



Revista de Biologia e Ciências da Terra

ISSN: 1519-5228

revbiocieter@yahoo.com.br

Universidade Estadual da Paraíba

Brasil

Ferreira Barbosa, Flávio Henrique; da Silva, Andréia Marçal; dos Santos Martins, Flaviano; R. Nicoli, Jacques

Perfil de hidrofobicidade da superfície celular de *Bifidobacterium lactis* Bb12 e *Bifidobacterium longum* Bb46 em função do meio de cultura

Revista de Biologia e Ciências da Terra, vol. 5, núm. 2, segundo semestre, 2005, p. 0

Universidade Estadual da Paraíba

Paraíba, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=50050216>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal

Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

Perfil de hidrofobicidade da superfície celular de *Bifidobacterium lactis* Bb12 e *Bifidobacterium longum* Bb46 em função do meio de cultura

Flávio Henrique Ferreira Barbosa¹ ; Andréia Marçal da Silva²; Flaviano dos Santos Martins³ ;
Jacques R. Nicoli (ori.)⁴

RESUMO

O gênero *Bifidobacterium* é constituído por bactérias reconhecidas como adjuntos dietéticos com propriedades probióticas, tais como a prevenção ou tratamento de distúrbios intestinais infecciosos. Uma característica desejada para um probiótico é a capacidade de aderência à mucosa intestinal, permitindo a sua permanência e atuação no ecossistema digestivo. Essa característica depende em parte das propriedades físico-químicas da parede celular bacteriana. Neste estudo, testou-se o perfil de hidrofobicidade da parede celular de duas espécies de *Bifidobacteria* cultivadas em diferentes meios de cultura: *Bifidobacterium lactis* Bb12 e *Bifidobacterium longum* Bb46. (Christian Hansen Lab., Horsholm, Denmark). Foram utilizados três meios de cultura para cada microrganismo testado: MRS, BHI suplementado e LAPT. Os testes foram realizados com as culturas de *Bifidobacterium* passando-as em caldo (MRS, BHI + Glicose ou LAPT) por duas vezes e incubadas a 37 °C por 20 horas. Centrifugou-se os cultivos de microrganismos. Lavou-se as células duas vezes com solução tampão e posteriormente as mesmas foram re-suspensas em solução de KNO₃. Logo após, colocou-se as células em contato com os solventes pré-estabelecidos deixando repousar para que houvesse a separação de fases e posterior leitura de absorbância da fase aquosa. Constatou-se que *B. lactis* Bb12 possui a melhor probabilidade de adesão ao epitélio intestinal (mais hidrofóbico e ácido), quando cultivado em meio BHI suplementado.

Palavras-chave: *Bifidobacterium*; probiótico; adesão; hidrofobicidade.

ABSTRACT

Bifidobacterium is constituted by dietary recognized bacteria as associate with probiotic properties, such as the prevention or treatment of intestinal infections. A characteristic desired for a probiótico is the capacity of tack to the intestinal tract, allowing to its permanence and performance in the digestive ecosystem. This characteristic depends in part on the properties physicist-chemistries on the bacterial cellular wall. In this study, the profile of hydrophobicity of the cellular wall of two cultivated species of *Bifidobacteria* in different culture medium was tested: *Bifidobacterium lactis* Bb12 and *Bifidobacterium longum* Bb46. (Christian Hansen Lab., Horsholm, Denmark). Three culture medium for each tested microorganism had been used: Supplemented BHI, MRS and LAPT. The tests had been carried through with the cultures of *Bifidobacterium* passing them in broth (MRS, BHI + Glucose or LAPT) for two times and incubated at 37 °C for 20 hours. The microorganisms were centrifuged. The cells were washed two times with solution drain plug and later the same ones had been re-suspended in KNO₃ solution. After, the cells were put in contact with the solvents pay-established leaving to rest so that it had the separation of phases and posterior reading of absorbance of the watery phase. It was

evidenced that *B. lactis* Bb12 possesss the best probability of adhesion to the intestinal tract (more hydrophobic and acid), when cultivated in half supplemented BHI.

Keywords: *Bifidobacterium*; probiotic; adhesion; hydrophobicity.

1. INTRODUÇÃO

1.1 A microbiota intestinal

O termo microbiota intestinal refere-se ao ecossistema essencialmente bacteriano que reside normalmente nos intestinos do homem. No nascimento, essa microbiota é adquirida no canal do parto, e sua composição definitiva é obtida em torno dos dois anos de idade acompanhando o homem pelo resto de sua vida (Pelczar, 1996).

No adulto, o número de bactérias da microbiota intestinal é 10 vezes maior que o número de células que formam os nossos órgãos e tecidos, isto é, 10^{14} bactérias para 10^{13} células humanas (Tannock, 1995).

A microbiota intestinal desempenha inúmeras funções, muitas das quais somente agora começam a ser desvendadas. A sua própria composição ainda é bastante desconhecida, pois, calcula-se que pelo menos 40% das suas espécies ainda não foram cultivadas. A microbiota intestinal é também conhecida como flora indígena dos intestinos, microflora intestinal ou simplesmente flora normal dos intestinos. Em 1977, redefiniu-se a microbiota intestinal, dividindo-a em duas: autóctone e alóctone. A primeira corresponde a microbiota normal ou indígena e a segunda a microbiota transitória que passa pelos intestinos, mas não o coloniza como o faz a autóctone. Esses termos embora interessantes são pouco usados (Trabulsi & Sampaio, 2000).

As bactérias da microbiota intestinal são encontradas nos intestinos delgado e grosso, sendo o último o mais densamente colonizado. A concentração de bactérias no intestino delgado proximal é em torno de 10^4 unidades formadoras de colônias por mililitro (u.f.c./mL), sendo as espécies mais representativas as de estafilococos, estreptococos e lactobacilos. Raramente são encontradas bactérias anaeróbias. Já no íleo distal, o número de bactérias é bem maior (10^8 u.f.c./mL) e a microbiota torna-se bastante diversificada, uma vez que passa a abranger coliformes e várias espécies de bactérias anaeróbias como *Bacteroides*, *Fusobacterium* e *Clostridium*. O baixo potencial de oxirredução no íleo explica a presença da microbiota anaeróbia nessa região. Depois da válvula ileocecal, a concentração bacteriana aumenta bruscamente, atingindo 10^{10} - 10^{11} u.f.c./mL do conteúdo intestinal. No intestino grosso as bactérias anaeróbias superam as demais (facultativas e aeróbias) por um fator de 10^1 - 10^3 . Predominam os *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Fusobacterium*. Os *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Clostridium* e *Enterobacter* são também bastante freqüentes (Tannock, 1995).

Calcula-se que a microbiota intestinal compreenda em torno de 500 espécies pertencentes a 20 a 40 gêneros, mas desses somente em torno de 20 a 30 são representados de maneira significativa. Além da distribuição vertical/longitudinal descrita, a microbiota intestinal apresenta uma distribuição horizontal/transversal que pode ser importante para a compreensão de algumas de suas características. Pelo menos três "habitats" podem ser considerados: luz intestinal, camada de muco e superfície epitelial. Desse modo, alguns membros da microbiota intestinal vivem livremente na luz intestinal e outros estão associados à camada de muco ou ao epitélio. As bactérias anaeróbias, que

são as predominantes, formam camadas na mucosa intestinal. Embora a microbiota intestinal não inclua microrganismos de outras partes do tubo digestivo, seria interessante tecer alguns comentários sobre o estômago. Várias espécies de bactérias são encontradas nesse órgão, principalmente cocos gram-positivos, mais tolerantes à acidez gástrica. O número dessas bactérias é geralmente inferior a 10^3 u.f.c./mL. Como funções da microbiota intestinal pode-se citar: a resistência à colonização por outros microrganismos, a imuno-modulação e a contribuição nutricional resultante das interações locais e dos metabólitos produzidos. É importante destacar que a microbiota e suas funções podem ser perturbadas devido à antibióticoterapia, infecções e outros (Tannock, 1995).

1.2 Probióticos

A palavra probiótico foi utilizada pela 1ª vez por Lilley e Stillwell em 1965 ao se referir a uma substância secretada por um microrganismo que estimulava o crescimento de outro. Mais tarde, em 1989, Fuller modificou o conceito para suplemento alimentar microbiano vivo que afeta benéficamente o hospedeiro animal por melhorar seu balanço microbiano intestinal. O balanço microbiano é responsável pela resistência à colonização citado acima, e denominada: antagonismo bacteriano, interferência bacteriana, efeito barreira, ou exclusão competitiva. Em última análise, uma bactéria probiótica deve ser capaz de compensar ou reforçar a atividade da microbiota intestinal, para exercer os seus efeitos benéficos à saúde do hospedeiro. Os resultados obtidos em experimentos com probióticos podem ser afetados por vários fatores tais como: tipo de microrganismo probiótico; método de produção; método de administração; viabilidade da preparação; condição do hospedeiro e condição da microbiota intestinal (Fuller, 1995).

Deve-se ressaltar que todos os produtos contendo as bactérias probióticas devem ser avaliados para uso geral e, portanto seguros para todos os consumidores, saudáveis ou não (Sanders, 1995). Os microrganismos utilizados como probióticos são usualmente componentes não-patogênicos da microbiota normal, tais como as bactérias lácticas (*Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* e alguns *Streptococcus*), bactérias produtoras de ácido láctico (*Bifidobacterium*) e leveduras (*Saccharomyces boulardii*). Existem, atualmente no mercado uma série de produtos comerciais e preparações farmacêuticas contendo bactérias probióticas.

1.3 O gênero *Bifidobacterium*

Bifidobacterium constitui um grupo de bactérias reconhecidas como adjuntos dietéticos. Segundo o Manual Bergey (Holt, 1994) estas bactérias são anaeróbias estritas, imóveis, Gram-positivas, não esporuladas, em forma de bastonete curvo, caracterizado frequentemente por uma bifurcação em forma de Y. De acordo com Samona & Robinson (1991), a aparência das colônias de *B. lactis* varia em tamanho e forma segundo o meio.

Além disso, as bifidobactérias fermentam açúcares com produção principalmente de ácido acético e ácido láctico. O gás carbônico não é produzido. Crescem a uma temperatura ótima de 37 - 41°C e geralmente não crescem a 45°C. O pH inicial ótimo é de 6 a 7 e, abaixo de 4,5 ou acima de 8,5 não há crescimento (Sneath, 1986; Laroia & Martin, 1990).

As bifidobactérias são prevalentes no intestino humano e podem prevenir a colonização por bactérias patogênicas (Lim et al., 1993). Pesquisas têm demonstrado que a alimentação de crianças prematuras ou recém-nascidas com um leite fermentado

intestino e uma marcante diminuição de produtos tóxicos nas fezes (Misra & Kuila, 1991). No Japão, o uso de produtos de leite contendo grande número de *Bifidobacterium* tem obtido sucesso no tratamento de diarreia em crianças (Hoover, 1993).

Segundo a literatura consultada, o consumo de “Leite bifidus” contendo grande número deste microorganismo ($\geq 10^7$ UFC/g), fornece ácido láctico L (+), um fator antibiótico e os próprios *Bifidobacterium* vivos em adição a outros componentes nutricionais. A ação combinada destes fatores cria condições favoráveis para a proliferação de *Bifidobacterium* no intestino, inibindo o crescimento de microorganismos indesejáveis.

1.4 O mecanismo de adesão

A aderência das bactérias à mucosa intestinal, sejam patogênicas ou não, envolve a participação de adesinas bacterianas, da composição da parede celular e de receptores da mucosa intestinal. A interação entre esses elementos promove a fixação da bactéria à mucosa (aderência) o que impede sua eliminação pelo peristaltismo intestinal e pelas correntes de fluidos que tendem leva-las para o exterior do organismo. A capacidade de aderir às células derivadas da mucosa intestinal ou à própria mucosa, já foi demonstrada, para a maioria das cepas de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* utilizadas como probióticos (Trabulsi & Sampaio, 2000).

A adesão bacteriana depende em parte de interações reversíveis ou irreversíveis. O estágio inicial e reversível é mediado por um complexo de interações físico-químicas, incluindo hidrofobicidade e cargas, que não são consideradas específicas mas, propriedades importantes (Pelletier, 1997).

A propriedade de exclusão ou redução da aderência de enteropatógenos já foi demonstrada para vários probióticos, provavelmente sendo consequência do bloqueio de receptores que seriam utilizados pelos mesmos. A importância dessa propriedade é óbvia, pois ela contribui para o efeito protetor dos probióticos contra infecções intestinais (Walker, 1998).

Com relação à persistência e multiplicação, são propriedades importantes, porque sem elas não poderia ocorrer a implantação do probiótico, essencial para que a microbiota seja modificada em sua composição ou atividade. Para que haja multiplicação do probiótico, ele deve competir com a microbiota presente, pelos nutrientes necessários e encontrar as condições favoráveis de atmosfera e pH. Vários estudos experimentais têm demonstrado a multiplicação dos probióticos nos intestinos do homem e de animais de laboratório. A produção de ácidos, principalmente ácido láctico, torna o ambiente intestinal bastante desfavorável à proliferação de microrganismos patogênicos ou putrefativos. A acidez do conteúdo intestinal parece ser também importante para favorecer o peristaltismo intestinal, combatendo assim a constipação ou prisão de ventre. Muitas bactérias ácido-lácticas produzem bacteriocinas ativas contra certos patógenos e outras bactérias da flora, o que pode contribuir para o balanceamento da microbiota intestinal (Trabulsi & Sampaio, 2000).

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Avaliar o perfil hidrofóbico e as características ácido-básicas das cepas de *Bifidobacterium lactis* Bb12 e *Bifidobacterium longum* Bb46, cultivados em diferentes meios de cultura.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar e comparar as propriedades físico-químicas da superfície celular de duas cepas probióticas;
- Avaliar a influência de três meios de cultura sobre as propriedades físico-químicas da superfície celular de duas cepas probióticas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Microrganismos

3.1.1 Probiótico

Para a realização do trabalho, foram utilizadas culturas lácticas comerciais (DVS - Christian Hansen Lab., Horsholm, Denmark), constituídas segundo o fabricante por *Bifidobacterium lactis* (Bb12) e *Bifidobacterium longum* (Bb46). Essas culturas, do tipo termofílicas, contêm *Bifidobacterium* de origem humana e são aplicadas principalmente na fabricação de produtos probióticos de leite (fermentados ou “sweet”). A partir das culturas DVS – Bb12 e DVS - Bb46 foram selecionadas colônias típicas de *Bifidobacterium bifidum* e *Bifidobacterium longum*, que foram mantidas congeladas a -86°C (glicerina 40%) em Caldo MRS (De Man, Rogosa e Sharpe) (Merck, Darmstadt, Germany).

3.1.2 Cultivo dos microrganismos

Para a realização dos testes, as culturas de *Bifidobacterium* foram descongeladas e passadas em caldo (MRS-Difco, BHI-Difco suplementado com glicose ou LAPT-Raibaud et al, 1973) por duas vezes e incubadas a 37 °C por 20 horas.

3.2 Solventes

Os solventes utilizados durante os experimentos foram Acetato de Etila-solvente básico (Sinth), Clorofórmio-solvente ácido (Sinth) e Xilol-solvente apolar (Sinth).

3.3 Teste de hidrofobicidade e características ácido-básicas da parede celular

O método se processou de acordo com as técnicas descritas por Rosenberg (1983), Pelletier (1997) e Pérez (1998) com modificações. Centrifugou-se os cultivos de microrganismos (3000-3500 rpm) por 15 minutos. Lavou-se as células duas vezes com solução tampão $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$ (50 milimolar, pH 7,0) e posteriormente as mesmas foram ressuspensas em solução de KNO_3 (0,1 molar, pH 6,2). Em tubos de vidro, colocou-se em contato 4 mL de suspensão bacteriana com 1 mL dos seguintes solventes: xilol (solvente apolar), clorofórmio (solvente ácido) e acetato de etila (solvente básico). Deixou repousar por 5 minutos e mesclou-se as fases por agitação em vórtex por 2 minutos. Os tubos são mantidos em repouso por 30-60 minutos aproximadamente, para que as fases se separem completamente. Após esse período, foi feita a leitura do

absorbância da fase aquosa a 600 nanômetros em espectrofotômetro (MicroNal B395). Todos os testes foram realizados em duplicata.

DO_A ⇒ Branco – 5 mL de solução de KNO₃
 Amostra – 5 mL de solução de KNO₃ + Células

DO_B ⇒ Branco – 4 mL de solução de KNO₃ + 1 mL dos solventes em cada tubo
 Amostra – 4 mL de suspensão celular em solução de KNO₃ + 1 mL dos solventes em cada tubo

A porcentagem de adesão bacteriana, de acordo com o solvente utilizado, deu-se de acordo com a seguinte fórmula:

$$\% \text{ Hidrofobicidade} = \frac{(DO_A - DO_B) \times 100}{DO_A}$$

4. RESULTADOS

As figuras 1, 2 e 3 indicam os resultados dos testes de hidrofobicidade e características ácido-básicas da parede celular expressos em porcentagem das cepas de *Bifidobacterium lactis* Bb12 e *longum* Bb46.

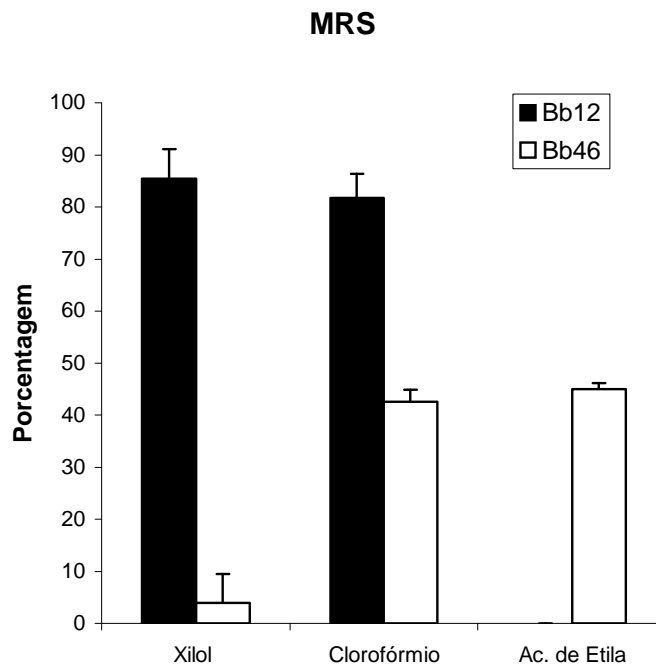


Figura 1 – Porcentagem de Hidrofobicidade da parede celular de *B. lactis* Bb12 e *B. longum* Bb46 cultivado em MRS.

A figura 1 nos mostra que ao comparar *B. lactis* Bb12 e *B. longum* Bb46 em MRS, a Bb12 apresentou uma superfície celular mais hidrofóbica e mais ácida do que a Bb46, que apresentou superfície celular menos hidrofóbica e mais básica.

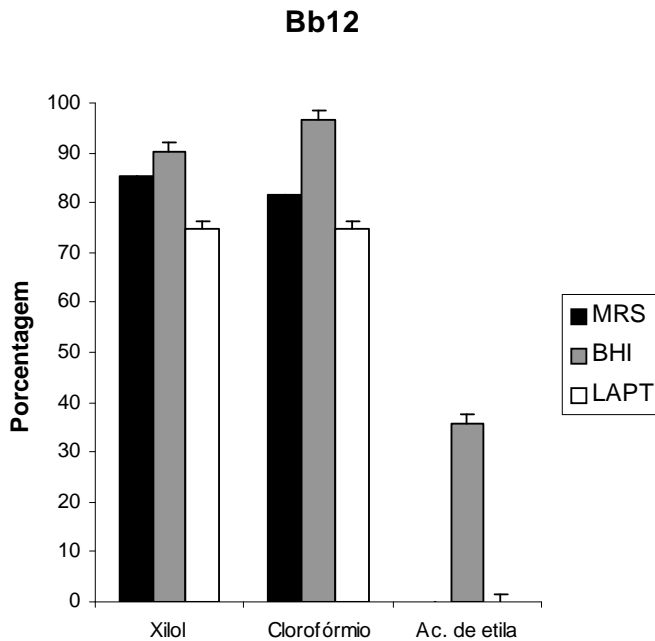


Figura 2 – Porcentagem de Hidrofobicidade da parede celular de *B. lactis* Bb12 cultivado em MRS, BHI/S e LAPT.

A figura 2 nos mostra os resultados de Hidrofobicidade para a cultura *B. lactis* Bb12 testado em diferentes meios de cultura. A Bb12 apresentou diferença significativa entre os meios MRS-LAPT e BHI/S-LAPT, quando se comparou a característica apolar da superfície celular, utilizando-se xilol. A cepa apresentou diferença significativa entre os meios MRS-BHI/S e BHI/S-LAPT quando se comparou a característica ácida da superfície celular, utilizando-se o clorofórmio. Quando se comparou a caracteística básica da superfície celular, utilizando-se o acetato de etila, observou-se diferença significativa entre os meios MRS-BHI/S e BHI/S-LAPT.

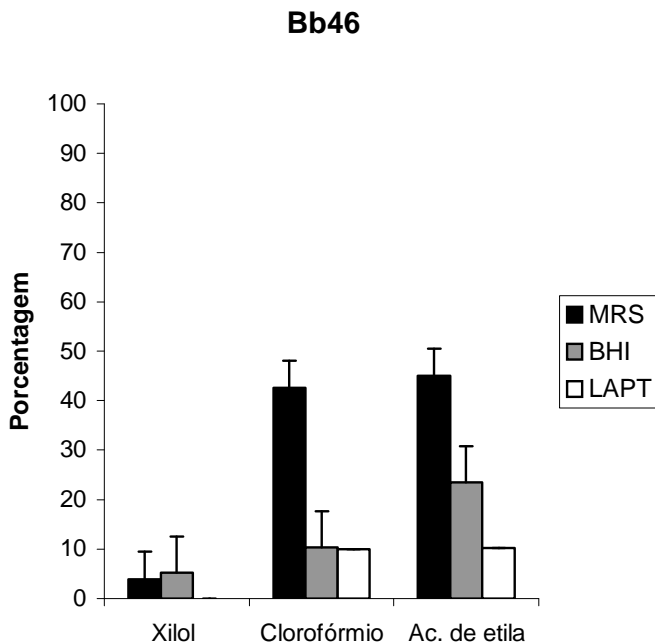


Figura 3 – Porcentagem de Hidrofobicidade da parede celular de *B. longum* Bb46 cultivado em MRS, BHI/S e LAPT.

A figura 3 nos mostra os resultados de Hidrofobicidade para a cultura *B. longum* Bb46 testado em diferentes meios de cultura. A Bb46 não apresentou diferença significativa entre os meios, quando se comparou a característica apolar da superfície celular, utilizando-se xilol. A cepa apresentou diferença significativa entre os meios MRS-BHI/S e MRS-LAPT quando se comparou a característica ácida da superfície celular, utilizando-se o clorofórmio. Quando se comparou a característica básica da superfície celular, utilizando-se o acetato de etila, observou-se diferença significativa entre os meios MRS-BHI/S-LAPT.

5. DISCUSSÃO

Sabe-se que a aderência das bactérias à mucosa intestinal, sejam patogênicas ou não, envolve a participação de receptores específicos e inespecíficos. A interação entre esses elementos promove a fixação da bactéria à mucosa (aderência) o que impede sua eliminação pelo peristaltismo intestinal e pelas correntes de fluidos que tendem leva-las para o exterior do organismo. A capacidade de aderir às células derivadas da mucosa intestinal ou à própria mucosa, já foi demonstrada, para a maioria das cepas utilizadas como probióticos (Trabulsi & Sampaio, 2000). A adesão bacteriana depende em parte de interações reversíveis ou irreversíveis. O estágio inicial e reversível é mediado por um complexo de interações físico-químicas, incluindo hidrofobicidade e cargas, que não são consideradas específicas mas, propriedades importantes (Pelletier, 1997).

O efeito protetor da microbiota intestinal tem sido estudado por muitos grupos no mundo inteiro e tem sido relacionado com antagonismo bacteriano, interferência bacteriana, efeito barreira, resistência à colonização ou exclusão competitiva (Fuller, 1995). O mecanismo que preserva o balanço entre os diversos microrganismos intestinais e impede que uma determinada bactéria se torne dominante, também previne a invasão por bactérias exógenas (incluindo patogênicas) e o seu estabelecimento no ecossistema intestinal. A propriedade de exclusão ou redução da aderência de enteropatógenos já foi demonstrada para vários probióticos, provavelmente sendo consequência do bloqueio de receptores que seriam utilizados pelos mesmos. A importância dessa propriedade é óbvia, pois ela contribui para o efeito protetor dos probióticos contra infecções intestinais (Walker, 1998).

De modo geral, um probiótico deve ser capaz de aderir à mucosa intestinal excluindo ou reduzindo a aderência de enteropatógenos. A importância dessa propriedade é óbvia, pois irá contribuir para o efeito protetor dos probióticos contra infecções intestinais. Outro ponto de grande destaque, na utilização dos probióticos, é a estimulação do sistema imune, mais conhecida como imuno-modulação. A adesão dos microrganismos ao epitélio intestinal fará com que as respostas sejam mais eficientes devido à proximidade entre antígeno e sistema imune. Algumas pesquisas sugerem que o uso de probióticos possa promover um aumento da imunidade sistêmica, quer em termos de favorecimento da produção de anticorpos, quer na estimulação das funções fagocitárias.

Com relação à persistência e multiplicação, são propriedades importantes, porque sem elas não poderia ocorrer a implantação do probiótico, essencial para que a microbiota seja modificada em sua composição ou atividade. Alguns estudos têm demonstrado o

específicos, na capacidade de microrganismos se aderirem ao epitélio intestinal. Segundo Pelletier (1997), numerosos estudos físico-químicos de superfícies celulares microbianas têm demonstrado relações entre cargas superficiais, hidrofobicidade e a composição elementar da superfície celular. Eles indicam que, a presença de glico-proteínas na superfície celular, resultará em alta hidrofobicidade como no caso do *B. lactis* Bb12, e que a baixa hidrofobicidade está associada à presença de polissacarídeos como no caso do *B. longum* Bb46.

Ficou constatado que a espécie *B. lactis* Bb12 possui uma parede celular mais hidrofóbica e ácida. Os resultados demonstraram que a Bb12 é forte doadora e fraca receptora de elétrons. Espera-se, segundo Pelletier (1997), que esta cepa possua maior probabilidade de adesão ao epitélio intestinal, já que este possui um perfil superficial lipídico mais acentuado, sendo assim mais indicado o uso desta cepa como probiótico, quando comparado ao *B. longum* Bb46. Sabe-se também, segundo Trabulsi e Sampaio (2000), que os subprodutos do metabolismo bacteriano ajudam a criar um ambiente intraluminal restritivo ao crescimento bacteriano. Entre esses subprodutos, estão os ácidos graxos de cadeia curta, como ácidos acético, butírico e propiônico. Esses ácidos são produzidos principalmente por bactérias anaeróbias e em menor escala por facultativos. Esses metabólitos acabam por modificar o pH do meio, fazendo com que o potencial de oxido-redução se torne negativo, favorecendo o crescimento de bactérias com perfil de parede celular ácido como a *B. lactis* Bb12, devido às cargas provenientes de dissociação dos ácidos localizados nessa região.

Quanto a espécie *B. longum* Bb46, foi observado que a mesma possui uma parede celular pouco hidrofóbica e mais básica. Espera-se então que esta cepa possua uma probabilidade de adesão ao epitélio intestinal bastante reduzida. Isto se deve a pouca atração que o microrganismo irá expressar pelo epitélio intestinal, que possui um perfil superficial lipídico. Com relação a basicidade, como o epitélio intestinal possui como característica a presença de um potencial de oxido-redução mais negativo, devido aos ácidos que ali ocorrem, a bactéria poderá ter dificuldades de implantação nesta superfície.

Sabe-se, de acordo com Lonnerdal (1998), que a nutrição possui importante papel e causa efeitos sobre a microbiota intestinal. Alguns elementos presentes na alimentação irão atuar como estimuladores de crescimento para alguns microrganismos e como inibidores para outros, promovendo diferenças significativas na microbiota de um indivíduo e conseqüentemente de seu organismo como um todo.

Isso foi notado quando se comparou as características da superfície celular das cepas testadas. Os resultados de Hidrofobicidade para a cultura *B. lactis* Bb12 testado em diferentes meios de cultura, demonstraram diferença significativa entre os meios MRS-LAPT e BHI/S-LAPT, quando se comparou a característica apolar da superfície celular, utilizando-se xilol. A cepa apresentou diferença significativa entre os meios MRS-BHI/S e BHI/S-LAPT quando se comparou a característica ácida da superfície celular, utilizando-se o clorofórmio. Quando se comparou a característica básica da superfície celular, utilizando-se o acetato de etila, observou-se diferença significativa entre os meios MRS-BHI/S e BHI/S-LAPT. Os resultados de Hidrofobicidade para a cultura *B. longum* Bb46 testado em diferentes meios de cultura, demonstraram diferença significativa entre os meios, quando se comparou a característica apolar da superfície celular, utilizando-se xilol. A cepa apresentou diferença significativa entre os meios MRS-BHI/S e MRS-LAPT quando se comparou a característica ácida da superfície celular, utilizando-se o clorofórmio. Quando se comparou a característica básica da superfície celular, utilizando-

se o acetato de etila, observou-se diferença significativa entre os meios MRS-BHI/S-LAPT.

No caso das cepas estudadas, acredita-se que os diferentes meios de cultura utilizados fizeram com que ocorressem alterações em suas paredes celulares, resultando então, em diferenças quanto a hidrofobicidade, acidez e basicidade observadas neste estudo. Isso nos leva a acreditar que, alguns nutrientes presentes em maiores ou menores quantidades nos meios de cultura, fizeram com que os microrganismos, os absorvessem e alterassem suas características externas, e possivelmente internas.

6. CONCLUSÃO

Pelos resultados e nas condições em que foram realizados os testes, pode-se concluir que a cultura de *Bifidobacterium lactis* Bb12 possui maior probabilidade de adesão ao epitélio intestinal devido a sua maior hidrofobicidade e acidez, sendo considerado mais indicado para a utilização como probiótico, quando comparado com *B. longum* Bb46 já que este possui um perfil mais hidrofílico e parede celular de características básicas, e que os microrganismos apresentam variações em suas características celulares influenciadas pelo meio em que se encontram.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FULLER, R. Probiotics: their development and use. In: OLD HERBORN UNIVERSITY SEMINAR MONOGRAPH, 1995, Herborn-Dill. *Probiotics: Prospects of Use in Opportunistic Infections*. Herborn-Dill: Institute for Microbiology and Biochemistry, 1995, p. 01-08.

HOLT, J.G. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 9 ed., Baltimore: Williams & Wilkins, 1994, p.787.

HOOVER, D.G. *Bifidobacterium*: Activity and potential benefits. *Food Technology*, v. , 1993, p.120-124.

LAROA, S., MARTIN, H. *Bifidobacterium* as possible dietary adjuncts in cultured dairy products - a review. *Cultured Dairy Products Journal*, v. 25, 1990, p. 18-22.

LIM, K.S., HUH, C.S., BAEK, Y.J. Antimicrobial susceptibility of *Bifidobacteria*. *Journal of Dairy Science*, v. 76, 1993, p. 2168-2174.

LONNERDAL, B. Efeitos da nutrição sobre a flora microbiana dos lactentes: papel da lactoferrina, do ferro e dos nucleotídeos, *Probióticos, Outros Fatores Nutricionais e a Microflora Intestinal*, Vevey: Nestlé Ltd., 1998.

MISRA, A.K., KUILA, R.K. Bifidus milk: a potential for developing countries. *Indian Dairyman*, v. 43, 1991, p. 390-393.

PELCZAR JR., M.J., CHAN, E.C.S., KRIEG, N.R. *Microbiologia: Conceitos e Aplicações*, v. 2, 2 ed., São Paulo: Makron Books, 1996.

PELLETIER, C., BOULEY, C.C., BOUTTIER, S., BOURLIOUX, P. & BELLON-FONTAINE, M-N. Cell surface characteristics of *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, and *Lactobacillus rhamnosus* strains. *Applied Environmental Microbiology*, v. 63, 1997, p. 1725-1731.

PÉREZ, P., MINAARD, Y., DISALVO, E., DE ANTONI, G. Surface properties of bifidobacterial strains of human origin. *Applied Environmental Microbiology*, v. 64, 1998, p. 21-26.

RAIBAUD, P., GALPIN, J.V., DUCLUZEAU, R., MOCQUOT, F., OLIVER, G. The "Lactobacillus" genus in the digestive tract of rats. I. Characteristics of homofermentative strains isolated from holo- and gnotoxenic rats. *Annales de Microbiologie*, v. 124, 1973, p. 83-109.

ROSENBERG, M., GUTNICK, D., & ROSENBERG, E. Adherence of bacteria to hydrocarbons: a simple method for measuring cell-surface hydrophobicity. *FEMS Microbiology Letters*, v. 9, 1983, p. 29-33.

SAMONA, A. & ROBINSON, R.K. Enumeration of bifidobacteria in dairy products. *Journal of the Society of Dairy Technology*, v. 44, 1991, p. 64-66.

SANDERS, M.E. Lactic Acid Bacteria and human health In: OLD HERBORN UNIVERSITY SEMINAR MONOGRAPH, 1995, Herborn-Dill. *Probiotics: Prospects of Use in Opportunistic Infections*. Herborn-Dill: Institute for Microbiology and Biochemistry, 1995, p. 126-140.

SNEATH, P.H.A. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Baltimore: Williams & Wilkins, v. 2, 1986, p 1418-1434.

TANNOCK, G.W. *Normal Microflora*, London: Chapman & Hall, 1995.

TRABULSI, L.R., SAMPAIO, M.M.S.C. A composição e papel da microflora intestinal na saúde e proteção do organismo. *Os Probióticos e a Saúde Infantil*, v. 1, Brasil: Nestlé Ltda., 2000, p. 3-11.

WALKER, W.A., DUFFY, L.C. Diet and bacterial colonization: role of probiotics and prebiotics. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 9, 1998, p 668-675.

[1] - Graduado em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Metodista Izabela Hendrix, Mestrando em Microbiologia pelo ICB / UFMG. E-mail: fhfb@globo.com

[2] - Graduada em Medicina Veterinária pela UFMG, Doutora em Microbiologia pelo ICB / UFMG

[3] - Graduado em Ciências Biológicas pela UFMG, Doutorando em Microbiologia pela Faculdade de Medicina / UFMG

[4] Professor titular do Laboratório de Ecologia e Fisiologia de Microrganismos do ICB/UFMG