

**Bacillus clausii: Revisão de características e aplicações na medicina, biotecnologia e indústria alimentícia***Bacillus clausii: Review of characteristics and applications in medicine, biotechnology and the food industry*Douglas Ferreira dos Santos<sup>1,3</sup>, Isabela Amêndola<sup>2</sup>, Silvana Soleo Ferreira dos Santos<sup>2</sup><sup>1</sup> Universidade de Taubaté, Departamento de Biologia, Taubaté, SP, Brasil<sup>2</sup> Universidade de Taubaté, Instituto Básico de Biociências, Taubaté, SP, Brasil<sup>3</sup> Autor para contato (*Author for correspondence*): douglas.ferreira97@hotmail.com**Resumo**

*Bacillus clausii* é uma espécie probiótica muito utilizada para o tratamento de gastroenterites, além de produzir substâncias de interesse industrial. Assim, o objetivo desse estudo foi realizar um levantamento bibliográfico acerca das principais características de *B. clausii*, bem como sua aplicabilidade clínica e utilidade de seus produtos na indústria. Foram utilizadas as bases de dados Bireme, Google Acadêmico, PubMed, Scielo e Web of Science. Os seguintes termos de busca foram utilizados para a padronização das pesquisas nas bases de dados, bem como suas versões em inglês: *Bacillus clausii*, probiótico, aplicação clínica, alimentação, aplicação industrial. A revisão realizada evidenciou a importância de *B. clausii* como probiótico, ou seja, um microrganismo que apresenta uma relação simbiótica direta com o hospedeiro e que traz benefícios à saúde, demonstra resistência a ácidos e sais biliares, melhora a imunidade modulando padrões de citocinas e outros componentes do sistema imunológico. Auxilia na digestão e absorção de alimentos voltados tanto para humanos quanto para animais, compete com microrganismos potencialmente patogênicos, melhora quadros de diarreia e alergias respiratórias, tem potencial para minimizar quadro de osteoporose, gastrite por *Helicobacter pylori* e apresenta efeitos para o tratamento de uremia podendo ser considerado um exemplo de terapia natural. Além disso, pode secretar proteases alcalinas e peptídeos de aplicação industrial para a fabricação de detergentes, herbicidas e inseticidas.

**Palavras-chave:** *Bacillus clausii*, probiotico, aplicação clínica, alimentação, aplicação industrial.

**Abstract**

*Bacillus clausii* is a probiotic species widely used for the treatment of gastroenteritis and produce substances of interest to the industry. Thus, the objective of this study was to conduct a bibliographic survey about the main characteristics of *B. clausii*, as well as its clinical applicability and usefulness of its products. Bireme, Google Scholar, PubMed, Scielo and Web of Science databases were used. The following search terms were used for standardizing database searches as well as their English versions: *Bacillus clausii*, probiotic, clinical applications, food, industrial application. The review showed the importance of *B. clausii* as a probiotic, that is, a microorganism that has a direct symbiotic relationship with the host and brings health benefits, shows resistance to bile acids and acids, improves immunity by modulating cytokine patterns and other compounds of the immune system. Helps digestion and absorption of food for both humans and animals, competes with potentially pathogenic microorganisms, improves diarrhea and respiratory allergies, has the potential to minimize osteoporosis, *Helicobacter pylori* gastritis and respiratory allergies, has the potential to minimize osteoporosis, gastritis caused by *Helicobacter pylori* has effects for the treatment of uremia, be considered an example of natural therapy. It can also secrete alkaline proteases and industrially applicable peptides for the manufacture of detergents, herbicides and insecticides.

**Keywords:** *Bacillus clausii*, probiotic, clinical applications, food, industrial application.

## INTRODUÇÃO

*Bacillus clausii* é um bacilo Gram positivo, aeróbio e formador de esporos. Frequentemente encontrado no solo, água, poeira e ar, esta bactéria é considerada probiótica por estabelecer relações simbióticas com o hospedeiro e conferir benefícios à saúde do mesmo, quando administrada em quantidades adequadas (FAO/WHO, 2002; Urdaci et al. 2004), assim como outras espécies do gênero *Bacillus* como *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus coagulans* e *Bacillus cereus* (Sander et al. 2003).

*B. clausii* têm sido estudado como coadjuvante no tratamento de alguns distúrbios gastrintestinais e infecções respiratórias (Marseglia et al. 2007). Cepas selecionadas de *Bacillus* são cada vez mais introduzidas em produtos alimentares, pois, além de sobreviver em alimentos que requerem condições de processamento severas, tais como elevadas temperaturas e pressão, continuam a ser viáveis (Cutting, 2011).

O leite probiótico é um exemplo de produto acrescido de *B. clausii* que tem se mostrado eficaz para a redução do número de infecções respiratórias (IR) entre crianças que frequentam creches, além de reduzir o período de duração da doença (Marseglia et al. 2007). *B. clausii* pode ser utilizado como método de tratamento alternativo para diarreia, como procedimento de prevenção de diarreia associada a antibióticos e prevenção de efeitos colaterais associados ao tratamento de infecção causada por *Helicobacter pylori*. Além disso, demonstrou efeito significativo na modulação da resposta imune humoral de crianças infectadas por rotavírus, agente causador de gastroenterites (Smijan et al. 2019).

Considerando o potencial benéfico dessa espécie, o objetivo desse trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica acerca de suas principais características e possibilidades de aplicação em humanos, animais, indústria e biotecnologia.

### *Características gerais*

*Bacillus clausii* pertence ao filo dos *Firmicutes*, da classe *Bacilli* cuja ordem pertence aos *Bacillales*. Membro da família *Bacillaceae*, gênero *Bacillus*, espécie *clausii*. Tal nomenclatura foi em homenagem a Dieter Claus, um bacteriologista alemão que fez contribuições fundamentais para a taxonomia desse gênero. É um bacilo Gram-positivo, encontrado no solo, água, poeira e ar, móvel, aeróbio e formador de esporos. Seus esporos são elipsoidais e subterminais, o que pode gerar uma pequena dilatação na forma vegetativa, com a tendência de ocorrer em longas cadeias que carregam esses esporos. A composição do DNA cromossômico está entre 42, 43 e 45,5% mol de G + C (Nielsen et al. 1995).

Sua multiplicação ocorre em temperatura de 15-50°C e pH de 7-10,5, com tolerância salina até cerca de 10% de cloreto de sódio. Esta bactéria possui forte afinidade por substâncias ou meios alcalinos, sendo, portanto, bactérias alcalófilas. São produtoras de uma classe de enzimas chamadas subtilisinas, conhecidas como proteases de alta potência (Hecht, 1999).

A natureza alcalófila de *B. clausii* se mostrou útil na prevenção e tratamento de distúrbios gastrointestinais. Esse microrganismo pode ser encontrado em muitos ambientes alcalinos, incluindo o solo e o habitat marinho. Além disso, na forma de esporo, pode resistir ao ambiente ácido artificial e humano por pelo menos 2 horas a uma temperatura de 37°C, para que passe intacto para o duodeno nesse período de tempo. Ele também resiste aos sais biliares por 24 horas e ao calor úmido a 100°C por 20 a 30 minutos e a sobrevivência ao calor seco é mil vezes maior quando comparado ao calor úmido (Nielsen et al. 1995).

É considerado como probiótico, ou seja, microrganismo vivo, que quando administrado em quantidades adequadas confere benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2002). Todas essas características permitem a esse microrganismo manter uma relação simbiótica direta com o organismo hospedeiro, podendo permanecer viável no intestino e formar colônias nesse local (Urdaci et al. 2004)

devido a sua tolerância e resistência a exposição a ácido e sais biliares (Hong et al. 2005).

#### *Efeitos no hospedeiro*

Produtos desenvolvidos a partir da adição de cepas probióticas de *B. clausii* têm demonstrado efeitos positivos no ser humano. Têm sido associados a propriedades como atividade antimicrobiana e imunomoduladora, regulação do crescimento e diferenciação celular, sinalização célula-célula, adesão celular, transcrição e transdução de sinal (comunicação de células através de mensageiros secundários), produção de vitaminas e proteção intestinal a partir de agentes genotóxicos (Lopetuso et al. 2016).

Uma característica importante para incluir uma cepa como probiótica é a capacidade de suprimir microrganismos patogênicos do trato digestivo por exclusão competitiva ou produzindo substâncias inibitórias. Essas substâncias não reduzem apenas o número de células viáveis do microrganismo patogênico, mas também afetam o metabolismo bacteriano ou a produção de toxinas (Rolfe, 2000), sendo exemplos dessas substâncias o peróxido de hidrogênio e bacteriocinas (Liong, 2007; Peleg et al. 2012).

Cepas probióticas de *B. clausii* são capazes de produzir uma substância antimicrobiana denominada clausina, que é ativa contra bactérias Gram-positivas como *C. difficile* e *Staphylococcus aureus* (Ripert et al. 2016). Nesse caso, *B. clausii* tem a função de neutralizar a toxina produzida por *C. difficile*, o principal fator de virulência do patógeno. Linhagens de células de mamíferos foram protegidas dos efeitos citotóxicos devido a produção de protease de serina e M-protease, por *B. clausii*. Em adição, a triagem de cepas de *B. clausii* com atividade enzimática de destruir as toxinas de *C. difficile*, podem levar à capacidade inibitória máxima (Urdaci et al. 2004).

As espécies de *Bacillus* alcalófilos, incluindo *B. clausii*, constituem um grupo heterogêneo de microrganismos importantes por sua capacidade de produzir enzimas, anticorpos e metabólitos de uso médico potencial. Tais

espécies estão sendo usadas atualmente para a fabricação de produtos probióticos, constituído de esporos bacterianos, que exibem características específicas como colonização, imunoestimulação e atividade antimicrobiana, que são responsáveis por suas propriedades probióticas (Lippolis et al. 2013).

*B. clausii* é comercializado em vários países como Enterogermina® que contém dois bilhões de esporos em água. Cada frasco contém cinco mililitros da suspensão, sendo recomendada a dose de 1 a 3 flaconetes ao dia. Deve ser usado por via oral e associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vidas saudáveis, entretanto deve ser evitado por pessoas imunocomprometidas. Promove alguns benefícios no corpo humano como melhora da digestão e absorção de alimentos, quando os esporos germinam e chegam como células viáveis ao intestino, contribuindo para o equilíbrio da microbiota intestinal (Hawrelak e Myers, 2004; Lippolis et al. 2013; Ghelardi et al. 2015; Enterogermina, 2017).

Estudo proteômico comparativo foi realizado para caracterizar o secretoma (conjunto de proteínas expressas por um organismo e secretadas no espaço extracelular) de quatro cepas isogênicas de *B. clausii*. Este estudo demonstrou diferenças no secretoma das cepas OC, SIN, NR e T, indicando que características específicas do secretoma diferenciam cada uma das quatro linhagens, apesar de sua similaridade genotípica. Com base nas análises proteômicas feitas, foi revelado um alto grau de concordância entre os quatro secretomas, com algumas variações em proteínas com atividade na interação com células hospedeiras, hidrólise de polímeros naturais (Ferrari et al. 1993; Schallmey et al. 2004), em processos como renovação da parede celular, ligação ao substrato ou secreção de proteínas (Pooley et al. 1996; Sutcliffe e Russell, 1995), bem como na regulação do início dos processos da fase pós-exponencial (competência, desenvolvimento e esporulação) (Lazazzera et al. 1997; Perego e Hoch, 1996). À medida que as proteínas secretadas entram em contato direto com os compartimentos do hospedeiro, elas podem mediar às interações entre bactérias e

hospedeiros, podendo cooperar como probióticos, à medida que os componentes do secretoma de cada estirpe contribuem para a atividade geral de uma preparação probiótica mista (Lippolis et al. 2013).

#### *Aplicação na área médica*

A utilização de *B. clausii* como probiótico para o tratamento de doenças vêm crescendo. Em trabalho utilizando *B. clausii* como probiótico na redução dos efeitos colaterais provocados pela antibioticoterapia múltipla utilizada como tratamento para erradicação de *H. pylori*, foi constada redução da intensidade de náusea, diarreia e dor epigástrica quando da utilização de bacterioterapia oral contendo esporos de *B. clausii* (Nista et al. 2004). Estudo demonstra que esporos desse probiótico são resistentes ao pH ácido do estômago, podendo germinar no intestino e se fixar as células intestinais, promovendo assim proteção do tecido (Bernardeau et al. 2017).

Para estabelecer a segurança do uso da cepa de *B. clausii* UBBC07 como um produto probiótico, estudos em ratos foram realizados buscando estabelecer a toxicidade aguda e subaguda na administração por via oral, bem como sua tolerância e resistência a antibióticos. Como resultados foi verificado que *B. clausii* UBBC07 é tolerante e resistente a aplicação de três antibióticos - clindamicina, eritromicina e cloranfenicol e que os genes de resistência estão presentes no DNA cromossômico. Foi considerado seguro e não foram detectados genes de substâncias tóxicas (Lakshmi et al. 2017).

Estudo multicêntrico, duplo-cego, randomizado, controlado por placebo e em grupo paralelo foi conduzido em dois centros ambulatoriais em Lucknow (Índia) utilizando cepa de *B. clausii* UBBC07 para o tratamento de diarreia aguda em crianças de seis meses a cinco anos. As crianças receberam suspensão de esporos ou suspensão de placebo duas vezes ao dia, além da solução de reidratação oral (SRO) por cinco dias com acompanhamento até o décimo dia. Foram avaliados a duração e frequência de diarreia, consistência das fezes, febre e vômito. A duração da diarreia foi significativamente

menor nos pacientes que receberam suspensão de *B. clausii* do que no grupo tratado com placebo. Também foi observada melhora na consistência das fezes no grupo tratado com probiótico em comparação ao grupo placebo, não havendo efeito sobre vômitos e duração da febre, podendo ser uma alternativa segura aos antibióticos (Sudha et al. 2019).

Cepa de *B. clausii* UBBC07 foi também utilizada em estudo para testar seu efeito no tratamento de ratos que apresentavam uremia induzida por acetaminofeno, também conhecido por paracetamol, que é um fármaco com propriedades analgésicas e antipiréticas utilizado essencialmente para tratar a febre e a dor leve e moderada. Os ratos foram divididos aleatoriamente em três grupos: grupo I, controle - recebe comida e água normais, grupos II e III recebem acetaminofeno via intraperitoneal (ip) na dose de 550 mg/kg/dia por dez dias, o grupo III foi tratado com *B. clausii* UBBC07 na dose de  $1 \times 10^9$  UFC / dia por 15 dias. Como resultados, os níveis de uréia, creatinina, malondialdeído (MDA), glutathione (GSH), enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (SOD) e atividade da catalase foram considerados para analisar a insuficiência renal. Após o tratamento com o probiótico, houve um aumento significativo na SOD e catalase ( $p < 0,05$ ) e uma diminuição significativa na uréia sérica, creatinina e MDA ( $p < 0,05$ ) no grupo III em comparação ao grupo II. Os resultados demonstraram que *B. clausii* UBBC07 poderia ser usado como uma terapia natural alternativa para a uremia (Patel et al. 2019).

Estudo envolvendo a utilização de *B. clausii* para o tratamento de camundongos osteoporóticos pós-menopáusicos obteve resultados satisfatórios e promissores com relação à redução dos níveis de citocinas pró-inflamatórias e aumento dos níveis de citocina anti-inflamatória (IL-10) (Dar et al. 2018).

Foi investigada a interferência da administração de *B. clausii* na modulação de citocinas em crianças alérgicas com infecções respiratórias recorrentes com idade média de quatro anos. Foram administrados dois frascos

por dia de Enterogermina® durante quatro semanas. Um painel de citocinas, incluindo interleucinas (IL-1, IL-3, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12), interferon gama (IFN- $\gamma$ ), fator de crescimento transformador beta (TGF- $\beta$ ) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) foram medidos por imunoensaio no líquido recuperado da lavagem nasal, realizado antes e após o tratamento. O tratamento induziu uma diminuição significativa dos níveis de IL-4 ( $p < 0,01$ ) e um aumento significativo de IFN- $\gamma$  ( $p < 0,05$ ), IL-12 ( $p < 0,001$ ), TGF- $\beta$  ( $p < 0,05$ ) e de IL-10 ( $p < 0,05$ ), demonstrando que *B. clausii* pode exercer atividade imunomoduladora, afetando o padrão de citocinas ao nível nasal em crianças alérgicas com infecções respiratórias recorrentes (Ciprandi et al. 2004).

Com o objetivo de identificar o padrão de expressão gênica induzido por *B. clausii* na mucosa intestinal de indivíduos saudáveis, foi realizado um estudo para avaliar a complexa interação bactéria-hospedeiro no lúmen intestinal. No caso, seis pacientes do sexo masculino, com idade média de 38 anos de idade, afetados por esofagite leve confirmada endoscopicamente foram tratados por um mês com esomeprazol e foram selecionados aleatoriamente para receber ou não *B. clausii* (grupos I e II, respectivamente). Foram feitas biópsias duodenais antes e após o tratamento para identificar a modificação da expressão gênica, usando a matriz GeneChipHuman U133A, e posteriormente, para validar a análise de microarranjos, foi realizada a reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real de cinco genes-alvo. Como resultados, após a administração de *B. clausii*, 158 e 265 genes foram regulados para cima e para baixo, respectivamente. *B. clausii* afetou principalmente a expressão de genes envolvidos na resposta imune e inflamação, apoptose e crescimento celular, diferenciação celular, sinalização célula-célula, adesão celular, transcrição e transdução de sinal. Com base nesses resultados, foi possível compreender melhor os mecanismos pelos quais esses agentes interagem com o hospedeiro e exercem seus efeitos benéficos (Di Caro et al. 2005).

É normal na medicina, bebês prematuros serem tratados com antibióticos para sepse; contudo, tal tratamento pode resultar numa colonização tardia e anormal do intestino com organismos potencialmente patogênicos criando um microbioma que carece de biodiversidade e aumenta o risco de sepse tardia (LOS). Assim, foi realizado um trabalho para avaliar a administração de *B. clausii* em recém-nascidos para verificar a prevenção de LOS. Em tal estudo foram avaliados recém-nascidos prematuros (<34 semanas) separados em grupo placebo e grupo com probiótico. Concluíram que a administração profilática de *B. clausii* em recém-nascidos prematuros não resultou em uma diferença significativa na incidência de LOS em comparação com o placebo (Tewari et al. 2015).

*Limitação no uso de B. clausii na área médica*  
Embora os probióticos sejam indubitavelmente úteis, episódios de sepse foram relatados esporadicamente em idosos, indivíduos com deficiência imunológica, pacientes submetidos à quimioterapia antitumoral ou radiação ionizante, diabéticos e pacientes com ulcerações extensas da mucosa do trato gastrointestinal, principalmente após tratamento com antibióticos de amplo espectro (Brunser, 2017), o que alerta para o cuidado em sua administração.

A literatura revisada revelou somente um caso de septicemia por *B. clausii* em um bebê de 4 meses de idade após tratamento para diarreia com Enterogermina®. Nesse caso a criança, que se encontrava com desnutrição e apresentava uma comorbidade cardíaca subjacente, recebeu antibiótico (vancomicina) e esteróides juntamente com o probiótico (Sangeeta et al. 2019).

*Efeito da adição de B. clausii em produtos alimentares*

Em humanos, o leite probiótico adicionado de *B. clausii* auxiliou na redução de infecções respiratórias (IR) entre crianças que frequentam creches. Estudo utilizando *B. clausii* na prevenção de infecções respiratórias recorrentes em crianças demonstrou menor duração da IR em comparação com o grupo controle tanto durante a fase de tratamento

quanto no período de acompanhamento. Este efeito foi evidente também em crianças com alergias respiratórias demonstrando que *B. clausii* pode exercer um impacto significativo e persistente na IR em crianças tendo sido seguro e bem tolerado (Marseglia et al. 2007). O soro do leite tem sido utilizado para o crescimento de *B. clausii* e para geração de peptídeos com atividade antioxidante e antimicrobiana, por meio da hidrólise de proteínas presentes nesse meio de cultura natural. Este processo pode ser usado para o desenvolvimento de novos produtos lácteos adicionados de probióticos (Rochín-Medina et al. 2018).

Estudo foi realizado por Cruz et al. (2016) quanto à viabilidade de bactérias do gênero *Bacillus* suco de caju. Tal trabalho teve a finalidade de apresentar uma fonte alimentar probiótica que poderia substituir o leite para pessoas com restrição a esse alimento. Foi realizado o monitoramento de *B. clausii* e *B. subtilis*, por meio de ensaios microbiológicos para contagem dos microrganismos durante sessenta dias. Os microrganismos permaneceram viáveis nesse período com contagens acima de  $10^9$  UFC mL, número desejável e preconizado pela legislação brasileira. Concluíram que o suco de caju tem potencial para se tornar uma alternativa em alimento probiótico saboroso e isenta de lactose e caseína no mercado de alimentos funcionais.

Estudos também foram realizados quanto à utilização de *B. clausii* como produtos probióticos utilizados diretamente na alimentação de grupos de animais. Foi avaliado o efeito da administração dietética de *Bacillus pumilus* e *B. clausii* (bactérias dominantes com atividade antagônica no intestino de peixes (bactérias dominantes com atividade antagônica no intestino de peixes de crescimento rápido) sobre o desempenho de crescimento e respostas imunes de garoupa *Epinephelus coioides*. Como resultado, o grupo tratado com dieta probiótica por 60 dias apresentou melhora significativa no crescimento e resposta imune, por meio da verificação da atividade fagocitária, índice fagocitário, atividades de lisozima e níveis

séricos do componente C3 do complemento e de IgM (Sun et al. 2010).

Outro estudo verificou os efeitos de dietas com diferentes concentrações de *B. clausii* sobre linguado japonês (*Paralichthys olivaceus*), sugerindo que a alimentação enriquecida com esta bactéria melhora o desempenho do crescimento e os benefícios para a saúde do peixe (Ye et al. 2011).

#### *Aplicação industrial e biotecnológica*

Proteases são enzimas amplamente utilizadas em processos industriais para produção de detergentes, alimento, couro e seda, tratamento de resíduos e remoção de biofilme, por exemplo. As proteases alcalinas podem ser secretadas por uma variedade de microrganismos, principalmente por cepas de *Bacillus* sp., que podem secretar uma grande quantidade de enzima de alta capacidade proteolítica e estabilidade em altas temperaturas e variação de pH (Singh; Bajaj, 2017).

*Bacillus clausii* é um representante do gênero responsável pela produção da Savinase, protease alcalina utilizada como aditivo detergente para remoção de conteúdo proteico, em lavanderias (Razzaq et al. 2019).

Um Estudo verificou a secreção de protease alcalina oxidativa estável a dodecil sulfato de sódio (SDS) por cepa de *B. clausii* isolada de lama de maré fortemente poluída. A atividade enzimática máxima foi produzida quando a bactéria foi cultivada em meio contendo farelo de soja, farinha de trigo, maltose diluída,  $K_2HPO_4$ ,  $Na_2HPO_4$ ,  $MgSO_4$ , 7H e  $Na_2CO_3$ . A protease alcalina mostrou extrema estabilidade em relação ao SDS e aos agentes oxidantes, que retiveram sua atividade acima de 75 e 110% no tratamento por 72 h com SDS a 5% e  $H_2O_2$  a 10%, respectivamente. O perfil de inibição exibido pelo fluoreto de fenilmetilsulfonilo sugeriu que a protease de *B. clausii* pertencia à família das serina proteases (Joo et al. 2003).

As serina-proteases de bacilos, semelhantes à subtilisina, têm sido utilizadas em vários campos industriais em todo o mundo,

particularmente na produção de detergentes para lavagem de roupa e máquinas de lavar louça. De tal maneira, foi conseguida a produção em larga escala de uma protease altamente alcalina (M-protease) a partir de *B. clausii* KSM-K16 alcalófilo, que foi introduzida em detergentes para roupa pesada (Saeki et al. 2007).

Espécies de *Bacillus* são conhecidas por apresentarem metabólitos secundários que tem a capacidade de controlar doenças de plantas (Ramarathnam et al. 2007) e potencial para sintetizar uma grande variedade de metabólitos antibacterianos e/ou antifúngicos, que é um determinante de sua capacidade de controle de doenças de plantas quando aplicado como agente de controle biológico (Moyne et al. 2001; Liu et al. 2015; Zhao et al. 2010).

Estudo voltado à atividade de peptídeos produzidos por *B. clausii* que poderiam realizar atividades herbicidas e inseticidas foi conduzido. Nele, sete lipopeptídeos cíclicos foram isolados do caldo de fermentação de *B. clausii* DTM1 e foram identificados como surfactantes em isômeros (biosurfactantes). Os compostos foram testados como herbicidas em espécies de pulgão e ensaio a base de folhas e contra *Plutella xylostella* e *Diabrotica balteata* a 500 ppm em ensaios de dieta artificial. A mortalidade foi avaliada em relação ao controle poços usando um sistema de duas bandas (0 ou 99, onde 99 = significante mortalidade ( $\geq 70\%$ ), 0 = mortalidade não significativa / sem efeito ( $\leq 70\%$ ). Os bioensaios demonstraram que todos os compostos exibiam atividades inseticidas de herbicidas (Guo et al. 2016).

## CONCLUSÃO

A revisão realizada evidenciou a importância de *Bacillus clausii* como probiótico, ou seja, um microrganismo que apresenta uma relação simbiótica direta com o hospedeiro e que traz benefícios à saúde, demonstra resistência a ácidos e sais biliares, melhora a imunidade modulando padrões de citocinas e outras estruturas do sistema imunológico.

Auxilia na digestão e absorção de alimentos voltados tanto para humanos quanto para animais, compete com microrganismos potencialmente patogênicos, melhora quadros de diarreia e alergias respiratórias, tem potencial para minimizar quadro de osteoporose, gastrite por *Helicobacter pylori* e apresenta efeitos para o tratamento de uremia podendo ser considerado um exemplo de terapia natural.

Além disso, pode secretar proteases alcalinas e peptídeos de aplicação industrial para a fabricação de detergentes, herbicidas e inseticidas.

## REFERÊNCIAS

BENONI, G; MARCER, V; CUZZOLIN, L; RAIMO, F. Antibiotic administration and oral bacterial therapy in infants. **Chemioterapia**, v. 3, p. 29 – 34, 1984.

BERGEY, D. H.; HOLT, J.G. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9. ed. Washington: Williams and Wacket, 1994.B

BERNARDEAU, M.; LEHTINEN, M. J.; FORSSTEN, S. D.; NURMINEN, P. Importance of the gastrointestinal life cycle of *Bacillus* for probiotic functionality. **Journal of Food Science and Technology**. v. 54, n. 8, p. 2570 – 2584, 2017.

BRANDER, S; MIKKELSEN, J.D; KEPP, K.P; Characterization of an alkali- and halide-resistance laccase expressed in *E. coli*: CotA from *Bacillus clausii*. **PLoS One**. v. 9, n. 6, 2014.

BRUNSER, O. Probiotics: innocuousness, prevention and risks. **Revista Chilena de Pediatría**. v. 88, p. 534 – 540, 2017.

CENCI, G; TROTTA, F; CALDINI, G. Tolerance to challenges miming gastrointestinal transit by spores and vegetative cells of *Bacillus clausii*. **Journal of Applied Microbiology**. v. 101, p. 1208 - 1215, 2006.

CIPRANDI, G. *et al.* Cytokines evaluation in nasal lavage of allergic children after *Bacillus clausii* administration: a pilot study. **Pediatric Allergy and Immunology: Official Publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology**. v. 15, n. 2, p. 148-151, 2004.

CRUZ, J.A. *et al.* Viabilidade de *Bacillus subtilis* e de *Bacillus clausii* em suco de caju (*Anacardium occidentale* L.). *In: Congresso Brasileiro De Ciência E Tecnologia De Alimentos*, 24., 2016, Gramado. [Anais...]. Gramado: [s.n.], 2016.

- CUTTING, S.M. Bacillus probiotics. **International Journal Food Microbiology**. v. 28, p. 214 - 220, 2011.
- DAR, H.Y. *et al.* Bacillus clausii inhibits bone loss by skewing Treg-Th17 cell equilibrium in postmenopausal osteoporotic mice model. **Nutrition**. v. 54, p. 118 - 128, 2018.
- DI CARO, S. *et al.* Bacillus clausii effect on gene expression pattern in small bowel mucosa using DNA microarray analysis. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**. v. 17, p. 951 - 960, 2005.
- Enterogermina® [folheto]. Enterogermina – um produto SANOFI, 2017. **2 bilhões de Bacillus clausii**. Disponível em: <<https://www.enterogermina.com.br/produtos/enterogermina-2-bilhoes>>. Acesso em: 16 de dez. 2019.
- FAO/WHO. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. **Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization**, London, Ontario, 2002.
- FERRARI, E. *et al.* Commercial production of extracellular enzymes in *Bacillus subtilis* and other Gram-positive bacteria. **Biochemistry, Physiology and Molecular Genetics; Washington DC: American Society for Microbiology Press**; p. 917 – 937, 1993.
- GHELARDI, E. *et al.* Survival and persistence of *Bacillus clausii* in the human gastrointestinal tract following oral administration as spore-based probiotic formulation. **Journal of Applied Microbiology**; v. 119, p. 552 – 559, 2015.
- GONZALEZ, J. C. Prevención de la Diverticulitis Aguda Recurrente con Bacillus clausii. **Gen**, Caracas; v. 69, n. 1, p. 2 – 6, 2015.
- GREEN, D. H. *et al.* Characterization of two *Bacillus* probiotics. **Applied Environmental Microbiology**. v. 65, p. 4288 – 4294, 1999.
- GUO *et al.* Cyclic Lipopeptides with Herbicidal and Insecticidal Activities Produced by *Bacillus clausii* DTM1. **Natural product communications**. v. 10, p. 2151 – 2153, 2016.
- HAWRELAK, J. Á; MYERS, S. P. The Causes of Intestinal Dysbiosis: A Review. **Scientific Review of Alternative Medicine**. v. 9, n. 2, p. 180 – 197, 2004.
- HECHT, G. Innate mechanism of epithelial host defense. Spotlight on intestine. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**. v. 277, n. 3, p. 351 – 358, 1999.
- HONG, H.A; DUC LE, H; CUTTING, S.M. The use of bacterial spore formers as probiotics. **Federation of European Microbiological Societies Review**. v. 29, p. 813 – 835, 2005.
- IANIRO G *et al.* Bacillus clausii for the treatment of acute diarrhea in children: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Nutrients**. v. 10, p. 1074, 2018.
- JAYANTHI, N; SUDHA, R. M. Bacillus clausii-the probiotic of choice in the treatment of diarrhoea. **Journal of Yoga and Physical Therapy**. v. 5, p. 1, 2015.
- JOO, H.S *et al.* Oxidant and SDS-stable alkaline protease from *Bacillus clausii* I-52: production and some properties. **Journal of Applied Microbiology**. v. 95, p. 267 – 272, 2003.
- KUMAR, D., CHAND, D., SANKHIAN, U. D., BHALLA, T.C. Utilization of a protease of *Bacillus* sp. APR-4 in peptide synthesis. **Indian Journal of Microbiology**. v. 43, p. 131 – 133, 2003.
- LAKSHMI, S.G., JAYANTHI, N., SARAVANAN, M., RATNA, M.S. Safety assessment of *Bacillus clausii* UBBC07, a spore forming probiotic. **Toxicology Reports**. v. 4, p. 62 – 71, 2017.
- LAZZAZZERA, B. A; SOLOMON, J. M; GROSSMAM A. D. An exported peptide functions intracellularly to contribute to cell density signaling in *B. subtilis*. **Cell**. v. 8, p. 917 – 925, 1997.
- LEON; KEYRA *et al.* Productos e efectos. **Sociedade Venezolana de Puericultura y Pediatría**, v. 78, n. 4, p. 129 – 134, Caracas, 2015.
- LIONG, M. T. Probiotics: a critical review of their potential role as antihypertensives, immune modulators, hypocholesterolemic and perimenopausal treatments. **Nutrition Reviews**, v. 65, n. 7, p. 16 - 328, 2007.
- LIPPOLIS, R. *et al.* Comparative secretome analysis of four isogenic *Bacillus clausii* probiotic strains. **Proteome Science**. p. 11 – 28, 2013.
- LIU, C. *et al.* Biocontrol activity of *Bacillus subtilis* isolated from *Agaricus bisporus* mushroom compost against pathogenic fungi. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 63, p. 6009-6018, 2015.
- LOPETUSO, L. R; SCALDAFERRI, F; FRANCESCHI, F. E; GASBARRINI, A. Bacillus clausii and gut homeostasis: state of the art and future perspectives. **Expert Review of Gastroenterology & Hepatology**. v. 10, p. 943 – 948, 2016.
- MARSEGLIA, G. L. *et al.* Efficacy of *Bacillus clausii* spores in the prevention of recurrent respiratory infections in children: a pilot study. **Therapeutics and Clinical Risk Management**. v. 3, p. 13 – 17, 2007.
- MAZZA, P; ZANI, F; MARTELLI, P. Studies on the antibiotic resistance of *Bacillus subtilis* strains used in



- oral bacteriotherapy. **Bollettino Chimico Farmaceutico**. v. 131, p. 401 – 408, 1992.
- MILLS, J. P; RAO, K; YOUNG, V. B. Probiotics for prevention of *Clostridium difficile* infection. **Current Opinion in Gastroenterology**. v. 34, p. 3 – 10, 2018.
- MOYNE, A. L; SHELBY, R; CLEVELAND, T. E; TUZUN, S. Bacillomycin D: an iturin with antifungal activity against *Aspergillus flavus*. **Journal of Applied Microbiology**. v. 90, p. 622 – 629, 2001.
- NIELSEN P., FRITZE D., PRIEST G. Phenitic diversity of alkaliphilic *Bacillus* strains: proposal for nine new species. **Microbiology**. v. 141, p. 1745 – 1761, 1995.
- NISTA, E. C. *et al.* *Bacillus clausii* therapy to reduce side effects of anti-helicobacter pylori treatment: randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**. v. 20, p. 1181 – 1188, 2004.
- PATEL *et al.* Therapeutic Prospective of a Spore-Forming Probiotic—*Bacillus clausii* UBBC07 Against Acetaminophen-Induced Uremia in Rats. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**. 2019.
- PELEG, A. Y. *et al.* The Success of *Acinetobacter* Species; Genetic, Metabolic and Virulence Attributes. **PLoS One**. v. 7, n. 10, 2012.
- PEREGO, M; HOCH, J. A. Cell-cell communication regulates the effects of protein aspartate phosphatases on the phosphor lay controlling development in *Bacillus subtilis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 93, p. 1549 – 1553, 1996.
- POOLEY, H. M; MERCHANTE, R; KARAMATA, D. Overall protein content and induced enzyme components of the periplasm of *Bacillus subtilis*. **Microbial Drug Resistance**. v. 2, p. 9 – 15, 1996.
- RAMARATHNAM, R. *et al.* Molecular and biochemical detection of fengycin- and bacillomycin D-producing *Bacillus* spp., antagonistic to fungal pathogens of canola and wheat. **Canadian Journal of Microbiology**. v. 53, p. 901 – 911, 2007.
- RAZZAQ, A. *et al.* Microbial proteases applications. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**. v. 7, p. 110, 2019.
- REYES-MENDEZ, A.I. *et al.* Production of calcium- and iron-binding peptides by probiotic strains of *Bacillus subtilis*, *B. clausii* and *B. Coagulans*GBI-30. **Revista Mexicana de Ingenieria Quimica**. México. v. 14, n. 1, p. 1 – 9, 2015.
- RIPERT, G. *et al.* Secreted compounds of the probiotic *Bacillus clausii* strain O/C inhibit the cytotoxic effects induced by *Clostridium difficile* and *Bacillus cereus* toxins. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 60, p. 3445–3454, 2016.
- ROCHÍN-MEDINA, J. J. *et al.* Use of whey as a culture medium for *Bacillus clausii* for the production of protein hydrolysates with antimicrobial and antioxidant activity. **Food Science and Technology International**, v. 24, n. 1, p. 35-42, 2018.
- ROLFE, R. D. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. **Journal of Nutrition**, 2000.
- SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências e Farmacologia**, v. 42, n. 6, p. 1-16, 2006.
- SAEKI, K; OZAKI, K. T; KOBAYASHI ITO, S. Detergent alkaline proteases: enzymatic properties, genes, and crystal structures. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. v. 6, p. 501-508, 2007.
- SANDERS, M.E; MORELLI, L; TOMPKINS, T.A. Sporeformers as human probiotics: *Bacillus*, *Sporolactobacillus*, and *Brevibacillus*. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v. 2, p. 101-110, 2003.
- JOSHI, S. *et al.* *Bacillus clausii* septicemia in a pediatric patient after treatment with probiotics. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 38, n. 9, p. e228-e230, 2019.
- SCHALLMEY, M; SINGH, A; WARD, O.P. Developments in the use of *Bacillus* species for industrial production. **Canadian Journal of Microbiology**. v. 50, p. 1 – 17, 2004.
- SINGH, S; BAJAJ, B. K. Potential application spectrum of microbial proteases for clean and green industrial production. **Energy, Ecology and Environment**. v. 2, n. 6, p. 370–386, 2017.
- SMIYAN, O. I *et al.* Optimization of the treatment of rotavirus infection in children by using *Bacillus clausii*. **Wiadomosci Lekarskie**. v. 72, n. 7, p. 1320-1323, 2019.
- SUDHA, MR. *et al.* *Bacillus clausii* UBBC-07 reduces severity of diarrhoea in children under 5 years of age: a double blind placebo controlled study. **Beneficial Microbes**. v. 10, n. 2, p. 149 – 154, 2019.
- SUN, Y. Z; YANG, H. L; MA, R. L; LIN, W. Y. Probiotic applications of two dominant gut *Bacillus* strains with antagonistic activity improved the growth performance and immune responses of grouper *Epinephelus coioides*. **Fish and Shellfish Immunology**. v. 29, p. 803–809, 2010.
- SUTCLIFFE, I.C; RUSSELL, R.R. Lipoproteins of Gram-positive bacteria. **Journal of Bacteriology**. v. 177, p. 1123 – 1128, 1995.

TEWARI, V. V; DUBEY, S. K; GUPTA, G. *Bacillus clausii* for prevention of late-onset sepsis in preterm infants: a randomized controlled trial. **Journal of Tropical Pediatrics**. v. 61, n. 3, p. 77 – 85, 2015.

URDACI, M. C; BRESSOLLIER, P; PINCHUK, I. *Bacillus clausii* probiotic strains: antimicrobial and immunomodulatory activities. **Journal of Clinical Gastroenterology**. v. 38, p. 86 – 90, 2004.

YE, J. D., WANG, K., LI, F. D., SUN, Y. Z. Single or combined effects of fructo-and mannan oligosaccharide supplements and *Bacillus Clausii* on the growth, feed utilization, body composition, digestive enzyme activity, innate immune response and lipid metabolism of the Japanese flounder *Paralichthysolivaceus*. **Aquaculture Nutrition**. v. 17, p. 902 – 911, 2011.

ZHAO, Z. Z. et al. Study of the antifungal activity of *Bacillus vallismortis* ZZ185 in vitro and identification of its antifungal components. **Bioresource Technology**. v. 101, p. 292 – 297, 2010.