

FAO/WHO《食品益生菌评价指南》

1 2001年10月1日~10月4日FAO/WHO联合专家委员会就食品益生菌营养与保健功能评价问题在阿根廷召开会议。会议认为有必要建立一套评价食品用益生菌的系统方法指南,以证实其声称的保健功能。会后,为建立益生菌评价的指南、标准和方法,FAO/WHO成立了联合工作组,工作组规定了证实益生菌的保健功能所应提供的资料。工作组的目标是制定益生菌的基本标准。

2 FAO/WHO专家会议关于食品用益生菌营养保健功能评价报告主要涉及食品用益生菌,排除了生物治疗剂和非食品使用的有益微生物以及转基因生物体(generally modified organisms, GMOs)。工作组的评价范围和专家会议的相同。

3 食品中益生菌的评价指南见图1,详细介绍在以后各部分。

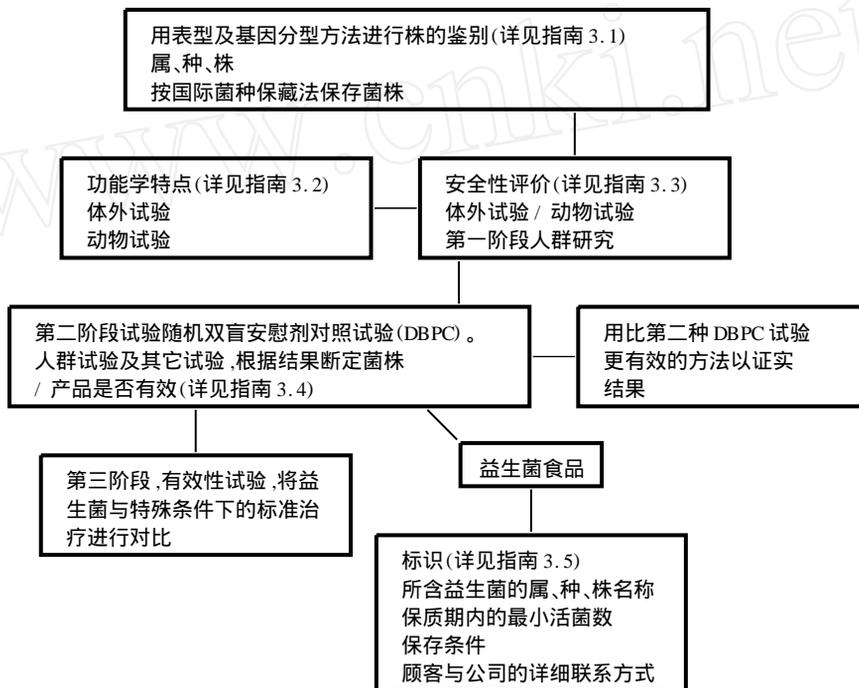


图1 食用益生菌评价指南

3.1 属/种/株

确定益生菌株的种及属很有必要。一般认为益生菌效应有株特异性。菌株的鉴别有助于确定其特定保健功能,也有利于准确地进行监测和流行病学研究。但具有提高乳糖不耐受人群对乳糖的消化能力的嗜热链球菌和德氏乳杆菌保加利亚亚种可能不存在株特异性。如果有充分的科学依据证实某保健功能不是株特异性的,则不必进行菌株的鉴别。

细菌属、种、株的鉴定应用最常用而且有效的方法。建议将表型实验和基因分型实验方法结合使用。

细菌的命名必须与通行的、科学性的名称一致。不能在产品标签上使用过时的或有误导性的名称。使用错误的名称不但不能正确地反映出产品中所含

的益生菌,而且会使消费者和主管部门对所售产品的益生菌作出种种猜测。目前,命名应遵循以下方法的规定:

公认的细菌命名法(Int J Syst Bacteriol, 1980, 30: 225—420),也可从网络上获取<http://www.bacterio.cict.fr/>。

发表在《国际微生物分类及发展》(International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology)或《国际细菌学分类杂志》(International Journal of Systematic Bacteriology)上的命名法。

DNA-DNA杂交是确定菌株种属的参考方法,但是该方法需要保藏大量参考菌株,许多实验室条件不允许,所以建议用DNA序列编码16S核糖体RNA的方法替代杂交实验,并建议证实时联合运用

基因分型试验与表型试验。

用作鉴别的关键表型为糖发酵的生化反应和葡萄糖发酵终产物。

菌株分型必须用可重复的基因分型方法或特殊的表型实验。脉冲场凝胶电泳 (PFGE) 实验是标准方法,也可使用随机扩增多态 DNA (RAPD) 方法,但可重复性较差。染色体外遗传性物质 (如质粒) 检测,也可用于菌株的分型及特征鉴定。

建议所有菌株均应按国际培养物保藏方法保存。

3.2 体外试验筛选潜在益生菌

体外试验是评价益生性微生物安全性的必需试验 (见 3)。

此外,体外试验有助于菌株鉴定及其益生效应机制的阐明。但是,据报道,目前已有的体外试验技术并不足以测定益生菌在人体内的功能。而且,确定其为特定益生菌仅靠体外试验的结果是不够的。食用益生菌应该经人体试验证实其功效。还可以应用与体内试验结果一致的某些靶特异性体外试验。例如,与人体胃内存活的试验结果一致的体外胆汁盐耐受性试验 (Conway, et al. 1987)。表 1 列出了目前通用的研究益生菌株的体外试验,但所有这些试验均需要体内试验结果的支持。

表 1 研究益生菌株的主要试验

对胃酸的耐受试验
胆汁酸耐受试验
粘附试验或/和人上皮细胞粘附试验
对条件致病菌的拮抗活性试验
降低致病菌对消化道粘膜的粘附能力试验
胆汁盐水解酶活性试验
对杀精子剂的耐药性试验 (适用于阴道用益生菌)

3.3 安全性考虑 益生菌株安全性评价及提取过程防止污染。

一直以来,在食品中使用乳酸杆菌和双歧杆菌都被认为是安全的 (Adams & Marteau, 1995)。这可以从它们一般是来自哺乳动物的正常菌丛,并且在全世界众多食品及添加剂的使用上已有明确的安全性中得到证实。但是,益生菌理论上存在有四类副作用 (Marteau, 2002):

系统感染;有害的代谢活性;对易感个体过分的免疫刺激;基因转移。

系统感染与益生菌摄入关系的报道很少,且都是发生于接受免疫性治疗的病人。下面是一些 (包括非食用微生物) 有关益生菌感染的报道:

二例可能由食用益生菌引起的鼠李糖乳杆菌感染 (Rautio, et al. 1999; Mackay, et al. 1999)。

13 例由输血导管引起的酵母菌血症 (Henne-

quin, et al. 2000)。

与食用益生菌有关的杆菌感染的三则报道 (Spinosa, et al. 2000; Oggioni, et al. 1998; Richard, et al. 1988), 共报道了 7 例枯草杆菌菌血症、败血症及胆管炎,均发生于有免疫性疾病的病人。

尚未见源于双歧杆菌感染的报道。肠球菌是新近出现的院内感染的重要病原菌,其分离株对万古霉素的耐药性逐渐增加。工作组认为一些肠球菌表现出了益生菌的特性,而这类肠球菌不对万古霉素耐药。但是,生产商有义务证明生产所用的所有的益生菌株都不存在可转移的抗生素耐药性或其它潜在毒性。

鉴于安全性评价的重要性,即便是对一般被认为安全 (Generally Recognized as Safe, GRAS) 的细菌,工作组也建议给益生菌株定性至少应包括以下试验。

(1) 抗生素耐药性模型的确定。(2) 某些代谢活性的评价。(3) 对人体副作用的评价。(4) 对益生菌潜在、未知的有害效应的流行病学监测。(5) 如待评价的菌株属于已知产哺乳动物毒素的菌种,必须对产毒能力进行测定,测定方法可参照欧洲动物营养科学委员会的建议。(6) 待评价的菌株属于已知有溶血毒性的菌种,则应测定其溶血活性。

如果能用免疫抑制动物模型评价益生菌株无感染性,则更能增强益生菌安全性的说服力。

3.4 动物试验或人体试验

在某些情况下,动物模型可证实体外试验的结果,并确定其作用机制。工作组鼓励在人体试用前进行动物试验。

益生菌功效的研究结果应在人体试验中得到有利的证实,如在症状、体征、健康状况或生活质量的改善上有统计学或生物学上的显著意义;降低了疾病危险性或延长了下次发病的间隔;加速了恢复等。它们都应与被测的益生菌有明确的相关性。

试验表明益生菌受许多临床条件的影响 (见专家会议报告 5.3)。临床评价的标准方法由 4 个阶段组成:安全性 - 功效 - 有效性 - 监测。第一阶段研究集中于安全性,见 3.3 节。第二阶段多用随机双盲对照试验设计 (randomized, double blind placebo-controlled, DBPC), 与安慰剂对比研究其功效。此外,该阶段还要测定是否有副作用。一般含益生菌的食物推荐使用的安慰剂为缺乏益生菌的食物载体。样本量根据特定终点计算得出。统计学意义的解释必须与生物学结果相结合。

对食品中的益生菌一般不做第三阶段试验,此阶段试验与标准治疗方法的对比有关。如声称该益

生菌可以改善疾病状况,则必须有相应的人体试验结果予以支持。

在第二、三阶段的研究中,工作组认识到活体试验在评价中的价值,建议人体试验应至少重复一次以证实结果。

就食品中的益生菌而言,不应存在有摄入后引起副作用的危险。对副作用应作常规监测和偶发性报道。

工作组建议应将关于益生菌菌株的研究和试验资料(包括临床试验证据)集中发表于权威性的科学或医学杂志上。此外,应鼓励相反作用结果的报道,它将有助于全面评价益生菌的功效。

如需更多信息,可登陆www.ftc.gov/bcp/online/pubs/buspubs/dietsupp.htm#11b。

3.5 保健声明及标识

目前,许多国家对益生菌食品只允许作一般性保健声明,工作组建议应允许有特殊的保健声明,但应有按上述指南提出的科学性的依据。这些特殊保健功能声明应被允许用于标签和促销宣传品上。例如,声明某益生菌“可降低婴幼儿轮状病毒腹泻的发生率及严重性”的特殊声明会比一般性声明如“增进儿童健康”提供更多的信息给消费者。这样能更好

地遵照 Codex General Guidelines on Claims (CAC/GL1 - 1979 (REV. 1 - 1991)),以避免误导性信息。应该说,产品生产者有义务请所在领域的专家性组织作出科学性的评论并制定出真实可信的保健声明。

工作组建议应在标签上显示以下内容。

(1)属、种、株名称,菌株名不能诱导消费者对其功能产生误解;(2)每个菌株在保质期内的最小活菌数;(3)每单位推荐摄入量内达到益生菌声称的保健作用的有效剂量;(4)保健功能;(5)贮存条件;(6)消费者与公司的详细联系方式。

4 建议

(1)益生菌应限定在“给予人体适当剂量后对人体健康有利的活的微生物”的范围内。(2)按照本指南判定某菌株是否为益生菌。(3)如按本指南能提出科学性的依据,主管机构应允许益生菌食品标签上标注特殊保健声明。(4)将该指南作为国际标准作宣传。(5)生产益生菌食品的过程应遵循良好生产规范(GMP),保证质量及货架寿命。(6)进一步发展体内、外试验方法,用于评价益生菌功能及安全性。

[吴蜀豫 冉陆 供稿]

中图分类号:R15;D813.7 文献标识码:E 文章编号:1004-8456(2003)04-0377-03

食品添加剂和污染物法典委员会第三十五次会议

食品添加剂和污染物法典委员会(CCFAC)第35次会议于2003年3月17-21日在坦桑尼亚共和国 Arusha 召开。来自42个成员国。19个国际组织的170名代表参加了本次会议。会议由荷兰农业、自然管理和渔业部的 Edwin Hecker 先生主持,坦桑尼亚卫生部、FAO、WHO 以及荷兰农业、自然管理和渔业部的代表分别致开幕词。他们指出国际食品贸易的全球化使得非洲国家强化食品安全管理活动的需要更加突出,以满足国内食品生产和进出口要求。就能力建设方面,他们欢迎2003年2月14日发起的设立 FAO/WHO 希望基金活动,并鼓励在发展中国家召开国际食品法典委员会(CAC)的相关会议,促使这些国家积极参与法典的活动。与会代表通过对三十余项议题的逐一讨论,达成以下共识。

供第26次CAC大会采纳/考虑的相关事宜

进入法典制定程序第5/8步或第8步的草案建议稿、标准草案及相关文件

食品添加剂法典通用标准附件表3的修订稿;

辐照食品法典通用标准的修订草案;

预防和减少苹果汁和苹果汁饮料中展青霉素污染的操作规范草案;

预防和减少粮谷中霉菌毒素污染的操作规范草案,包括关于赭曲霉毒素A、玉米赤霉烯酮、伏马菌素、单端孢霉烯族化合物的附件;

将国际编码系统(INS)的草案建议稿和草案增补内容提交大会,分别进入第5/8步和第8步审议采纳;

将食品添加剂和污染物联合专家委员会(JECFA)第59次会议提出的食品添加剂特性和纯度规格提交大会,进入第5/8步(省略第6、7步)审议采纳后,作为法典参考规格。

进入法典制定程序第5步的标准草案建议稿和相关文件

食品添加剂和污染物委员会所应用的危险性分析原则草案建议稿;

食品添加剂法典通用标准中食品分类系统的修