

张美华, 高祎欣, 徐来之, 等. 犬源芽胞杆菌的分离鉴定及体外益生功能评估 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (12): 51-58.

ZHANG M H, GAO Y X, XU L Z, et al. Isolation and identification of *Bacillus* from canine sources and evaluation of its probiotic properties *in vitro* [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (12): 51-58.

## 犬源芽胞杆菌的分离鉴定及体外益生功能评估

张美华<sup>1</sup>, 高祎欣<sup>1</sup>, 徐来之<sup>1</sup>, 李嘉宁<sup>1,2</sup>, 范文韬<sup>1\*</sup>, 宋素泉<sup>1\*</sup>

(1. 南京农业大学动物医学院, 江苏 南京 210014;

2. 山东农业大学动物医学院, 山东 泰安 271000)

**摘要:** 旨在开发具有调节犬类肠道健康能力的细菌。本研究从犬的肠道内容物分离出的菌株中筛选出3株具有良好抗氧化、抗逆能力的益生菌, 并进行了分子鉴定和安全性评估。结果: 16S rRNA 测序结果显示2株菌为枯草芽胞杆菌, 分别命名为B3-2和B4-8; 1株为贝莱斯芽胞杆菌, 命名为B3-14。抗氧化抗逆性试验结果表明, 这3株芽胞杆菌的超氧阴离子清除能力均超过75%, 1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基清除率均超过67%, 具有形成保护性生物被膜的能力, 同时该3株菌在强酸和高胆盐环境中表现出较高的存活率。在安全性方面, B4-8和B3-14不具有溶血性, 连续灌胃小鼠21 d后, 小鼠未见不良反应, 心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏等脏器未出现病理变化。综上, 本研究证实了分离得到的3株芽胞杆菌具有良好的益生特性, 具有作为犬用益生菌的潜力, 为开发新型犬类益生菌补充剂提供了候选菌株。

**关键词:** 抗氧化; 枯草芽胞杆菌; 分离鉴定; 抗逆性

中图分类号: S825 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2025)12-0051-08

## Isolation and identification of *Bacillus* from canine sources and evaluation of its probiotic properties *in vitro*

ZHANG Meihua<sup>1</sup>, GAO Yixin<sup>1</sup>, XU Laizhi<sup>1</sup>, LI Jianing<sup>1,2</sup>, FAN Wentao<sup>1\*</sup>, SONG Suquan<sup>1\*</sup>

(1. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210014, China;

2. College of Veterinary Medicine, Shandong Agricultural University, Tai'an 271000, China)

**Abstract:** To develop probiotics with the ability to regulate intestinal health in dogs, three strains with good antioxidant and stress resistance were screened from isolates obtained from the intestinal contents in dogs. Molecular identification and safety evaluation were also conducted. The results were that 16S rRNA sequencing proved three strains to be *Bacillus subtilis* B3-2, *Bacillus velezensis* B3-14, and *Bacillus subtilis* B4-8. Antioxidant and stress-resistance experiments demonstrated that these strains exhibited superoxide anion scavenging capacities exceeding 75% and DPPH radical scavenging rates over 67%. They also showed the ability to form protective biofilms and displayed high survival rates under strong acidic and high bile salt conditions. Regarding safety, B4-8 and B3-14 were non-hemolytic, and no adverse effects or pathological changes in major organs (heart, liver, spleen, lungs, and kidneys) were observed in the tested mice after continuous gavage for 21 days. In summary, this study confirmed the excellent probiotic properties of the three isolated *Bacillus* strains, highlighting their potential as canine probiotics and providing candidate strains for development of novel canine probiotic supplements.

**Keywords:** antioxidant; *Bacillus subtilis*; isolation and identification; stress resistance

随着人们生活水平的提高, 犬在家庭中的地位逐渐上升, 人们对犬的肠道健康关注度也日益增强。肠道疾病通常由于氧化应激及微生态失衡等原因引起。

传统治疗肠道疾病的方法主要依赖抗生素, 容易导致细菌产生耐药性, 过度的药物残留会破坏肠道菌群平衡, 使犬更容易发生便秘、拉稀、消化不良等肠道疾病, 严重危害了犬的机体健康。

益生菌具有安全无毒和不易产生耐药性等特点, 能够通过改善犬的肠道微生物菌群, 产生有益影响, 并且可作为食品或饲料添加剂直接口服使用, 是替代或减少抗生素使用的理想选择。芽胞杆菌(*Bacillus*)作为常用的益生菌添加剂<sup>[1-2]</sup>, 不仅具有较好的稳定性和抗逆性, 能够耐受胃酸和胆汁, 通过消化系统顺利到达肠道并发挥作用, 还能够产生多种有益的代谢

收稿日期: 2025-01-06; 修回日期: 2025-07-12

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFC2105005)

第一作者: 张美华, 女, 博士研究生

\*通信作者: 宋素泉, 教授, 主要从事动物源性食品安全、宠物疾病的发病机制及调控、动物营养代谢病与中毒毒病方面的研究, E-mail: suquan.song@njau.edu.cn; 范文韬, 副教授, 主要从事动物消化道疾病发病机制及防控、动物肠道健康营养调控方面的研究, E-mail: wentao.fan@njau.edu.cn.

产物,如分泌抗氧化酶,帮助减少体内自由基的积累,降低氧化应激,保护细胞免受损伤;此外,它还能合成维生素、氨基酸和有机酸,为犬的生长发育提供支持<sup>[3]</sup>;枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis*)定植在肠道后能有效调节肠道菌群,保持肠道菌群的平衡,这对宠物犬的肠道健康至关重要<sup>[4-7]</sup>。在畜禽养殖领域,枯草芽胞杆菌已广泛应用于饲料添加剂且效果良好<sup>[8-9]</sup>,能够促进畜禽的生长性能,增强免疫系统功能,并改善肠道健康<sup>[10]</sup>。这些成果为其在犬用添加剂中的应用提供了宝贵经验。与传统药物相比,枯草芽胞杆菌副作用较少,适合长期使用,不仅可以辅助治疗急性肠道问题,还在慢性疾病管理中具有显著优势。因此,深入挖掘有潜力的益生菌并阐明其功能特性对益生菌产品的开发显得尤为重要。通过科学合理地应用益生菌,不仅可以有效改善犬只的肠道健康,还能够减少药物依赖,为犬只提供更安全、可持续的健康管理方案。

本文通过生物学特性测定,药敏试验及抗氧化能力测定的方法,从健康犬的粪便中筛选出具有益生特性、耐受性高、对常见抗菌药物敏感、抗氧化能力强的3株益生芽胞杆菌。为开发优质的犬用微生态制剂产品提供选择。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞、菌株及动物

人肠道上皮细胞(NCM-460)由本实验室冻存,致病性大肠杆菌(ATCC25922)购自北京白欧博伟生物技术有限公司。6~8周龄C57BL/6小鼠购自江苏集萃药康公司。

### 1.2 主要试剂

营养琼脂、LB液体培养基以及革兰染色试剂均采购自南京奕辰生物科技有限公司;抗生素试纸片购买自比克曼生物科技有限公司;PCR扩增相关试剂由南京诺唯赞生物科技有限公司提供;细菌基因组DNA提取试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 样本采集及分离纯化

从12只1~2岁健康比格犬(来自南京农业大学教学动物医院)的新鲜粪便中采集样本,置于无菌容器中并保存于-80℃。在无菌条件下取粪便样本进行细菌分离。将样品用PBS稀释后涂布在营养琼脂平板上,于37℃培养24h。随后,根据菌落形态学鉴定挑选出菌落形态与芽胞杆菌一致的菌株进行3轮纯化培养。将分离纯化后的菌株进行命名B<sub>x</sub>-y(B表示*Bacillus*,x表示分离批次,y表示该样本批次下的分离序号),纯化后的菌株与25%甘油均匀混合

后,保存于-80℃备用。

#### 1.3.2 抗逆性测定

模拟胃液试验和0.3%胆盐试验:将 $OD_{600} = 0.5$ 的1%芽胞菌接种于相应的模拟胃液和0.3%胆盐培养基中,分别孵育2h。随后混匀并连续稀释,在LB固体培养基上进行平板计数。

#### 1.3.3 抗氧化能力测定

配置Tris-HCl缓冲液,用pH计测量并调整pH值至8.2。邻苯三酚溶于1mmol/L盐酸溶液中。菌株接种在LB培养基中,37℃培养16h,菌液浓度为 $5 \times 10^8$  CFU/mL,培养结束后,菌液经过5000 r/min离心15 min去除菌体沉淀,收集上清液。在反应体系中,加入分离芽胞菌菌液上清液为样品组,以加入维生素C(VC)组作为阳性药物组,并使用商品化枯草芽胞杆菌WB800作为参考菌株,只加入培养基的为空白组,以蒸馏水作为对照组。通过检测反应体系在320 nm波长下吸光度的变化,计算超氧阴离子的清除率,公式如下:

$$\text{超氧阴离子清除率} = \frac{[\text{空白组吸光度} - (\text{样品组吸光度} - \text{对照组吸光度})]}{\text{空白组吸光度}} \times 100\%$$

菌株接种在LB培养基中,37℃培养16h,菌液浓度为 $5 \times 10^8$  CFU/mL,培养结束后,菌液经过5000 r/min离心15 min去除菌体沉淀,收集上清液。配制1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)溶液,0.1 mL DPPH溶液与0.1 mL芽胞菌上清液混合,室温下暗处静置30 min后测定其在517 nm处的吸光度为样品组。以加入VC组作为阳性药物组,使用商品化枯草芽胞杆菌WB800作为参考菌株。以只加入培养基的反应体系为空白组,以加入无水乙醇的反应体系为对照,计算DPPH清除率,公式如下:

$$\text{DPPH清除率} = \frac{[\text{空白组吸光度} - (\text{样品组吸光度} - \text{对照组吸光度})]}{\text{空白组吸光度}} \times 100\%$$

#### 1.3.4 菌株鉴定

将分离菌株在营养琼脂平板上划线纯化,观察其菌落形态特征,并进行革兰染色。提取菌株的基因组DNA,利用通用引物27 F(5'-AGAGTTTGTATCCTG-GCTCAG-3')和1429 R(5'-TACGCYTACCTTGT-TACGACTT-3')对16S rRNA基因进行PCR扩增。扩增产物经测序后,与NCBI数据库中的16S rRNA基因序列比对,以确定菌株的种属关系,并使用MEGA软件构建进化树。

#### 1.3.5 药敏试验

药敏试验采用药敏片琼脂扩散法(K-B法),参照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)的指导进行。将新鲜过夜培养的菌液用LB培养基调整至 $1.5 \times 10^8$  CFU/mL,取100 μL菌液均匀涂布在LB平

板上。选用氨苄西林、庆大霉素、卡那霉素、链霉素、新霉素、红霉素、四环素和氯霉素抗生素试纸片，放置于固体培养基表面，在 37 ℃ 条件下培养 24 h。培养后，用游标卡尺测量抑菌圈直径，并根据美国临床实验室标准化委员会 (NCCLS) 标准进行结果判读。

### 1.3.6 生长曲线测定

将菌液调至吸光度  $OD_{600} = 0.5$ ，按 1 : 100 接种至 LB 液体培养基中，在 0、1、2、3、4、5、6、7 h 对吸光度  $OD_{600}$  值进行测定，绘制生长曲线图。

### 1.3.7 生物被膜形成能力测定

将  $OD_{600} = 0.5$  的枯草芽胞杆菌菌液按 1 : 100 接种至 96 孔板，致病性大肠杆菌 (ATCC25922) 作为阴性对照，未接种菌液的 LB 作为 CON 组，并在 37 ℃ 培养箱中孵育 24 h。培养完成后，弃去培养基，用 PBS 清洗生物被膜。随后，加入结晶紫溶液染色 15 至 30 min。染色后再次用 PBS 冲洗以去除未结合的染料，干燥后用乙醇溶解已结合的结晶紫，最后使用酶标仪测定其吸光度。

### 1.3.8 体外黏附能力检测

取  $OD_{600}$  值为 0.5 的菌液，按 1 : 100 比例接种于 LB 培养基中，37 ℃ 培养 24 h，12 000 r/min 离心 2 min，离心后弃上清液，向沉淀中加入 500 mL PBS 缓冲液重悬，再加入 100  $\mu$ L 异硫氰酸荧光素 (FITC) 溶液 (0.5 ng/mL) 吹打混匀，37 ℃ 静置培养 3 h，随后离心弃上清液，加入 PBS 重悬菌体洗去多余荧光染料。将 FITC 荧光标记的益生菌 ( $1 \times 10^8$  CFU) 添加到 NCM460 肠上皮细胞中，添加 PBS 溶液的组作为 CON 组，37 ℃ 孵育 2 h 后，使用无菌 PBS 将上皮细胞冲洗 5~8 次，以去除未黏附的细菌。接着，用 4% 的多聚甲醛固定细胞，并用 PBS 冲洗 2~3 次。然后，使用 DAPI 染色细胞核，再次用 PBS 冲洗以去除多余的 DAPI 染料，最后在荧光显微镜下拍摄荧光图像。

### 1.3.9 安全性评价

将 3 株芽胞杆菌划线接种到含有血液的琼脂平板上。37 ℃ 过夜培养，让益生菌生长并与其周围的红细胞相互作用，观察溶血环的形成，检测其溶血性。

将健康的 20 只 49 日龄的雄性 C57BL/6 小鼠随机分为 4 组，每组 5 只。设立 CON 对照组 (灌胃生理盐水 0.2 mL/只) 和试验组 (灌胃 3 株不同的芽胞杆菌溶液， $1 \times 10^9$  CFU，0.2 mL/只)。连续 21 d，在

试验期间，每天称量每只小鼠的体重，计算体重变化值，观察并记录小鼠的一般行为、饮食和活动情况。试验结束后，对小鼠进行解剖，观察其脏器形态，并称量脏器重量以计算脏器系数。

脏器系数 = 脏器重量  $\div$  动物体重  $\times 100\%$ 。

## 1.4 数据统计与分析

使用 SPSS 19.0 和 GraphPad Prism<sup>®</sup> 8 进行统计学分析。数据以“平均值  $\pm$  标准误”表示，组间比较采用单因素 (One-way ANOVA) 或双因素方差分析 (Two-way ANOVA)，采用了 Tukey 检验对多个组之间的均值进行两两比较，当  $P < 0.05$  表示差异显著， $P < 0.01$  表示差异极显著， $P < 0.001$  表示差异极极显著。

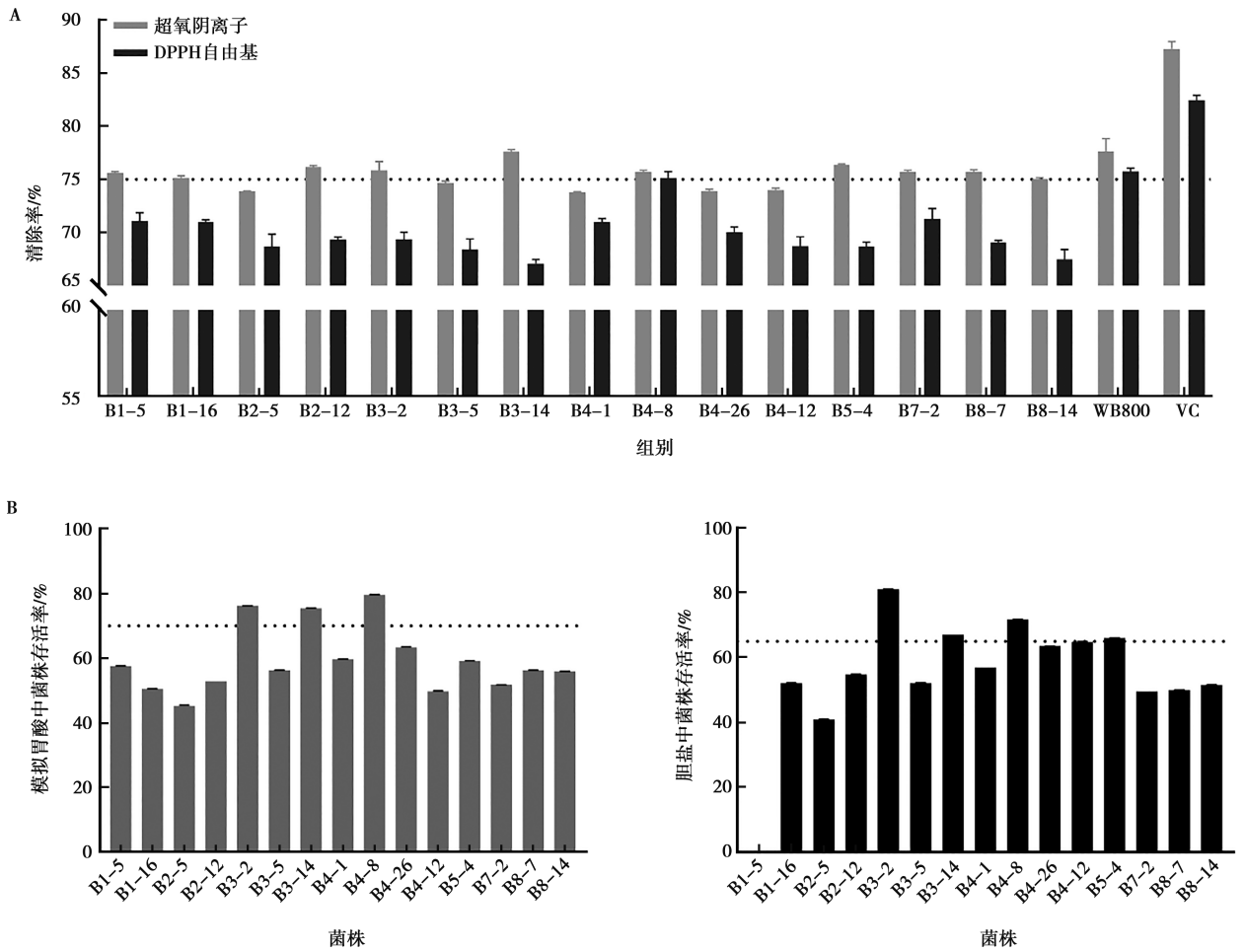
## 2 结果

### 2.1 抗氧化能力及抗逆性测定

通过富集培养与分离纯化，从犬内容物中分离的菌株中，筛选出了 15 株与芽胞菌株菌落形态一致的菌株进行鉴定，并测定了它们的超氧阴离子清除率、DPPH 自由基清除率以及在强酸和高胆盐环境中的耐受能力。结果显示，B1-5、B2-12、B3-2、B3-14、B4-8、B7-2 菌株的超氧阴离子清除率超过 75%，DPPH 自由基清除率超过 69% (图 1A)。B3-2、B3-14 和 B4-8 在胃酸中存活率都在 75% 以上，在胆盐中存活率均在 65% 以上，其中 B4-8 在胃酸中存活率可达到 80%，B3-2 在胆盐中存活率可达到 81% (图 1B)。综上表明，B3-2、B3-14 和 B4-8 抗氧化能力及抗逆性能力最佳。

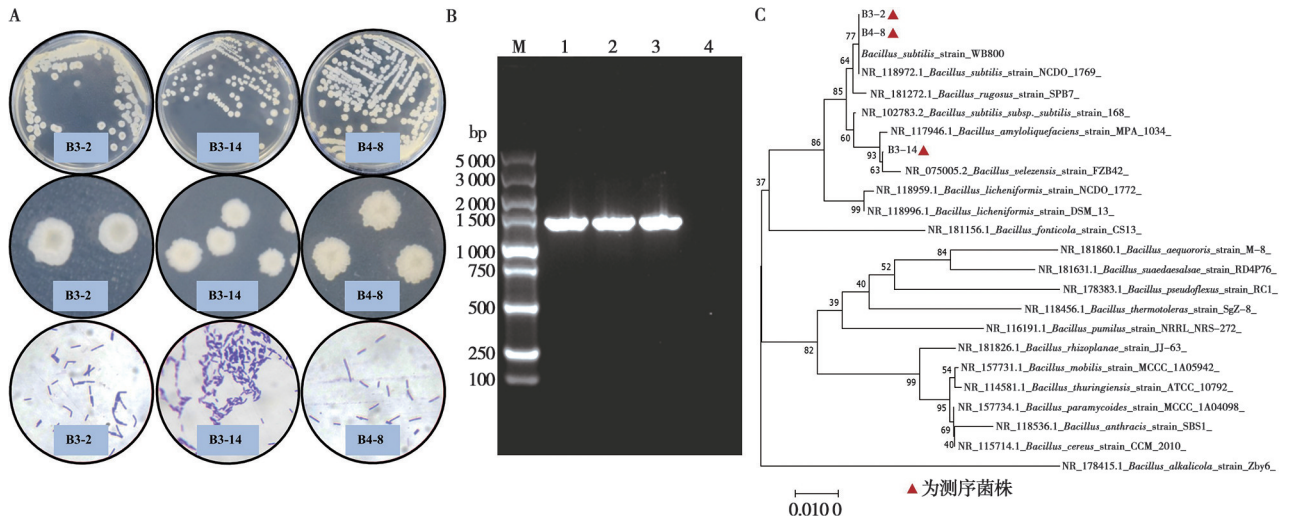
### 2.2 分离菌株的鉴定

在 LB 固体培养基上，3 株菌形成乳白色、不透明、中等大小的黏液状菌落，其表面粗糙，边缘呈不规则状。经染色及显微镜观察，分离菌被鉴定为革兰阳性杆菌 (图 2A)。使用细菌通用 16S rRNA 引物对菌株进行 PCR 扩增，成功获得约 1 500 bp 的目标条带 (图 2B)，通过 16S rRNA 基因序列分析，分离菌株 B3-2 和 B4-8 与枯草芽胞杆菌的标准序列相似度超过 99%，因此被鉴定为枯草芽胞杆菌；菌株 B3-14 则被确认为贝莱斯芽胞杆菌。系统进化树分析进一步表明，B3-2 和 B4-8 与枯草芽胞杆菌菌株位于同一分支，而 B3-14 与贝莱斯芽胞杆菌属于同一分支，并且它们与解淀粉芽胞杆菌、地衣芽胞杆菌及耐热芽胞杆菌的进化距离较远 (图 2C)。



A. 分离菌株抗氧化能力检测; B. 分离菌株对胆盐、胃酸的耐受性。

图 1 分离菌株抗氧化能力及抗逆性检测



A. 分离菌株的形态特性; B. 分离菌株 16S rRNA 基因的 PCR 扩增, M 为 DL5000 DNA Marker, 1~3 为分离菌株, 4 为阴性对照; C. 分离菌株系统进化树。

图 2 菌株的分离鉴定

### 2.3 药敏试验

由表 1 可知, 分离菌株 B3-2 对链霉素、红霉素和氯霉素表现出耐药性, 但对氨苄西林、庆大霉素、

卡那霉素、新霉素及四环素抗生素敏感; B3-14 对氨苄西林耐药, 但对庆大霉素、卡那霉素、链霉素、新霉素、红霉素、四环素和氯霉素均敏感; 菌株 B4-8

对氨苄西林、庆大霉素、卡那霉素、链霉素、新霉素、红霉素、四环素和氯霉素等抗生素均表现为敏感。

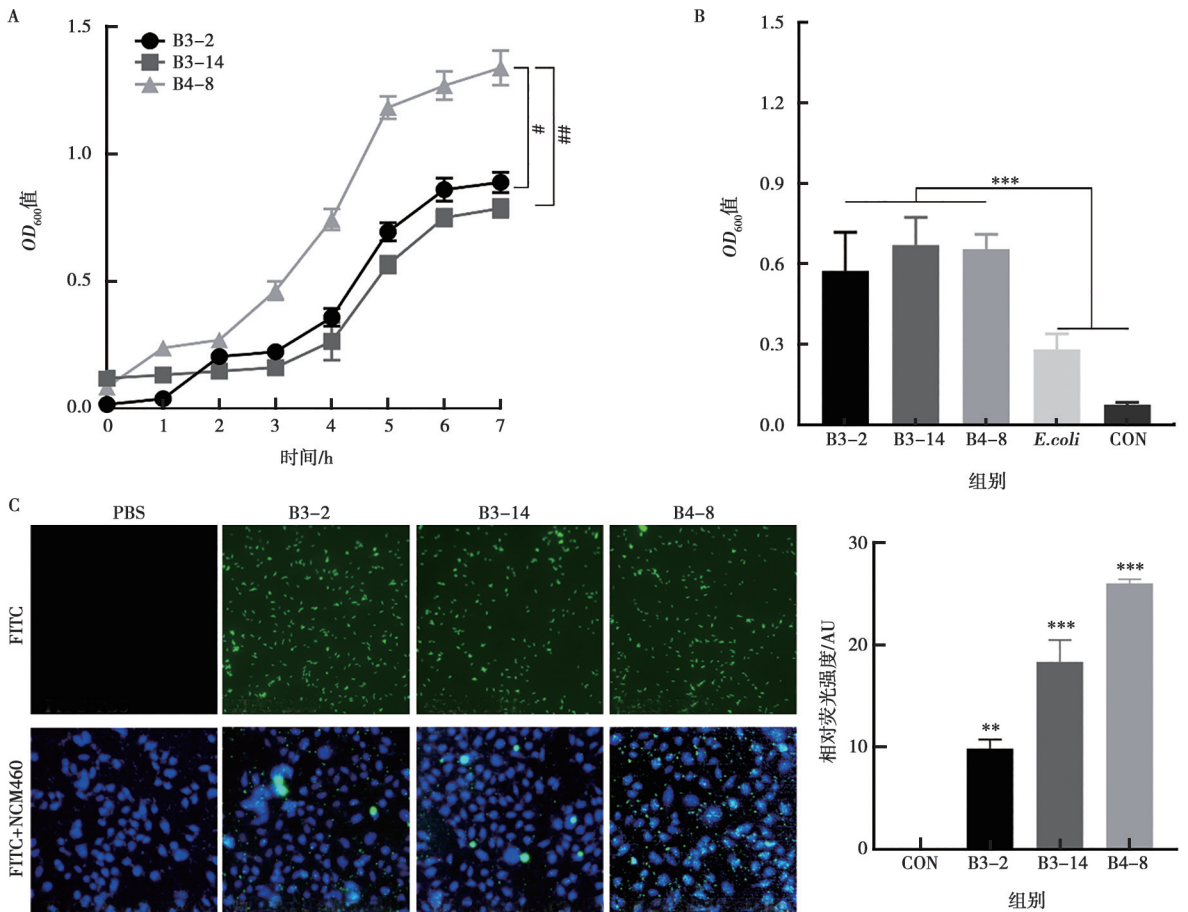
表 1 药敏试验

药物名称	判断标准			B3-2		B3-14		B4-8	
	不敏感 (R)	中度敏感 (I)	高度敏感 (S)	抑菌圈直径/mm	判断结果	抑菌圈直径/mm	判断结果	抑菌圈直径/mm	判断结果
四环素	≤11	12~14	≥15	17.4	S	19.2	S	20.9	S
氯霉素	≤12	13~17	≥18	7.9	R	21.5	S	24.7	S
卡那霉素	≤13	14~17	≥18	18.5	S	22.3	S	21.3	S
链霉素	≤11	12~14	≥15	0.0	R	15.7	S	13.6	I
红霉素	≤13	14~22	≥23	0.0	R	27.5	S	26.9	S
氨苄西林	≤13	14~16	≥17	15.1	I	8.7	R	13.1	I
庆大霉素	≤12	13~14	≥15	22.0	S	25.1	S	26.5	S
新霉素	≤12	13~16	≥17	17.4	S	22.3	S	20.6	S

### 2.4 分离菌株生长特性测定

细菌生长曲线表明，3株菌生长速率差异较大，其中B4-8先到达对数生长期，并且在对数期内其菌量增长显著高于其他两株菌 ( $P<0.05$ )，3~5 h内菌液OD值从0.4快速上升到1.3左右，细菌代谢活跃，生长速度较快，而其他两株菌增长相对缓慢(图3A)。B3-2、B3-14、B4-8这3株菌株还具有较

强的形成生物被膜的能力，与大肠杆菌 (*E. coli*) 及空白培养基对照之间有显著性差异 ( $P<0.001$ ) (图3B)。益生菌的细胞黏附能力是其在胃肠道成功定植并发挥作用的重要前提。结果显示，将FITC标记后的益生菌与NCM460细胞共培养24 h后，细胞表面均出现明显绿色荧光，这表明3株芽胞杆菌均具有细胞黏附能力，其中B4-8黏附能力最强(图3C)。



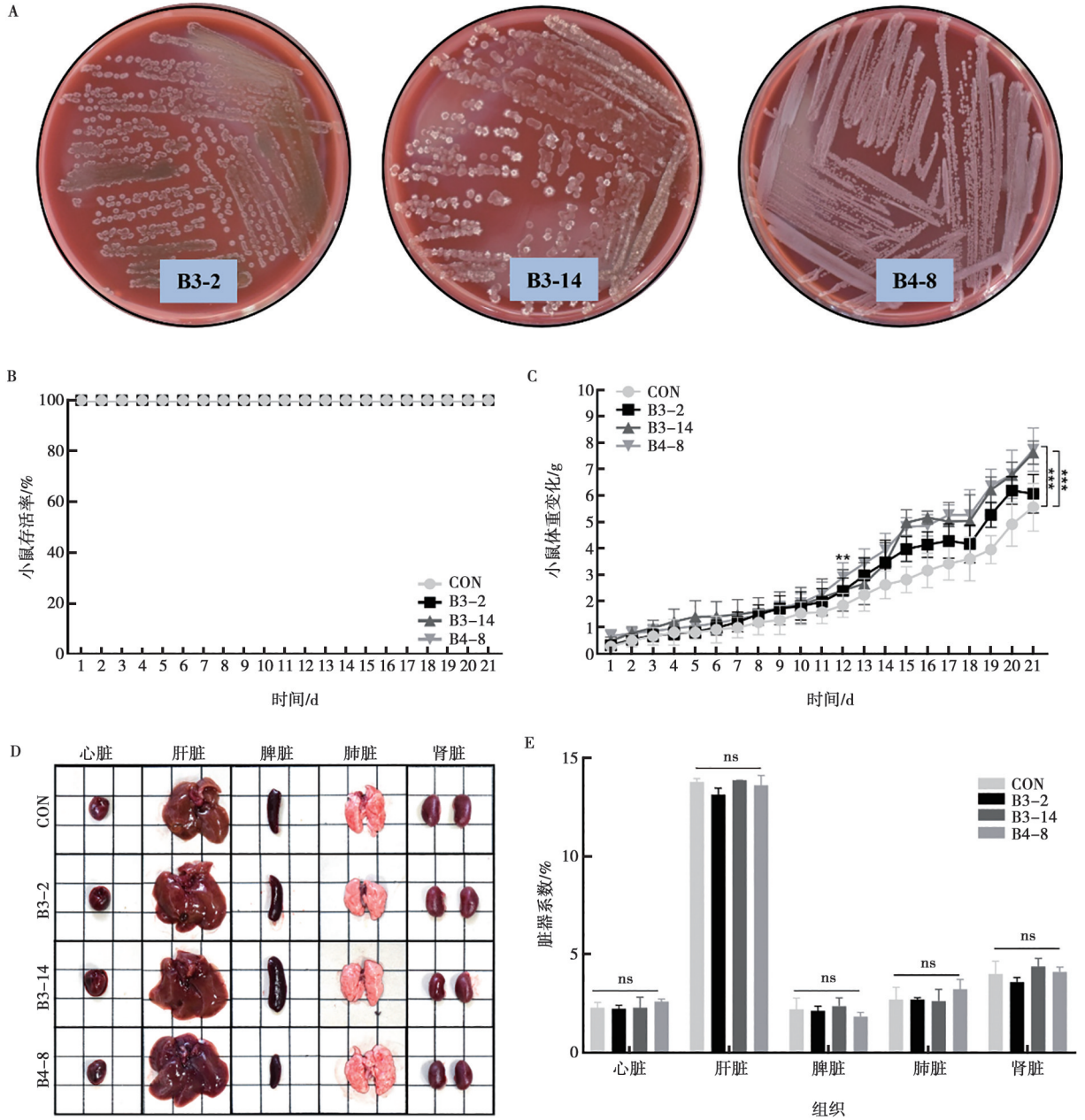
A. 分离菌株生长曲线，与B4-8组相比，#表示 $P<0.05$ ，##表示 $P<0.01$ ；B. 分离菌株生物膜形成能力，与CON组相比，\*表示 $P<0.01$ ，\*\*\*表示 $P<0.001$ ，下同；C. 分离菌株细胞黏附能力检测。

图 3 分离菌株生长特性检测

### 2.5 益生菌安全性评估

菌株 B3-2 表现出溶血现象, 意味着它可能会对宿主细胞或宿主的免疫系统造成不良影响。因此, 菌株 B3-2 的安全性需要进一步的研究和评估, 以确定其是否适合作为益生菌的候选菌株。而菌株 B3-14 和 B4-8 则未表现出任何溶血特性, 表明 B3-14 和 B4-8 在一定程度上具备较好的安全性 (图 4A)。图 4B 和图 4C 所示, 在为期 21 d 的试验过程中, 灌胃

生理盐水组 and 不同芽胞菌液组的小鼠均未出现死亡、不良反应或毒副作用, 体重也未呈下降趋势。与灌胃生理盐水组相比, 枯草芽胞杆菌 B3-14 和 B4-8 组的小鼠体重明显增加 ( $P < 0.001$ ), 表明其对小鼠存在促生长的益生功能。此外, 灌胃不同芽胞杆菌溶液的小鼠各脏器未见病理变化, 脏器系数正常无差异 ( $P > 0.05$ ), 说明这些分离菌株对小鼠没有致病或毒理作用 (图 4D、E)。



A. 溶血特性检测; B. 小鼠存活率; C. 小鼠体重变化; D. 小鼠脏器; E. 小鼠脏器系数。与 CON 组相比, ns 表示  $P > 0.05$ 。

图 4 分离菌株的溶血特性及分离菌株的安全性评估

### 3 讨论

益生菌在维持肠道健康中扮演着至关重要的角色，其功能与生物被膜的形成能力，对强酸和高胆盐的耐受性，以及抗氧化能力等多种关键特性密切相关。这些特性不仅影响益生菌在肠道内的存活和定植，还通过复杂的相互作用增强其对肠道微生态的调节作用，从而有效防治消化系统疾病<sup>[11-12]</sup>。

益生菌在胃肠道内的生存和功能发挥的关键在于其是否具备较强的抗逆性<sup>[13-15]</sup>，而其耐受强酸和高胆盐的能力与生物被膜形成能力密切相关。与大肠杆菌相比，B3-2、B3-14、B4-8 这 3 株菌株具有显著形成生物被膜的能力，可以有效减少对细胞的直接伤害，从而起到保护益生菌的作用。在强酸和高胆盐环境下 3 株菌表现出较高的耐受性，胃酸中存活率最高可达 80%，胆盐中存活率最高可达 81%。相比之下，常见益生菌在相同条件下的存活率通常为 60% 左右<sup>[16]</sup>。这种显著的耐受性差异表明，B3-2、B3-14 和 B4-8 菌株在极端环境下具有更强的生存能力，从而更有效地发挥其健康促进作用。此外，生物被膜有助于益生菌在肠道内壁附着并定植，增强其稳定性和功能的发挥<sup>[17]</sup>。细胞黏附力测定结果进一步支持了这一观点，筛选出的 B4-8 菌株表现出显著的细胞黏附能力。黏附定植能力强的益生菌不仅能够通过竞争肠道附着位点和营养资源抑制致病菌的生长与定植，减少感染风险，还能在治疗结束后长期维持功能，形成持久的保护效果，降低消化系统疾病的复发风险<sup>[18]</sup>。

生物被膜不仅可以提供物理保护，还与益生菌的抗氧化能力密切相关。消化系统中的炎症和损伤通常是由氧化应激引发的<sup>[19]</sup>。益生菌的抗氧化能力在维护肠道健康中发挥重要作用，通过清除活性氧，增强内源性抗氧化酶活性，保护肠道屏障，调节肠道微生物群以及抑制炎症等方面有效缓解氧化应激对肠道的损害。这些功能有助于预防和改善炎症性肠病 (IBD)、肠易激综合征 (IBS) 及肠道微生物群失调等疾病。通过生物被膜增强抗氧化能力，益生菌能够减轻氧化应激给消化系统带来的危害，进一步促进宿主健康<sup>[20-21]</sup>。B3-14 和 B4-8 菌株具有突出的生物被膜形成能力，并且体外抗氧化能力显著。B3-14 菌株的超氧阴离子清除率可达 77%，B4-8 菌株 DPPH 自由基清除率最高可达 75%<sup>[22-23]</sup>，二者在缓解氧化应激、保护肠道功能、调节炎症反应及促进修复方面有巨大潜力，是预防和治疗消化系统疾病的重要候选菌株。益生菌的强酸和强胆盐耐受性、生物被膜形成能力、抗氧化能力是其在复杂肠道环境中生存和功能的

核心特性。这些特性相辅相成，有效治疗消化系统疾病，维护肠道健康，调节微生态平衡。此外，犬本体分离的益生菌在与犬只体内的微生态系统兼容性方面具有独特的优势。犬的肠道具有特定的酸碱度、温度和微生物群落结构，犬源益生菌可以适应这种环境，更好地在犬肠道内定植和生长。犬源益生菌与犬在长期的进化过程中形成了协同关系，它们能够识别犬肠道细胞表面的特定受体，更有效地黏附于肠道黏膜，从而在肠道内稳定存在并发挥作用，而不会像外来菌株那样可能被犬的免疫系统视为异物而受到排斥。以本体分离的益生菌来研发微生态制剂能够提供更精准的肠道健康支持，帮助犬只保持良好的消化功能，增强免疫力，减少疾病发生，改善慢性病症的管理，为犬只提供了更安全、个性化的健康管理方法，是提高犬只整体健康的重要手段。

### 4 结论

研究表明，从健康犬的肠道内容物中筛选出了枯草芽胞杆菌 B4-8、B3-2 和贝莱斯芽胞杆菌 B3-14。B3-2 菌株具有较强的抗氧化能力（超氧阴离子清除率为 76.8%），在胆盐环境中表现良好，存活率可达 81%，但存在一定溶血性，需要进一步评估其安全性。B3-14 菌株在生物被膜形成和安全性方面表现优异，它没有溶血性，在小鼠试验中促进体重增长，适合用于维护肠道健康。B4-8 菌株在生物被膜形成和细胞黏附能力方面最强，且没有溶血性，安全性良好，适合肠道定植和益生菌应用。上述菌株适合作为犬用益生菌制剂开发的候选菌株，为犬用益生菌制剂的研发提供了理论基础。

### 参考文献：

- [1] 冯丽丽. 枯草芽胞杆菌在养殖生产中的应用及对动物肠道健康的影响研究进展 [J]. 河南农业科学, 2025, 54 (5): 1-9.
- [2] 郝生宏, 杨荣芳, 曲强, 等. 饲用枯草芽胞杆菌在健康养殖中的研究进展及存在问题 [J]. 饲料博览, 2018 (12): 23-26.
- [3] 艾雨晴, 陈松骏, 秦娟, 等. 微生物产蛋白酶的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2021, 42 (19): 451-458.
- [4] 袁宇峰, 白琳, 毛淑红. 枯草芽胞杆菌碱性蛋白酶的系统生物信息分析 [J]. 天津科技大学学报, 2025, 40 (3): 20-26, 36.
- [5] 黄曦, 许兰兰, 黄荣韶, 等. 枯草芽胞杆菌在抑制植物病原菌中的研究进展 [J]. 生物技术通报, 2010, 26 (1): 24-29.
- [6] 潘兴亮, 王玉田, 郑瑞峰, 等. 抑菌型枯草芽胞杆菌在蛋鸡生产上的应用效果评价 [J]. 当代畜禽养殖业, 2020 (12): 5-6.
- [7] 王思念, 刘春艳, 乔亚琼, 等. 枯草芽胞杆菌在动物饲料营养中的应用研究进展 [J]. 饲料与畜牧, 2018 (7): 56-59.

- [8] 付雪, 张启航, 刘周靓, 等. 枯草芽胞杆菌在动物生产中的应用与作用机制 [J]. 饲料研究, 2024, 47 (8): 150-155.
- [9] 苏权, 顾舒舒, 吕宗德, 等. 枯草芽胞杆菌在蛋鸡养殖中的应用及展望 [J]. 中国畜牧业, 2023 (20): 49-50.
- [10] 叶兵兵, 杨玲玲, 刘锐兰, 等. 枯草芽胞杆菌在畜禽养殖应用中的研究进展 [J]. 饲料研究, 2023, 46 (6): 142-145.
- [11] JANSMA J, CHATZIOANNOU A C, CASTRICUM K, et al. Metabolic network construction reveals probiotic-specific alterations in the metabolic activity of a synthetic small intestinal community [J]. *mSystems*, 2023, 8 (5): e0033223.
- [12] HILL C, GUARNER F, REID G, et al. 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.
- [13] ENGEVIK A C, KAJI I, GOLDENRING J R. The physiology of the gastric parietal cell [J]. *Physiol Rev*, 2020, 100 (2): 573-602.
- [14] MARTINSEN T C, FOSSMARK R, WALDUM H L. The phylogeny and biological function of gastric juice-microbiological consequences of removing gastric acid [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (23): 6031.
- [15] RUIZ L, RUAS-MADIEDO P, GUEIMONDE M, et al. How do bifidobacteria counteract environmental challenges? Mechanisms involved and physiological consequences [J]. *Genes Nutr*, 2011, 6 (3): 307-318.
- [16] 辛娜, 邓露芳, 郭亮, 等. 枯草芽胞杆菌体外益生效果评估 [J]. 饲料研究, 2022, 45 (4): 84-87.
- [17] GAO M, WANG L, HUANG H. Advances in synthetic biology assisted intestinal microecological therapy [J]. *Synth Biol J*, 2022, 3 (1): 35-52.
- [18] HAN C, SONG J, HU J, et al. Smectite promotes probiotic biofilm formation in the gut for cancer immunotherapy [J]. *Cell Rep*, 2021, 34 (6): 108706.
- [19] ZANDITENAS E, TREBICZ-GEFFEN M, KOLLI D, et al. Digestive exophagy of biofilms by intestinal Amoeba and its impact on stress tolerance and cytotoxicity [J]. *NPJ Biofilms Microbiomes*, 2023, 9 (1): 77.
- [20] CRISTOFORI F, DARGENIO V N, DARGENIO C, et al. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of probiotics in gut inflammation: a door to the body [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 578386.
- [21] FREEDMAN K E, HILL J L, WEI Y, et al. Examining the gastrointestinal and immunomodulatory effects of the novel probiotic *Bacillus subtilis* DE111 [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (5): 2453.
- [22] 孙愉, 张昊, 李畅洋, 等. 牛源抗氧化芽胞杆菌的分离鉴定及生物特性研究 [J]. 中国畜牧兽医, 2023, 50 (1): 359-367.
- [23] 檀茜倩, 王丹, 程笑笑, 等. 虾酱源芽胞杆菌的筛选及其益生特性 [J]. 中国食品学报, 2023, 23 (12): 51-60.