doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.08.005

枯草芽孢杆菌二联活菌的生物学特性及其基因组分析 *

刘 伟[1] 费笛波[1] 张 震[1] 张治国[2] 皮雄娥[1△]

（1 浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所 浙江 杭州 310021；2 浙江省农业科学院食品科学研究所 浙江 杭州 310021）

摘要 目的：枯草芽孢杆菌二联活菌是我国临床上应用比较广泛的微生态制剂。为了评估该种微生态制剂对肠道健康的影响，对其含有的两种细菌枯草芽孢杆菌 R-179 和屎肠球菌 R-026 的生物学特性和耐药性展开研究。**方法：**通过细菌生长曲线的测定，分析了两种细菌在好氧和厌氧条件下生长状况和氧化还原电位，并对两种菌的抗生素耐药特性进行了检测；同时采用三代测序技术对两株细菌进行了基因组测序和生物信息学分析。**结果：**枯草芽孢杆菌 R-179 在好氧条件下生长，厌氧情况下并不生长，其在肠道环境中可以有效的消耗氧气；两种菌混合培养可以有效降低氧化还原电位，耐药性分析表明该两种菌对青霉素、万古霉素敏感，基因组分析表明该两种菌并不含有耐药转移元件，而且枯草芽孢杆菌还分泌多种抗菌活性物质。**结论：**利用现代研究手段，结合最新测序技术，挖掘和探讨了枯草芽孢杆菌二联活菌在肠道中的作用机制，为枯草杆菌二联活菌用于临床消化道疾病治疗的机理研究和安全应用评价提供了重要的临床参考。

关键词：枯草芽孢杆菌；屎肠球菌；基因组；耐药性；生长

中图分类号：Q938.1；Q939.9 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273(2021)08-1425-05

Characterization and Genome Analysis of *Enterococcus Faecium* and *Bacillus Subtilis**

LIU Wei[1], FEI Di-bo[1], ZHANG Zhen[1], ZHANG Zhi-guo[2], PI Xiong-e[1△]

(1 Institute of Plant Protection and Microbiology, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou, Zhejiang, 310021, China;

2 Institute of Food Sciences, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou, Zhejiang, 310021, China)

ABSTRACT Objective: Live Combined *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecium* probiotics is widely used in clinical treatment in China. In order to evaluate the effects of the probiotics on intestinal health, the biological characteristics and drug resistance of *B. subtilis* R-179 and *E. faecium* R-026 were investigated. **Methods:** In this study, the growth curve and redox potential of the two strains were measured under aerobic and anaerobic condition. Moreover, the drug resistance of the strains was investigated by automatic microbial identification instrument; Furthermore, the genomes were sequencing by Pacbio sequel and bioinformation analyses was done. **Results:** The results showed that B. subtilis could grow under aerobic conditions, but does not grow under anaerobic conditions. It can effectively consume oxygen in the intestinal environment; the mixed co-culture of the two strains effectively reduced the oxidation-reduction potential, and the drug resistance analysis indicated the two strains were sensitive to penicillin and vancomycin. Genomic analysis suggested that the two strains did not contain resistance transfer elements, and B. subtilis also secretes a variety of antibacterial active substances. **Conclusion:** Using modern research methods and the latest sequencing technology, the mechanism of live Combined *B. subtilis* and *E. faecium* Granules in gut was explored and discussed, which is of important clinical reference for the mechanism research and safety application evaluation of live combined bacteria in the treatment for digestive tract diseases.

Key words: *Bacillus subtilis*; *Enterococcus faecium*; Genome; Drug resistance; Growth

Chinese Library Classification(CLC): Q938.1; Q939.9 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2021)08-1425-05

前言

益生菌是一种能改善肠道菌群的活微生物，已成功地用于治疗各种疾病。枯草芽孢二联活菌是我国临床应用比较广泛的二联活菌微生态药品，主要含有枯草芽孢杆菌 R-179 和屎肠球菌 R-026，主要用于消化不良、食欲不振、营养不良、肠道菌群紊乱引起的腹泻、便秘、腹胀、肠道内异常发酵、肠炎，使用抗生素引起的肠黏膜损伤等症。然而，含有屎肠球菌和枯草芽孢杆菌的市售复合益生菌产品对人体肠道调节机制目前仍然是未知的。因此，进一步评价这些益生菌的安全性和有效作用机制就显得尤为重要。

本文通过对单个益生菌和混菌的生长状况和理化指标的

* 基金项目：浙江省公益性项目(LGN19C010003)

作者简介：刘伟(1978-)，男，博士，主要研究方向：肠道微生态，E-mail：biolwei@sina.com

△ 通讯作者：皮雄娥，E-mail：pixionge@126.com

(收稿日期：2020-10-21 接受日期：2020-11-23)

研究，结合基因组测序技术对两种益生菌进行全基因组测序，以期能够阐明两种益生菌对人体肠道健康的机制，为该制剂在临床用药的安全性上提供理论基础，同时，为一些新的活性代谢产物的挖掘和研究提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 枯草芽孢杆菌 R-179，屎肠球菌 R-026，由北京韩美药品有限公司提供。

1.1.2 培养基 LB 培养基，BHI 培养就和 RCM 培养基购自于杭州微生物试剂有限公司。

1.1.3 主要试剂与仪器 药敏检测试剂盒，上海星佰生物技术有限公司；生长曲线采用天津杰灵 Microscreen16 生长曲线测定仪测定；氧化还原电位采用丹麦 Unisense 公司的微电极；耐药性评估由法国生物梅里埃公司的 VITEK 2 Compact 全自动细菌鉴定药敏分析仪测定。

1.2 方法

1.2.1 细菌的培养和生长 将枯草芽孢杆菌 R-179 和屎肠球菌 R-026 分别接种到 LB 和 BHI 培养基中培养，次日将过夜培养菌液进行划线培养，部分再继续接种到 RCM 厌氧培养基培养进行后续检测。

1.2.2 耐药性检测 细菌耐药性使用梅里埃 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定药敏仪，严格按照仪器操作规程执行。将平板上的单菌落用棉棒刮下，用 0.45%生理盐水溶液中稀释到菌悬液浓度为 0.50-0.63 McF 麦氏单位，上机进行检测。其中，肠杆菌采用 GP67 药敏测试卡。结果由 VITEK 2 Compact 分析系统自动读取数据，标准菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC25923（American type culture collection, Manassas, VA）作质控监测。采用药敏试剂盒测定抗菌药物对枯草芽孢杆菌的最小抑菌浓度（Minimal inhibition concentation，MIC），将稀释好的枯草芽孢杆菌分别加入到 96 孔板，过夜培养后进行 OD 值的检测。

1.2.3 氧化电位的测定 过夜培养好的菌液按着 1%的接种量分别接种到新鲜的 RCM 培养基中进行培养，3 个小时后检测溶液中的氧化还原电位。

1.2.4 基因组的测序及组成分析 将两株菌株以 2%（v/v）的接种量接种至 100 mL LB 和 BHI 液体培养基中于 37℃恒温摇床培养 4 h。之后将菌液以 6000× g 离心 10 min 得到菌泥，送至上海欧易生物有限公司进行基因组测序。建库测序及数据分析部分由上海欧易生物医学科技有限公司完成。采用 PacBio Sequel 测序平台进行测序。测序获得的三代测序数据(Subreads)首先使用 Falcon 进行原始数据的自我矫正及基因组初步组装，基于 Overlap-Layout-Consensus 算法初步组装得到一致性序列(Consensus)，之后采用 GenomicConsensus 软件基于其中的 arrow 算法以原始数据(Subreads)为辅助再次对一致性序列进行矫正，再使用 Sprai（Single pass read accuracy improver）矫正过的原始序列(Corrected Subreads)作为辅助数据将组装出来的一致性序列 (Corrected Consensus) 进行 Circulator 环化处理，最终得到环化的细菌基因组(Genome)。

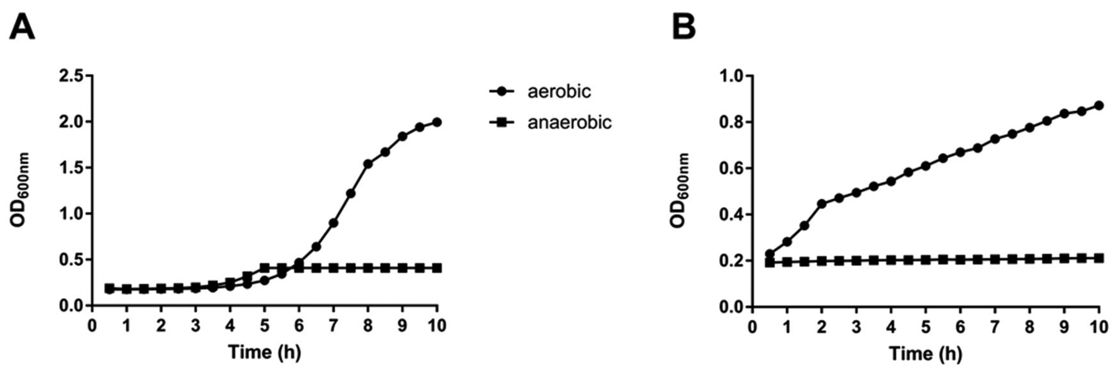
1.2.5 antiSMASH 寻找次级代谢基因簇 在 antiSMASH 5.0软件中输入菌株基因组核苷酸序列，选择物种（革兰氏阳性菌或革兰氏阴性菌）后，系统将对其进行查找。结果以图表形式呈现。

1.2.6 数据分析 实验中 OD600、氧化还原电位值的测定均为三次平行，结果以平均值± 标准差表示，采用 GraphPad Prism 作图，每组数据采用单因素方差分析（One way ANOVA）。检验水准α=0.05。

2 结果

2.1 两株细菌在不同条件的生长状况

为了研究两株菌在肠道极端厌氧条件下的生长情况，分别在有氧和无氧条件下对屎肠球菌 R-026 和枯草芽孢杆菌 R-179 进行生长性能的研究。各菌株以相同的接种量、相同的培养条件进行生长，呈现出不同的生长情况（图 1）。从生长曲线可以看出，同一种菌株在不同的条件的生长情况不同，尤其枯草芽孢杆菌在厌氧下几乎不生长。



A. 屎肠球菌 R-026；B. 枯草芽孢杆菌 R-179

A. *B. subtilis* R-026; B. *E. faecium* R-179

图 1 菌株在好氧和无氧条件培养下的生长曲线

Fig.1 The growth curve of the two strains under aerobic and anaerobic condition

2.2 细菌氧化还原电位

为了考察两株菌单独培养和联合培养过程中的氧化还原电位的差异，接种后培养 3 个小时后，对溶液进行了氧化还原电位的检测，结果如图 2。由图可以看出，与对照相比，两株菌

在生长过程中，氧化还原电位降低（枯草芽孢 vs 对照，P=0.0003；屎肠球菌 vs 对照，P=0.0002），枯草芽孢与屎肠球菌两者并没有显著差异（P=0.5820）。两种细菌混合培养比单独培养氧还电位更低（P=0.0007），具有显著性差异。

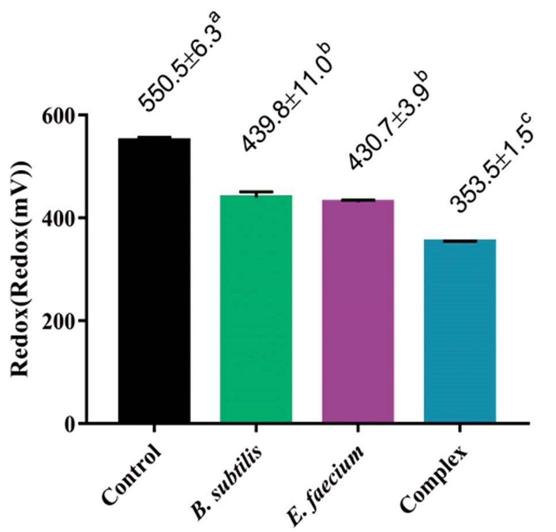


图 2 菌株在无氧条件培养下氧化还原电位

Fig. 2 The redox potential of the strains under anaerobic condition

2.3 两株菌的耐药性

屎肠球菌 R-026 和枯草芽孢杆菌 R-179 的耐药情况如表 1 所示。选用了青霉素(PEN)、氨苄青霉素(AMP)、环丙沙星(CIP)、左氧氟沙星(LEV)、莫西沙星(MOX)、红霉素(ERY)、克林霉素(CLI)、喹奴普汀(QUI)、利奈唑琳(LIN)、万古霉素(VAN)、四环素(TET)、替米考星(TIL)、头孢噻呋(CEF)、氧氟沙星(OFL)、多西环素(DOX)抗生素进行测试。由表 1 可知，屎肠球菌 R-206 和枯草芽孢杆菌 R-179 对青霉素、万古霉素敏感。除了屎肠球菌 R-026 对红霉素、克林霉素表现有一定的耐药性以外，对其他抗生素都比较敏感。枯草芽孢杆菌 R-179 对抗生素也比较敏感，都低于 1 μg/mL 以下。

2.4 基因组组装及分析

对枯草芽孢杆菌 R-179 和屎肠球菌 R-026 两株菌进行了全基因组测序，最终得到环化的细菌基因组(图 3)。使用软件 prodigal (v2.6.3)来进行编码基因预测，获得了两株细菌的基因组组成。如表 2 所示，枯草芽孢杆菌 R-179 和屎肠球菌 R-026 各含有一个质粒。枯草芽孢杆菌 R-179 基因组大小为 4,080,637bp，基因个数为 4007 个，GC 含量为 44.53%；其携带的质粒大小为 60,686bp，有 83 个基因组成，GC 含量为 38.74%。屎肠球菌 R-026 基因组大小为 2,764,493bp，基因个数为 2627 个，GC 含量为 39.16%；其携带的质粒大小 78,860bp，有 90 个基因组成，GC 含量为 36.14%。

表 1 屎肠球菌 R-026 和枯草芽孢杆菌 R-179 的 MIC 值

Table 1 The MIC of *E. faecium* R-026 and *B. subtilis* R-179

	MIC (μg/mL)														
	PEN	AMP	CIP	LEV	MOX	ERY	CLI	QUI	LIN	VAN	TET	TIL	CEF	OFL	DOX
E. faecium R-026	1	≤ 2	1	2	1	≥ 8	≥ 8	1	2	≤ 0.5	≤ 1	-	-	-	-
and *B. subtilis* R-179	≤ 0.12	-	-	-	-	≤ 0.12	0.5	-	-	≤ 0.25	-	1	≤ 0.12	≤ 0.12	≤ 0.25

Note: -: Not detected.

表 2 屎肠球菌 R-026 和枯草芽孢杆菌 R-179 的基因组组成

Table 2 The genomics profiles of *E. faecium* R-026 and *B. subtilis* R-179

Genomic type	Genomic size (bp)	Number	Average length	GC content
B. subtilis R-179 chromosome	4080637	4007	895.78	44.53%
B. subtilis R-179 plasmid	60686	83	557.96	38.74%
E. faecium R-026 chromosome	2764493	2627	910.66	39.16%
E. faecium R-026 plasmid	78860	90	709.37	36.14%

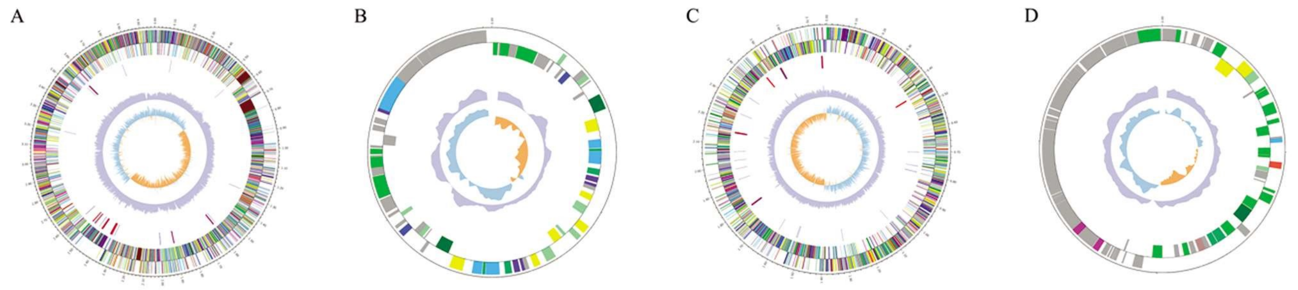
2.5 次级代谢产物的预测

为了研究两种益生菌次级代谢产物和深入挖掘功能活性物质，将测序的基因组提交到 antiSMASH 平台，进行代谢产物编码基因的同源性比对。从表 3 可以看出，枯草芽孢杆菌 R-179 分泌很多次级代谢产物，包括丰原素(fengycin)、表面活性素(surfactin)等脂肽类物质，他们都由非核糖体多肽类化合物（nonribosomal peptide，NRP）和聚酮类化合物(polyketide，PK)基因编码合成的。除此之外，其他肽类如环肽、硫肽也具有抗菌作用。在屎肠球菌 R-206 基因组中比对分析中，只发现一种活性物质肠球菌素。

3 讨论

3.1 实验结果分析

益生菌的科学共识指南中指出，益生菌要有安全性评价和功能性研究[1]。本文评估了二联活菌中两株益生菌枯草芽孢杆菌 R-179 和屎肠球菌 R-026 在不同氧气条件下的生长状况及对氧化还原电位的影响，结果显示两种菌株在有氧条件下均能快速生长，且两菌株联合培养能显著降低氧化还原电位。在肠道菌群紊乱时，肠道内环境改变，这时能够降低肠道微生态失衡造成的氧分压升高，促进肠道丁酸含量增加，恢复肠上皮细



A. 枯草芽孢杆菌 R-179 基因组图;B.枯草芽孢杆菌 R-179 质粒图;C.屎肠球菌 R-026 基因组图;D.屎肠球 R-206 菌质粒图 注:从内到外依次为 GC skew、GC 含量、非编码 RNA(rRNA 红色,tRNA 蓝色,sRNA 绿色)、滞后链 COG 注释、前导链 COG 注释

A. Chromosome map of B. subtilis R-179; B. Plasmid map of B. subtilis R-179; C. Chromosome map of E. feacium R-026; D. Plasmid map of E. feacium R-026

图 3 两种细菌的基因组完成图

Fig. 3 The genomics maps of *E. faecium* R-026 and *B. subtilis* R-179

Note: The circle shows predicted coding regions color-coded by role categories. From inside to outside, the sequence was GC skew, GC content, non coding RNA (red, rRNA; blue,tRNA;green, sRNA), COG annotation of lagging strand, COG annotation of leading strand.

表 3 通过 antiSMASH 挖掘到的次级代谢产物及其相似性分析

Table 3 The analysis of secondary metabolite and similarity by antiSMASH

Strain	Coding region	Metabolite	Type	Similarity
B. subtilis R-179	529939-612173	fengycin	NRP	100%
	670168-784932	bacillaene	Polyketide+NRP	100%
	2108021-2171456	surfactin	NRP	82%
	2301312-2323221	sporulation killing factor	Head-to-tailcyclized peptide	100%
	2853860-2895278	bacilysin	Other	100%
	2898576-2920187	subtilosin A	Thiopeptide	100%
	3436856-3486597	bacillibactin	NRP	100%
E. faecium R-026	2330708-2350840	enterocin A	Bacteriocin	100%

胞正常能量供应,改善肠道内环境的益生菌,可以称作先锋益生菌。研究提示,在肠道菌群紊乱,肠腔内氧分压升高时,枯草杆菌二联活菌能够作为先锋益生菌可通过消耗氧气制造厌氧环境,促进双歧杆菌、乳酸杆菌等肠道厌氧菌的生长。我们对枯草芽孢杆菌 R-179 和屎肠球菌 R-026 的耐药性测试结果显示,两株菌对常见抗生素敏感,尤其是万古霉素,两株菌 MIC 值均≤ 0.5 μg/mL,对万古霉素敏感。此外,基于全基因组测序生物信息分析,我们发现了两种益生菌均能分泌一些活性物质,其中枯草芽孢杆菌中代谢产生很多抗菌肽,这些活性分子有助于枯草芽孢杆菌的机理研究与功能产品开发。

3.2 研究意义

益生菌在调节肠道菌群的健康获益不断被认可,但机制研究仍在不断探索当中[2]。有报道提出,婴儿肠道菌群的建立类似于生态演替的过程,菌群组成不断重构,最终形成复杂而完善的肠道微生态[3]。当肠道菌群紊乱时,肠道菌群多样性降低,极端厌氧的优势菌群减少,兼性厌氧菌增加,肠道微生态恢复的过程与健康婴儿肠道微生态建立过程类似,就如同 " 次生演替 ",这种次生演替的过程为:肠道稳态被破坏后,pioneer species(先锋菌种)的加入,消耗肠腔内多余的氧气,促进肠道丁酸增加,结肠细胞利用丁酸供能的同时消耗肠腔外的氧,恢复无氧肠腔内环境,进而促进专性厌氧菌的定植,逐渐恢复肠道稳态。其中先锋菌种在肠道微生态建立及恢复过程中发挥关键作用[4]。因此,肠腔内氧的含量与肠道微生态能否保持平衡密切相关[5,6]。

另外,益生菌的安全性在临床应用中备受关注,尤其是屎肠球菌。2002 年 FAO/WHO 报告特别指出:肠球菌作为一个院内感染的重要病原菌,对万古霉素耐药性增加,但一些肠球菌表现出益生菌特性,生产者有义务证明这些益生菌菌株不存在转移性耐药性或其他潜在毒性[7]。早在 2008 年,加拿大 Rosell 研究所就对枯草芽孢杆菌 R-179 和屎肠球菌 R-026 的安全性进行评估,结果显示枯草芽孢杆菌 R-179 不存在腹泻和催吐毒素,屎肠球菌 R-026 未观察到毒力因子,且两个菌株对受试抗生素均敏感,大鼠高剂量口服 28 天未观察到毒性或不耐受现象,因此作者认为枯草杆菌二联活菌作为益生菌使用是安全的[8]。

抗生素药物加剧了细菌耐药菌株的产生[9]。而耐药菌株的发展则会增加疾病治疗的难度和成本,因此细菌的耐药性研究则显得尤为重要。通过对耐药基因的鉴定挖掘能够一定程度上帮助我们揭开耐药机制,为疾病的治疗、药物研发提供参考。随着基因组测序技术的发展,通过全基因组测序分析益生菌潜在作用及安全性成为可能[10]。利用抗生素抗性基因(CARD)数据库[11],分析枯草杆菌二联活菌全基因组序列,结果发现屎肠球菌R-026 不含万古霉素耐药基因,且不含有耐药转移元件。自上市原来,枯草杆菌二联活菌在多项临床研究中均显示出良好

的安全性[12-15]。2018年Nature发表的一项研究显示，枯草芽孢杆菌能够分泌丰原素（fengycin）直接抑制金黄色葡萄球菌在肠道的定植[16]。对妈咪爱中枯草芽孢杆菌R-179的全基因组测序代谢产物预测结果也显示，枯草芽孢杆菌R-179可以分泌包括丰原素（fengycin）在内的多种抗菌、抑菌物质，这与既往枯草芽孢杆菌代谢产物的研究结果一致[17]，同时屎肠球菌R-026也可以分泌肠球菌素，因此枯草杆菌二联活菌具有很好的抗菌、抑菌效果。临床研究结果显示：H7N9高致病性禽流感患者，补充枯草杆菌二联活菌可以减少继发细菌感染[18]。另外，枯草杆菌二联活菌用于重症患者，能够减少呼吸机相关性肺炎的发生，这可能与加入益生菌后减少潜在致病微生物胃部定植相关[19]。除了对细菌致病菌的抑制作用外，也有研究显示，枯草芽孢杆菌R-179对白色念珠菌也有很好的抑制作用[20]。

3.3 研究的创新性

近年来肠道微生态与人体健康的关系成为国际研究的热点[21,22]。在中国，许多微生态制剂在临床使用上都取得了较好的干预效果，但其机理研究较少，特别是对二联活菌或者多联活菌制剂内在干预机制尚无研究。本研究评估了屎肠球菌和枯草芽孢的联合用药机制和安全性评价，证明枯草杆菌二联活菌可以有效降低氧化还原电位；而枯草杆菌二联活菌全基因组测序的完成，为新一代微生态制剂的研制和代谢活性物质的挖掘提供了一种策略。

3.4 研究的不足与展望

体外研究表明，二联活菌制剂具有潜在的有益功能。然而，体外实验与实际人体消化系统存在较大差异，所以还需要结合动物模型和人体试验来开展功效的探索和评价。此外，枯草芽孢二联活菌虽然可以降低氧化还原电位，但该因子与代谢产物两者之间在发挥益生功效中孰轻孰重以及两者之间的关联性也不得而知，需要后续进一步研究。在此基础上开展二联活菌及基因突变工程菌对肠道菌群和代谢产物的影响，才能更客观更科学地阐明该种微生态制剂在预防或者治疗消化性疾病的作用机制。

参 考 文 献(References)

[1] 中国食品科学技术学会益生菌分会. 益生菌的科学共识（2020年版）[J]. 中国食品学报, 2020: 1-5

[2] Sanders M, Merenstein D, Reid G, et al. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16: 1-1

[3] Sprockett D, Fukami T, Relman DA. Role of priority effects in the early-life assembly of the gut microbiota[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2018, 15(4): 197-205

[4] Kriss M, Hazleton K, Nusbacher N, et al. Low diversity gut microbiota dysbiosis: drivers, functional implications and recovery[J]. Curr Opin Microbiol, 2018, 44: 34-40

[5] Litvak Y, Byndloss M, Baumler A. Colonocyte metabolism shapes the gut microbiota[J]. Science, 2018, 362(6418): eaat9076

[6] Rivera-Chάvez F, Zhang L, Faber F, et al. Depletion of Butyrate-Producing Clostridia from the Gut Microbiota Drives an Aerobic Luminal Expansion of Salmonella [J]. Cell Host Microbe, 2016, 19: 443-454

[7] Fao/who. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London Ontario, Canada, 2020, 301: 1-11

[8] Tompkins TA, Hagen KE, Wallace TD, et al. Safety evaluation of two bacterial strains used in asian probiotic products [J]. Can J Microbiol, 2008, 54(5): 391

[9] D'Costa VM, King CE, Kalan L, et al. Antibiotic resistance is ancient [J]. Nature, 2011, 477(7365): 457-461

[10] Nguyen M, Olson R, Shukla M, et al. Predicting antimicrobial resistance using conserved genes [J]. PLoS Comput Biol, 2020, 16(10): e1008319

[11] Alcock BP, Raphenya AR, Lau TTY, et al. CARD 2020: antibiotic resistome surveillance with the comprehensive antibiotic resistance database[J]. Nucleic Acids Res, 2020, 48(D1): D517-D525

[12] Tompkins TA, Xu X, Ahmarani J. A comprehensive review of post-market clinical studies performed in adults with an Asian probiotic formulation[J]. Benef Microbes, 2010, 1(1): 93-106

[13] 王惠吉, 梁晓梅, 于中麟, 等. 枯草杆菌屎肠球菌二联活菌胶囊治疗急慢性腹泻的疗效及安全性 [J]. 中国新药杂志, 2004, 13(5): 452-455

[14] 向军英, 冯迎春. 美常安联合柳氮磺吡啶治疗溃疡性结肠炎22例[J]. 世界华人消化杂志, 2006. 17: 1742-1744

[15] 刘东海, 刘小玲. 妈咪爱与思密达联用治疗小儿轮状病毒性肠炎临床疗效观察[J]. 中国妇幼保健, 2008, 23(20): 2913-2914

[16] Piewngam P, Zheng Y, Nguyen TH et al. Pathogen elimination by probiotic Bacillus via signalling interference [J]. Nature, 2018, 562 (7728): 532-537

[17] 赵朋超, 王建华, 权春善, 等. 枯草芽孢杆菌抗菌肽生物合成的研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2010, 30(10): 108-113

[18] Hu X, Zhang H, Lu H, et al. The Effect of Probiotic Treatment on Patients Infected with the H7N9 Influenza Virus[J]. PLoS One, 2016, 11 (3): e0151976

[19] Zeng J, Wang C, Zhang F-S, et al. Effect of probiotics on the incidence of ventilator-associated pneumonia in critically ill patients: a randomized controlled multicenter trial[J]. Intensive Care Med, 2016, 42(6): 1018-1028

[20] Zhao C, Lv X, Fu J, et al. In vitro inhibitory activity of probiotic products against oral Candida species[J]. J Appl Microbiol, 2016, 121 (1): 254-262

[21] Kim MH, Yun KE, Kim J, et al. Gut microbiota and metabolic health among overweight and obese individuals [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 19417

[22] Sάnchez B, Delgado S, Blanco-Mίguez A, et al. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease [J]. Mol Nutr Food Res, 2017, 61(1)