

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) relativo a la evaluación de la seguridad de *Bifidobacterium lactis* en fórmulas y alimentos para lactantes y niños de corta edad

Miembros del Comité Científico

Andreu Palou Oliver, Juan José Badiola Diez, Arturo Anadón Navarro, Albert Bosch Navarro, Juan Francisco Cacho Palomar, Ana María Carmeán Fernández, Alberto Cepeda Sáez, Lucas Domínguez Rodríguez, Rosaura Farré Rovira, Manuela Juárez Iglesias, Francisco Martín Bermudo, Manuel Martín Esteban, Albert Más Barón, Teresa Ortega Hernández-Agero, Andrés Otero Carballeira, Perfecto Paseiro Losada, Daniel Ramón Vidal, Elías Rodríguez Ferri, M^a Carmen Vidal Carou, Gonzalo Zurera Cosano

Secretario

Jesús Campos Amado

Número de referencia: AESAN-2009-004

Documento aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 11 de febrero de 2009

Grupo de Trabajo

Daniel Ramón Vidal (Coordinador)
Arturo Anadón Navarro
Juan José Badiola Diez
Albert Bosch Navarro
Andreu Palou Oliver
Ricardo López Rodríguez (AESAN)

Resumen

La adición de probióticos a alimentos infantiles se ha considerado, en ocasiones, una herramienta nutricional con la que poder prevenir ciertos problemas sanitarios de la población infantil. A tal efecto, existen diversos productos comerciales que incluyen en su formulación cepas de los géneros bacterianos *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*. Una de las cepas más usadas es la denominada Bb12 perteneciente a la especie *Bifidobacterium animalis subespecie lactis* comercializada por la empresa Nestlé. La filial española de dicha compañía ha solicitado a la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición la evaluación de la seguridad y beneficios esperados de fórmulas y alimentos para lactantes y niños de corta edad adicionados de dicha cepa. La evaluación de los beneficios queda fuera de las responsabilidades de esta Agencia al ser responsabilidad exclusiva de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (Reglamento (CE) nº 1924/2006 relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos). Por ello esta evaluación se refiere exclusivamente a la seguridad alimentaria de dicha cepa y de los productos que la puedan contener. La conclusión final de la misma es positiva al uso de este microorganismo en alimentos y fórmulas infantiles aunque no recomienda su empleo en la alimentación de niños con inmunodeficiencia congénita o recién nacidos prematuros.

Palabras clave

Bifidobacterium animalis subespecie lactis, Bb12, probiótico, alimentos infantiles, fórmulas infantiles.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) relating to the safety assessment of *Bifidobacterium lactis* in formulae and foods for infants and young children.

Abstract

Adding probiotics to children's food has sometimes been considered a nutritional tool which can be used to prevent certain health problems in the infant and young children population. To this end, there are different commercial products which include cultures of the bacteria species *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*. One of the most commonly used strains is known as Bb12 and belongs to the *Bifidobacterium animalis subespecie lactis* species and is sold by Nestlé. The Spanish subsidiary of this company has requested that the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition assess the safety and expected benefits of formulae and foods for infants and young children which have this strain added. Assessing such benefits is outside the remit of this Agency as it is the exclusive responsibility of the European Food Safety Authority (Regulation (EC) No. 1924/2006 on nutrition and health claims made on foods). Therefore, this assessment refers exclusively to the food safety of this strain and the products which may contain it. The final conclusion of this assessment is positive to the use of this microorganism in infant foods and formulae although it is not recommended that it be used in food for children with congenital immunodeficiency or for premature newborns.

Key words

Bifidobacterium animalis subespecie lactis, Bb12, probiotic, infants foods, infants formulae.

Introducción

La empresa Nestlé España, S.A. ha presentado a la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) una solicitud, acompañada del correspondiente dossier científico, con el objeto de evaluar la seguridad y beneficios esperados de fórmulas y alimentos para lactantes y niños de corta edad que contienen la cepa *Bifidobacterium lactis* (actualmente *Bifidobacterium animalis subespecie lactis*) Bb12 para su comercialización en España.

1. Fuente de la cepa

B. lactis es una bacteria ácido láctica Gram positiva no esporulada. La cepa objeto de evaluación ha sido completamente caracterizada. Las herramientas moleculares para identificar y rastrear la cepa individual han sido desarrolladas por el Centro de Investigación de Nestlé.

2. Historial de uso de *B. lactis*

El solicitante indica que los productos fermentados con bifidobacterias vivas son tradicionalmente consumidos en muchos países de todo el mundo y tienen un prolongado historial de uso seguro. En concreto, esta cepa del género *B. lactis* ha sido utilizada en productos lácteos en mercados de todo el mundo desde hace más de tres décadas. Las fórmulas infantiles elaboradas con la cepa *B. lactis* Bb12 han sido comercializados por Nestlé desde 1991 y actualmente se encuentran disponibles en más de 30 países.

Se destaca que desde la introducción de los diferentes productos infantiles que contienen *B. lactis* Bb12, no se ha detectado caso alguno de intolerancia gastrointestinal u otros efectos negativos. Respecto a los posibles beneficios de dicha cepa se citan algunos relacionados con la posible participación en el reforzamiento de las defensas naturales del bebé, en el buen funcionamiento del sistema digestivo o, por ejemplo, en mitigar efectos relacionados con las diarreas.

Marco regulatorio relativo al uso de *B. lactis* en fórmulas y alimentos preparados para lactantes y niños de corta edad

En España el Real Decreto 867/2008, de 23 de mayo, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico Sanitaria específica de los preparados para lactantes y de los preparados de continuación establece en su artículo 3 que estos preparados se elaborarán, según el caso, a partir de las fuentes proteicas definidas en el punto 2 del anexo I y del anexo II y de otros ingredientes alimenticios cuya adecuación para la alimentación especial de los lactantes desde el nacimiento haya sido determinada mediante datos científicos generalmente aceptados. Dicha adecuación se demostrará mediante el análisis sistemático de los datos disponibles sobre los beneficios esperados y las consideraciones de seguridad y, en su caso, mediante estudios pertinentes, realizados según instrucciones especializadas y generalmente aceptadas sobre la elaboración y realización de este tipo de estudios.

En lo que respecta a la evaluación de su posible efecto beneficioso es necesario destacar que tal beneficio ha sido evaluado, junto con su seguridad, por varios Organismos Internacionales como por ejemplo la AFSSA (*Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments*). No obstante, el Comité Científico de la AESAN considera que este aspecto es competencia de EFSA (Autoridad Europea de

Seguridad Alimentaria) puesto que, según establece el Reglamento (CE) n° 1924/2006 relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos, es EFSA la responsable de llevar a cabo la citada evaluación.

Los requisitos de composición de las fórmulas y alimentos para lactantes y niños de corta edad han sido definidos a nivel mundial por el *Codex Alimentarius*, y están regulados por las autoridades a nivel supranacional (Unión Europea, Australia / Nueva Zelanda) y también en el ámbito nacional (Malasia, México, EE.UU., Sudáfrica). Según la información proporcionada por el solicitante, debido a las características particulares de las distintas fórmulas y alimentos que se consumen durante las primeras etapas de la vida, el *Codex* ha establecido normas específicas, entre otras, para:

- Preparados para lactantes (CODEX STAN 72-1981, Rev. 2007) y preparados complementarios (CODEX STAN 156-1987). Respecto a los preparados complementarios, se destaca que la citada Norma permite la adición de cultivos productores de ácido L(+) láctico (Sección 4.3.11).

En este mismo sentido y a nivel europeo, el Comité Científico de la Alimentación Humana (SCF, 2003) ha establecido los requisitos esenciales de los preparados para lactantes y preparados de continuación recomendando que los microorganismos probióticos sólo deben introducirse en el mercado si han sido evaluados en cuanto a su seguridad y beneficio.

El SCF indica que sólo deberían ser utilizadas aquellas cepas bacterianas para las que ha sido demostrada la identidad y estabilidad genética, y en el caso de que:

- Puedan ser consideradas seguras en general cuando se añaden a los alimentos individuales.
- Han demostrado que sobreviven al tránsito gastrointestinal.
- Tienen la capacidad de proliferar en el tracto gastrointestinal durante el consumo.
- Son capaces de modificar el medio intestinal (por ejemplo, reducir el valor de pH o producir ácidos grasos de cadena corta).

Autorización en otros países

La cepa *B. lactis* Bb12 ha sido objeto de estudio y evaluación en varios países. En Francia, la AFSSA ha emitido dos dictámenes sobre dicha cepa en fórmulas y alimentos para lactantes y niños de corta edad (AFSSA, 2002, 2003). En lo que respecta a la seguridad de su uso, AFSSA considera que no se han identificado riesgos relacionados con la presencia de dicha cepa.

No obstante, señala que teniendo en cuenta los datos científicos disponibles:

- Los preparados que contienen probióticos no son aptos para niños con inmunodeficiencia congénita.
- Se desconoce el riesgo de infección asociado al uso de probióticos en recién nacidos prematuros.

En Estados Unidos, la *Food and Drug Administration* (FDA) declaró en 2003 las cepas Bb12 y *S. thermophilus* Th4 como GRAS (*Generally Recognized as Safe*) para su uso como ingredientes en fórmulas a base de leche destinadas al consumo por lactantes de cuatro meses o más (GRAS Notice No GRN 000049).

Los datos adicionales sobre la secuencia completa del genoma de la cepa *B. lactis* Bb12 revelan la presencia de un gen que confiere resistencia a la tetraciclina designado como gen Tet (W). Dada la localización cromosómica de dicho gen y la incapacidad para la transferencia del mismo a otras bacterias del entorno, la FDA concluyó que la presencia del mismo no afecta a la seguridad de la cepa *B.*

lactis Bb12 como ingrediente en las fórmulas infantiles y que el descubrimiento del gen Tet (W) en *B. lactis* no modificaba su anterior conclusión relativa a que *B. lactis* es GRAS para su uso como ingrediente en las fórmulas infantiles.

En otros países como Australia y Nueva Zelanda, la Norma sobre los preparados de productos para lactantes (Norma 2.9.1) especifica en su artículo 9 que los cultivos de bacterias lácticas que producen ácido láctico puedan añadirse a los productos para lactantes. Su uso también está autorizado en Malasia y Sudáfrica.

Evaluación de la seguridad

Conviene destacar que recientemente la EFSA ha incluido la especie *Bifidobacterium animalis* en su lista de microorganismos con “Presunción Cualificada de Seguridad” (QPS) (EFSA, 2008). El término “QPS” es un concepto que es utilizado por EFSA como un sistema interno para aplicarlo a las solicitudes para evaluar la seguridad de los microorganismos introducidos de forma intencionada en la cadena alimentaria.

Según indica el solicitante, las bifidobacterias son parte de la microflora intestinal y están generalmente reconocidas como seguras (FAO/OMS, 2002) (Gasser, 1994) (Adams y Marteu, 1995). Su presencia predominante en el tracto gastrointestinal y su largo historial de consumo en humanos, en particular en productos lácteos fermentados, apoya la seguridad de su uso. Esta cepa ha demostrado una buena resistencia a las condiciones gastrointestinales y sigue siendo viable durante el tránsito gastrointestinal. Una vez consumida, persiste en el tracto gastrointestinal del bebé durante aproximadamente una o dos semanas.

También indica que los datos clínicos disponibles apoyan la seguridad de uso de la cepa *B. lactis* Bb12 en recién nacidos, incluyendo a los prematuros y recién nacidos inmuno-sensibles, si bien en este apartado hay que recordar la oposición mantenida por la AFSSA anteriormente comentada.

Los datos clínicos apoyan la seguridad del uso de *B. lactis*. Aunque los probióticos hasta ahora utilizados en los estudios clínicos generalmente han sido descritos como seguros y bien tolerados, existen algunas dudas sobre si estas conclusiones requieren una evaluación adicional (Agostini et al., 2004).

La única especie de *Bifidobacterium* asociada con efectos nocivos es *Bifidobacterium dentium*. Esta cepa, identificada como un agente carcinogénico, puede ser fácilmente distinguible de *B. lactis* utilizando métodos específicos de localización ribosómicos.

Los casos de virulencia asociados con bifidobacterias, que están presentes en los alimentos y en el tracto gastrointestinal, son extremadamente raros. En los casos en que los que se informó de esta infección, la cirugía pareció ser la fuente de infección mas probable (Gasser, 1994).

1. Perfil de susceptibilidad antibiótica

Según indica el solicitante, se ha estudiado la susceptibilidad de esta cepa frente a un amplio rango de antibióticos. Los resultados indican que *B. lactis* es sensible a muchos antibióticos de amplio espectro y antibióticos específicos frente a bacterias Gram-positivas, e insensible a algunos aminoglicósidos. Merece la pena destacar la resistencia a tetraciclina anteriormente mencionada, así como a la vancomicina. En el primer caso, como anteriormente se mencionó, el gen de resistencia no es trans-

ferible. En el segundo, en un estudio comparativo entre varias bacterias lácticas, la cepa Bb12 resultó ser resistente a dicho antibiótico, si bien a niveles bajos (Zhou et al., 2005).

Dada la especial relevancia de la vancomicina como herramienta terapéutica para tratar infecciones multiresistentes, sería deseable conocer la opinión del solicitante al respecto. En cualquier caso merece la pena recordar que la resistencia a vancomicina está muy extendida en el género *Bifidobacterium* y que el valor detectado en la cepa Bb12 es de 2 mg/l, una concentración inferior a la de 4 mg/l descrita como “breakpoint” (Anadón et al., 2006). En general podemos considerar que los resultados de resistencia a antibióticos encontrados para la cepa Bb12 son similares a los publicados en la literatura para bifidobacterias de origen humano (Matteuzzi et al., 1983) (Lim et al., 1993) (Charteris et al., 1998) (Yazid et al., 2000).

2. Evaluación bioinformática del genoma de la cepa

Según el solicitante, no se han identificado en el genoma de la bacteria factores de virulencia. Como anteriormente se mencionó, la secuenciación del genoma de *B. lactis* reveló la presencia de Tet (W), un gen que confiere resistencia a la tetraciclina. Los riesgos potenciales asociados a la presencia de este gen fueron evaluados por varios expertos llegando a la conclusión de que el uso de dicha cepa en formulas y alimentos para lactantes y niños de corta edad es seguro.

3. Estudios de toxicidad

Según la información aportada, la experiencia sobre el uso de bifidobacterias en nutrición humana, así como los datos científicos publicados relativos a la ingestión por todos los grupos de edad de esta cepa Bb12 no indica efectos tóxicos asociados con las bifidobacterias. No producen toxinas ni factores de virulencia y no hay datos sobre la producción de otros metabolitos tóxicos. Estas cepas no producen D(-) ácido láctico considerado como responsable de la acidosis metabólica en niños de muy corta edad.

4. Evaluación de la seguridad de *B. lactis* en modelos animales

El estudio en ratones aportado por el solicitante (Cai y Benno, 2000) indica que en un estudio comparativo de ingesta de distintas bacterias lácticas probióticas se produjo la muerte de algunas crías nacidas de madres colonizadas con cultivos de las especies *Lactobacillus casei* GG o *Lactobacillus reuteri*. Por el contrario, no hubo mortalidad asociada con la ingesta de cepas de bifidobacterias, lo que confirma su inocuidad, incluso en animales inmunodeficientes.

5. Evaluación de la seguridad de *B. lactis* durante los estudios clínicos

Según indica el solicitante, no se han registrado efectos adversos asociados con el consumo de la cepa Bb12 en los ensayos clínicos realizados.

Conclusiones del Comité Científico

Los datos aportados por el solicitante muestran diversos posibles beneficios, algunos de los cuales han sido apreciados por la AFSSA y otros no, cuya traducción en declaraciones de propiedades saludables concretas corresponde al marco establecido en el Reglamento (CE) nº 1924/2006 relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos. En todo caso, el Comité Científico de la AESAN considera que el conjunto de los datos aportados por el solicitante señala de modo suficiente la eficacia nutricional de la cepa *B. lactis* Bb12 en fórmulas y alimentos para lactantes y niños.

En cuanto a la seguridad de dicha cepa, el Comité Científico considera que la misma está suficientemente avalada por la documentación aportada por el solicitante y evaluada por este Comité. Esta opinión se ve reforzada al haber sido incluida la especie *Bifidobacterium animalis* en la lista de microorganismos OPS (Presunción Cualificada de Seguridad) de la EFSA y ser considerada GRAS por la *Food and Drug Administration* (FDA). Aun así, no resulta recomendable su ingesta en niños con inmunodeficiencia congénita o en recién nacidos prematuros.

Referencias

- Adams, M.R. y Marteu, P. (1995). On the safety of lactic acid bacteria from food (Letter to the editor). *Intl. J. Fd. Microbio.*, 27, pp: 263-264.
- AFSSA (2002). Agencia Francesa de Seguridad Sanitaria de los Alimentos. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation de la sécurité d'emploi de *Bifidobacterium lactis* souche Bb12 dans les préparations pour nourrissons, les préparations de suite et les préparations à base de céréales pour nourrissons et enfants en bas âge et à l'évaluation des allégations formulées sur des préparations pour nourrissons, des préparations de suite et des préparations à base de céréales pour nourrissons et enfants en bas âge. Saisine nº 2002-SA-0188.
- AFSSA (2003). Agencia Francesa de Seguridad Sanitaria de los Alimentos. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation de la sécurité d'emploi de *Bifidobacterium lactis* souche Bb12 dans des préparations pour nourrissons, des préparations de suite et des préparations à base de céréales pour nourrissons et enfants en bas âge et à l'évaluation des allégations formulées sur des préparations pour nourrissons, des préparations de suite et des préparations à base de céréales pour nourrissons et enfants en bas âge. Saisine nº 2003-SA-0257.
- Agostoni, C., Axelsson, I., Braegger, C., Goulet, O., Koletzko, B., Michaelsen, K.M., Rigo, J., Shamir, R., Szajewska, H., Turck, D y Weaver, L.T. (2004). Probiotic bacteria in dietetic products for infants: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J. Ped. Gastroenterol. Nutr.*, 38, pp: 365-374.
- Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M.R. y Martínez, M.A. (2006). Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulation and safety assessment. *Reg. Toxicol. Pharmacol.*, 45, pp: 91-95.
- Cai, Y.M.M. y Benno, Y. (2000). *Bifidobacterium lactis* Meile et al. 1997 is a subjective synonym of *Bifidobacterium animalis* (Mitsuoka 1969) Scardovi and Trovatelli 1974. *Microbiol. Immunol.*, 44, pp: 815-820.
- Charteris, W.P., Kelly, P.M., Morelli, L. y Collins, J.K. (1998). Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Bifidobacterium* isolates from the human gastrointestinal tract. *Lett. Appl. Microbiol.*, 26, pp: 333-7.
- CODEX (1987). *Codex alimentarius*. Norma del CODEX para preparados complementarios. CODEX STAN 156-1987.
- CODEX (2007). *Codex alimentarius*. Norma para preparados para lactantes y preparados para usos medicinales especiales destinados a los lactantes. CODEX STAN 72-1981, Rev. 2007.
- EFSA (2008). European Food Safety Authority. The maintenance of the list of QPS microorganisms intentionally added to food or feed (Question No EFSA-Q-2008-006). *The EFSA Journal*, 923, pp: 1-48.

- FAO/OMS (2002). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Organización Mundial de la Salud. Report of a Joint FAO/WHO Expert Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/esn/food/wgreport2.pdf>.
- Gasser, F. (1994). Safety of lactic acid bacteria and their occurrence in human clinical infections. *Bull. Inst. Pasteur*, 92, pp: 45-67.
- Lim, K.S., Huh, C.S. y Baek Y.J. (1993). Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria. *J. Dairy Sci.*, 76, pp: 2168-2174.
- Link-Amster, H., Rochat, F., Saudan, K.Y., Mignot, O. y Aeschlimann, J.M. (1994). Modulation of a specific humoral immune response and changes in intestinal flora mediated through fermented milk intake. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 10, pp: 55-63.
- Matteuzzi, D., Crociani, F. y Brigidi, P. (1983). Antimicrobial susceptibility of *Bifidobacterium*. *Ann. Microbiol.*, 134A (3), pp: 339-349.
- SCF (2003). Report of the Scientific Committee on food on the Revision of essential requirements of infant formulae and follow-on formulae. SCF/CS/NUT/IF/65, final.
- Zhou, J.S., Pillidge, C.J., Gopa, I.P.K. y Gill, H.S. (2005). Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium strains. *Int. J. Food Microbiol.*, 98, pp: 211-217.
- Yazid, A.M., Ali, A.M., Shuhaimi, M., Kalaivaani, V., Rokiah, M.Y. y Reezal, A. (2000). Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria. *Letts. Appl. Microbiol.*, 31, pp: 57-62.