

Anna Paliwoda^{1*}, Adriana Nowak¹

¹Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności,
Politechnika Łódzka

Wpłynęło w październiku 2016 r.
Zaakceptowano w styczniu 2017 r.

1. Wstęp. 2. Etapy adhezji bakterii *Lactobacillus* do nabłonka jelitowego. 3. Czynniki uczestniczące w adhezji. 3.1. Czynniki białkowe. 3.2. Czynniki niebiałkowe. 3.3 Czynniki środowiskowe. 3.4. Tworzenie agregatów oraz oddziaływania hydrofobowe. 4. Podsumowanie

Factors determining the adhesive capacity of *Lactobacillus* bacteria

Abstract: The ability of *Lactobacillus* to adhere to the intestinal epithelium is one of the most important criterion in the selection of probiotic strains. Adherence allows microorganisms to survive and temporarily colonize the digestive system, which is necessary to induce beneficial effects on the host. Adhesion is a very complex, multistep process and, although there are many proposed theories, the exact mechanism is still not fully understood. A crucial role in the formation of the adhesive interactions plays the bacterial cell wall and its components, such as exopolisaccharides, lipoteichoic acids and various proteins e.g. S-layer proteins.

1. Introduction. 2. Stages of *Lactobacillus* adhesion to intestinal epithelium 3. Adhesion factors. 3.1. Protein factors 3.2. Non-protein factors. 3.3. Environmental factors. 3.4. Aggregation and hydrophobic interactions. 4. Summary

Słowa kluczowe: adhezja, bakterie mlekowe, *Lactobacillus*
Key words: adhesion, lactic acid bacteria, *Lactobacillus*

1. Wstęp

Zjawisko adhezji stanowi istotny proces dla przeżycia i namnażania się bakterii probiotycznych w przewodzie pokarmowym. Uważa się, że sam pasaż przez przewód pokarmowy nie jest wystarczający do wywołania efektu zdrowotnego [24]. Z uwagi na to, że adhezja bakterii do nabłonka jelitowego wpływa na czas ich przebywania w układzie pokarmowym, zdolność ta jest uważana za ważne kryterium podczas selekcji szczepów probiotycznych [29]. Proces ten stanowi pierwszy krok w wykształcaniu interakcji pomiędzy drobnoustrojami, a komórkami gospodarza [60]. Podczas przebywania probiotyków w jelitach, mikroorganizmy te mogą wpływać na miejscowy skład mikrobioty oraz stymulować układ odpornościowy.

Adhezja to proces umożliwiający mikroorganizmom przyleganie do innych komórek lub powierzchni. Struktury umiejscowione na powierzchni komórek mikroorganizmów mają bezpośredni wpływ na ten proces. Egzopolisacharydy (EPS) i białkowe wypustki uczestniczą w tworzeniu wiązań między komórką a powierzchnią. EPS odgrywają istotną rolę podczas formowania struktur biofilmu, natomiast białka powierzchniowe działają jak adhezyjne i są niezbędne do wytworzenia początkowych oddziaływań [21]. Adhezja jest procesem wieloetapowym. W pierwszym etapie, gdy odległość komórki od powierzchni jest duża, siłą napędową tego

procesu są oddziaływania hydrofobowe. W kolejnym etapie (gdy odległość między bakterią, a powierzchnią jest mniejsza niż 1,5 nm) dzięki obecności glikopolimerów na powierzchni komórek (np. kwas tejchojowy) dochodzi do rozpoznania odpowiednich receptorów i związania z bakteryjnymi lektynami. Wraz z upływem czasu, wiązania te ulegają modyfikacji, aby zwiększyć siłę adhezji [3, 53]. Struktura powierzchni komórek bakterii z rodzaju *Lactobacillus* umożliwia im adhezję i tworzenie biofilmów na różnych powierzchniach. Osłony komórkowe bakterii Gram-dodatnich stanowią platformę, na której znajdują się polisacharydy otoczkowe, kwasy tejchojowe i lipoteichojowe, białka powierzchniowe i lipoproteiny [52]. Niektóre gatunki pałeczek kwasu mlekowego posiadają na powierzchni dodatkowo warstwę białek zwaną warstwą S (*S-layer proteins*) [51]. Udowodniono, że te elementy prezentowane na osłonach komórkowych bakterii wpływają na hydrofobowość oraz zdolność autoagregacji szczepów *Lactobacillus* [57].

Warstwa mureiny w ścianie komórkowej bakterii z rodzaju *Lactobacillus* jest zbudowana z łańcuchów polisacharydów składających się z podjednostek kwasu muraminowego i N-acetyloglukozaminy, które są połączone wiązaniem β -1,4-glikozydowym. Całość stabilizują i utrzymują krótkie peptydy [6]. Kwasy tejchojowe mogą stanowić do 50% suchej masy ściany komórkowej. Są one zaangażowane w wiele funkcji ściany

* Autor korespondencyjny: Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź; e-mail: aniaogr@onet.eu

komórkowej. Wraz z warstwą peptydoglikanu tworzą polianionową matrycę i przyczyniają się do porowatości i elastyczności błony komórkowej. Biorą także udział w regulacji poziomu kationów [26].

Egzopolisacharydy (EPS) połączone ze ścianą komórkową mogą wykazywać charakter kwaśny lub neutralny. Niektóre z nich mogą być także wydzielane do środowiska. Z uwagi na ich dużą ilość na powierzchni komórki w znacznym stopniu decydują one o jej właściwościach [6]. Egzopolisacharydy są otoczone przez zewnętrzną warstwę białek warstwy S. Są one przymocowane do ściany komórkowej wiązaniami kowalencyjnymi (białka LPXTG) lub niekowalencyjnymi (poprzez domeny LysM, SH3, WXL), a także poprzez N- lub C-końcowe helisy transmembranowe [51].

Czynniki wiążące, zwane adhezynami, u bakterii *Lactobacillus* mogą być klasyfikowane według [61]: ich docelowych miejsc w błonie śluzowej jelit, z którymi się łączą na przykład komponenty warstwy śluzowej lub zewnątrzkomórkowe matryce; lokalizacji na powierzchni komórki np. białka warstwy S, a także sposobu przymocowania do powierzchni komórki np. białka zależne od sortazy.

Adhezyny mają charakter białkowy i znajdują się w największej ilości na powierzchni fimbrii oraz na zewnętrznej warstwie ściany komórkowej [10]. Struktura ściany komórkowej bakterii odpowiada za niespecyficzne oddziaływanie pomiędzy drobnoustrojami, a otaczającym je środowiskiem [11].

2. Etapy adhezji bakterii *Lactobacillus* do nabłonka jelitowego

Proces adhezji mikroorganizmów jest procesem wielostopniowym. Do opisu tego zjawiska została wykorzystana teoria DLVO, według której, całkowite oddziaływanie między powierzchnią a komórką jest sumą oddziaływań przyciągających van der Waalsa oraz odpychających oddziaływań elektrostatycznych, które są związane z powstawaniem podwójnej warstwy elektronowej wokół komórki. Siły te decydują o zbliżeniu się bakterii do powierzchni. Przyciąganie komórki do powierzchni zachodzi w obszarze dwóch minimum energetycznych. Najsilniejsze występuje w tzw. pierwszym minimum (znajdującym się w odległości ok. 1 nm od powierzchni). Jest ono oddzielone od drugiego minimum obszarem dodatniej energii wywołującej odpychanie [10,21]. Ważną rolę w tworzeniu biofilmu przez drobnoustroje odgrywają wytwarzane przez nie polimery zewnątrzkomórkowe, białka ściany komórkowej oraz struktury zewnątrzkomórkowe (rzęski i fimbrie). W pierwszym etapie adhezji bakterii, gdzie odległość między komórkami, a zajmowaną powierzchnią jest dość duża, najistotniejszą rolę odgrywają oddzia-

ływania fizyczne związane z siłami grawitacyjnymi, hydrofobowymi, van der Waalsa i termodynamicznymi. Umożliwiają one zbliżenie się komórki do zasiedlanego miejsca [27]. Na tym etapie ważną rolę odgrywają także fimbrie lub rzęski. Dzięki fimbriom komórki łatwiej mogą pokonać siły odpychania między ścianą komórkową bakterii, a zasiedlaną powierzchnią. Natomiast dzięki rzęskom bakterie mogą łatwiej dotrzeć do powierzchni oraz innych mikroorganizmów w celu wytworzenia nowej mikrokoloni [56]. Kolejny etap adhezji zachodzi w momencie gdy odległość między komórką a powierzchnią jest mniejsza niż 1,5 nm [41]. Dochodzi wtedy do wytworzenia specyficznych połączeń między zasiedlaną powierzchnią, a adhezynami na powierzchni bakterii (np. pile, polimery polisacharydowe) [17]. Mechanizmy rozpoznawania i wytworzenia tych połączeń są bardzo różne. Jest to spowodowane dużą różnorodnością powierzchniowych elementów komórki u różnych szczepów *Lactobacillus*, a także różnym sposobem ich połączeń ze ścianą komórkową [51]. Białka uczestniczące w procesie adhezji mogą być także kodowane w plazmidach bakteryjnych. Posiadanie takiego plazmidu przez dowolną bakterię znacznie ułatwia kolonizację jelit oraz zapewnia przewagę konkurencyjną w stosunku do innych mikroorganizmów, w tym chorobotwórczych. Wykazano, że usunięcie plazmidu pLOCK 0919 ze szczepu *Lb. casei* LOCK 0919 skutkowało zanikiem hydrofobowości, znacznym obniżeniem zdolności adhezyjnych szczepu [1].

W procesie adhezji drobnoustrojów do nabłonka jelitowego ważną rolę odgrywa warstwa śluzu. Jest to mieszanina glikoprotein (tzw. mucyn) i glikolipidów, która tworząc żel, otacza i ochrania komórki nabłonka. Mucyny są zwykle produkowane przez wyspecjalizowane komórki śluzowe w tkankach gruczołowych oraz przez komórki kubkowe układu pokarmowego [13]. Warstwa śluzu tworzy miejsce przyczepu oraz źródło składników odżywczych dla bakterii kwasu mlekowego [35]. Jeden z proponowanych mechanizmów interakcji pomiędzy mikrobiotą, a organizmem gospodarza jest związany z występowaniem dwóch miejsc: pierwszym odpowiedzialnym za związanie oligosacharydowej części mucyn obecnych w warstwie śluzu z powierzchnią komórki bakteryjnej oraz drugim, związanym z przyleganiem szczepów do warstwy śluzu [53]. Zjawisko przyłączenia bakterii do warstwy mucyn nazywane jest adhezją z glikoniugatami jelitowymi [60]. Warstwa śluzu, dzięki swej lepkości, umożliwia przyczepienie się komórek bakterii. Właściwości te są wynikiem obecności rozległych regionów w rdzeniu mucyn zawierających reszty siarczanowe wiążące regiony bogate w cysteinę. Oligosacharydy występujące w mucynach tworzą końce stanowiące miejsce wiązania z komórkami bakterii [33]. Zaobserwowano, że pewne szczepy *Lactobacillus* wykazują zdolność do adhezji do

antygenów grupy krwi ABO, które zawierają terminalne nieredukujące łańcuchy polisacharydowe mucyn. Ponadto, również łańcuchy polisacharydowe zawierające reszty kwasu sialowego i grupy siarczanowe zwiększają adhezję *Lactobacillus* sp. do mucyn [38].

3. Czynniki uczestniczące w adhezji

Czynniki wpływające na proces adhezji bakterii *Lactobacillus* sp. można podzielić na białkowe, niebiałkowe, środowiskowe, zdolność agregacji oraz hydrofobowość.

3.1. Czynniki białkowe

Białka wytwarzane przez bakterie mogą przyczyniać się do utrzymania homeostazy w układzie pokarmowym gospodarza za pomocą kilku mechanizmów. Niektóre białka są odpowiedzialne za adhezję bakterii do nabłonka jelita, inne stymulują układ immunologiczny oraz mogą wpływać na ekspresję genów kodujących białka biorące udział w komunikacji między komórkami gospodarza, a drobnoustrojami [47].

Białka związane ze ścianą komórkową bakterii należą do najlepiej poznanych i scharakteryzowanych [39]. Czynniki te, zwane adhezynami, zaklasyfikowano według ich struktury i funkcji do kilku grup (Tabela I): białka warstwy S (SLPs), białka wiążące mucyny (MUBs), białka zależne od sortazy (SDPs), białka mannozo-specyficzne (MSAs) oraz białka pośredniczące w adhezji do składników macierzy międzykomórkowej enterocytów oraz

wiele innych słabiej poznanych [51]. Roos i Jonsson [45] badając homologię białek MUBs i MSAs sugerują, że istnieje kilka podobieństw w strukturze tych białek. Jedną z nich jest obecność N-końcowego peptydu sygnałowego, za pomocą którego białko jest kierowane do szlaku sekrecyjnego [6]. Drugim podobieństwem jest obecność motywu LPXTG na C-końcu, który jest rozpoznawany przez peptydazy powierzchniowe z rodziny sortaz, które katalizują rozerwanie wiązania między treoniną a glicyną, a następnie w sposób kowalencyjny wiążą białko z warstwą peptydoglikanu [47]. Dodatkowo w skład macierzy zewnątrzkomórkowej otaczającej enterocyty, wchodzi wiele składników, które okazały się docelowymi dla bakterii zawierających motyw LPXTG (np. laminina, fibronektyna, kolagen) [51].

Obecność tych białek na powierzchni komórki odgrywa bardzo ważną rolę w przetrwaniu bakterii probiotycznych w jelitach gospodarza. Takie stwierdzenie zasugerowali Van Pijkeren i wsp. [59], którzy zbadali, że w przypadku mutantów szczepu *Lb. salivarius* UCC118, który nie wytwarzał sortazy, a jego białka zależne od sortazy nie zawierały motywu LPXTG, wykazywał znacznie mniejsze zdolności adhezyjne do komórek nabłonka jelitowego Caco-2 oraz HT29. Lebeer i wsp. [30] zauważyli, iż wiele czynników wpływa na adhezję bakterii do komórek Caco-2. Stwierdzili, że geny kodujące *FbpA*, *Mub* i *SlpA* także uczestniczą w adhezji *Lb. acidophilus* NCFM. Mutacja w tych genach powodowała 65% obniżenie adherencji szczepu.

Białka warstwy S (S-layer proteins, SLPs) są uznane za najbardziej zewnętrzną strukturę ściany komór-

Tabela I

Mechanizmy odpowiedzialne za zdolności adhezyjne niektórych gatunków bakterii *Lactobacillus* (w oparciu o [50])

Gatunek	Efekty	Czynniki w ścianie komórkowej	Komórki docelowe w organizmie gospodarza
<i>Lb. acidophilus</i>	Agregacja i adherencja, hamowanie patogenów, wzmocnienie bariery nabłonka, immunostymulacja	MUB, białka warstwy S, białka wiążące fibronektynę, LTA, EPS	Komórki nabłonka jelitowego, śluz, macierz zewnątrzkomórkowa (ECM), fibronektyna, komórki Caco-2
<i>Lb. plantarum</i>	Adherencja, wzmocnienie bariery nabłonka, immunostymulacja	MSA, białko GAPDH	Komórki nabłonka jelitowego, śluz, komórki Caco-2
<i>Lb. brevis</i>	Adherencja, ochrona przed czynnikami stresowymi, wzmocnienie bariery nabłonka	Białka warstwy S	Komórki nabłonka jelitowego
<i>Lb. rhamnosus</i>	Adherencja, hamowanie patogenów, hamowanie apoptozy komórek nabłonka jelitowego	Fimbrie, czynniki wiążące mucyny (MCF)	Glikoproteiny śluzówki, komórki nabłonka jelitowego
<i>Lb. casei</i>	Wzmocnienie bariery nabłonka, zwiększenie produkcji śluzu, immunostymulacja	EPS, białka zależne od sortazy	Komórki Caco-2, makrofagi
<i>Lb. reuteri</i>	Adherencja, ochrona przed czynnikami stresowymi, wzmocnienie bariery nabłonka	MUB, białka wiążące kolagen (CnBP)	Komórki nabłonka jelitowego, śluz, kolagen
<i>Lb. johnsonii</i>	Adherencja	LTA, czynnik elongacji Tu, białka szoku cieplnego, pile	Komórki nabłonka jelitowego, śluz

kowej. Tworzą one jednocząsteczkową, krystaliczną warstwę o grubości 5–15 nm, zbudowaną z białek i/lub glikoprotein o masie cząsteczkowej 40–200 kDa. Białka warstwy S można znaleźć na powierzchni komórek niektórych bakterii Gram-dodatnich, Gram-ujemnych oraz Archeonów [2]. Mogą tworzyć regularną i bardzo porowatą strukturę dwuwarstwową o różnej sieci krystalicznej: skośnej, kwadratowej lub sześciokątnej [22]. Do funkcji tych białek można zaliczyć ochronę komórki przed niskim pH, fagocytozą, enzymami i bakteriofagami [60]. Białka powierzchniowej warstwy stanowią 10–15% całej zawartości białek w komórce. Cechą charakterystyczną białek warstwy S bakterii *Lactobacillus* jest ich wysoki punkt izoelektryczny (9,35–10,40), który nadaje im silnie zasadowy charakter [6]. Niektóre szczepy *Lactobacillus* posiadają nieglikozylowane SLPs, podczas gdy inne posiadają SLPs z przyłączoną grupą cukrową [51]. Skład i właściwości warstwy powierzchniowej jest zmienny u różnych gatunków i szczepów. Jeden szczep *Lactobacillus* może posiadać wiele genów kodujących SLPs, lecz ich ekspresja nie następuje jednocześnie. Poza wieloma kopiami genów szczepy mogą także posiadać wiele promotorów tych genów. Przykładem może być *Lb. brevis* posiadający dwa promotory przed sekwencjami SLPs. Zapewnia to wysoką wydajność ekspresji tych genów, co skutkuje wzrostem adhezencji tych bakterii do komórek gospodarza [54]. Geny białek SLPs wykryto u bakterii z rodzaju *Lactobacillus*: *Lb. acidophilus*, *Lb. brevis*, *Lb. helveticus*, *Lb. crispatus* i poznano ich sekwencję. Poza tym geny te odnaleziono także u *Lb. amylovorus*, *Lb. buchneri*, *Lb. gallinarum* i *Lb. kefir*, lecz nie zostały zsekwencjonowane [44]. Istnieje wiele sposobów w jaki SLPs mogą być przytwierdzone do ściany komórkowej bakterii. Zazwyczaj podjednostki tych białek są połączone ze sobą oraz ze składnikami ściany komórkowej za pomocą wiązań niekowalencyjnych [30]. Jednym z nich są elektrostatyczne oddziaływania między C-końcami białek (białka warstwy S wiążące kolagen – CbsA u *Lb. crispatus* JCM 5810) i N-końcami białek (SlpA u *Lb. brevis* ATCC 8287) [54]. Białka warstwy S zyskały duże zainteresowanie badaczy z uwagi na fakt, że są odpowiedzialne za adhezyjne zdolności bakterii z rodzaju *Lactobacillus* [60]. Początkowo udział SLPs w adhezji tych bakterii do komórek Caco-2 wykazali Buck i wsp. [5]. Porównywali oni zdolności adhezyjne dzikiego szczepu *Lb. acidophilus* NCFM oraz jego mutantu posiadającego mutację w genie kodującym SLPs. Wyniki ich badań pokazały, że w przypadku mutantu zaobserwowano 84% obniżenie adhezji do komórek Caco-2 w stosunku do dzikiego szczepu. Golowczyc i wsp. [19] zaobserwowali, że po strawieniu białek SLPs u koagregującego szczepu *Lb. kefir* nastąpiło znaczne obniżenie ochrony komórek Caco-2 przed inwazją bakterii z rodzaju *Salmonella*.

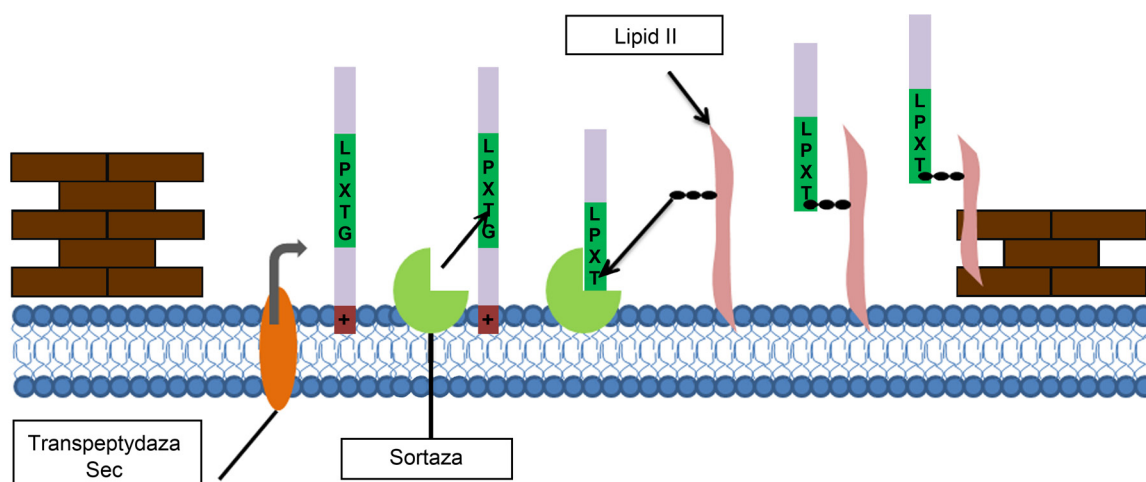
Efekt ten nie nastąpił w przypadku inkubacji bakterii *Salmonella* ze szczepem nie agregującym. Świadczy to o tym, iż białka SLPs biorą także udział w procesach agregacji komórek. Jednakże w przypadku innych badań stwierdzono, że inaktywacja SLPs u szczepu *Lb. crispatus* nie wpłynęła na zdolności adhezyjne czy agregacyjne komórek, co może świadczyć o tym, że w procesach tych uczestniczą również inne białka [51]. Dodatkowo poza specyficznymi wiązaniami tych białek mogą one zwiększać niespecyficzne wiązanie się bakterii kwasu mlekowego do powierzchni hydrofobowych na przykład w przewodzie pokarmowym lub moczowym. Efekt ten jest w dużej mierze zależny od siły jonowej środowiska [22].

Białka zależne od sortazy (*sortase-dependent proteins*, SDPs). Sortaza występuje bardzo często u bakterii Gram-dodatnich, także u bakterii kwasu mlekowego. Rola jaką odgrywa ten enzym w przytwierdzeniu białek do ściany komórkowej sprawia, że jest ono przedmiotem wielu badań dotyczących poszukiwania struktur uczestniczących w interakcjach między drobnoustrojami, a komórkami gospodarza [7]. Geny kodujące sortazę (*srtA*) odnaleziono np. w genomie *Lb. acidophilus* [5], *Lb. rhamnosus* GG [25], *Lb. casei* BL23 [36]. Ponadto geny kodujące sortazę pilinową z grupy C (*srtC*) odnaleziono w klasterze z ich genami docelowymi (geny *spa*) u *Lb. rhamnosus* GG oraz *Lb. casei* BL23 [36] a także u *Lb. casei* LOCK 0919 [1]. Białka zależne od sortazy mają charakterystyczną budowę. Zawierają C-końcowy motyw LPXTG, rozpoznawany przez sortazę, który umożliwia zakotwiczenie białka w ścianie komórkowej, C-końcowy region hydrofobowy i dodatkowo naładowany ogon, które także ułatwiają to wiązanie. Na N-końcu białek SDPs występuje peptyd sygnałowy umożliwiający sekrecję białka i sortazy w szlaku Sec. Zakotwiczenie C-końcowego ogona w błonie komórkowej przenosi SDP w pobliże sortazy, która znajduje się w błonie komórkowej, tak aby mogła zajść reakcja przeniesienia białka, umożliwiająca jego związanie ze ścianą komórkową [7] (rys 1).

Mechanizm wbudowywania SDPs w ścianę komórkową bakterii przedstawiono na rysunku 2. W pierwszym etapie transpeptydaza Sec rozpoznaje peptyd sygnałowy w białku SDPs i przenosi je na zewnątrz komórki. Zostaje ono umieszczone, dzięki hydrofobowemu regionowi w ogonie, w błonie komórkowej. Gdy sortaza i białko znajdują się blisko siebie, dochodzi do rozerwania wiązania między glicyną a treoniną w motywie LPXTG. W kolejnym etapie dochodzi do nukleofilowego ataku cząsteczek lipidu II, co prowadzi do rozpadu kompleksu SDP-sortaza oraz do wytworzenia intermediatu poprzez wytworzenie mostku z C-końcową treoniną (T) białka. Po tym połączeniu dochodzi do wbudowania tego intermediatu w strukturę ściany komórkowej [20].



Rys. 1. Budowa białek zależnych od sortazy (w oparciu o [6])



Rys. 2. Mechanizm kotwiczenia SDPs w ścianie komórkowej (w oparciu o [6])

Białka wiążące śluz (*mucous binding proteins*, MUB). Śluz wydzielany przez komórki nabłonka jelitowego stanowi pierwszą barierę obronną między drobnoustrojami a światłem jelita. Służy także jako powierzchnia do inicjacji oddziaływań gospodarz-bakterie [13]. W 2002 roku Ross i Jonsson odkryli u szczepu *Lb. reuteri* 1063 białko o masie 358 kDa, związane ze ścianą komórkową bakterii, które jest odpowiedzialne za adhezję do glikoprotein mucyn. Białka te posiadają typowy N-końcowy peptyd sygnałowy odpowiedzialny za sekrecję białka oraz motyw LPXTG umożliwiający ich zakotwiczenie w ścianie komórkowej [4]. Najlepiej zbadanym przykładem tych białek jest MUB z *Lb. reuteri*. Posiada ono dwa rodzaje powtórzeń aminokwasowych: sześć kopii MUB1 oraz osiem kopii MUB2 [23]. Białka te mogą posiadać wiele domen, jednak ich budowa strukturalna nie jest dobrze poznana [15]. Wiele szczepów *Lactobacillus* posiada kilka kopii różnych genów, co skutkuje powstawaniem białek o wysokim podobieństwie. W przypadku szczepu *Lb. acidophilus* przypuszczalnie istnieje 13 białek zawierających domeny MUB (kodowane przez gen *Lba1392*). W doświadczeniu, które polegało na inaktywacji tego genu, zaobserwowano obniżenie zdolności do adhezji badanych szczepów do enterocytów [5]. Białka te znaleziono na powierzchni szczepów *Lactobacillus* zasiedlających układ pokarmowy. Genów kodujących te białka nie znaleziono natomiast u gatunków pochodzenia roślinnego (np. *Lb. bulgaricus*, *Lb. fermentum*). Świadczy to o tym, że białka MUB biorą udział w two-

zeniu interakcji pomiędzy bakteriami a komórkami gospodarza w jelitach [39]. Istnieją także białka bardzo podobne do MUB – białko sprzyjające adhezji do śluzu (*mucous adhesion-promoting protein*, MapA). Zostało ono zidentyfikowane u *Lb. reuteri* oraz *Lb. fermentum*.

Białka wiążące mannozę (*mannose binding proteins*). Mannoza występująca na powierzchni komórek gospodarza może stanowić miejsce wiązania patogenów posiadających receptory wiążące mannozę. Receptory te odkryto także na powierzchni niektórych szczepów *Lb. plantarum*. Cecha ta może być wykorzystywana do ochrony przed kolonizacją patogenów adherujących do powierzchni zawierających mannozę. Białka te posiadają budowę charakterystyczną dla wielu powierzchniowych białek bakterii *Lactobacillus*. Na ich N-końcu występuje peptyd sygnałowy, natomiast na C-końcu motyw wiążący do ściany komórkowej. Białka te są podobne do białek MUB, ponieważ posiadają dwie domeny MUB [43].

Rzęski i pile, czyli zewnątrzkomórkowe wyrostki odgrywają znaczącą rolę w adhezji drobnoustrojów do śluzu jelitowego. Rzęski są zbudowane z tysięcy podjednostek flageliny. Wykazano, że są one zdolne do adhezji do licznych receptorów, w tym mucyn i śluzu [23]. Dodatkowo mogą działać jako ligandy i uczestniczyć w szlakach sygnałowych [55]. Pile służą do adhezji zarówno bakterii Gram-dodatnich jak i Gram-ujemnych [23]. Są zbudowane z białek zawierających wiele podjednostek. Zostały one wykryte u *Lb. rhamnosus* GG [51]. W genomie tego szczepu wykryto dwa skuski geny pili (*spaCBA* oraz *spaFED*), które zawie-

rały geny trzech podjednostek pilin oraz gen sortazy [25]. Innym przykładem jest operon *spaCBA* zlokalizowany na plazmidzie w szczepie *Lb. casei* ŁOCK 0919 [1]. Wiązanie się pili do śluzu w jelitach jest prawdopodobnie możliwe przez odpowiednie włókna pili zwane SpaCBA. Dodatkowo pojawia się coraz więcej informacji, że w procesie tym mogą brać także inne białka, takie jak białko MabA. Dodatkowo wykazano, że otwarta ramka odczytu u *Lb. rhamnosus* GG zawiera podstawowe elementy konstrukcyjne dla N-końcowego peptydu sygnałowego, 4 Pfam-MucBP (białka wiążącego mucyny) oraz motywu LPXTG na C-końcu rozpoznawanego przez sortazę [62].

3.2. Czynniki niebiałkowe

Poza białkami, na adhezję bakterii kwasu mlekowego wpływają także inne komponenty ściany komórkowej takie jak kwasy lipotejchajowe (LTA) oraz egzopolisacharydy (EPS). Wiele szczepów *Lactobacillus* wytwarza długołańcuchowe polisacharydy (EPS) składające się z rozgałęzionych cząsteczek cukrów i ich pochodnych. Mogą być one przytwierdzone do ściany komórkowej lub wydzielane do środowiska [61]. Wielu autorów sugeruje, że EPS mogą wpływać na adhezję bakterii oraz na zdolności do formowania biofilmu, w tym biofilmu w jamie ustnej [46]. Poza tym EPS chronią także komórki przed odwodnieniem w trudnych warunkach (np. obecność soli żółci), co ułatwia im przetrwanie. Sugeruje się, że egzopolisacharydy wpływają na zdolność do tworzenia agregatów, która również jest istotna w procesie kolonizacji jelit przez szczepy probiotyczne. EPS mogą także wpływać na właściwości fizyko-chemiczne powierzchni komórki, takie jak hydrofobowość oraz potencjał Zeta [12]. Lorca i wsp. [34] wykazali, że adhezja *Lb. acidophilus* CRL639 do składników ECM była związana z wytwarzaniem różnego typu egzopolisacharydów.

W ścianie komórkowej bakterii z rodzaju *Lactobacillus* występują także kwasy lipotejchajowe, które mogą pośrednio wpływać na adhezję do komórek nabłonka. Związki te tworzą różne struktury, w skład których wchodzi fosforany polioli (rybitolu lub glicerolu) oraz łańcuch lipidowy umożliwiający zakotwiczenie w błonie komórkowej [6]. Obecność silnie kwasowych reszt fosforanowych sprawia, że LTA wykazują silny polielektrolityczny charakter [49]. Właściwość ta związana jest z oddziaływaniami hydrofobowymi między komórkami [42].

3.3. Czynniki środowiskowe

Czynniki takie jak sole żółci, niskie pH, enzymy trawienne czy stres oksydacyjny i osmotyczny wpływają na właściwości ściany komórkowej bakterii mlekowych,

a tym samym na ich zdolności adhezyjne. Prowadzą one do zmian w biosyntezie peptydoglikanu, wytwarzaniu różnych EPS oraz sekrecji LTA i WTA [51]. Wpływ enzymów trawiennych na adhezję bakterii z rodzaju *Lactobacillus* zaobserwowali Tuomola i wsp. [58], którzy wykazali, że zastosowanie enzymów trawiennych (trypsyny i pepsyny) spowodowało obniżenie adhezji *Lb. acidophilus* LA1. Świadczy to o tym, że zewnętrzna białkowa warstwa ściany komórkowej odgrywa ważną rolę w procesie adhezji komórek. Podobne wyniki uzyskali Lim i Ahn [32], którzy badali wpływ enzymów proteolitycznych na zdolności adhezyjne 7 szczepów *Lactobacillus*. Wykazali, że szczepy *Lb. plantarum* GK81, *Lb. acidophilus* GK20, *Lb. paracasei* GK74, po inkubacji z pepsyną, proteazą oraz trypsyną, wykazywały znacznie mniejszą adhezję do komórek Caco-2.

Sole żółci to związki powierzchniowo-czynne wydzielane do jelit w stężeniach 0,1–2,0% [30]. Wykazują silne działanie przeciwbakteryjne, które polega na zmianie konformacji białek i lipidów błony komórkowej, co skutkuje zmianą jej integralności i przepuszczalności. Dodatkowo sole żółci indukują wytwarzanie wolnych rodników, które powodują uszkodzenia DNA [31]. Jednakże, wiele szczepów *Lactobacillus* posiada dobrze rozwinięte mechanizmy oporności na żółć [30]. Ponadto szczepy probiotyczne mogą być ochraniane przed negatywnym wpływem soków trawiennych przez składniki żywności. Dla bakterii z rodzaju *Lactobacillus* taką rolę odgrywa mleko [16]. Jednak obecne w mleku jony wapnia mogą obniżać ich adhezję [32].

Na adhezję drobnoustrojów może mieć także wpływ sposób hodowli, a dokładniej skład pożywki, liczba bakterii i czas inkubacji [40]. Lebeer i wsp. [30] zaobserwowali, że ograniczenie dostępności glukozy w pożywce wpłynęło na formowanie biofilmu przez *Lb. rhamnosus* GG. Jednak efekt ten nie został osiągnięty w przypadku innych szczepów *Lactobacillus*. Ponadto na oddziaływanie między białkami i lipidami na powierzchni komórki wpływają także enzymy i jony wapnia [32]. Zaobserwowano także, że adhezja szczepów probiotycznych jest związana z fazą wzrostu drobnoustrojów. Sugeruje się, że komórki w fazie logarytmicznego wzrostu lepiej adherują niż komórki z fazy stacjonarnej. Jednak mechanizm utraty zdolności adhezyjnych nie jest poznany [40].

3.4. Tworzenie agregatów oraz oddziaływania hydrofobowe

Właściwości ściany komórkowej bakterii z rodzaju *Lactobacillus* odgrywają ważną rolę w tworzeniu interakcji między tymi bakteriami, a komórkami nabłonka jelitowego czy mikrobiotą jelitową [26]. W przewodzie pokarmowym drobnoustroje mogą przylegać do ścian jelit poprzez wytworzenie wiązań specyficznych

lub niespecyficznym. Wiązania niespecyficzne mają charakter odwracalny i są tworzone poprzez oddziaływanie przestrzenne, elektrostatyczne i hydrofobowe [60]. W pierwszym kontakcie pomiędzy bakteriami, a komórkami nabłonkowymi lub śluzowymi kluczowe znaczenie odgrywa hydrofobowość. Konformacja powierzchniowych polimerów ma duży wpływ na ogólne właściwości fizyko-chemiczne bakterii [42]. Mikroorganizmy, które wykazują wysokie powinowactwo w stosunku do węglowodanów są uważane za hydrofobowe, natomiast szczepy słabo adherujące za hydrofilowe [14]. Jednakże zależność między organizacją strukturalną składników na powierzchni komórki, a oddziaływaniem mikroorganizmów z otoczeniem jest w dalszym ciągu otwartą kwestią [42]. Wysoka hydrofobowość powierzchni drobnoustrojów może ułatwiać, a nawet zwiększać adhezję i kolonizację organizmu gospodarza [32]. Inne badania pokazują, że nie ma powiązania między hydrofobowością, a zdolnością bakterii do adhezji, ponieważ niektóre szczepy *Lactobacillus* pomimo wysokiej hydrofobowości wykazują niską zdolność do adhezji i odwrotnie, tzn. szczepy o niskiej hydrofobowości silnie adherują do komórek nabłonka [36]. Różnice te mogą być spowodowane wysokim zróżnicowaniem budowy i składu powierzchni komórek. Ponadto bakterie z rodzaju *Lactobacillus* wykazują zdolność do zmiany właściwości powierzchniowych na skutek zmian środowiskowych [51]. W związku z tym można wnioskować, że hydrofobowość powierzchni komórek nie jest dokładnym miernikiem zdolności poszczególnych szczepów do adhezji [60].

Aby bakterie probiotyczne mogły korzystnie wpływać na organizm gospodarza, muszą osiągnąć odpowiednią masę. Dlatego zdolność do agregacji jest pożądaną cechą wśród szczepów probiotycznych [8]. Tworzenie agregatów między komórkami tego samego szczepu to autoagregacja lub samoagregacja, natomiast między różnymi szczepami, a nawet gatunkami to koagregacja [37]. Właściwości te mają duże znaczenie w kolonizowaniu różnych środowisk, zwłaszcza jelit, jamy ustnej i układu moczowo-płciowego przez bakterie probiotyczne. Zdolność szczepów *Lactobacillus* do koagregacji umożliwia stworzenie bariery zapobiegającej kolonizacji przez patogeny [8] lub poprzez tworzenie koagregatów z nimi co ułatwia ich wydalenie [18]. Autoagregacja szczepów probiotycznych jest niezbędna w procesie adhezji drobnoustrojów do nabłonka jelit [35]. Do innych zalet wynikających z agregacji bakterii probiotycznych można zaliczyć możliwość wymiany genetycznej oraz immunostymulację śluzówki jelit [48].

Fizykochemiczne cechy powierzchni komórek bakteriowych, takie jak hydrofobowość, mogą mieć wpływ na procesy autoagregacji [28]. Wyniki badań wskazują, że powierzchnie samoagregujących szczepów bakterii kwasu mlekowego wykazują silną hydrofobowość.

Natomiast szczepy nieagregujące posiadają hydrofilowy charakter powierzchni komórek. Wiele badań wykazuje, że obecność (gliko-) białkowego materiału na powierzchni komórek wpływa na wzrost hydrofobowości, natomiast obecność polisacharydów wpływa na hydrofilowość powierzchni [35]. W procesie agregacji biorą udział białka wydzielane do medium oraz białka i lipoproteiny umiejscowione w błonie komórkowej. Zaobserwowano, że supernatant oddzielony po hodowli autoagregujących szczepów *Lactobacillus* wpływał na tworzenie agregatów także przez inne szczepy bakterii kwasu mlekowego oraz niektóre szczepy *Escherichia coli*. W przypadku *Lb. gasseri* oraz *Lb. johnsonii* scharakteryzowano gen kodujący zewnątrzkomórkowy czynnik wzbudzający agregację (*aggregation-promoting factor, Apf*) [50]. Kos i wsp. [28] zauważyli, że komórki *Lb. acidophilus* M92 poddane trawieniu proteolitycznemu wykazują mniejszą hydrofobowość i słabszą zdolność do agregacji. Zatem można podejrzewać, że istnieją białkowe mediatory biorące udział w tych procesach.

4. Podsumowanie

Bakterie probiotyczne po dotarciu do jelit, aby przeciwdziałać ruchom perystaltycznym, musiały wykształcić pewne mechanizmy. Jednym z nich jest zdolność przylegania do komórek nabłonka jelitowego. Zdolności adhezyjne szczepów probiotycznych odgrywają ważną rolę podczas kolonizacji układu pokarmowego oraz mają duży wpływ na mechanizmy działania probiotycznego. Dzięki nim dochodzi do wytworzenia pierwszych interakcji pomiędzy bakteriami a organizmem gospodarza. Proces adhezji jest zjawiskiem skomplikowanym i wieloetapowym. Badania pokazują, że wiązanie się bakterii z komórkami nabłonka jelitowego nie jest regulowane przez jedne konkretne molekuly, lecz przez szereg różnych czynników. Należą do nich elementy ściany komórkowej, różne białka, obecność śluzu jelitowego oraz warunki środowiskowe. Różnorodność ta powoduje, że wciąż nie jest poznany dokładny mechanizm tego zjawiska.

Piśmiennictwo

1. Aleksandrak-Piekarczyk T., Koryszewska-Bagińska A., Grynberg M., Nowak A., Cukrowska B., Kozakova H., Bardowski J.: Genomic and functional characterization of the unusual pLOCK 0919 plasmid harboring the spaCBA pili cluster in *Lactobacillus casei* LOCK 0919. *Genome Biol. Evol.* **8**, 202–217 (2015)
2. Ávall-Jääskeläinen S., Palva A.: *Lactobacillus* surface layers and their applications. *FEMS Microbiol. Rev.* **29**, 511–529 (2005)
3. Beaussart A., El-Kirat-Chatel S., Herman P., Alsteens D., Mahillon J., Hols P., Dufrene Y.F.: Single-cell force spectroscopy of probiotic bacteria. *Biophys. J.* **14**, 1886–1892 (2013)

4. Boekhorst J., Helmer Q., Kleerebezem M., Siezen R.J.: Comparative analysis of proteins with a mucus-binding domain found exclusively in lactic acid bacteria. *Microbiology*, **152**, 273–280 (2006)
5. Buck B.L., Altermann E., Svingerud T., Klaenhammer T.R.: Functional analysis of putative adhesion factors in *Lactobacillus acidophilus* NCFM. *Environ. Microbiol.* **12**, 8344–8351 (2005)
6. Buda B., Dylus E., Górska-Frączek S., Brzozowska E., Gamian A.: Właściwości biologiczne białek powierzchniowych bakterii z rodzaju *Lactobacillus*. *Post. Hig. Med. Dosw.* **67**, 229–237 (2013)
7. Call E.K., Klaenhammer T.R.: Relevance and application of sortase and sortase-dependent proteins in lactic acid bacteria. *Front. Microbiol.* **4**, 1–10 (2013)
8. Collado M.C., Surono I., Meriluoto J., Salminen S.: Indigenous lactic acid bacteria: cell-surface properties and interactions with pathogens. *Food Microbiology and Safety*, **3**, 89–93 (2007)
9. Collado M.C., Isolauri E., Salminen S., Sanz Y.: The impact of probiotic on gut health. *Curr. Drug. Metab.* **10**, 68–78 (2009)
10. Czaczyk K., Olejnik A., Miężał P., Grajek W.: Poszukiwanie prostych modeli do badania adhezji bakterii probiotycznych. *Żywn. Nauk. Technol. Ja.* **1**, 84–96 (2005)
11. Deepika G., Karunakaran E., Hurley C. R., Biggs C.A., Charalampopoulos D.: Influence of fermentation conditions on the surface properties and adhesion of *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Microb. Cell Fact.* **11**, 1–12 (2012)
12. Dertli E., Mayer M.J., Narbad A.: Impact of the exopolysaccharide layer on biofilms, adhesion and resistance to stress in *Lactobacillus johnsonii* FI9785. *BMC Microbiology*, **15**, 1–9 (2015)
13. Derrien M., Van Passel M.W.J., Van de Bovenkamp J.H.B., Schipper R., De Vos W., Dekker J.: Mucin-bacterial interactions in the human oral cavity and digestive tract. *Gut Microbes*, **1**, 254–268 (2010)
14. Duary R.K., Rajput Y.S., Batish V.K., Grover S.: Assessing the adhesion of putative indigenous probiotic lactobacilli to human colonic epithelial cells. *Indian J. Med. Res.* **134**, 664–671 (2011)
15. Etzold S., Kober O.I., Mackenzie D.A., Tailford L.E., Gunning A.P., Walshaw J., Hemmings A.M., Juge N.: Structural basis for adaptation of lactobacilli to gastrointestinal mucus. *Environ. Microbiol.* **16**, 888–903 (2014)
16. Fernandes M.S., Cruz A.G., Arroyo D.M., Faria J.F., Cristiani M., Sant'Ana A.S.: On the behavior of *Listeria innocua* and *Lactobacillus acidophilus* co-inoculated in a dairy dessert and the potential impacts on food safety and product's functionality. *Food Control*, **34**, 331–335 (2013)
17. Flemming H.C., Wingender J.: The biofilm matrix. *Nat. Rev. Microbiol.* **8**, 623–633 (2010)
18. Goh Y.J., Klaenhammer T.R.: Functional roles of aggregation-promoting-like factor in stress tolerance and adherence of *Lactobacillus acidophilus* NCFM. *Appl. Environ. Microb.* **15**, 5005–5012 (2010)
19. Golowczyc M.A., Mobili P., Garrote G.L., de Los Angeles Serradel M., Abraham A.G., De Antoni G.L.: Interaction between *Lactobacillus kefir* and *Saccharomyces lipolytica* isolated from kefir grains: evidence for lectin-like activity of bacterial surface proteins. *J. Dairy Res.* **76**, 111–116 (2009)
20. Hendrickx A.P.A., Budzik J.M., Oh S.Y., Schneewind O.: Architects at the bacterial surface-sortases and the assembly of pili with isopeptide bonds. *Nat. Rev. Microbiol.* **9**, 166–176 (2011)
21. Hori K., Matsumoto S.: Bacterial adhesion: From mechanism to control. *Biochem. Eng. J.* **48**, 424–434 (2010)
22. Hynönen U., Palva A.: *Lactobacillus* surface layer proteins: structure, function and applications. *Appl. Microbiol. Biot.* **97**, 5225–5243 (2013)
23. Juge N.: Microbial adhesins to gastrointestinal mucus. *Trends Microbiol.* **1**, 30–39 (2012)
24. Kadlec R., Jakubec M.: The effect of prebiotics on adherence of probiotics. *J. Dairy Sci.* **97**, 1983–1990 (2014)
25. Kankainen M., de Vos W.M. i wsp.: Comparative genomic analysis of *Lactobacillus rhamnosus* GG reveals pili containing a human mucus binding protein. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **40**, 17193–17198 (2009)
26. Kleerebezem M., Hols P., Bernard E., Rolain T., Zhou M., Siezen R.J., Bron P.A.: The extracellular biology of the Lactobacilli. *FEMS Microbiol. Rev.* **34**, 199–230 (2010)
27. Kołwzan B.: Analiza zjawiska biofilmu – warunki jego powstania i funkcjonowania. *Ochrona środowiska*, **4**, 3–14 (2011)
28. Kos B., Suśković J., Vuković S., Šimpraga M., Frece J., Matošić S.: Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. *J. Appl. Microbiol.* **94**, 981–987 (2003)
29. Laparra J.M., Sanz Y.: Comparison of *in vitro* models to study bacterial adhesion to the intestinal epithelium. *Lett. Appl. Microbiol.* **49**, 695–701 (2009)
30. Lebeer S., Vanderleyden J., De Keersmaecker S.C.J.: Genes and molecules of lactobacilli supporting probiotic action. *Microbiol. Mol. Biol. R.* **4**, 728–764 (2008)
31. Li G.: Intestinal Probiotics: Interactions with bile salts and reduction of cholesterol. *Procedia Environmental Sciences*, **12**, 1180–1186 (2012)
32. Lim S.M., Ahn D.H.: Factors affecting adhesion of lactic acid bacteria to Caco-2 cells and inhibitory effect on infection of *Salmonella Typhimurium*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **22**, 1731–1739 (2012)
33. Linden S.K., Sutton P., Karlsson N.G., Korolik V., McGuckin: Mucins in the mucosal barrier to infection. *Mucosal Immunol.* **3**, 183–197 (2008)
34. Lorca G., Torino M.I., Fond D.V., Ljungh A.A.: Lactobacilli express cell surface proteins which mediate binding of immobilized collagen and fibronectin. *FEMS Microbiol. Lett.* **206**, 31–37 (2002)
35. Lukić J., Strahinić I., Jovčić B., Filipić B., Topisirović L., Kojić M., Begović J.: Different roles for Lactococcal aggregation factor and mucin binding protein in adhesion to gastrointestinal mucosa. *Appl. Environ. Microb.* **22**, 7993–8000 (2012)
36. Muñoz-Provencio D., Llopis M., Antolin M., de Torres I., Guarnier F., Pérez-Martínez G., Monedero V.: Adhesion properties of *Lactobacillus casei* strains to resected intestinal fragments and components of the extracellular matrix. *Arch. Microbiol.* **191**, 153–161 (2009)
37. Nikolic M., Jovic B., Kojic M., Topisirovic L.: Surface properties of *Lactobacillus* and *Leuconostoc* isolates from homemade cheeses showing auto-aggregation ability. *Eur. Food Res. Technol.* **231**, 925–931 (2010)
38. Nishiyama K, M. Sugiyama, T. Mukai. Adhesion properties of lactic acid bacteria on intestinal mucin. *Microorganisms*, **4**, 34 (2016)
39. O'Flaherty S., Goh Y.J., Klaenhammer T.R.: Genomic of probiotic bacteria (w) Prebiotics and Probiotics Science and Technology, red. D. Charalampopoulos, R.A. Rastall, Springer, New York, 2009 s. 681–727
40. Ouwehand A.C., Salminen S.: *In vitro* adhesion assays for probiotics and their *in vivo* relevance: a review. *Microb. Ecol. Health D.* **15**, 175–184 (2003)
41. Percival S.L., Malic S., Cruz H., Williams D.W.: Introduction to biofilms. *Biofilms and Veterinary Medicine*, **6**, 41–68 (2011)
42. Polak-Berecka M., Waśko A., Paduch R., Skrzypek T., Sroka-Bartnicka A.: The effect of cell surface components on adhesion ability of *Lactobacillus rhamnosus*. *Antonie van Leeuwenhoek*, **106**, 751–762 (2014)

43. Pretzer G., Snel J., Molenaar D., Wiersma A., Bron P.A., Lambert J., de Vos W.M., van der Meer R., Smits M.A., Kleerebezem M.: Biodiversity-based identification and functional characterization of the mannose-specific adhesin of *Lactobacillus plantarum*. *J. Bacteriol.* **17**, 6128–6136 (2005)
44. Ramiah K., van Reenen C.A., Dicks L.M.T.: Surface-bound proteins of *Lactobacillus plantarum* 423 that contribute to adhesion of Caco-2 cells and their role in competitive exclusion and displacement of *Clostridium sporogenes* and *Enterococcus faecalis*. *Res. Microbiol.* **159**, 470–475 (2008)
45. Roos S., Jonsson H.: A high-molecular mass cell-surface protein from *Lactobacillus reuteri* 1063 adheres to mucus components. *Microbiology*, **148**, 433–442 (2002)
46. Ruas-Madiego P., Gueimonde M., Margolles A., Reyes-Gavilán C.G., Salminen S.: Exopolysaccharides produced by probiotic strains modify the adhesion of probiotics and enteropathogens to human intestinal mucus. *J. Food Protect.* **8**, 2011–2015 (2006)
47. Sánchez B., Bressollier P., Urdaci M.C.: Exported proteins in probiotic bacteria: adhesion to intestinal surfaces, host immunomodulation and molecular cross-talking with the host. *FEMS Immunol. Med. Mic.* **54**, 1–17 (2008)
48. Saran S., Bisht M.S., Singh K., Teotia U.V.S.: Comparing adhesion attributes of two isolates of *Lactobacillus acidophilus* of assessment of prebiotics, honey and inulin. *Int. J. Scientific and Research Publications*, **2**, 1–7 (2012)
49. Schaär-Zamaretti P., Ubbink J.: The cell wall of lactic acid bacteria: surface constituents and macromolecular conformations. *Biophys. J.* **85**, 4076–4092 (2003)
50. Schachtsiek M., Hammes W.P., Hertel Ch.: Characterization of *Lactobacillus coryniformis* DSM 20001T Surface Protein Cpf Mediating Coaggregation with and Aggregation among Pathogens. *App. Environ. Microbiol.* **12**, 7078–7085 (2004)
51. Sengupta R., Altermann E., Anderson R.C., McNabb W.C., Moughan P.J., Roy N.C.: The role of cell surface architecture of *Lactobacilli* in host-microbe interactions in the gastrointestinal tract. *Mediat. Inflamm.* DOI: 10.1155/2013/237921 (2013)
52. Siegel S.D., Liu J., Ton-That H.: Biogenesis of the Gram-positive bacterial cell envelope, *Curr. Opin. Microbiol.* **34**, 31–37 (2016)
53. Sullan R.M.A., Beaussart A., Tripathi P., Derclaye S., El-Kirat-Chatel S., Li J.K., Schneider Y., Vanderleyden J., Lebeer S., Dufrene Y.F.: Single-cell force spectroscopy of pili-mediated adhesion, *Nanoscale*, **6**, 1134–1143 (2014)
54. Sun Z., Kong J., Hu S., Kong W., Lu W., Liu W.: Characterization of a S-layer protein from *Lactobacillus crispatus* K313 and the domains responsible for binding to cell wall and adherence to collagen. *App. Microbiol. Biotechn.* **97**, 1941–1952 (2013)
55. Tallant T., Deb A., Kar N., Lupica J., De Veer M.J., Di Donato J.A.: Flagellin acting via TLR5 is the major activator of key signaling pathways leading to NF- κ B and proinflammatory gene program activation in intestinal epithelial cells. *BMC Microbiol.* **4**, 33, (2004)
56. Thi T.T., Prigent-Combaret C., Dorel C., Lejeune P.: First stages of biofilm formation: Characterization and quantification of bacterial functions involved in colonization process. *Methods Enzymol.* **336**, 152–159 (2001)
57. Tuo Y., Yu H., Ai L., Wu Z., Guo B., Chen W.: Aggregation and adhesion properties of 22 *Lactobacillus* strains. *J. Dairy Sci.* **96**, 4252–4257 (2013)
58. Tuomola E.M., Salminen S.J.: Adhesion of some probiotic and dairy *Lactobacillus* strains to Caco-2 cell cultures. *Int. J. Food Microbiol.* **41**, 45–51 (1998)
59. Van Pijkeren J.P., O'Toole P.W. i wsp.: Comparative and functional analysis of sortase-dependent proteins in the predicted secretome of *Lactobacillus salivarius* UCC118. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**, 4143–4153 (1998)
60. Van Tassel M.L., Miller M.J.: *Lactobacillus* adhesion to mucus. *Nutrients*, **3**, 613–636 (2011)
61. Vélez M.P., De Keersmaecker S.C.J., Vanderleyden J.: Adherence factors of *Lactobacillus* in the human gastrointestinal tract. *FEMS Microbiol. Lett.* **276**, 140–148 (2007)
62. Von Ossowski I., Satokari R., Reunanen J., Lebeer S., De Keersmaecker S.C.J., Vanderleyden J., de Vos W.M., Palva A.: Functional characterization of a mucus-specific LPXTG surface adhesin from probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Appl. Environ. Microbiol.* **77**, 4465–4472 (2011)