестилуночной планшете в условиях 5% CO₂ до образования монослоя в течение 5–7 сут. Образовавшийся монослой клеток CaCo-2 инокулировали 1 мл бактериальной культуры определённой концентрации. После инокуляции культуры выдерживали в течение 1 ч при 37 °С, затем отмывали физраствором для удаления несвязанных бактериальных клеток. Снятие монослоя со связанными бактериальными клетками осуществлялось растворами Версена 0,02% и трипсина 0,25% в соотношении 3:1. Для подсчёта связанных бактериальных клеток использовали метод разведений при выращивании клеток на плотной питательной среде для выделения, подсчёта и культивирования лактобацилл (MRS).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Наиболее заметная точка взаимодействия между микроорганизмами и человеком находится на слизистых оболочках, что свидетельствует о том, что адгезия слизи является главной мишенью для контроля заселения пробиотиками. Методологии количественной оценки бактериальной адгезии к слизи заключается в количественном

определении доли остаточных бактерий, связанных с функциональными слизистыми поверхностями после промывок. Количественная оценка остаточных бактерий может варьировать от простого подсчёта клеток до поверхностного плазмонного резонанса или атомно-силовой микроскопии. Наиболее распространённым методом количественной оценки адгезии слизи является использование флуоресцентного индикатора в качестве коррелята концентрации клеток. Поверхности часто модифицируют путём инкубации со слизью или путём культивирования кишечных эпителиальных клеток / тканей органа [27].

Однако данный метод является дорогостоящим и нецелесообразен к применению при первоначальном скрининге молочнокислых бактерий и дрожжей, обладающих пробиотическим потенциалом.

С целью определения пробиотического потенциала на начальном этапе было предложено провести скрининг молочнокислых бактерий и дрожжей по показателю степени адгезивности к клеткам эритроцитов. Указанный показатель отражает способность микроорганизмов пролиферировать в эпителии кишечника человека и животных, что позволяет микроорганизмам дополнять аутохтонную микрофлору кишечника конкретного индивида и повышает ценность данных культур при использовании их в клинической практике при лечении и профилактике различных заболеваний кишечника воспалительного характера. Отбор перспективных видов пробиотиков по уровню адгезивной активности вели по разработанной схеме (рис. 3).

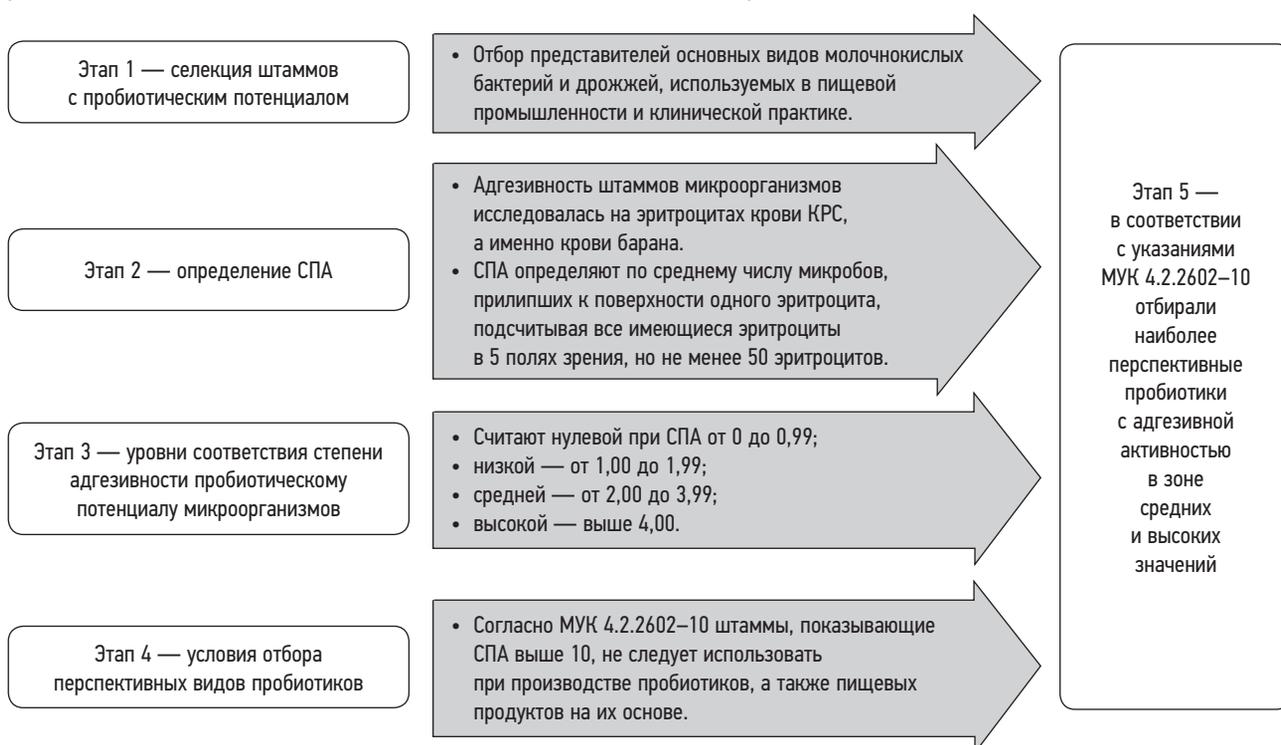


Рис. 3. Схема отбора перспективных видов пробиотиков по уровню адгезивной активности штаммов.

Примечание. СПА — средний показатель адгезии; КРС — крупный рогатый скот.

Fig. 3. Scheme of selection of promising types of probiotics according to the level of adhesive activity of strains. SPA — average adhesion index.

Note: СПА — average adhesion index; КРС — large horned livestock.

Все исследуемые штаммы микроорганизмов включены в перечень микроорганизмов, разрешённых и предлагаемых к использованию в пищевой промышленности согласно СанПиН 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования к безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов».

При целенаправленном отборе штаммов молочнокислых бактерий и дрожжей для исследований использовали представителей наиболее популярных и перспективных пробиотических микроорганизмов: три штамма *L. lactis* № 65062, № 2523, № 2407 (б), по одному штамму *L. plantarum* № 2407, *E. faecium* № 6769, *S. thermophilus* № 2436, *S. cerevisiae* var. *bouardii* (препарат «Энтерол»).

Данные по адгезивной активности пробиотических культур, полученные в настоящих исследованиях, представлены на рис. 4.

По результатам штаммы *L. lactis* № 2407 (б) и *L. plantarum* № 2407 показали высокую степень адгезии — 5,0 и 5,1 соответственно, что является оптимальным при использовании пробиотических культур молочнокислых бактерий. Также необходимо отметить, что остальные используемые штаммы молочнокислых бактерий продемонстрировали средние показатели адгезии к клеткам эритроцитов крови барана, что подтверждает пробиотический потенциал указанных видов культур и соответствует требованиям нормативных правовых актов Российской Федерации.

ОБСУЖДЕНИЕ

Бактериальная адгезия к поверхности кишечника может быть первоначально обусловлена неспецифическим физическим связыванием в виде гидрофобных взаимодействий, за которыми следует вторая стадия адгезии с помощью специфических компонентов клеточной стенки. Присутствие некоторых поверхностных белков, таких как протеиназы, закреплённых в клеточной стенке, повышает гидрофобность и адгезивные свойства у молочнокислых бактерий. Белки, связывающиеся со слизью, содержащие домены Mub и (или) MucBP (MUCin связывающий белок), представляют собой поверхностно адгезивные белки, способные связывать муцин. Кроме того, адгезии могут способствовать фибрии и пили. Помимо указанных механизмов способствовать адгезии могут другие поверхностные белки, такие как фибропектин связывающие белки (fibronectin binding proteins, FBP) и белки поверхностного слоя (surface layer proteins, SLP).

Эта информация коррелирует с данными, полученными нами при исследовании: низкие показатели степени адгезивности, определённые у пробиотического штамма дрожжей *S. cerevisiae* var. *bouardii*, выделенного из препарата «Энтерол», — 1,9. Дрожжи имеют иной набор генов, поскольку не относятся не только

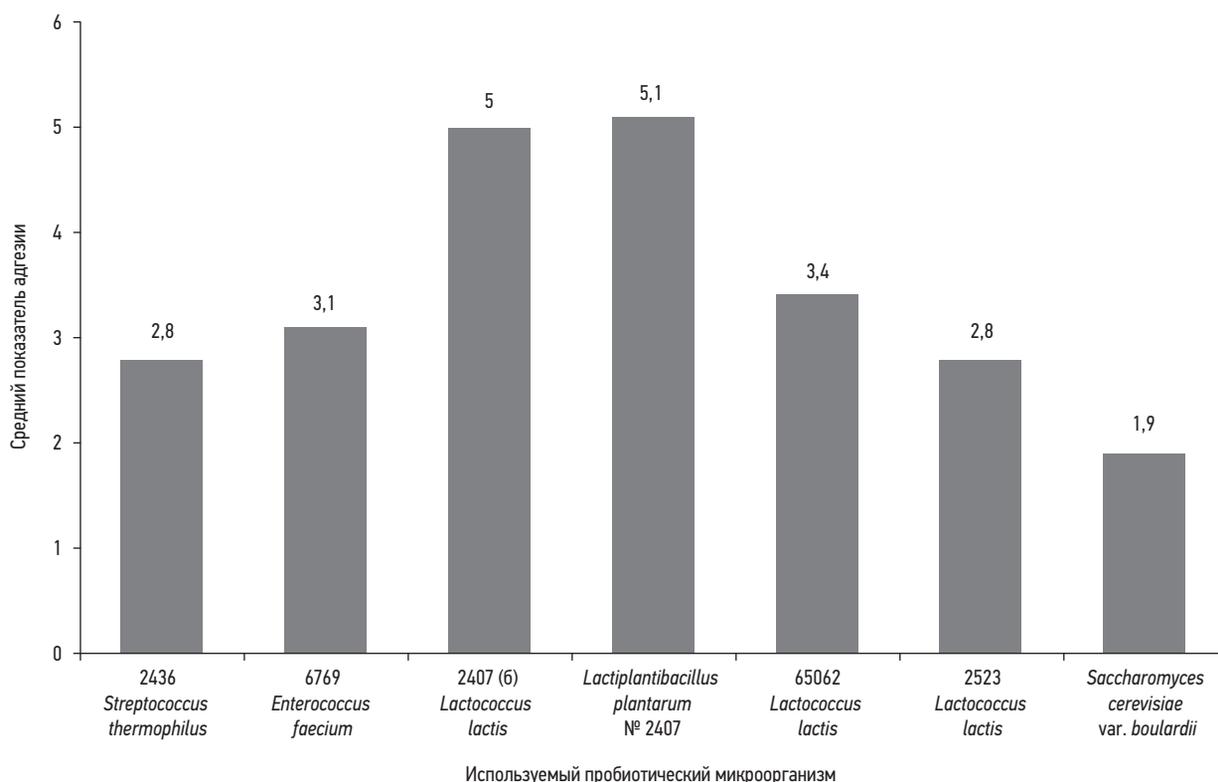


Рис. 4. Степень адгезивности молочнокислых бактерий и дрожжей.

Fig. 4. The degree of adhesion of lactic acid bacteria and yeast.

к одному роду с молочнокислыми бактериями, но и даже к одному семейству.

Полученные результаты указывают на низкую способность штамма дрожжей прикрепляться к стенкам кишечника человека и животных, что свидетельствует о быстром прохождении дрожжевых клеток через ЖКТ и неспособности культуры штамма повлиять на состав аутохтонной микрофлоры человека и животных. Подобное свойство рассматривается производителем как непосредственное преимущество для использования препарата в клинической практике и пищевой промышленности.

Вместе с тем прилипание пробиотических бактерий оценивают *in vitro* с использованием муцина, адсорбированного на абиотических поверхностях, и канцерогенных клеточных линий человека, таких как CaCo-2 и HT-29, NCM460, чтобы имитировать адгезию к эпителиальным клеткам кишечника (IECs) [28, 29].

В Российском биотехнологическом университете разработан метод для определения адгезивных свойств бактерий с помощью линии клеток CaCo-2 (эпителиоподобные клетки аденокарциномы ободочной кишки человека) в монослое. Метод основан на взаимодействии бактерий с клеточной стенкой эпителиальных клеток колоректальной карциномы кишечника человека CaCo-2 в монослое и подсчёте связавшихся бактерий с монослоем [30].

Адгезивные свойства микроорганизмов определяются по числу бактерий, связывающихся с 1000 клетками CaCo-2:

- от 1010 до 3000 бактериальных клеток — высокоадгезивный штамм;
- от 210 до 1000 бактериальных клеток — среднеадгезивный штамм;
- от 0 до 200 бактериальных клеток — низкоадгезивный штамм.

Метод был опробован на энтерококках, относящихся к лактобактериям. Результаты исследования показали, что с 1000 клетками CaCo-2 связывается 109×10^3 клеток *E. faecalis* 55 (B-8652) и 27×10^3 клеток *E. thailandicus* КПБ-2 (B-10984). Из этого следует, что штаммы характеризуются высокоадгезивными свойствами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённые исследования позволили разработать последовательную схему скрининга пробиотических микроорганизмов, способных к активной пролиферации в кишечнике и, соответственно, к коррекции аутохтонной микрофлоры. При этом на начальном этапе возможно

использование более дешёвых и доступных методов скрининга по показателю уровня адгезии к эритроцитам крови. Такие штаммы, как *L. lactis* № 2407 (б) и *L. plantarum* № 2407, *E. faecium* № 6769 продемонстрировали высокие значения указанного показателя, штамм пробиотических дрожжей *S. cerevisiae* var. *boulardii* продемонстрировал низкие значения. Для более детального определения адгезивных свойств молочнокислых бактерий и дрожжей возможно применение современных методик с помощью клеточных линий, включая эпителиоподобные клетки аденокарциномы ободочной кишки человека CaCo-2, которые в целом подтверждают высокоадгезивные свойства лактобактерий и возможность их применения в клинической практике.

ДОПОЛНИТЕЛЬНО

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: И.М. Чернуха — концептуализация, методология, руководство исследованием; Н.Г. Машенцева — ресурсы, создание рукописи и её редактирование, руководство исследованием, проведение исследования; М.С. Каночкина — методология, написание текста рукописи и редактирование, проведение исследования, визуализация; И.А. Фоменко — верификация и анализ данных, проведение исследования, написание рукописи.

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work. I.M. Chernukha — conceptualization, methodology, research management; N.G. Mashentseva — resources, manuscript creation and editing, research management; M.S. Kanochkina — methodology, manuscript writing and editing, research, visualization; I.A. Fomenko — data verification and analysis, research, manuscript writing.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Руш К., Руш Ф. Микробиологическая терапия : пер. с нем. М. : Арнебия, 2003. 160 с.
2. Siciliano R.A., Mazzeo M.F. Molecular mechanisms of probiotic action: A proteomic perspective // *Curr Opin Microbiol.* 2012. Vol. 15, N 3. P. 390–396. doi: 10.1016/j.mib.2012.03.006
3. Madigan M.T., Martinko J.M., Dunlap P.V., Clark D.P. Bacteria: Gram-positive and other bacteria. In: Madigan M.T., Martinko J.M., Dunlap P.V., Clark D.P., editors. *Brock: Biology of Microorganisms.* San Francisco : Pearson Benjamin Cummings, 2009. P. 446–486.
4. Sanders M.E. How do we know when something called “probiotic” is really a probiotic? A guideline for consumers and health care professionals // *Funct Food Rev.* 2009. Vol. 1. P. 3–12.
5. Azcarate-Peril M.Q.A., Altermann E., Goh Y.J., et al. Analysis of the genome sequence of *Lactobacillus gasseri* ATCC 33323 reveals the molecular basis of an autochthonous intestinal organism // *Appl Environ Microbiol.* 2008, Vol. 74, N 15. 4610–4625. doi: 10.1128/AEM.00054-08
6. Hill C., Guarner F., Reid G., et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic // *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014. Vol. 11, N 8. P. 506–514. doi: 10.1038/nrgastro.2014.66
7. Slover C.M., Danziger L. *Lactobacillus*: A review // *Clin Microbiol Newsl.* 2008. Vol. 30. P. 23–27.
8. Muyyarikkandy M.S., Amalaradjou M.A. *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus paracasei* attenuate *Salmonella enteritidis*, *Salmonella Heidelberg* and *Salmonella typhimurium* colonization and virulence gene expression in vitro // *Int J Mol Sci.* 2017. Vol. 18, N 11. P. 2381. doi: 10.3390/ijms18112381
9. Tan Y., Leonhard M., Moser D., Schneider-Stickler B. Inhibition activity of *Lactobacilli* supernatant against fungal-bacterial multispecies biofilm on silicone // *Microb Pathog.* 2017. Vol. 113. P. 197–201. doi: 10.1016/j.micpath.2017.10.051
10. Fukuda K. Is it feasible to control pathogen infection by competitive binding of probiotics to the host? // *Virulence.* 2017. Vol. 8, N 8. P. 1502–1505. doi: 10.1080/21505594.2017.1382798
11. Sánchez B., López P., González-Rodríguez I., et al. A flagellin-producing *Lactococcus* strain: Interaction with mucin and enteropathogens // *FEMS Microbiol Lett.* 2011. Vol. 318, N 2. P. 101–107. doi: 10.1111/j.1574-6968.2011.02244.x
12. Son S.-H., Jeon H.-L., Yang S.-J., Lee N.-K., Paik H.-D. In vitro characterization of *Lactobacillus brevis* KU15006, an isolate from kimchi, reveals anti-adhesion activity against foodborne pathogens and antidiabetic properties // *Microb Pathog.* 2017. Vol. 112. P. 135–141. doi: 10.1016/j.micpath.2017.09.053
13. Buntin N., de Vos W.M., Hongpattarakare T. Variation of mucin adhesion, cell surface characteristics, and molecular mechanisms among *Lactobacillus plantarum* isolated from different habitats // *Appl Microbiol Biotechnol.* 2017. Vol. 101, N 20. 7663–7674. doi: 10.1007/s00253-017-8482-3
14. Lehri B., Seddon A.M., Karlyshev A.V. *Lactobacillus fermentum* 3872 as a potential tool for combatting *Campylobacter jejuni* infections // *Virulence* // 2017. Vol. 8, N 8. P. 1753–1760. doi: 10.1080/21505594.2017.1362533
15. Deplancke B., Gaskins H.R. Microbial modulation of innate defense: Goblet cells and the intestinal mucus layer // *Am J Clin Nutr.* 2001. Vol. 73, N 6. P. 1131S–1141S. doi: 10.1093/ajcn/73.6.1131S
16. Johnson B.R., O’Flaherty S., Goh Y.J., et al. The S-layer associated serine protease homologue PrtX impacts cell surface-mediated microbe-host interactions of *Lactobacillus acidophilus* NCFM // *Front Microbiol.* 2017, Vol. 8. P. 1185. doi: 10.3389/fmicb.2017.01185
17. Johnson B., Selle K., O’Flaherty S., Goh Y.J., Klaenhammer T. Identification of extracellular surface-layer associated proteins in *Lactobacillus acidophilus* NCFM // *Microbiology.* 2013. Vol. 159, Pt. 11. P. 2269–2282. doi: 10.1099/mic.0.070755-0
18. Amenyogbe N., Kollmann T.R., Ben-Othman R. Early-life host-microbiome interface: The key frontier for immune development // *Front Pediatr.* 2017. Vol. 5. P. 111. doi: 10.3389/fped.2017.00111
19. Park W. Gut microbiomes and their metabolites shape human and animal health // *J Microbiol.* 2018. Vol. 56, N 3. P. 151–153. doi: 10.1007/s12275-018-0577-8
20. Bansil R., Turner B.S. Mucin structure, aggregation, physiological functions and biomedical applications // *Curr Opin Colloid Interface Sci.* 2006. Vol. 11, Issue 2–3. P. 164–170. doi: 10.1016/J.COCIS.2005.11.001
21. Van Tassell M.L., Miller M.J. *Lactobacillus* adhesion to mucus // *Nutrients.* 2011. Vol. 3, N 5. P. 613–636. doi: 10.3390/nu3050613
22. Etzold S., Juge N. Structural insights into bacterial recognition of intestinal mucins // *Curr Opin Struct Biol.* 2014. Vol. 28. P. 23–31. doi: 10.1016/j.sbi.2014.07.002
23. Tailford L.E., Crost E.H., Kavanaugh D., Juge N. Mucin glycan foraging in the human gut microbiome // *Front Genet.* 2015. Vol. 6. P. 81. doi: 10.3389/fgene.2015.00081
24. Van de Guchte M., Chaze T., Jan G., Mistou M.-Y. Properties of probiotic bacteria explored by proteomic approaches // *Curr. Opin. Microbiol.* 2012. Vol. 15, N 3. P. 381–389. doi: 10.1016/j.mib.2012.04.003
25. Bentley-Hewitt K.L., Narbad A., Majsak-Newman G., Philo M.R., Lund E.K. *Lactobacilli* survival and adhesion to colonic epithelial cell lines is dependent on long chain fatty acid exposure // *Eur J Lipid Sci Technol.* 2017. Vol. 119, N 11. P. 1700062.
26. Gibson G.R., Scott K.P., Rastall R.A., et al. Dietary prebiotics: Current status and new definition // *Food Sci Technol Bull Funct Foods.* 2010. Vol. 7, N 1. P. 1–19. doi: 10.1002/ejlt.201700062
27. Mays Z.J.S., Chappell T.C., Nair N.U. Quantifying and Engineering Mucus Adhesion of Probiotics // *ACS Synth Biol.* 2020. Vol. 9, N 2. P. 356–367. doi: 10.1021/acssynbio.9b00356
28. Monteagudo-Mera A., Rastall R.A., Gibson G.R., Charalampopoulos D., Chatzifragkou A. Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health // *Appl Microbiol Biotechnol.* 2019. Vol. 103, N 16. P. 6463–6472. doi: 10.1007/s00253-019-09978-7
29. Wang M., Liu P., Kong L., Xu N., Lei H. Promotive effects of sesamin on proliferation and adhesion of intestinal probiotics and its mechanism of action // *Food Chem Toxicol.* 2021. Vol. 149. P. 112049. doi: 10.1016/j.fct.2021.112049
30. Патент RU на изобретение № 2 501 861 С1. Машенцева Н.Г., Нгуен Т.М.К. Способ определения адгезивных свойств бактерий рода *Enterococcus* с помощью клеточной линии CaCo-2. Режим доступа: https://yandex.ru/patents/doc/RU2501861C1_20131220. Дата обращения: 25.04.2023.

REFERENCES

1. Rush K, Rush F. *Mikrobiologicheskaya terapiya* [translated from German]. Moscow: Arnebiya; 2003. 160 p. (In Russ).
2. Siciliano RA, Mazzeo MF. Molecular mechanisms of probiotic action: A proteomic perspective // *Curr Opin Microbiol*. 2012. Vol. 15, N 3. P. 390–396. doi: 10.1016/j.mib.2012.03.006
3. Madigan MT, Martinko JM, Dunlap PV, Clark DP. Bacteria: Gram-positive and other bacteria. In: Madigan M.T., Martinko J.M., Dunlap P.V., Clark D.P., editors. *Brock: Biology of Microorganisms*. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings; 2009. P. 446–486.
4. Sanders ME. How do we know when something called “probiotic” is really a probiotic? A guideline for consumers and health care professionals. *Funct Food Rev*. 2009;1:3–12.
5. Azcarate-Peril MQA, Altermann E, Goh YJ, et al. Analysis of the genome sequence of *Lactobacillus gasseri* ATCC 33323 reveals the molecular basis of an autochthonous intestinal organism. *Appl Environ Microbiol*. 2008;74(15):4610–4625. doi: 10.1128/AEM.00054-08
6. Hill C, Guarner F, Reid G, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014;11(8):506–514. doi: 10.1038/nrgastro.2014.66
7. Slover CM, Danziger L. *Lactobacillus*: A review. *Clin Microbiol Newsl*. 2008;30:23–27.
8. Muylarikandy MS, Amalaradjou MA. *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus paracasei* attenuate *Salmonella enteritidis*, *Salmonella Heidelberg* and *Salmonella typhimurium* colonization and virulence gene expression in vitro. *Int J Mol Sci*. 2017;18(11):2381. doi: 10.3390/ijms18112381
9. Tan Y, Leonhard M, Moser D, Schneider-Stickler B. Inhibition activity of *Lactobacilli* supernatant against fungal-bacterial multispecies biofilm on silicone. *Microb Pathog*. 2017;113:197–201. doi: 10.1016/j.micpath.2017.10.051
10. Fukuda K. Is it feasible to control pathogen infection by competitive binding of probiotics to the host? *Virulence*. 2017; 8(8):1502–1505. doi: 10.1080/21505594.2017.1382798
11. Sánchez B, López P, González-Rodríguez I, et al. A flagellin-producing *Lactococcus* strain: Interaction with mucin and enteropathogens. *FEMS Microbiol Lett*. 2011;318(2):101–107. doi: 10.1111/j.1574-6968.2011.02244.x
12. Son S-H, Jeon H-L, Yang S-J, Lee N-K, Paik H-D. In vitro characterization of *Lactobacillus brevis* KU15006, an isolate from kimchi, reveals anti-adhesion activity against foodborne pathogens and antidiabetic properties. *Microb Pathog*. 2017;112:135–141. doi: 10.1016/j.micpath.2017.09.053
13. Buntin N, de Vos WM., Hongpattarakare T. Variation of mucin adhesion, cell surface characteristics, and molecular mechanisms among *Lactobacillus plantarum* isolated from different habitats. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2017;101(20):7663–7674. doi: 10.1007/s00253-017-8482-3
14. Lehri B, Seddon AM, Karlyshev AV. *Lactobacillus fermentum* 3872 as a potential tool for combatting *Campylobacter jejuni* infections. *Virulence*. 2017;8(8):1753–1760. doi: 10.1080/21505594.2017.1362533
15. Deplancke B, Gaskins HR. Microbial modulation of innate defense: Goblet cells and the intestinal mucus layer. *Am J Clin Nutr*. 2001;73(6):1131S–1141S. doi: 10.1093/ajcn/73.6.1131S
16. Johnson BR, O’Flaherty S, Goh YJ, et al. The S-layer associated serine protease homologue PrtX impacts cell surface-mediated microbe-host interactions of *Lactobacillus acidophilus* NCFM. *Front Microbiol*. 2017;8:1185. doi: 10.3389/fmicb.2017.01185
17. Johnson B, Selle K, O’Flaherty S, Goh YJ, Klaenhammer T. Identification of extracellular surface-layer associated proteins in *Lactobacillus acidophilus* NCFM. *Microbiology*. 2013;159(11): 2269–2282. doi: 10.1099/mic.0.070755-0
18. Amenyogbe N, Kollmann TR, Ben-Othman R. Early-life host-microbiome interface: The key frontier for immune development. *Front Pediatr*. 2017;5:111. doi: 10.3389/fped.2017.00111
19. Park W. Gut microbiomes and their metabolites shape human and animal health. *J Microbiol*. 2018;56(3):151–153. doi: 10.1007/s12275-018-0577-8
20. Bansil R, Turner BS. Mucin structure, aggregation, physiological functions and biomedical applications. *Curr Opin Colloid Interface Sci*. 2006;11(2–3):164–170. doi: 10.1016/J.COCIS.2005.11.001
21. Van Tassell ML, Miller MJ. *Lactobacillus* adhesion to mucin. *Nutrients*. 2011;3(5):613–636. doi: 10.3390/nu3050613
22. Etzold S, Juge N. Structural insights into bacterial recognition of intestinal mucins. *Curr Opin Struct Biol*. 2014;28:23–31. doi: 10.1016/j.sbi.2014.07.002
23. Tailford LE, Crost EH, Kavanaugh D, Juge N. Mucin glycan foraging in the human gut microbiome. *Front Genet*. 2015;6:81. doi: 10.3389/fgene.2015.00081
24. Van de Guchte M, Chaze T, Jan G, Mistou M.-Y. Properties of probiotic bacteria explored by proteomic approaches. *Curr Opin Microbiol*. 2012;15(3):381–389. doi: 10.1016/j.mib.2012.04.003
25. Bentley-Hewitt KL, Narbad A, Majsak-Newman G, Philo MR, Lund EK. *Lactobacilli* survival and adhesion to colonic epithelial cell lines is dependent on long chain fatty acid exposure. *Eur J Lipid Sci Technol*. 2017;119(11):1700062.
26. Gibson GR, Scott KP, Rastall RA, et al. Dietary prebiotics: Current status and new definition. *Food Sci Technol Bull Funct Foods*. 2010;7(1):1–19. doi: 10.1002/ejlt.201700062
27. Mays ZJS, Chappell TC, Nair NU. Quantifying and Engineering Mucus Adhesion of Probiotics. *ACS Synth Biol*. 2020;9(2):356–367. doi: 10.1021/acssynbio.9b00356
28. Monteagudo-Mera A, Rastall RA, Gibson GR, Charalampopoulos D, Chatzifragkou A. Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2019;103(16):6463–6472. doi: 10.1007/s00253-019-09978-7
29. Wang M, Liu P, Kong L, Xu N, Lei H. Promotive effects of sesamin on proliferation and adhesion of intestinal probiotics and its mechanism of action. *Food Chem Toxicol*. 2021;149:112049. doi: 10.1016/j.fct.2021.112049
30. Patent RU № 2 501 861 C1. Mashentseva N.G., Nguen T.M.K. *Sposob opredeleniya adgezivnykh svoystv bakterii roda Enterococcus s pomoshch’yu kletchnoi linii CaCo-2*. Available from: https://yandex.ru/patents/doc/RU2501861C1_20131220 (In Russ).

ОБ АВТОРАХ

* **Машенцева Наталья Геннадьевна**, д.т.н., профессор;
адрес: Россия, 125080, Москва, Волоколамское ш., д. 11;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9287-0585>;
eLibrary SPIN: 9791-5806; e-mail: natali-mng@yandex.ru

Каночкина Мария Сергеевна, к.т.н.;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6077-5957>;
eLibrary SPIN: 2584-6474; e-mail: kanoch@yandex.ru

Фоменко Иван Андреевич, к.т.н.;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2478-1705>;
eLibrary SPIN: 5861-2838; e-mail: fomencoia@mgupp.ru

Чернуха Ирина Михайловна, д.т.н.;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4298-0927>;
eLibrary SPIN: 3423-3754; e-mail: imcher@inbox.ru

AUTHORS' INFO

* **Natalia G. Mashentseva**, Doc. Sci. (Tech), Professor;
address: 11 Volokolamsk Highway, 125080 Moscow, Russia;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9287-0585>;
eLibrary SPIN: 9791-5806; e-mail: natali-mng@yandex.ru

Marya S. Kanochkina, Cand. Sci. (Tech);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6077-5957>;
eLibrary SPIN: 2584-6474; e-mail: kanoch@yandex.ru

Ivan A. Fomenko, Cand. Sci. (Tech);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2478-1705>;
eLibrary SPIN: 5861-2838; e-mail: fomencoia@mgupp.ru

Irina M. Chernukha, Doc. Sci. (Tech);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4298-0927>;
eLibrary SPIN: 3423-3754; e-mail: imcher@inbox.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author