

# 非致病性蜡样芽孢杆菌的益生功能与应用

李家旭, 贝翎, 袁晚晴, 黄达荣, 王琨, 彭东, 黎攀, 杜冰\*

(华南农业大学食品学院, 广东广州 510642)

**摘要:** 蜡样芽孢杆菌广泛分布于环境当中。传统的致病性蜡样芽孢杆菌由于携带毒力基因, 具有编码肠毒素和腹泻毒素的能力, 被人类误食后会引发食物中毒甚至导致严重的疾病, 因而引起人们的广泛关注。近年来, 非致病性蜡样芽孢杆菌所具有的功效逐渐被人们所发现, 并且应用于动物饲料的添加剂中; 然而关于非致病性蜡样芽孢杆菌的益生功能却鲜有报道, 该研究综述了非致病性蜡样芽孢杆菌的益生功能及其在食品领域的应用, 主要包括抑菌功能、抗炎作用以及促生长作用等, 并且对未来的研究发展方向做出了展望。

**关键词:** 蜡样芽孢杆菌; 益生功能; 抑菌; 抗炎

文章编号: 1673-9078(2023)04-341-348

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.4.0453

## Probiotic Functions and Application of Non-pathogenic *Bacillus cereus*

LI Jiaxu, BEI Ling, YUAN Wanqing, HUANG Darong, WANG Kun, PENG Dong, LI Pan, DU Bing\*

(College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** *Bacillus cereus* is widely distributed in the environment, and its ability to encode enterotoxins and diarrhea toxins generally leads to food poisoning and serious disease following accidental ingestion by humans, generating widespread concern. In recent years, the efficacy of applying non-pathogenic *B. cereus* to animal feed additives has been investigated; however, few reports have examined the probiotic function of the bacteria. This paper describes the probiotic functions of *B. cereus*, mainly its antibacterial, anti-inflammatory, and growth-promoting effects, and its potential application in animal feed, and discusses the prospects for future research and possible development directions.

**Key words:** *Bacillus cereus*; probiotic function; antibacterial; anti-inflammatory

引文格式:

李家旭, 贝翎, 袁晚晴, 等. 非致病性蜡样芽孢杆菌的益生功能与应用[J]. 现代食品科技, 2023, 39(4): 341-348.

LI Jiaxu, BEI Ling, YUAN Wanqing, et al. Probiotic functions and application of non-pathogenic *Bacillus cereus* [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(4): 341-348.

蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) 是一种产芽孢的革兰氏阳性菌, 芽孢杆菌属 (*Bacillus*), 具有很强的环境适应性, 能耐受一些不良的生长条件<sup>[1]</sup>。蜡样芽孢杆菌可分为致病性与非致病性两种, 其中致病性蜡样芽孢杆菌是一种常见的食源性致病菌, 能分泌肠毒素和致吐毒素 (Cereulide) 等细胞毒素, 患者误食了带有此菌的食物后会引发腹泻、呕吐等一系列中毒症状<sup>[2-5]</sup>, 严重者还会诱发一些严重的疾病, 如骨髓炎、败血症、肺炎、肝脓肿和脑膜炎<sup>[6]</sup>、心内膜炎<sup>[7]</sup>、菌血症<sup>[8]</sup>、内源性眼内炎<sup>[9]</sup>、急性术后眼内炎<sup>[10]</sup>等, 在 2018 年食物中毒事件调查报告中, 蜡样芽孢杆菌引起的食

收稿日期: 2022-04-14

基金项目: 广东省重点领域研发计划项目 (2020B020226008)

作者简介: 李家旭 (1999-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学与工程,

E-mail: lijiaxu0125@163.com

通讯作者: 杜冰 (1973-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 功能性原料的研究

及评价, E-mail: gzdubing@163.com

物中毒仅次于沙门氏菌、致泻大肠埃希菌、副溶血弧菌与金黄色葡萄球菌, 位列第 5<sup>[11]</sup>, 严重危害人们的生命健康。

随着对蜡样芽孢杆菌研究的不断深入, 人们逐渐发现了一些非致病性的蜡样芽孢杆菌具有应用价值, 如作为植物生防菌等<sup>[12]</sup>。相比于其他的益生芽孢杆菌, 如苏云金芽孢杆菌<sup>[13]</sup>和枯草芽孢杆菌<sup>[14]</sup>, 研究者对非致病性蜡样芽孢杆菌益生功能的研究不足。已经有研究表明蜡样芽孢杆菌耐高温耐酸碱耐盐, 在 90 °C 以上存活率可达 80%, 且对赤霉素有高浓度的耐受性, 对硫酸卡那霉素和硫酸链霉素有低浓度的耐受性<sup>[15]</sup>; 能改善宿主的肠道环境并缓解抗生素相关腹泻<sup>[16]</sup>, 具有作为益生菌的潜力<sup>[17]</sup>, 益生功能的研究是一个全新的发展方向。蜡样芽孢杆菌在使用前, 仍要对其是否携带毒力基因、安全性以及耐药性等方面进行检测评估, 确保其使用的安全性, 防止中毒事件发生。目前国内外的研究学者主要关注致病性蜡样芽孢杆菌的毒

力基因和毒素的检测, 而非致病性蜡样芽孢杆菌的益生功能却鲜有研究。本文整理近年来国内外与非致病性蜡样芽孢杆菌相关的文献, 总结了其所具有的一些益生功能和应用, 并展望了其未来的研究方向, 以期为非致病性蜡样芽孢杆菌的深入研究提供科学依据。

## 1 蜡样芽孢杆菌的益生特性

益生菌是通过定殖在人体内, 改善宿主某一位菌群组成的一类对宿主有益的活性微生物<sup>[18]</sup>。益生菌能调节宿主黏膜而促进机体营养吸收, 并通过调节肠道内菌群平衡, 使有利于机体健康的单微生物或微生物群的相对丰度上升, 因此提高机体的免疫功能。如蜡样芽孢杆菌 DU106 与鼠李糖乳杆菌、嗜酸乳杆菌、乳酸杆菌双歧杆菌相比, 灌胃后可以显著提高小鼠的脾脏指数、提高 T 淋巴细胞转换率、改善肠道菌群结构, 提高免疫功能<sup>[19]</sup>。Li 等<sup>[20]</sup>发现 DU-106 作为新型蜡样芽孢杆菌缺乏编码呕吐毒素 Cereulide、肠毒素 FM 和细胞毒素 K 的基因, 拥有较高的安全性, 同时具有携带有参与乳酸合成的基因如 L-乳酸脱氢酶、D-乳酸脱氢酶等, 有良好的产 L-乳酸能力, 在 37 °C 下发酵 48 h 乳酸产量可达 13.04 g/L; 并且该菌株耐酸耐胆盐, 能够在宿主的胃肠道中存活; 此外, 还发现了编码粘附蛋白的基因, 包括胶原结合蛋白和纤维连接蛋白结合蛋白 III 型结构域, 这些基因可能有助于与消化道结合并减少益生菌的致病性粘附, 因此具有潜在的益生菌特性。

### 1.1 抑菌功能

病原菌是影响宿主健康的重要因素, 如金黄色葡萄球菌、沙门氏菌等会引起宿主的肠道感染, 因此益生菌应当具有良好的抑菌能力。添加蜡样芽孢杆菌一定程度上抑制病原菌, 赵荣等<sup>[21]</sup>进行的体外抑菌实验研究表明, 蜡样芽孢杆菌作为早期定植菌时, 对大肠杆菌和沙门氏菌有抑制作用。L.Scharek-Tedin 等<sup>[22]</sup>发现仔猪在感染沙门氏菌后会引发腹泻并影响其生长发育, 而在用添加有蜡样芽孢杆菌 DT1041 的饲料喂养后腹泻明显减少, 进一步通过对上皮内淋巴细胞的检测发现, 补充蜡样芽孢杆菌使上皮内淋巴细胞增多, 促进了免疫反应, 进而抑制了沙门氏菌。Nirja Thakur 等<sup>[23]</sup>分离出一株蜡样芽孢杆菌 NK91, 具有产几丁质酶的能力, 并且对炭疽菌具有一定的抑制作用。

益生菌也能通过分泌细菌素、抗生素、抗菌肽、抑菌蛋白或其他具有抑菌能力的物质来发挥抑菌功能, 进而预防肠道微生物感染<sup>[24,25]</sup>。钟小廷<sup>[26]</sup>从土壤中分离出一株产细菌素的蜡样芽孢杆菌 XH25, 对金

黄色葡萄球菌具有很好的抑制作用。卢国柱等<sup>[27]</sup>以大肠杆菌和金黄色葡萄球菌为指示菌, 筛选出了两株具有抑菌活性的蜡样芽孢杆菌 C2-4 和 21-1-1-2, 同时采用氯仿萃取法结合凝胶过滤层析和制备液相色谱提纯结合的方法, 对发酵液中的抗菌物质进行了提取纯化和鉴定, 表明抗菌物质可能是 Lajollamide A, 一种环状五肽化合物。蜡样芽孢杆菌 SN7 可以产生生物碱、黄酮类和皂苷化合物, 这些代谢产物对溶藻弧菌、嗜水气单胞菌和铜绿假单胞菌等致病菌有杀灭作用<sup>[28]</sup>, 对溶藻弧菌、嗜水气单胞菌和铜绿假单胞菌的最小杀灭浓度为 4 000 μg/mL, 其中生物碱和黄酮类化合物对构成细菌细胞壁的肽聚糖有破坏作用, 从而导致细菌死亡; 而皂苷通过降低真菌生物膜表面张力, 使细胞通透性增加, 导致营养物质、细胞内化合物和蛋白质流失, 最后使真菌死亡。Zhen 等<sup>[29]</sup>从刺参中分离得到的一株蜡样芽孢杆菌 LS2 对灿烂弧菌有抑制作用, 经检测发现 LS2 能产生一种抗菌肽类, 能上调二氢脂酰胺脱氢酶从而破坏细胞膜结构, 阻碍肽聚糖的形成, 并诱导产生活性氧来抑制灿烂弧菌生长。

另外也有单独使用蜡样芽孢杆菌生物膜抑菌的研究, 如向饲料中添加蜡样芽孢杆菌生物膜投喂凡纳滨对虾后, 可以稳定肠道微生物, 降低肠道内弧菌属的数量, 增强抗病能力, 降低死亡率, 为蜡样芽孢杆菌生物膜的应用提供了理论依据<sup>[30]</sup>。

### 1.2 抗炎功能

由于各类因素引发的动物炎症给畜牧养殖业等领域带来了巨大的困扰, 应对炎症常用的方法是使用激素和抗生素类药物, 但长期使用这种治疗手段会产生一些副作用, 如过敏反应<sup>[31]</sup>等, 而添加益生菌来改善炎症是一种有效的手段, 益生菌能通过调节与炎症有关的基因表达, 包括各类抗氧化酶的合成, 免疫信号通路等, 从而有效地减轻炎症反应。Gu 等<sup>[32]</sup>使用蜡样芽孢杆菌 PAS38 作为益生菌添加到饲料中来改善肉鸡的脾脏炎症, 从中筛选出一些炎症有关的差异表达基因, 如参与胶原蛋白形成的 GP6 蛋白、参与体内粘膜防御机制的 DMBT1 基因, 当有炎症因子刺激时 DMBT1 会上调, 而在该研究在中 DMBT1 表达下调, 表明炎症得到缓解。提高抗氧化酶的活性与含量也能有效阻止炎症发生, 采用蜡样芽孢杆菌 NY5 养殖罗非鱼后发现, 总超氧化物歧化酶含量增加, 肠道和鳃中碱性蛋白酶活性增加, 溶菌酶活性升高, 促进免疫反应并抑制炎症<sup>[33,34]</sup>。Xue 等<sup>[35]</sup>向饲料中添加蜡样芽孢杆菌并喂养草鱼幼苗后发现, Nrf2-Keap1 信号通路被激活, Nrf2 与 Keap1 蛋白解离, 上调抗氧化酶的表达,

同时降低 TLR4 和 MyD88 基因的 mRNA 水平, 进而抑制 IL-6 和 TNF- $\alpha$  等炎症因子的表达。蜡样芽孢杆菌潜在的炎症调节机制见图 1。

肝脏炎症是常见的一类炎症, Li 等<sup>[36]</sup>采用 D-半乳糖胺诱导小鼠肝损伤并同时用蜡样芽孢杆菌 ATCC11778 预处理后发现, 与未处理组相比, 经过预处理的小鼠高迁移率蛋白 HMGB-1 水平降低, Toll 样受体 9 号染色体基因 (TLR4) 水平降低, 显示具有一定的抗炎作用。同样的是, 李雅婷等<sup>[37]</sup>用蜡样芽孢杆菌灌胃大鼠后 14 d 注射 D-半乳糖胺诱导急性肝衰竭模型, 24 h 后采集样本并检测, 结果显示蜡样芽孢杆菌处理的大鼠肝脏病理组织评分较高, 降低了厌氧菌在肝脏、肾脏及淋巴结异位水平, 肠道中链球菌科、大肠埃希菌科丰度较低, 对肝脏炎症具有预防保护作用。

除肝脏外, 肠道也是炎症多发部位, 通过给葡聚糖硫酸钠盐 (DSS) 诱导肠炎小鼠饲喂含有蜡样芽孢杆菌 HMPM18123 的饲料后, 检测相关基因后发现跨膜蛋白和紧密连接蛋白表达上调, 同时抑制了 TLR4-NF- $\kappa$ B-NLRP3 炎症小体信号通路的激活, 降低 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 等促炎因子水平, 提高抗炎因子 IL-10 水平<sup>[38]</sup>。张慧莹等<sup>[39]</sup>采用蜡样芽孢杆菌 DU-106 发酵液护色山药多糖, 并用护色后的多糖治疗 DSS 诱导的小鼠肠炎, 显著改善了小鼠结肠的萎缩程度, 显著减低了促炎因子 TNF- $\alpha$  的水平, 同时提高肠道微生物多样性, 表明蜡样芽孢杆菌具有改善肠道炎症的益生作用。Xue 等<sup>[35]</sup>研究发现, 膳食中添加蜡样芽孢杆菌能显著提高肠道中谷胱甘肽过氧化物酶活性, 并且降低肠道中丙二醛浓度, 显示出调节抗氧化系统的能

力和减轻肠道炎症的能力。Feng 等<sup>[40]</sup>采用产木聚糖酶的蜡样芽孢杆菌 W-3 发酵麦麸喂养肉鸡, 增加了肠道菌群的丰富度, 促进了双歧杆菌在肠道中的定植, 改善了肠道环境; 也有研究发现在饲料中添加蜡样芽孢杆菌可以提高彭泽鲫血清中总超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶的活性和还原型谷胱甘肽的浓度, 抑制彭泽鲫的炎症反应、改善肠道屏障功能, 机理是通过 Nrf2 内源性抗氧化通路激活调节抗氧化系统, 诱导抗炎因子 IL-10 过表达来降低氧化应激, 下调 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  等促炎细胞因子基因的表达, 从而抑制肠道炎症反应<sup>[41]</sup>。此外, 在使用蜡样芽孢杆菌治疗轮状病毒肠炎的医疗案例中, 治疗组疗效良好, 没有不良反应, 表明蜡样芽孢杆菌具有应用价值<sup>[42]</sup>。

除了上述的一般过程外, 有些生物有其独特的免疫调节方式, 如体腔细胞是海参中特有的参与免疫调节的细胞, 体腔瘤细胞 NF- $\kappa$ B 信号通路的相关基因 Aj-p105、Aj-p50 和 Aj-rel 有利于提高免疫并改善炎症, Yang 等<sup>[43]</sup>研究发现添加蜡样芽孢杆菌 BC-01 可显著提高体腔瘤细胞信号通路中 Aj-p50 基因的表达水平, 添加蜡样芽孢杆菌 G19 可显著提高 Aj-rel 基因的表达水平, 除此之外, 体腔细胞的吞噬作用和呼吸作用明显增强, 碱性磷酸酶的水平升高, 这些都表明添加蜡样芽孢杆菌后海参的免疫功能和抗炎能力增强。Chika 等<sup>[44]</sup>研究发现菠萝蛋白酶能固定在蜡样芽孢杆菌产生的益生孢子上, 并基于此项发现采用 Wistar 大鼠卡拉爪水肿模型探究其抑制水肿的潜力, 结果表明相比于游离酶, 与蜡样芽孢杆菌益生孢子结合的菠萝蛋白酶的水肿抑制能力与抗炎能力更好。

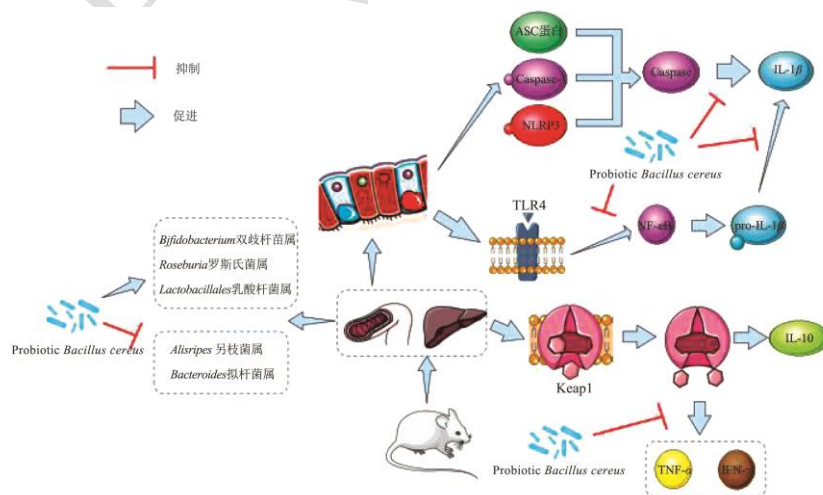


图 1 蜡样芽孢杆菌调节炎症机制

Fig.1 *Bacillus cereus* regulates the mechanism of inflammation

### 1.3 促生长功能

蜡样芽孢杆菌不仅具有抑菌和抗炎作用, 还能促

进动物生长和营养吸收<sup>[45]</sup>。酶作为催化剂在人与动物体内发挥着重要作用, 这就意味着提高人与动物体内与生长有关的酶的活性能有效促进生长发育。蜡样芽

孢杆菌 YB1 添加到大菱鲆饲料中可以提高肠道内消化酶、脂肪酶和抗氧化酶的活力<sup>[46]</sup>。蜡样芽孢杆菌菌株 BPMBRG/1b 饲喂对虾后, 可以提高尾肌丙氨酸和血淋巴超氧化物歧化酶活性, 同时能够刺激消化酶并提高生长率<sup>[47]</sup>。

益生菌可以调节消化道的微生态平衡, 抑制致病菌的生长和粘附, 从而维持消化道的健康水平<sup>[48]</sup>。蜡样芽孢杆菌作为益生菌能改善肠道环境, 促进营养吸收进而促进生长, 如添加蜡样芽孢杆菌到鸡和猪的饲料中, 食用了这种饲料的动物肠道中氨浓度降低, 而低氨浓度有利于刺激蜡样芽孢杆菌孢子萌发并激活肠道功能, 包括肠绒毛高度和肠上皮细胞面积的变化, 进而促进营养物质吸收<sup>[49]</sup>。蜡样芽孢杆菌 BC7 在体内外能有效降解玉米烯酮(一种由霉菌产生的毒素), 进而调节肠道菌群, 具有促生长功能<sup>[50]</sup>。添加蜡样芽孢杆菌 BC-1 于海参饲料中可以增加淀粉、蔗糖和蛋白质的微生物发酵来提高饲料利用率, 改善海参的碳水化合物和蛋白质代谢, 最终促进海参生长<sup>[51]</sup>。用含有蜡样芽孢杆菌的饲料喂养鹌鹑后, 能促进骨骼对矿物质的吸收, 进一步强化了胫骨、增加了胸肌纤维的横断面积和绒毛高度, 有利于鹌鹑骨骼的生长<sup>[52]</sup>。

#### 1.4 其他功能

非致病性蜡样芽孢杆菌也表现出一些其他潜在的益生功能。如周倩等<sup>[53]</sup>研究表明蜡样芽孢杆菌能够抑制口腔鳞状细胞癌细胞增殖迁移和侵袭, 结果显示核因子 $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 信号通路被激活, 细胞增殖与侵袭能力受到抑制, 具有一定的抑制癌细胞的能力。Priyanka 等<sup>[54]</sup>预测了蜡样芽孢杆菌 MTCC1305 的 L-谷氨酰胺酶的三维结构模型, 并进行了体外抗结肠癌细胞 (HCT-166) 实验, 对结肠癌细胞有一定的抑制作用,  $IC_{50}$  为 99.79  $\mu$ g/mL, 具有潜在的抗癌活性。衣明<sup>[55]</sup>研究发现蜡样芽孢杆菌 DM423 能通过改善肠道菌群来改善抑郁症, 采用头孢曲松钠建立大鼠肠道紊乱模型, 实验结果显示, 用蜡样芽孢杆菌 DM423 的灌胃组大鼠肠道拟杆菌属、土孢菌属等肠道正常菌丰度提高, 并促进 RIN14B 细胞分泌 5-羟色胺, 最终改善抑郁水平。

## 2 蜡样芽孢杆菌的应用

发酵在食品加工中是十分重要的一种加工手段, 发酵食品离不开各种微生物菌落, 传统的发酵食品采用自然野生菌, 通常会引入来源于环境和原料中的多种微生物<sup>[56]</sup>, 而经过不断发展, 用于各类发酵食品的微生物也展现出多样性, 蜡样芽孢杆菌是其中的一种。

白酒是我国一种具有悠久历史的传统发酵产品, 不同地区不同香型的白酒有各自独特的发酵工艺, 但白酒的酿造工艺归根结底是微生物混合发酵的过程, 不同的微生物对白酒的品质都有影响。在酿造过程中的微生物主要有三种类型: 一是起糖化作用的微生物; 二是发酵微生物, 主要产生酒精; 三是产香微生物<sup>[57]</sup>。对白酒来说香气是非常重要的感官评定标准, 所以产香微生物的筛选变得十分重要, 通过对 52 种菌类筛选发现, 蜡样芽孢杆菌 YB-1 不能利用葡萄糖产酸, 不含有色氨酸酶, 具有水解淀粉能力, 并且乙酸乙酯的产量很高, 具有提高浓香型白酒风味的能力<sup>[58]</sup>, 是一株优良的白酒发酵微生物。通过对酱香型酒醅中的芽孢杆菌进行分离鉴定, 其中蜡样芽孢杆菌能分解碳水化合物但不产气, 也能产生抗菌物质, 抑制有害微生物生长, 平衡和其他菌类的微生物环境<sup>[59]</sup>, 对稳定白酒体系具有重要作用。在另一个研究案例中, 从牛栏山二锅头中分离得到 5 种芽孢杆菌, 其中蜡样芽孢杆菌有产生较多的酯类和醛酮类化合物, 对风味有一定的贡献<sup>[60]</sup>。在以麸曲为原料酿造的白酒中, 蜡样芽孢杆菌是核心微生物, 对白酒发酵工艺起重要作用<sup>[57]</sup>。菌种的混合发酵相较于单一菌种发酵更有优势, 如蜡样芽孢杆菌和酿酒酵母混合发酵可以促进乙酸乙酯、愈创木酚和四甲基吡嗪等风味物质的产生<sup>[61]</sup>。

除白酒之外, 其他各类发酵食品都会采用适合的发酵菌种, 如非洲刺槐豆种子发酵调味品“daddawa”, 对其所用的蜡样芽孢杆菌 BC1 和 BC2 进行益生功能评价, 发现对金黄色葡萄球菌等有害菌有拮抗作用, 同时有较高的胆汁和酸耐受性并能产蛋白酶, 最重要的是这两株蜡样芽孢杆菌对卡拉胶诱导炎症所导致的小鼠爪子水肿有一定的拮抗作用, 显示出一定的抗炎潜力<sup>[62]</sup>; 又如常用调味品酱油, 金河坡<sup>[63]</sup>对从酱油中分离出来的两株蜡样芽孢杆菌 B25 和 B26 进行全基因组分析, 发现了 49 个与耐盐能力相关的基因位点, 为进一步利用蜡样芽孢杆菌发酵酱油与废渣的利用提供了新方向。

伊艳杰等<sup>[64]</sup>采用蜡样芽孢杆菌 XZ30-2 制备发酵液, 对黑曲霉有较强的抑制活性, 同时对小鼠的灌胃实验并不产生毒性, 有作为防霉剂的潜力。江超峰等<sup>[65]</sup>从一株海洋来源的蜡样芽孢杆菌中克隆得到一个新的  $\alpha$ -半乳糖苷酶基因, 具有能降解寡糖而不能降解聚糖的独特机制, 为食品的制糖产业做出了贡献。林美璇<sup>[66]</sup>从蜡样芽孢杆菌中发现了磷脂酰肌醇特异性磷脂酶 C 基因, 并成功在大肠杆菌中异源表达, 具有良好的酶切细胞表面 GPI 锚定蛋白的能力。目前已经有蜡样芽孢杆菌被制作成商业产品应用于不同方

面, 根据不同的使用对象有不同的功效, 对于人来说主要用于预防疾病、保健产品、食品补充剂等, 如预

防腹泻; 对于动物来说主要用于饲料补充剂, 表 1 列举了一些商业蜡样芽孢杆菌制剂。

表 1 商业蜡样芽孢杆菌制剂

Table 1 Commercial *Bacillus cereus* preparations

产品名称	适用对象	制造商	成分与含量	参考文献
Bactisubtil	人	最开始由 Marion Merrell Dow 和 Hoechst 实验室生产, 后来被 Aventis Pharma 合并收购	每个胶囊含有 $10^9$ 个蜡样芽孢杆菌 ATCC 14893 的孢子	[67,68]
Biosubtyl	人	越南 Biophar 公司	蜡样芽孢杆菌孢子: 每克 $10^6 \sim 10^7$ 个	[69]
Biovicerin	人	巴西 Geyer Medicamentos S. A. 公司	蜡样芽孢杆菌孢子: 每毫升 $10^6$ 个	[49]
Esporafeed Plus	猪类	西班牙 Norel 公司	蜡样芽孢杆菌 CECT 953: 每毫升 $10^9$ 个	
Pacifflor C10	小牛、家禽、兔子和猪类	Intervet International B.V 公司	$2 \times 10^8 \sim 5 \times 10^9$ 蜡样芽孢杆菌 ATCC 14893, 具体剂量取决于目标动物	
Subtyl	人	越南 24 号 Mekophar, Pharmaceutical 工厂	每个胶囊含有 $10^6 \sim 10^7$ 个蜡样芽孢杆菌	[67,69]
Toyocerin	小牛、家禽、兔子、猪类和水产养殖	日本 Asahi Vet S.A. 公司	蜡样芽孢杆菌 (NCIMB-40112/ CNCM-1012) 最低浓度为 $1 \times 10^{10}$ CFU/g, 和玉米粉、碳酸钙混合	[70]

### 3 结论与展望

当前, 开发具有益生菌潜力的菌种是一大研究热点, 随着科学技术不断进步, 学科交叉不断深入, 开发和应用微生态制剂方面取得重大发展, 作为微生态制剂的益生菌在各领域的应用正成为一个朝气蓬勃的新兴产业。蜡样芽孢杆菌益生功能的开发会对多数领域带来便利, 如作为植物生防菌能够抗植物病毒、作为动物饲料添加剂可以促进动物生长发育、作为新型的食品发酵菌能够开发不同的发酵产品等。目前已经有研究表明非致病性的蜡样芽孢杆菌在治疗腹泻、改善炎症、抗菌等方面有积极作用。尽管对蜡样芽孢杆菌的益生功能研究不算深入, 但从已有的研究结果来看非致病性蜡样芽孢杆菌具有很大的研究价值和发展潜力。

先前由于致病性蜡样芽孢杆菌所导致的食物中毒事件频发, 使研究集中于致病性蜡样芽孢杆菌的毒素检测, 而忽视了非致病性蜡样芽孢杆菌的益生功能。未来对非致病性蜡样芽孢杆菌益生功能的研究方向应聚焦于: 第一, 进一步考虑能否敲除蜡样芽孢杆菌芽孢来进一步降低或消除毒性隐患, 具有更好的安全保障; 第二, 益生活性物质的鉴定, 如具有抗菌活性分泌物的结构鉴定以及抑菌功能的作用机制; 第三: 抗炎机制的明晰, 是否参与炎症通路; 第四, 发酵食品中的应用, 如作为酵素以及发酵产品的安全性等。当前对蜡样芽孢杆菌的益生功能研究较少, 因此相关研究人员应当重视非致病性蜡样芽孢杆菌益生功能的开

发, 促进其更广泛的应用。

### 参考文献

- [1] Setlow P. Spores of *Bacillus subtilis*: their resistance to and killing by radiation, heat and chemicals [J]. J Appl Microbiol, 2006, 101(3): 514-525.
- [2] 杨芳, 司虹, 郑晓南, 等. 1 起“小餐桌”引起蜡样芽孢杆菌食物中毒的调查[J]. 预防医学论坛, 2020, 26(2): 145-146.
- [3] 应杰, 严瑶琳, 申屠平平. 某高校一起蜡样芽孢杆菌食物中毒事件分析[J]. 海峡预防医学杂志, 2020, 26(1): 77-79.
- [4] 杨久玲, 张焱, 黄坤宁, 等. 贵阳市售腐乳蜡样芽孢杆菌污染研究分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(7): 2876-2880.
- [5] 张明明, 梁美丹, 肖剑, 等. 即食米面制品中蜡样芽孢杆菌分离鉴定及毒力基因研究[J]. 食品工业科技, 2019, 40(22): 144-150.
- [6] Ramarao N, Sanchis V. The pore-forming haemolysins of *bacillus cereus*: a review [J]. Toxins (Basel), 2013, 5(6): 1119-1139.
- [7] Nallarajah J, Mujahith M I. *Bacillus cereus* subacute native valve infective endocarditis and its multiple complications [J]. Case Reports in Cardiology, 2020, 2020: 1-4.
- [8] Akamatsu R, Suzuki M, Okinaka K, et al. Novel sequence type in *Bacillus cereus* strains associated with nosocomial infections and bacteremia, Japan [J]. Emerging Infectious Diseases, 2019, 25(5): 883-890.
- [9] Coburn P S, Miller F C, LaGrow A L, et al. TLR4 modulates inflammatory gene targets in the retina during *Bacillus cereus*

- endophthalmitis [J]. BMC Ophthalmology, 2018, 18(1): 96.
- [10] Rishi E, Rishi P, Sengupta S, et al. Acute postoperative *Bacillus cereus* endophthalmitis mimicking toxic anterior segment syndrome [J]. Ophthalmology, 2013, 120(1): 181-185.
- [11] 刘辉,任婧寰,伍雅婷,等.食源性疾病 2018 年全国食物中毒事件流行特征分析[J].中国食品卫生杂志,2022,34(1):147-153.
- [12] Ramírez V, Martínez J, Bustillos Cristales M D R, et al. *Bacillus cereus* MH778713 elicits tomato plant protection against *Fusarium oxysporum* [J]. Journal of Applied Microbiology, 2021, 1(132): 470-482.
- [13] 高泽鑫,孙武,胥铃铭,等.苏云金芽孢杆菌 IX-01 胞外多糖的体外益生特性研究[J].食品与发酵工业,2022:1-10.
- [14] 陈娟,刘军,李丽,等.传统发酵豆瓣酱中益生芽孢杆菌的分离筛选与初步鉴定[J].中国酿造,2011,12:107-110.
- [15] 张海艳,刘芳,姜旭芳.蜡样芽孢杆菌的抗逆性研究[J].甘肃畜牧兽医,2022,52(3):34-36.
- [16] Huang D, Chen Y, Chen H, et al. Supplementation of *Bacillus* sp. DU-106 alleviates antibiotic-associated diarrhea in association with the regulation of intestinal microbiota in mice [J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2022, 14(2): 372-383.
- [17] 陈丽仙,吴雅琨,王安如.一株益生芽孢杆菌的分离及理化性质鉴定[J].食品科技,2011,36(12):14-17.
- [18] Hill C, Guarner F, Reid G et al. Expert consensus document. The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2014, 11(8): 506-514.
- [19] Lai Y, Chen S, Luo P, et al. Dietary supplementation of *Bacillus* sp. DU106 activates innate immunity and regulates intestinal microbiota in mice [J]. Journal of Functional Foods, 2020, 75: 104247.
- [20] Li P, Tian W, Jiang Z, et al. Genomic characterization and probiotic potency of *Bacillus* sp. DU-106, a highly effective producer of L-lactic acid isolated from fermented yogurt [J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2216.
- [21] 赵荣,单春乔,宋凡,等.4 株益生菌对 6 株致病菌的抑制作用研究[J].黑龙江畜牧兽医,2020,21:104-108.
- [22] Scharek-Tedin L, Pieper R, Vahjen W, et al. *Bacillus cereus* var. Toyoi modulates the immune reaction and reduces the occurrence of diarrhea in piglets challenged with *Salmonella typhimurium* DT104 [J]. Journal of Animal Science, 2013, 91(12): 5696-5704.
- [23] Thakur N, Nath A K, Chauhan A, et al. Purification, characterization, and antifungal activity of *Bacillus cereus* strain NK91 chitinase from rhizospheric soil samples of Himachal Pradesh, India [J]. Biotechnology and Applied Biochemistry, 2021.
- [24] 钟舒红,彭红艳,李军,等.不同方法测定益生菌体外抑菌活性的比较研究[J].黑龙江畜牧兽医,2022,6:115-119.
- [25] 张莹,李章胜,毛碧增.生防芽孢杆菌分泌的拮抗物质的研究进展[J].浙江农业科学,2016,57(12):1960-1967.
- [26] 钟小廷.产细菌素蜡样芽孢杆菌的筛选、鉴定及培养基优化[D].成都:西华大学,2014.
- [27] 卢国柱.蜡样芽孢杆菌中有效抗菌物质的分离、纯化及初步鉴定[D].烟台:烟台大学,2021.
- [28] Feliatra F, Batubara U M, Nurulita Y, et al. The potentials of secondary metabolites from *Bacillus cereus* SN7 and *Vagococcus fluvialis* CT21 against fish pathogenic bacteria [J]. Microbial Pathogenesis, 2021, 158: 105062.
- [29] Hu Z, Zhang W, Liang W, et al. *Bacillus cereus* LS2 from *Apostichopus japonicus* antagonizes *Vibrio splendidus* growth [J]. Aquaculture, 2021, 531: 735983.
- [30] 黄捷,刘文亮,许华,等.饲料中补充蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)生物膜对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)生长、抗病力及其肠道微生物组成的影响[J].渔业科学进展,2017, 38(4):87-95.
- [31] Atanasković-Marković M, Veličković T Ć, Gavrović-Jankulović M, et al. Immediate allergic reactions to cephalosporins and penicillins and their cross-reactivity in children [J]. Pediatric Allergy and Immunology, 2005, 16(4): 341-347.
- [32] Gu X, Zhang J, Li J, et al. Effects of *Bacillus cereus* PAS38 on immune-related differentially expressed genes of spleen in broilers [J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2020, 12(2): 425-438.
- [33] Miao W A, My A, Mi A, et al. Effects of probiotics *Bacillus cereus* NY5 and *Alcaligenes faecalis* Y311 used as water additives on the microbiota and immune enzyme activities in three mucosal tissues in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* reared in outdoor tanks [J]. Aquaculture Reports, 2020, 17(C): 100309.
- [34] Wang M, Liu G, Lu M, et al. Effect of *Bacillus cereus* as a water or feed additive on the gut microbiota and immunological parameters of Nile tilapia [J]. Aquaculture Research, 2017, 48(6): 3163-3173.
- [35] Xue J, Shen K, Hu Y, et al. Effects of dietary *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Paracoccus marcusii*, and *Lactobacillus*

- plantarum* supplementation on the growth, immune response, antioxidant capacity, and intestinal health of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Aquaculture Reports*, 2020, 17: 100387.
- [36] Li Y, Ye J, Lv L, et al. Pretreatment with *Bacillus cereus* preserves against D-galactosamine-induced liver injury in a rat model [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1751.
- [37] 李雅婷,叶建中,吴文瑞,等.蜡样芽孢杆菌通过改变肠道菌群减轻半乳糖胺诱导的 Sprague-Dawley 大鼠急性肝衰竭 [C]//第十届全国疑难及重症肝病大会.中国江苏苏州, 2019.
- [38] Sheng K, Xu Y, Kong X, et al. Probiotic *Bacillus cereus* alleviates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice through improvement of the intestinal barrier function, anti-inflammation, and gut microbiota modulation [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(49): 14810-14823.
- [39] 张慧莹,曾丽萍,任运红,等.乳酸芽孢杆菌发酵液护色的山药多糖对 DSS 诱导的小鼠结肠炎的改善作用及机制[J].*食品科学*,2022,9:120-127.
- [40] Feng Y, Wang L, Khan A, et al. Fermented wheat bran by xylanase-producing *Bacillus cereus* boosts the intestinal microflora of broiler chickens [J]. *Poultry Science*, 2020, 99(1): 263-271.
- [41] Gang Yang K S R Y, Wenjing Chen L D V K, Peng. Probiotic (*Bacillus cereus*) enhanced growth of Pengze crucian carp by modulating the antioxidant defense response and exerting beneficial impacts on inflammatory response via Nrf2 activation [J]. *Aquaculture*, 2020, 529.
- [42] 鲍福全,鲍朝霞,宋肖琳.蜡样芽孢杆菌治疗轮状病毒肠炎的临床观察[J].*中外医学研究*,2012,10(9):103.
- [43] Yang G, Tian X, Dong S, et al. Effects of dietary *Bacillus cereus* G19, *B. cereus* BC-01, and *Paracoccus marcusii* DB11 supplementation on the growth, immune response, and expression of immune-related genes in coelomocytes and intestine of the sea cucumber (*Apostichopus japonicus* Selenka) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 45(2): 800-807.
- [44] Ugwuodo C J, Nwagu T N T, Ugwu T T, et al. Enhancement of the anti-inflammatory effect of bromelain by its immobilization on probiotic spore of *Bacillus cereus* [J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2021, 13(3): 847-861.
- [45] Lins Rodrigues M, Damasceno D Z, Gomes R L M, et al. Probiotic effects (*Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis*) on growth and physiological parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2021, 27(2): 454-467.
- [46] 陈钰臻,姜海滨,崔广鑫,等.蜡样芽孢杆菌 YB1 对大菱鲆幼鱼生长性能、肠道消化酶、肝脏抗氧化酶及肠道组织结构的影响[J].*渔业科学进展*,2022,43(1):97-105.
- [47] Muthukrishnan S, Hoong M C, Chen W W, et al. Efficacy of *Bacillus cereus* strain BP-MBRG/1b and prebiotic fructooligosaccharides dietary supplementation on growth performance and disease resistance of *Macrobrachium rosenbergii* (De Mann) towards *Aeromonas hydrophila* AH-1N [J]. *Aquaculture Research*, 2021, 52(4): 1657-1665.
- [48] Kong Q, Liu T, Xiao H. Editorial: effects of probiotics and prebiotics on gut pathogens and toxins [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 856779-856779.
- [49] Hong H A, Duc L H, Cutting S M. The use of bacterial spore formers as probiotics: Table 1 [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2005, 29(4): 813-835.
- [50] Wang Y, Zhang J, Wang Y, et al. Isolation and characterization of the *Bacillus cereus* BC7 strain, which is capable of zearalenone removal and intestinal flora modulation in mice [J]. *Toxicon*, 2018, 155: 9-20.
- [51] Yang G, Tian X, Dong S. *Bacillus cereus* and rhubarb regulate the intestinal microbiota of sea cucumber (*Apostichopus japonicus* Selenka): species-species interaction, network, and stability [J]. *Aquaculture*, 2019, 512: 734284.
- [52] Alam S, Masood S, Zaneb H, et al. Effect of *Bacillus cereus* and phytase on the expression of musculoskeletal strength and gut health in Japanese quail (*Coturnix japonica*) [J]. *The Journal of Poultry Science*, 2020, 57(3): 200-204.
- [53] 周倩,饶凤琴,霍花,等.蜡样芽孢杆菌调控 NF- $\kappa$ B 信号通路以抑制口腔鳞状细胞癌细胞增殖、迁移及侵袭[J].*实用医学杂志*,2021,37(6):735-739.
- [54] Singh P, Banik R M, Shah P. Amino acid sequence determination, in silico tertiary structure prediction and anticancer activity assessment of l-glutaminase from *Bacillus cereus* [J]. *Network Modeling Analysis in Health Informatics and Bioinformatics*, 2016, 5(1): 2-9.
- [55] 衣明.蜡样芽孢杆菌 DM423 对大鼠肠嗜铬细胞 5-HT 分泌水平的调节作用研究[D].大连:大连医科大学,2018.
- [56] 陈镜如,边鑫,杨杨,等.中国传统发酵食品微生物多样性研究进展[J].*中国调味品*,2022,47(2):205-210.
- [57] 蒋燕明,叶成玉,陈家豪,等.酿造微生物对白酒风味影响的研究进展[J].*酿酒*,2021,48(6):10-15.
- [58] Zhao C, Yan X, Yang S, et al. Screening of *Bacillus* strains from Luzhou-flavor liquor making for high-yield ethyl

- hexanoate and low-yield propanol [J]. *Lwt Food Science & Technology*, 2017, 77: 60-66.
- [59] 钟姝霞,邓杰,汪文鹏,等.酱香型酒醅产香芽孢杆菌的分离鉴定及其代谢产物分析[J].*现代食品科技*,2017,33(4):89-95.
- [60] 杨春霞,廖永红,刘峻雄,等.牛栏山二锅头酒醅中芽孢杆菌分离鉴定及发酵风味分析[J].*食品工业科技*,2012,33(9): 69-74.
- [61] 程国富,郑自强,卫春会,等.蜡样芽孢杆菌与酿酒酵母混菌发酵效果探究[J].*酿酒科技*,2021,3:53-59.
- [62] Nwagu T N, Ugwuodo C J, Onwosi C O, et al. Evaluation of the probiotic attributes of *Bacillus* strains isolated from traditional fermented African locust bean seeds (*Parkia biglobosa*), “daddawa” [J]. *Annals of Microbiology*, 2020, 70(1): 2-15.
- [63] 金河坡(Soteyome Thanapop).分离于酱油渣蜡样芽孢杆菌的耐盐机制研究[D].广州:华南理工大学,2016.
- [64] 伊艳杰,刘阳,侯志鹏,等.蜡样芽孢杆菌 XZ30-2 发酵液对黑曲霉的控制及安全性评价[J].*现代食品科技*,2022,38(1):36-43.
- [65] 江超峰,李愷愷,李唐,等.一种海洋来源蜡样芽孢杆菌  $\alpha$ -半乳糖苷酶基因的克隆表达及功能鉴定[J].*大连海洋大学学报*,2021,36(1):44-50.
- [66] 林美璇.来源于蜡样芽孢杆菌的磷脂酰肌醇特异性磷脂酶 C(PI-PLC)的异源表达、纯化和应用[D].无锡:江南大学, 2020.
- [67] Hoa N T, Baccigalupi L, Huxham A, et al. Characterization of *Bacillus* species used for oral bacteriotherapy and bacteriophylaxis of gastrointestinal disorders [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66(12): 5241-5247.
- [68] Sorokulova I. A comparative study of the biological properties of biosporin and other commercial *Bacillus*-based preparations [J]. *Mikrobiolohichnyĭ zhurnal (Kiev, Ukraine: 1993)*, 1997, 59(6): 43-49.
- [69] Le H Duc, Hong H A, Barbosa T M, et al. Characterization of *Bacillus* probiotics available for human use [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(4): 2161-2171.
- [70] Jadamus A, Vahjen W, Simon O. Growth behaviour of a spore forming probiotic strain in the gastrointestinal tract of broiler chicken and piglets [J]. *Archives of Animal Nutrition*, 2001, 54(1): 1-17.