

MECANISMOS DE ADHESIÓN AL TRACTO INTESTINAL Y ANTAGONISMO DE *Bifidobacterium*

Caludia Iñiguez-Palomares y Evelia Acedo-Félix
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (Hermosillo, Son., México)
E-mail: evelia@cascabel.ciad.mx



Introducción

Probiótico palabra de origen griego que significa "a favor de la vida" es el término utilizado para las bacterias amistosas que viven en el tracto gastrointestinal. Afectan benéficamente al huésped modulando la inmunidad sistémica y de la mucosa. También proporcionan un balance nutricional y microbiano (1). Actualmente los microorganismos más utilizados como probióticos, tanto en humanos como en animales son: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* y levaduras como *Saccharomyces* y *Torulopsis* y hongos del género *Aspergillus*(2).

Los beneficios que ofrecen los probióticos, se pueden categorizar en nutricionales o beneficios terapéuticos. Dentro de lo nutricional se encuentra su papel para aumentar la biodisponibilidad de calcio, zinc, hierro, manganeso, cobre y fósforo (3). A nivel terapéutico, se pueden utilizar para tratamientos de desórdenes intestinales, hipercolesterolemia, supresión de enzimas pro-carcinogénicas e inmunomodulación, entre otros.

La capacidad de las bacterias probióticas para sobrevivir a través del tracto gastrointestinal a pesar de la acidez gástrica y la toxicidad de la bilis es fundamental para poder ofrecer cualquiera de los beneficios anteriormente mencionados. Después de sobreponerse estas dos condiciones adversas, son capaces de minimizar la proliferación de agentes patógenos compitiendo por un nicho o espacio físico en las paredes intestinales (4).

Características del género *Bifidobacterium*

Las especies del género *Bifidobacterium* forman parte de la microflora normal del tracto intestinal de mamíferos. Se encuentran en altas concentraciones en heces de niños recién nacidos y disminuyen con la edad. Tienen un papel importante en la resistencia a infecciones de tipo gastrointestinal. La presencia de las distintas especies varía con la especie de animal, con el individuo, la edad y alimentación (5).

Las bifidobacterias son bacilos gram positivos, que se pueden presentar solos o en cadenas de muchos elementos, en agregados formando una estrella, o en forma de "V". No forman esporas y no son móviles (6). Son estrictamente anaerobios, sin embargo, la sensibilidad al oxígeno varía notablemente entre cepas y especies (7). Esta variación puede deberse a que en condiciones aerobias, tienden a acumular peróxido de hidrógeno, el cual es reducido por un sistema NADH peroxidasa, que varía dependiendo de la cepa (8). El pH óptimo de crecimiento se encuentra entre 6-7, sin crecimiento por debajo de 4.5-5.0, o bien por encima de 8.0-8.5. La temperatura óptima oscila de 37-41°C, con un desarrollo mínimo a 25-28° C y 43-45° C (9,10).

Por la morfología que presentan las bifidobacterias, pueden ser confundidas con *Actinomyces* sp, *Corynebacterium* sp., *Lactobacillus* sp., *Clostridium* sp., *Arthrobacter* sp. y *Propionibacterium* sp (11,12). La prueba no molecular, mas directa y fiable de las características asignadas al género *Bifidobacterium*, está basada en la demostración de la presencia de la enzima fructosa 6-fosfato-fosfocetolasa (F6PPK) en los extractos celulares, la cual está ausente en los otros géneros, a excepción del aerobio obligado *Acetobacter xylinum* y de *Leuconostoc mesenteroides* que también poseen esta enzima (13,14). Esta prueba no distingue entre especies, pero las bifidobacterias metabolizan la glucosa exclusivamente por el camino de la Fructosa 6-fosfato-fosfocetolasa (ruta bífida), donde la convierten a fructosa 6-fosfato, la cual es hidrolizada por la fosfocetolasa a eritrosa-4-fosfato, acetil fosfato y agua. Las moléculas de acetil fosfato pueden ser medidas con procedimientos colorimétricos por observación visual de un color rojizo-violeta (15,16).

Actualmente, con técnicas de electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) de extractos de proteínas totales y la aplicación de técnicas moleculares, se han identificado en total 34 especies y 2 subespecies de las cuales 13 provienen de fuentes humanas, 14 de animales, 3 de abejas, 3 de aguas contaminadas y una de leches fermentadas (17-24).

El género *Bifidobacterium* ha llamado la atención porque sintetizan y excretan vitaminas solubles en agua con considerables diferencias entre las especies (25). Diferentes estudios destacan el efecto antagónico que poseen algunas especies de bifidobacterias contra patógenos intestinales como *Clostridium difficile*, *Campylobacter*, algunos virotipos de *E. coli* como ETEC y EPEC, *Salmonella choleraesuis*, rotavirus, etc. (26-31). Las características que debe poseer un microorganismo para que se pueda clasificar como probiótico se enlistan en la Tabla 1.

Tabla 1. Criterios de selección para microorganismos probióticos.

<p>1.- Criterio de Origen</p> <p>Cepas aisladas de humanos se utilizan en humanos y las aisladas de animales se utilizan en la especie de la que se aislaron</p>
<p>2.- Resistencia al Tránsito Intestinal</p> <p>Deben sobrevivir a las condiciones del tracto digestivo</p>
<p>3.- GRAS</p> <p>Deben ser generalmente reconocidas como seguras</p>
<p>4.- Adhesión a la Mucosa Intestinal</p> <p>Pre-requisito para colonizar el tracto Intestinal y ejercer los efectos benéficos</p>
<p>5.- Identificación Bioquímica</p> <p>Deben estar plenamente identificados fenotípicamente hasta especie</p>
<p>6.- Estimulación del Sistema Inmunológico</p> <p>Deben ser capaces de estimular el sistema inmune</p>
<p>7.- No ser Oportunista</p> <p>Aún en estado de inmunosupresión del huésped, no deben causar enfermedad</p>
<p>8.- Antagonismo contra Patógenos</p> <p>Debe poseer efectos probados contra patógenos del tracto intestinal</p>
<p>9.- Soportar Aplicación Tecnológica</p> <p>Permanecer viable en los procesos de elaboración de alimentos y durante el almacenamiento</p>

Ouwehand y col., 1999.

Las bifidobacterias con valor probiótico son usadas como ingrediente activo de alimentos funcionales, entre los que se encuentra el yogurt, suplementos dietarios y productos relacionados con la salud (32). Estos microorganismos no colonizan permanentemente al huésped, por lo que se necesita que su ingesta sea periódica para que persistan las propiedades promotoras de la salud (33).

Adhesión y efecto antagónico

La adhesión de una cepa a la mucosa intestinal es uno de los principales criterios de selección para microorganismos probióticos, puesto que es un pre-requisito para la colonización. Lo anterior constituye el primer mecanismo de defensa contra la invasión de patógenos (34). El paso a través del intestino delgado es muy rápido (2.5 horas) y disminuye conforme va llegando al ano. Por lo tanto, para que la bacteria se pueda multiplicar es necesario que esta se adhiera a la mucosa y/o epitelio del intestino. Como el epitelio está constantemente regenerándose (cada 3-4 días), las bacterias pueden colonizarlo solo si la tasa de generación es mayor que la tasa de recambio celular (35,36). Sin embargo, hay estudios en los que se ha comprobado que las bifidobacterias se ven afectadas en la pared celular de manera no reversible al ser expuestas a sales biliares, impidiendo su adhesión a la mucosa y/o células epiteliales (37). Otras investigaciones indican lo contrario, donde las bifidobacterias se ven dañadas en la pared celular pero de manera reversible (38).

Recientemente se encontró que la superficie celular de *Bifidobacterium* se ve afectada por la presencia de sales biliares. Cepas que inicialmente resistían poco o nada 0.3% p/v de bilis, se fueron adaptando a la presencia de estas sales con incrementos graduales en el medio de cultivo. Posteriormente se observó que las cepas con resistencia adquirida a sales biliares tuvieron mayor adhesión a la mucosa intestinal humana (1 a 4 veces más) que las originales. Sin embargo, al realizar el ensayo de adhesión en presencia de bilis, ésta disminuyó entre 7 y 74% dependiendo de la cepa. Se concluyó que la presencia de sales biliares para *Bifidobacterium* promueve cambios en la superficie bacteriana, sobre todo en moléculas de tipo hidrofóbico y por lo tanto en la adhesión a la mucosa intestinal humana; pero con la adaptación de la cepas a la presencia de estas sales la adhesión aumenta (39).

Mecanismos Propuestos

Los mecanismos por los cuales las bifidobacterias ejercen un efecto antagónico son hasta ahora desconocidos, pero se le ha asociado con factores como producción de ácidos orgánicos. Se ha observado que el género *Bifidobacterium* inhibe mayormente el crecimiento de patógenos como *E. coli* y *S. choleraesuis* que *Lactobacillus*, debido a que producen ácido láctico y ácido acético, los cuales dan una acción sinérgica (40). Otros factores que ofrecen un efecto antagónico son la producción de bacteriocinas, ácidos grasos, ácidos biliares deconjugados, competencia por nutrientes y por los sitios de adhesión al epitelio y/o mucosa intestinal. Esta última es la que se sugiere como el mecanismo antagónico más probable debido a que la respuesta se define dentro de las 2 horas de la infección, tiempo de respuesta fuera de la posibilidad de la respuesta inmune (41,42).

El primer contacto de un microbio con el huésped en el intestino, es la capa mucosa, que tiene un grosor variable entre 50 y 450 μm y cubre al epitelio. Tiene diferentes funciones, entre las que se encuentran inhibir la adhesión de ciertas bacterias, al mismo tiempo que provee un hábitat para otras. El principal componente del mucus es agua, mientras que su componente orgánico más importante es la mucina. Esta última es responsable de la característica viscosidad del mucus. Las mucinas (MUC) son glicoproteínas de alta masa molecular (0.25-2 megadaltones) constituidas de esqueletos polipeptídicos cuya parte central está altamente glicosilada con O-glicanos principalmente, en grupos de secuencias repetitivas, mientras que los extremos amino y carboxilo presentan una menor glicosilación. Los tipos de mucinas que se encuentran mayormente en el intestino delgado y grueso son MUC2 y MUC3 producidas por las células globosas (43).

Los carbohidratos presentes en las mucinas pueden funcionar como receptores tanto para bacterias patógenas como probióticas, ocurriendo así una competencia por los sitios de adhesión. Esos receptores pueden ser D-galactosa, N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina o ácido N-acetilneuramínico asociado a las glicoproteínas intestinales. La mayoría de los estudios de adhesión de microorganismos probióticos se han realizado para el género *Lactobacillus*, en el epitelio intestinal (44). En esta misma área, la investigación para el género *Bifidobacterium* es incipiente. Un estudio muestra, mediante ensayos de hemaglutinación e inhibición de la hemaglutinación por la presencia de carbohidratos, que *Bifidobacterium pseudolongum*, *E. coli* K88 y *Salmonella choleraesuis* reconocen galactosa que a su vez está unida a estructuras oligosacáridas complejas (45). En otro estudio se observó que una cepa de *Bifidobacterium lactis* fue capaz de inhibir la adhesión de *Clostridium perfringens* en mucinas de ancianos, cuando el probiótico se encontraba en ventaja. Además, *B. lactis* fue capaz de desplazar al patógeno ya establecido, lo cual puede ser indicio de la presencia de un mismo receptor para ambas bacterias (46).

Por otro lado, algunos estudios *in vitro* e *in vivo* demuestran que algunas especies probióticas, entre ellas una cepa de *B. bifidum*, producen glicosidasas que degradan los carbohidratos asociados a las mucinas intestinales. Estas modificaciones inducidas por los probióticos, podrían ser benéficas al inhibir la adhesión de microorganismos patógenos, gracias a la destrucción de los receptores. También podrían ser perjudiciales, al

exponer los receptores en la mucosa que permitan que los patógenos se adhieran. Es necesario investigar más sobre los efectos que trae consigo la modificación de la glicosilación intestinal (47-50).

Otro probable mecanismo de adhesión que tiene efecto antagónico en microorganismos patógenos es el impedimento estérico. En éste, el probiótico se une a un receptor que no es el mismo que reconoce el patógeno. Sin embargo, de alguna forma ese reconocimiento del probiótico con su receptor bloquea el sitio de unión del patógeno. Esto se demostró con una cepa de *Enterococcus faecium* (18C23), la cual inhibió la adhesión de *E. coli* K88 a la mucosa del intestino delgado de cerdos, pero cuando ambas bacterias recibieron un tratamiento con pronasa, la adhesión de *E. coli* K88 disminuyó, no así la del probiótico (51). Algo similar se observó con una cepa de *Lactobacillus fermentum* contra el mismo patógeno (52). En el género *Bifidobacterium* hay estudios que sugieren la presencia de una proteína extracelular, proveniente de una cepa de *B. longum* SBT2928 capaz de reconocer una molécula de gangliotetraosilceramida localizada a nivel de epitelio (53,54).

Propiedades de Superficie

El efecto benéfico de los probióticos está relacionado con su habilidad para interactuar y adherirse a la pared intestinal. La adhesión de las bifidobacterias al intestino ocurre por la asociación de las bacterias con la mucosa o por adherencia al epitelio y se debe a la interacción de fuerzas atractivas y repulsivas entre las superficies participantes. La composición de la pared celular bacteriana, así como la naturaleza de la superficie a la cual se adhiere, afectan este fenómeno. El origen molecular de cada una de las interacciones que tienen lugar no está bien definido (55,56,57).

Para tratar de entender las interacciones célula-célula y célula-superficie a nivel molecular, se utilizan una serie de procedimientos que involucran la aglutinación de eritrocitos y adhesión a diferentes sustratos sintéticos. Por otro lado, las características físicas y químicas de la superficie celular se determinan principalmente por ensayos de hidrofobicidad y movilidad eléctrica, que definen las fuerzas de atracción y repulsión, que tienen lugar durante la autoagregación y adhesión de la bacteria a diferentes superficies (58,59).

La adhesión bacteriana ya se ha descrito para otros géneros bacterianos, principalmente patógenos, como *E. coli* y *Vibrio cholerae*. Para el género *Bifidobacterium* se han caracterizado propiedades de superficie de cepas obtenidas de humanos, entre las que se encontraron *B. bifidum*, *B. breve* y *B. adolescentis*. Los ensayos realizados fueron de hidrofobicidad, potencial ζ , movilidad electroforética, autoagregación, hemaglutinación y tratamiento de las bacterias con enzimas proteolíticas (60,61).

Los resultados obtenidos de todos los ensayos mostraron que existe una correlación entre la hidrofobicidad-potencial ζ y una hemaglutinación positiva con eritrocitos de los grupos AB, O⁺, A⁺ y B⁺. Las cepas no hidrofóbicas fueron negativas para hemaglutinación. También se encontró que la autoagregación y la adhesión a células Caco-2 fueron abolidas por el tratamiento con proteasas. Un grupo de investigadores estudió la adhesión de *B. suis* y *B. longum* a la mucosa de cerdo y las líneas celulares Caco-2, KATO III y HT29, así como la autoagregación (62,63). Los resultados obtenidos fueron similares a los encontrados anteriormente (64,65). Se encontró una relación positiva entre la autoagregación y la adhesión de las bacterias a las líneas celulares y mucosa.

Con los estudios anteriores se ha demostrado la interacción entre las bifidobacterias y el tracto intestinal, pero poco se conoce acerca de las moléculas que intervienen. Hay evidencia que indica que los ácidos lipoteicoicos proveen de hidrofobicidad de la pared celular bacteriana, la cual está directamente relacionada con cepas adherentes (66). También se ha visto que componentes proteínicos superficiales se encuentran involucrados en este fenómeno. El tratamiento con proteasas disminuye la adhesión de algunas bifidobacterias a la mucosa intestinal de humanos y animales. La composición de la superficie a la cual se unen también define el grado de adhesión de los microorganismos, ya que varía de acuerdo a la madurez del mamífero y a la porción del tracto intestinal involucrado (67-70).

Presencia de Proteínas de Superficie y/o Adhesinas

Mediante diferentes mecanismos las bacterias se mantienen en el tracto intestinal en contra del flujo del peristaltismo. Algunos patógenos tienen mecanismos de adhesión específicos, altamente desarrollados. Por ejemplo, diferentes virotipos de *E. coli* poseen fimbrias (adhesinas), las cuales son estructuras proteicas que

reconocen receptores (carbohidratos) a nivel de epitelio y/o mucosa. Mediante ese reconocimiento ocurre la adhesión con una posterior colonización causante de infecciones gastrointestinales (71).

Algunas bacterias gram positivas, entre las que se encuentran las de valor probiótico, poseen proteínas de superficie (S-layer), las cuales se cree tienen una fuerte relación con las propiedades de adhesión, al reconocer receptores en el intestino. Aunque esto es una hipótesis aún, diferentes estudios realizados con *Lactobacillus* muestran que especies de este género, como *L. acidophilus* y *L. crispatus* que tienen la capa proteica rodeando a la pared celular son adherentes (72,73).

En el género *Bifidobacterium*, hasta el momento, no se ha descrito que alguna especie posea proteínas de superficie (S-layer), pero si se presume la presencia de ciertos componentes de tipo proteico (adhesinas), embebidos en la pared celular, con actividad de lectina, es decir, que son capaces de reconocer carbohidratos de la mucosa y/o epitelio intestinal. Se observó que *B. bifidum* DSM 20082 es capaz de adherirse a la mucosa gástrica > mucosa colónica > mucosa intestino delgado de ratas y que la adhesión se vio drásticamente disminuida cuando se le dio un tratamiento con pronasa a la bacteria. También se encontró que al calentar a la bacteria a 100° C a diferentes tiempos, la adhesión fue disminuyendo hasta ser casi nula a los 30 minutos (74). En otros estudios se ha visto que la adhesión de algunas especies de *Bifidobacterium* tanto de origen humano como animal, disminuyen su capacidad de adhesión cuando son tratadas con proteasas, pero el tratamiento con lipasas no tiene efecto. Lo anterior indica la presencia de estructuras de tipo proteico involucradas en el proceso de adhesión (75,76,77).

En un estudio realizado con la cepa *Lactobacillus fermentum* 104R, se logró purificar y caracterizar una proteína de superficie de 29 kilodaltones, que no forma parte de las proteínas S-layer. Esta proteína se une a la mucosa del intestino delgado de cerdos de 35 días (78). En bifidobacterias se presume la presencia de adhesinas. Recientemente se encontró que una cepa de *Bifidobacterium adolescentis* 1027, aislada de heces de niños saludables, produce una adhesina que es capaz de disminuir la adhesión de *E.coli* enteropatógena y enterotoxigénica, además de *Clostridium difficile* en la línea celular Lovo. En el estudio se indica que la proteína (adhesina) es capaz de bloquear al sitio de unión de los patógenos en las células epiteliales, pero no se sabe si es el mismo mecanismo para *B. adolescentis* 1027 (79). Con esto se demuestra que las adhesinas de *Bifidobacterium* forman parte de la actividad probiótica que se les atribuye.

Conclusiones

Los probióticos son utilizados para reforzar la capacidad de defensa natural de la microflora comensal del intestino. Los mecanismos de acción propuestos son variados e involucran los de adhesión donde tienen lugar interacciones de tipo específico y no específico que posiblemente se ven afectados por la presencia de sales biliares. Al parecer los receptores intestinales (carbohidratos) juegan un papel muy importante, como ya se ha observado en algunos estudios. Sin embargo, esa es un área poco explorada.

Es importante continuar con las investigaciones y comprobar si en la mayoría de las bacterias que ofrecen beneficios a la salud humana y/o animal, están presentes las mismas interacciones al llegar al tracto intestinal o si esto es una característica intrínseca de cada cepa probiótica.

Resumen

El género *Bifidobacterium* está integrado por bacilos Gram positivos que forman parte de la microflora normal del tracto intestinal de mamíferos. Como probiótico, uno de los beneficios que ofrecen estas bacterias, es inhibir la adhesión de patógenos en el intestino, tanto en humanos como en animales. Sin embargo, el mecanismo no está bien establecido. Las bacterias patógenas poseen proteínas de superficie tipo lectina, llamadas adhesinas, con las que reconocen carbohidratos (receptores) en la mucosa y/o epitelio. Dentro de ese reconocimiento también están involucradas interacciones de tipo hidrofílico e hidrofóbico. Mediante este mecanismo se adhieren y colonizan el tracto intestinal. En los microorganismos probióticos, la presencia de adhesinas, su papel en la colonización y desplazamiento de bacterias patógenas en el intestino empieza a investigarse.

Palabras clave: Bifidobacterium, probiotico, tracto intestinal

Abstract

The *Bifidobacterium* genus is integrated by Gram positive rods that are part of normal microbiota of mammals intestinal tract. One of the most important benefits that a probiotic offer is to inhibit pathogens adhesion to intestine, in both human as well as in animals, but mechanism has not been yet established. The pathogenic bacteria possess proteins lectin-like, called adhesins, that recognize carbohydrates (receivers) in the mucous and/or epithelium. Inside this recognition also hydrophilic and hydrofobic interactions are involved. By means of this mechanism they can adhere and colonize the intestinal tract. In probiotic microorganisms, the adhesins presence, its paper in the colonization and displacement of pathogen bacteria in intestine, begins to be investigated.

Palabras clave: Bifidobacterium, probiotic, intestinal tract

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por proporcionar la beca de la MC Claudia Iñiguez Palomares, para la realización de sus estudios de Doctorado en Ciencias.

Referencias

1. Naidu, A.S., W.R. Bidlack and R.A. Clemens 1999. Probiotics spectra of lactic acid bacteria (LAB). Crit. Rev. in Food Sci. and Nutr. 38:13-126.
2. Dunne, C., L. O'Mahony, L. Murphy, G. Thornton, D. Morrisen, S. O'Halloran, M. Feeney, S. Flynn, G. Fitzgerald, C. Daly, B. Kiely, G. O'Sullivan, F. Shanahan and J.K. Collins 2001. In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. Am. J. of Clin. Nutr. 73(Supl.): 386S-392S.
3. Prasad, J., H. Gill, J. Smart and P.K. Gopal, 1998. Selection and characterization of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains for use as probiotics. Int. Dairy J. 8:993-1002.
4. *Idem.*
5. Gómez-Zavaglia, A., G. Kociubinski, P. Pérez and G. De Antoni 1998. Isolation and characterization of *Bifidobacterium* strains for probiotic formulation. J. Food Prot. 61:865-873.
6. Miller-Catchpole, R. 1989. Morphology of bifidobacteria En: Biochemistry and Physiology of Bifidobacteria. Bezkorovainy A y Miller-Catchpole R (editores). CRC Press . Boca Ratón, Florida. 73-89 pp
7. Scardovi, V. 1986. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 2. Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME y Holt JG (eds) Williams and Wilkins. Baltimore, Londres, Los Angeles, Sydney. 1418-1434 pp.
8. Ballongue, J. 1998. Bifidobacteria and probiotic action, En: Lactic Acid Bacteria. Microbiology and Functional Aspects. Segunda edición. Salminen S y von Wright A. Marcel Dekker, Inc. Nueva York. pp 519-587.
9. Gomes, A.. F. Malcata, 1999. *Bifidobacterium* spp and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical proprieties relevant for use as probiotics. Trends Food Sci. and Technol. 10:139-157.
10. Scardovi, V., *Op. cit.*
11. Miller-Catchpole, R., *Op. cit.*
12. Scardovi, V., *Op. cit.*
13. Poupard, J.A., I. Husain, and R.F. Norris. 1973. Biology of the bifidobacterias. Bacteriol. Rev. 37: 136-165.
14. Scardovi, V., *Op. cit.*

15. Orban, J.I. and J.A. Patterson 2000. Modification of the phosphoketolase assay for rapid identification of Bifidobacteria. J. Microbiol. Methods. 40:221-224.
16. Scardovi, V., *Op. cit.*
17. Biavatti, B. and P. Mattarelli 1991. *B. ruminantium* sp. nov. and *B. merycicum* sp. nov. from cattle. Int. J. of Syst. Bacteriol. 41:163-168.
18. Crociani, F., B. Biavatti, A. Alessandrim, C. Chiarini, and V. Scardovi 1996. *B. inopinatum* sp.nov. and *B. denticolens* sp.nov. Two new species isolated from human dental caries. Int. J. of Syst. Bacteriol. 46:564-571.
19. Dong, X., Y. Xin, W. Jian, X. Liu, and D. Ling 2000. *B. thermoacidophilum* sp. nov. isolated from an anaerobic digester. Int. J. Syst. And Evol. Microbiol. 50:119-125.
20. Hoyles, L., E. Inganäs, E. Falsen, N. Drancourt, M. Weiss, L. McCartney and M.D. Collins, 2002. *Bifidobacteriumscardovii* sp. nov., from human sources. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 52: 995-999.
21. Lauer, E. 1990. *Bifidobacterium gallicum* sp. nov. isolated from human feces. Int. J. Syst. Bacteriol. 40:100-102.
22. Meile, L., W. Ludwing, U. Rueger, C. Gut, P. Kaufmann, G. Dasen, S. Wenger, and M. Teuber. 1997. *Bifidobacterium lactis* sp.nov. a moderately oxygen tolerant species isolated from fermented milk. Syst. Appl. Microbiol. 20:57-64.
23. Scardovi, V., *Op. cit.*
24. Watabe, J., Y. Benno, and T. Mitsuoka, 1983 *Bifidobacterium gallinarum* sp. nov: a new specie isolated from the ceca of chickens. Int. J. Syst. Bacteriol. 33:127-132.
25. Macfarlane, G.T. and J.H. Cummings 1999. Probiotics and prebiotics: can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health? British Med. J. 318: 999-1003.
26. Corona, V. 2003. Evaluación probiótica de especies de *Bifidobacterium* en cerdos lactantes. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Hermosillo, Sonora, México.
27. Fujiwara, S., H. Hashiba, T. Hirota, and J.F. Forstner, 1997. Proteinaceous factor(s) in culture supernatant fluids of Bifidobacteria which prevents the binding of enterotoxigenic *Escherichia coli* to ganglioside GM1. Appl. and Environm. Microbiol. 63:506-512.
28. Kyriakis, S.C., V.K. Tsiloyiannis, J. Vlemmas, K. Sarris, A.C. Tsinas, C. Alexopoulos, and L. Jansegers 1999. The Effect of probiotic LSP 122 on the control of post-weaning diarrhoea syndrome of piglets. Res. Vet. Sci. 67:223-228.
29. Marteau, P.R., M. De Vrese, C.J. Cellier, and J. Schrezenmeir, 2001. Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. Am. J. Clin. Nutr. 73(Suppl):430S-436S.
30. Shu, Q., F. Qu, and H. Gill 2001. Probiotic treatment using *Bifidobacterium lactis* HN019 reduces weaning diarrhea associated with rotavirus and *Escherichia coli* infection in a piglet model. J. Ped. Gast. Nutr. 33:171-177.
31. Yusof, R.M., F. Haque, M. Ismail, and Z. Asan 2000. Isolation of *Bifidobacterium infantis* and its Antagonic Activity Against ETEC 0157 and *S. typhimurium* S-285 in Weaning Foods. Asia Pacific J. Clin. Nutr. 9:130-135.
32. Prasad, J., *et. al, Op..cit.*
33. Macfarlane, G.T. and J.H. Cummings, *Op. cit.*

34. Ouwehand, A.C. and P.L. Conway 1996. Purification and characterization of a component produced by *Lactobacillus fermentum* that inhibits the adhesion of K88 expressing *Escherichia coli* to porcine ileal mucus. J. Appl. Bacteriol. 80:311-318.
35. Bibiloni, R., P.F. Pérez, G.R. Garrote, E.A. Disalvo, and G.L. De Antoni 2001. Surface characterization and adhesive properties of Bifidobacteria. Methods Enzymol. 336:411-427.
36. Jonson, E. and P. Conway 1992. Probiotics for pigs. Probióticos. The Scientific Basis. R. Fuller ed. Chapman and Hall editorial. Gran Bretaña. 84-93 pp.
37. Gómez-Zavaglia, A., G. Kociubinski, P. Pérez, E. Disalvo and G. De Antoni 2002. Effect of bile on the lipid composition and surface properties of bifidobacteria. J. Applied Microbiol. 93:794-799.
38. Ibrahim, S. and A. Bezkorovainy 1993. Survival of bifidobacteria in the presence of bile salt. J. of Sci. 62:351-354.
39. Gueimonde, M., L. Noriega, A. Margolles, C. De Los Reyes-Gavilan, and S. Salminen 2005. Ability of *Bifidobacterium* Strains with Acquired Resistance to Bile to Adhere to Human Intestinal Mucus. Int. J. Food Microbiol. 101:341-346.
40. Percival, M. 1997. Choosing a probiotic supplement. Clin. Nutr. Insig. 6:1-4.
41. Doyle, M.E. 2001. Alternatives to antibiotic use for growth promotion in animal husbandry. Food Research Institute. Abril.
42. Fuller, R. 1999. Probiotics for far animals En: Probiotics. A critical review. Horizon Scientific Press. Wymondham, Gran Bretaña. pp 15-43.
43. Ouwehand, A.C. and P.L. Conway, *Op.cit.*
44. Maxwell, F.J. and C.S. Stewart 1995. Microbiology Gut En: The Neonatal Pig Development and Survival. M.A. Varley (Editor). CAB INTERNATIONAL (Editorial) Gran Bretaña. 162-174 pp
45. Meng, Q., M.S. Kerley, T.J. Russel, and G.L. Alle, 1998. Lectine-like activity of *Escherichia coli* K88, *Salmonella choleraesuis* and *Bifidobacteria pseudolongum* of porcine gastrointestinal origin. J. Anim. Scie. 76:551-556.
46. Matsumoto, M., H. Tani, H. Ono, H. Ohishi, and Y. Benno 2002. Adhesive property *Bifidobacterium lactis* LKM512 and predominant bacteria of intestinal microflora to human intestinal mucin. Curr. Microbiol. 44:212-215.
47. Dai, D., N.N. Nanthkumar, D.S. Newburg, and W.A. Walter 2000. Role of oligosaccharides and glycoconjugates in intestinal host defense. J. Ped. Gastroent. Nutr. 30 (Suppl) 2: 23S-33S.
48. Mack, D.R., S. Michail, S. Wei, L. Mcdougall and M.A. Hollingsworth 1999. Probiotics inhibit enteropathogenic *E. coli* adherence *in vitro* by inducing intestinal mucin gene expression. Am. J. of Physiol. 276:941-950.
49. Mouricout, M., 1997. Interactions between the enteric pathogen and the host. an assortment of bacterial lectins and a set of glycoconjugate receptor. Adv. Exp. Med. Biol. 412:109-123.
50. Ruseler-Van Embden, J.G., L.M. Van Lieshout, M.J. Gosselink, and P. Marteau 1995. Inability of *Lactobacillus casei* strain GG, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* to degrade intestinal mucus glycoproteins. J. Gastroent. 30:675-680.

51. Jin, L.Z., R.R. Marquardt and X. Zhao 2000. A Strain of *Enterococcus faecium* (18C23) inhibits adhesion of enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 to porcine small intestine mucus. Appl. Environm. Microbiol. 66:4200-4204.
52. Ouwehand, A.C. and P.L. Conway, *Op.cit.*
53. Fujiwara, S., *et. al., Op.cit.*
54. Fujiwara, S., H. Hashiba, T. Hirota, and J. Forstner 1999. Purification and characterization of a novel protein produced by *Bifidobacterium longum* SBT2928 that inhibits the binding of enterotoxigenic *Escherichia coli* Pb176 (CFA/II) to gangliosylceramide. J. Appl. Microbiol. 86:615-621.
55. Fontaine, J.F., E.A. Aissi, and S.J. Bouquelet 1994. In vitro binding of *Bifidobacterium bifidum* DSM 20082 to mucosal glycoproteins and hemagglutinating activity. Curr. Microbiol. 28:325-330.
56. Greene, J.D. and T.R. Klaenhammer 1994. Factors involved in adherence of Lactobacilli to Human Caco-2 Cells. Appl. Environm. Microbiol. 60:4487-4494.
57. Pérez, P.F. Y. Minnaard, E.A. Disalvo, and G.L. De Antoni 1998. Surface properties of Bifidobacterial strains of human origin. Appl Environm. Microbiol. 64:21-26.
58. Busscher, H.J., G.I. Geertsema and H.C. Van Der Mei 1993. Mechanisms of oral microbial adhesion. J. of Appl. Bacteriol. 74 (Suppl):136S-146S.
59. Crow, V.L., P.K. Gopal and A.J. Wiken 1995. Cell surface differences of Lactococcal strains. Int. Dairy J. 5:45-68.
60. Bibiloni, R., *et. al., Op.cit.*
61. Pérez, P.F. *et. al., Op.cit.*
62. Del Re, B., A. Busetto, G. Vignola, B. Sgorbati and D.L. Palenzona 1998. Autoaggregation and adhesion ability in a *Bifidobacterium suis* strain. Lett. Appl. Microbiol. 27:307-310.
63. Del Re, B., B. Sgorbati, M. Miglioli and D. Palenzona 2000 Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 Strains of *Bifidobacterium longum*. Lett. Appl. Microbiol. 31:438-442.
64. Bibiloni, R., *et. al., Op.cit.*
65. Pérez, P.F. *et. al., Op.cit.*
66. Ballongue, J., *Op.cit.*
67. Bibiloni, R., P.F. Pérez and G.L. de Antoni 1999. Factors involved in adhesion of Bifidobacterial strains to epithelial cells in culture. Anaerobe. 5:483-485.
68. Fontaine, J.F., *et. al. Op. cit.*
69. Meng, Q., *et. al. Op. cit.*
70. Ouwehand, A.C. and P.L. Conway, *Op.cit.*
71. Maxwell, F.J. and C.S. Stewart, *Op. cit.*
72. *Idem.*

73. Sara, M. and B.S. Uwe 2000. S-Layer Proteins. *J. Bacteriol.* 182: 859-868.
74. Fontaine, J.F., *et. al. Op. cit.*
75. Bibiloni, R., *et. al., Op.cit.*
76. Gao, W. and Q. Meng 2004. Lectin Activity and Chemical Characteristics of *Escherichia coli*, *Lactobacillus* spp. and *Bifidobacterium* spp. from Gastrointestinal Mucosa of Growing Pigs. *Austral. J. of Animal Sci.* 17:863-868.
77. Meng, Q., *et. al. Op. cit*
78. Rojas, M., F. Ascencio, and P. Conway 2002. Purification and characterization of a surface protein from *Lactobacillus fermentum* 104R that binds to porcine small intestinal mucus and gastric mucin. *Appl. Environm. Microbiol.* 68:2330-2336.
79. Zhong, S., Z. Zhang, J. Wang, Z. Lai, Q. Wang, L. Pan and Y. Ren, 2004. Competitive inhibition of adherence of enterotoxigenic *Escherichia coli*, enteropathogenic *Escherichia coli* and *Clostridium difficile* to intestinal epithelial cell line Lovo by purified adhesin of *Bifidobacterium adolescentis* 1027. *World J. Gastroent.* 10:1630-1633.