

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会 第111回議事録

1. 日時 平成28年2月3日（水）14:00～16:05

2. 場所 食品安全委員会中会議室

3. 議事

(1) 飼料添加物（バチルス サブチルスJA-ZK株）の食品健康影響評価について

(2) その他

4. 出席者

（専門委員）

今井座長、石原専門委員、今田専門委員、植田専門委員、小林専門委員、
戸塚専門委員、中山専門委員、細川専門委員、宮島専門委員、
宮本専門委員、山田専門委員、山中専門委員、吉田専門委員

（専門参考人）

唐木専門参考人

（食品安全委員会委員）

熊谷委員、山添委員

（事務局）

東條事務局次長、鋤柄評価第二課長、高橋課長補佐、
水野評価専門官、林評価専門官、森田技術参与

5. 配布資料

資料1 意見聴取要請（平成28年2月2日現在）

資料2 （案）飼料添加物評価書 バチルス サブチルスJA-ZK株
参考資料

6. 議事内容

○今井座長 それでは、定刻となりましたので、ただいまより第111回「肥料・飼料等専門調査会」を開催いたします。

本日は、荒川専門委員、桑形専門委員、下位専門委員、菅井専門委員、高橋専門委員が御欠席でございまして、今田先生が1時間程度遅れられるという御連絡が入っておりますが、最終的に13名の専門委員に御出席いただきます。

また、専門参考人として、唐木専門参考人が御出席です。よろしくお願いいたします。

それでは、議事に入ります前に、事務局から議事、資料の確認と「食品安全委員会における調査審議方法等について」に基づき必要となる専門委員の調査審議等への参加に関する事項について報告を行ってください。

○高橋課長補佐 それでは、議事、資料の確認をいたします。

本日の議事は「飼料添加物（バチルス サブチルスJA-ZK株）の食品健康影響評価について」と「その他」になります。

資料については、本日の議事次第、委員名簿、座席表、それから、議事次第に記載した資料2種類になります。

参考資料としまして、バチルス サブチルスJA-ZK株の申請関連の水色のファイルをお二人に1部、追加の参考資料としてピンク色の紙ファイルをお二人に1部ずつお配りしております。

机上配布資料1として「肥料・飼料等専門調査会への申請企業関係者等の参加について」の資料。

机上配布資料2としまして、申請資料の質問事項に対する申請企業の回答について、お配りしております。

不足の資料等はございませんでしょうか。よろしいですか。

また、専門委員の先生方から御提出いただいた確認書を確認したところ、平成15年10月2日委員会決定の2の（1）に規定する調査審議等に参加しないこととなる事由に該当する専門委員はいらっしゃいません。

○今井座長 先生方、提出いただいた確認書については相違ございませんでしょうか。

（「はい」と声あり）

○今井座長 ありがとうございます。

それでは、議題1「飼料添加物（バチルス サブチルスJA-ZK株）の食品健康影響評価について」です。事務局は資料の説明をお願いいたします。

○林評価専門官 それでは、評価書案について御説明させていただく前に、肥料・飼料等専門調査会への申請企業関係者等の参加について御説明をさせていただきます。机上配布資料1をお配りしておりますが、本日は審議対象である飼料添加物バチルス サブチルスJA-ZK株の申請企業である株式会社科学飼料研究所をお呼びしております。先生方から申請企業に対して直接御質問をいただくことで、よりの確な回答ができるのではないかと考えております。

具体的な対応ですが、評価書案の御審議を食品健康影響評価の前まで行い、企業申請資料等に関して説明者への質問事項を整理していただきます。その後、説明者を入室させ、質疑応答を行います。質疑応答終了後、説明者を退席させ、食品健康影響評価等の審議を行うこととなっております。

それでは、資料2の評価書案について御説明をさせていただきます。

2ページ、審議の経緯になります。昨年11月18日に農林水産省から飼料添加物の基準、規格並びに当該飼料添加物含む飼料の基準及び規格の改正に係る要請がなされたものになっております。ここで1つ訂正がございます。審議の経緯の2015年2月3日第111回肥料・飼料等専門調査会となっておりますが、2016年の誤りです。

本日、御審議していただきます飼料添加物につきましては、通常、肥料・飼料等専門調査会で御審議していただく成分と比較し、評価に用いる試験の数が少ないとの御意見を専門委員の先生から事前にいただきましたので、飼料添加物の指定の際に必要なとされる試験について御説明させていただきたいと思っております。

農林水産省において飼料添加物として生菌剤を指定する際には、お手元のピンク色のファイルの239ページをご覧ください。こちらに添付しております飼料添加物の評価基準で定められております試験項目に関する資料の提出が求められております。具体的には、243ページをご覧ください。生菌剤以外の場合として、生菌剤以外の化学物質等の場合に必要な試験を記載しております。

○今井座長 243ページです。よろしいでしょうか。

○林評価専門官 よろしいですか。一方、生菌剤の場合には、めくっていただきまして、244ページをご覧ください。2、生菌剤の場合としまして、必要な試験数が記載されております。ご覧のように飼料添加物として生菌剤を指定する場合に必要な試験数が少なくなっております。

以上、飼料添加物の指定の際に必要な試験について御紹介をさせていただきました。

それでは、評価書案に戻っていただきまして、4ページの1行目から「I. 評価対象飼料添加物の概要」についてまとめてございますので、御説明いたします。

「1. 用途」は、豚及び鶏用飼料に含有している栄養成分の有効な利用の促進になります。

5行目から「2. 有効成分の名称」です。一般名はバチルス サブチルス、株名はJA-ZK株になります。

10行目から「3. 製造方法の概要」について記載しております。本製剤は、培養した後、菌体を集め、デンプンを加えて製剤化しております。

13行目から、マスキング注意として、ボックス内に製造化工程において使用される培養培地に含まれる成分について記載をしております。以下のとおり、医薬品添加物、食品添加物として使用されている成分が本培養培地に含まれております。一部、消泡剤に含まれるポリアルキレングリコール類につきましては、含有される成分の詳細が不明であったことから申請企業に問い合わせたところ、5ページのボックス内の下から5行目の記載のとおり、詳細な組成についてはメーカーから開示してもらえなかったとの回答を得ております。

戻っていただきまして、4ページをご覧ください。しかしながら、ポリアルキレングリコール類の培養液に対する添加率は4ページのボックス内に記載のとおり、0.04～0.06%とわずかであり、また、ボックス内の下から6行目より、申請企業回答として記載のとおり、

培養菌液の濃縮が2段階に分けて実施されており、下から3行目になりますが、消泡剤は比重が軽いため水面に存在し、遠心分離濃縮で上清として大部分が除かれます。

5ページの3行目、また、最終的な濃縮物への培地成分の持ち込みは1.8～2.6%程度となります。この濃縮物にデンプンを加えて製剤化したものを配合飼料に数%程度の割合で配合いたします。その飼料をさらに家畜等が摂取するということを考えますと、本消泡剤については特段問題ないと考えております。

5ページの2行目から「4. 使用目的及び使用状況等」について記載しております。今回の評価対象であるバチルス サブチルスJA-ZK株は、飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進を目的として、豚及び鶏用飼料に添加して使用されます。飼料1 gに対し生菌剤として $10^5 \sim 10^7$ 個となっております。

14行目をご覧ください。近年、バチルス サブチルスを飼料に添加し家畜や家きんに給与することで、その生産性が改善されとの報告があり、日本では既に4菌株が飼料添加物として使用されております。

また、米国を初めとして世界的に広く使用されており、EUにおいては日本でも既に飼料添加物として指定されている *Bacillus subtilis* C-3102株が飼料添加物としても使用されております。

今回の評価対象である *Bacillus subtilis* JA-ZK株は、2000年に日本の竹林土壌から分離された株であり、安全性、家畜の生産性改善、保存安定性等が認められたことから、今回の開発に至っております。なお、本菌株は、海外において飼料添加物として使用されておられません。

6ページの1行目から、今回の農林水産省からの評価要請内容について記載をしております。

6行目から「Ⅱ. 安全性に係る知見の概要」について取りまとめてございます。

10行目から「1. 体内動態に関する試験」について記載しております。

まず、豚についての試験です。子豚に本製剤を14日間混餌投与した試験を実施しております。結果につきましては19行目から記載しております。最終投与7日後には、糞便中の被験生菌数は定量限界未満となりました。最終投与7日後の各組織の被験生菌は検出されませんでした。また、消化管内容物の被験生菌数はいずれの消化管においても定量限界未満であったとなっております。

24行目からボックス内に、石原先生、山中先生からいただいたコメントを記載しております。

石原先生からは、細菌数測定の検査法が不明であること。特に臓器の検出限界が不明であること。糞便や腸内容物に対する検出限界も高いように思うことから、この検出限界で定着しなかったという結論を出してよいかわからないとのコメントをいただいております。また、この点について、ほかの先生方の御意見を伺いたいですとのコメントをいただきました。

これらの点につきまして、申請企業に質問をしたところ、お手元の机上配布資料2の回答を得ておりますので、机上配布資料2をご覧ください。具体的な検査方法についてですが、飼料中の菌数測定と同様の手順で測定したとの回答を得ております。具体的には、希釈した菌液と寒天培地を混合したものを一定期間培養し、コロニー数を測定するという方法です。また、測定した菌の確認方法についてはコロニーの特異的な外観により確認したとの回答を得ております。

裏面をご覧ください。糞便または消化管内容物の検出限界の設定の考え方についての回答を記載しております。抜粋して御説明しますと、回答の3行目からになりますが、50倍希釈した液を摂取した場合に30個のコロニーが確認されるケースを定量限界値として設定していることから、希釈前の原液中の菌数の検出限界値は4 log個/gとなるとの回答を得ております。この回答を得た後に申請企業から、こちらの4 log個/gが検出限界になりますとの記載がございますが、この検出限界は定量限界の誤りであったと申請企業から回答を得ております。

それでは、評価書案の6ページにお戻りください。微生物、家畜飼料御担当の各専門委員の方々に事前に御意見をいただきました。申請企業の回答を御確認いただいた山中先生のコメントとしましては、7ページのボックス内の4行目からになりますが、本評価書では、定量限界を検出限界として記載されており、この点についてはっきりさせたほうがよいとのコメント。また、腸管への定着というところでは、コロニーがなかったとは限らない記述で、定着しないと言い切ることはできないと思います。ただ、この菌が消化管に定着してはいけなくとも言え、別にそうではないので、表現を変えることを考えるべきだと思いますとのコメントをいただいております。

申請企業からの回答及び先生方の御意見を踏まえ、7ページのボックス内の【事務局より】としまして、(1) 検出限界を定量限界へと修正し、消化管への定着に関する記載は削除いたしました。なお、(2) についてですが、机上配布資料2の申請企業からの回答によると、臓器についても糞便や消化管内容物の検査と同様の方法を用いたとのことでしたが、その後、臓器についてはスタンプ法を用いたとの連絡があり、臓器の被験生菌の検査に関する記載についてもあわせて修正をしております。鶏の試験についても同様の修正をいたしました。こちらの記載でよろしいか御検討をお願いいたします。

7ページの7行目から、鶏の生体内試験について御説明いたします。鶏に本製剤を7日間混餌投与した試験を実施しております。

11行目、12行目は、豚と同様の修正をしております。

8ページの2行目から結果になります。最終投与1日後には、糞便中の被験生菌数は定量限界未満となっております。最終投与7日後の各組織に被験生菌は検出されず、また、消化管内容物の被験生菌数はいずれの消化管においても定量限界未満であったとなっております。

○今井座長 すみません、途中なのですが、企業からの回答が二転、三転しているような

部分もございますので、一旦ここで切っていただいて、先生方の御意見をいただいてもよろしいでしょうか。

冒頭、事務局からもございましたが、生菌剤としての評価というのは、この食品安全委員会で初めてということで、ピンク色の資料でも御説明がございましたが、農水省の飼料添加物の評価基準としても生菌剤は特別扱いをされていて、評価書案に記載されている試験数というのは、この基準をほぼ満たしている。完全に満たしているということで、この評価書案は健康影響評価をするのに当たって十分であるという御理解を一旦確認させていただきたいと思います。

その特殊性ということもあるのですが、6ページ目からの体内動態に関する試験を行ったその結果に関して、定量法に関して、主に石原先生及び山中先生からコメント、質問等が出されまして、それに対して企業とのやり取りがあったということでございます。

まず、6ページ目のボックスの中です。石原先生から、生菌数の測定法、臓器組織中の測定法あるいは糞便や腸内容物における定量法などについてコメントをいただいているところですが、こちらに関して、石原先生から、企業からの回答も含めて少し御説明いただいてよろしいでしょうか。

○石原専門委員 この参考資料を見ても、最初の段階では検査方法がわからなかったのですが、どのような検査方法をして定量限界が 10^4 個/gになったかというのはわかったのですが、山中先生もコメントされているように、何を目的に検査をしているかというところがあると思うのですが、本当にこの菌がヒトの健康に影響を及ぼさないという観点から考えると、動物にその菌が残らないということか、残ったとしても、それがヒトの腸内細菌叢に影響がないということを証明しないといけないのではないかなと私は思ったのですが、検査方法としては菌が残らないということを証明するのによい方法とは言いがたいと思っています。最初に材料を50倍に希釈してしまっているというところが、一般的な検査方法としても50倍に希釈する必要がないと思うので、なぜこういう方法をとったのかなというところは疑問が残ったままです。

○今井座長 ありがとうございます。

微生物、細菌に関して専門ではない私の目から見ましても、 10^4 は余りにも大きいかなという印象も持つわけです。一方で、最終的に定量限界という記載に変えられていますが、検出限界のような値がとれなかったのかどうかというところも疑問として残るところなのですが、そのあたりを含めまして、山中先生から御説明をいただけますでしょうか。

○山中専門委員 初めに、方法がわからなかったときに、培養ではなくてPCRかなと思ったのです。PCRであるとDNAの抽出などがあって定量限界が少し上がってしまうということが逆にあるということがあるのですが、培養だと。 10^4 と思ったが、50倍なので計算は合っているのです。多分、石原先生がお詳しいと思いますが、普通は10倍くらいから始めるはずなので、しかも臓器で固形物なので10倍にしてもどろどろで塗るのが難しいなど思ったのですが、そちらについてはスタンプ法だということですし、やり方は少しあれなの

かなとは思いますが。

ただ、何と言っても枯草菌のことなので、問題となるのは多分臓器に感染の形で入ってしまうことがないかということのみは知りたいと思います。それだったら、やはりスタンプ法で大丈夫だろうと思います。腸内に定着するかと言って、バランスを崩さない限りは、定着したらしたで別に構わないと思うのですが、それはまた別の給与試験等のところで見ていることなので、体内動態としてはどうなのかなという点の疑念はどうしても残ってしまうのですが、一応このように修文してもらったものを見れば、そこまでのことは言えるという形かなと思います。

○今井座長 ありがとうございます。

お二人の先生方からいただいたコメントを少し整理させていただきますと、まず組織での検出という面に関しては、山中先生の今の御説明によりますと、スタンプ法でもう目的は達しているだろうということで問題なからうと。ただ、これはあくまでも体内動態というカテゴリでお話をさせていただきますが、腸内の定量の仕方に関してはこのままで十分かどうかという、最終的には使用等に影響はないということなのですが、体内動態としてはいかななものかという面も残るのではないかとということだと思います。

石原先生、スタンプ法を使った組織の件数に関しては、石原先生もほぼこれでよからうという御意見でよろしいでしょうか。

○石原専門委員 これを給与して動物の組織に移行して、増えるということがないことはわかるとは思いますが、もう少し、より検査を検出感度を上げようという考えからすると、ほかの方法もあったような気はしますが、それをどこまで求めるかというところが動物に使う生菌剤の食品に対する影響をどこまで科学的なデータを求めるのかというところは、私の中でわからない部分があります。

○今井座長 ありがとうございます。

話を振ってしまって恐縮なのですが、戸塚先生、今のお二方の先生方の御議論に関して、追加でコメントあるいは御意見をいただけますでしょうか。

○戸塚専門委員 臓器についてもスタンプをホモジネートでつくって10倍程度から実施していく方法のほうが表面積のみの問題ですので、そういう方法が実施できれば、さらによいかなとは思いますが。

○今井座長 ありがとうございます。

様々な難しい問題を含んでいるような気もいたしますが、まず臓器の話は今ホモジネートの話も戸塚先生からいただいたところですが、糞便中の 10^4 という定量限界に関しまして、事務局でメーカーとのやり取りの中で、追加で得られているような情報といいますか、御説明をいただけるような、メーカーがなぜこの 10^4 という値で落ち着いたか等に関して御説明をいただける方はございますか。

○水野評価専門官 メーカーに問い合わせ等をしているときにお聞きした情報としましては、糞便または消化管内容物というものは夾雑物が多過ぎるということで、ピペット操作

等も正確にできないことがあるというようなことで、正確な試験操作がなかなか難しいので50倍からというようなことを聞いております。さらにその正確な詳細につきましては、もしよろしければ、企業に今回来ていただいておりますので、また御質問をいただければと思います。

○今井座長 わかりました。それでは、先生方の御意見を伺った中で糞便の定量の話に関しては申しわけありませんが、山中先生、後ほどメーカーに確認の質問をしていただくことはできますでしょうか。組織中の検出状況に関しましては、戸塚先生からホモジネートというアイデアもいただいたところですので、その辺でなぜそこまで実施しなかったかという点について御質問をいただければありがたいと思います。どうもありがとうございます。

専門委員の先生方から質問が出た点については少し整理といいますか、最終的にメーカーへの質問という形で振らせていただいたところなのですが、そのほかの点に関しまして、専門委員の先生あるいは専門参考人の先生方からコメント、御意見などはございますでしょうか。よろしいですか。もしございましたら、また最後のところでいただければと思います。

お願いします。

○細川専門委員 組織中の7日後というのは、決められているものなのですか。要するに組織中に入ったか入らないかを見るのであれば、1日後、2日後などがあるのですが、全て7日後になっているというのは、これは何か決まるがあるのでしょうか。

○今井座長 これは先ほど山中先生から、感染で体内で増えている可能性というようなことも触れられていたところなのですが、農水省の基準等からいきますと、事務局、7日後というのは決められた日数なのではないでしょうか。

○細川専門委員 最終投与の1日後でも菌がなくなっているわけですから、7日後は当然なくなっていると思うのですが、もし入るか入らないかを見るだけでしたら1日後でもよいような気がします。体内動態という面から見ると、吸収されたか、されないかということなので、感染したかしないかというのは体内動態とは関係はありませんので、吸収されたか、されないのであれば、1日後でもいいわけだと思います。

○今井座長 この点に関して何らかの基準が定められているようであれば、メーカーに対する質問というものには該当しないと思うのですが、特に定められた項目がないのであれば、メーカーに質問をしてもよろしいかと思います。

○高橋課長補佐 今、簡単に資料を確認をした限りでは、7日の判断の基準は確認できなかったのですが、メーカーにお問い合わせいただければと思います。

○今井座長 それでは、細川先生、その点をお願いしてもよろしいでしょうか。ありがとうございます。

そのほかにいかがでしょうか。それでは、現段階で特にないようでしたら、事務局からの御説明を引き続きお願いできますでしょうか。

○林評価専門官 それでは、引き続き、8ページの12行目から御説明をさせていただきます。

12行目、15行目、「2. 残留試験」、「3. 遺伝毒性試験」は実施されていません。

18行目から「4. 急性毒性試験」について記載しております。ラットに本製剤を精製水に懸濁して強制経口投与試験が14日間実施されております。24行目から、著者は本試験におけるLD₅₀は雌雄とも3,000 mg/kg体重を超えるものと考えたとしております。

28行目から「5. 亜急性毒性試験」について記載しております。ラットに本製剤を混餌投与し、91日間亜急性毒性試験が実施されております。32行目から結果となります。試験期間中に死亡は認められず、一般症状、体重、摂餌量、がん検査、尿検査及び臓器重量に投与に起因する変化は見られませんでした。

34行目から、血液学的検査。

9ページの3行目、血液生化学的検査の結果が記載されております。一部の投与群において有意な差が認められた結果もございましたが、いずれも試験施設における背景データの正常の範囲内であり、用量相関性は認められず、投与による変化ではないと考えられました。

6行目から剖検の試験結果、11行目から病理組織学的検査の結果について記載されております。一部の投与群で変化が見られておりますが、いずれも投与による変化ではないと考えられました。

14行目から、以上の結果より、著者は本試験におけるNOAELを飼料中濃度として5%を超え则认为られたとしております。

18行目からボックス内に、吉田先生、中山先生からいただいたコメントを記載しております。吉田先生からは、病理組織学的検査の結果について、腎臓の近位尿細管上皮硝子滴は対照群でも見られた変化であることから、当該所見は記載せずに病理組織学的検査では投与による変化は見られなかったとの記載でもよいと思いますとのコメントをいただいております。

中山専門委員からのコメントとしましては、「病理組織学的検査では投与による変化はみられなかった」としても構いませんが、その場合にはその前の記述についても同様に削除をし、「剖検で著変はみられなかった」とすべきかと思いますとのコメントをいただいております。

先生方からいただいたコメントを踏まえまして、【事務局より】としまして、剖検及び病理組織学的検査に関する記載について、御検討をお願いしたいと考えております。コメントを踏まえまして、以下の修文案が考えられます。

10ページの1行目、4行目、7行目、「6. 慢性毒性試験及び発がん性試験」、「7. 生殖発生毒性試験」、「8. 一般薬理試験」、それぞれ実施されていません。

10行目から「9. 対象動物における飼養試験」について記載しております。

まず、豚の試験についてです。豚に本製剤を21日間混餌投与した飼養試験が実施されて

おります。18行目から結果になります。全ての群で試験期間中に死亡は見られませんでした。一般症状、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査及び剖検において、投与による変化は認められませんでした。臓器重量が測定されておりますが、投与による変化は認められませんでした。

25行目から、以上の結果から、本製剤の豚への臨床使用において、安全性に問題はないと考えられたとしております。

28行目より、鶏の試験になります。鶏に本製剤を8週間混餌投与した試験が実施されております。35行目から結果になります。全ての群で試験期間中、死亡は見られませんでした。一般症状、体重、摂餌量、血液学的検査及び血液生化学的検査、剖検、いずれにおいても投与による変化は認められませんでした。臓器重量を測定されておりますが、投与による変化は認められませんでした。

11ページの2行目に結果が記載されております。以上の結果から、本製剤の鶏への臨床使用において、安全性に問題はないと考えられたとしております。

○今井座長 ありがとうございます。

ただいま飼養試験のところまで御説明をいただいたところです。残留試験、遺伝毒性試験は実施されていけませんので、このまま進ませていただくとして、急性毒性試験以降、亜急性毒性試験、毒性試験のところに関して、吉田委員からまずコメントをいただいて、引き続きまして、中山先生からもコメントをいただいているところです。

要点を整理させていただきますと、10例中9例に、それぞれ投与群と対照群9例に認められた変化に関して、あえて記載する必要はないという御意見で、吉田委員、中山専門委員から意見がございました。それを受けて、中山先生からは、それであれば、精囊の小型化についても10分の1例で最終的に剤の影響とはみていないので、これについても削除してよいのではないかという意見をいただいているところです。

吉田専門委員、この点に関しまして、お二方の先生方からの御意見に関しましては、いかがでしょうか。削除でよろしいでしょうか。

○吉田専門委員 最初に読んだときに同じような印象を受けたのですが、いかんせん試験が少ないので、少し丁寧な記載ぶりもありかなと思って、私はコメントをしなかったのです。削るのであれば、血液の背景値との比較のところも実は要らなくなってしまって、すぐくすっきりした文章にしてもよいのですが、せっかく丁寧に書いてあるので、このままでもよいかなと思いました。

参考までに、血液の背景値の比較のところは、評価書案では数値が出ていませんが、原文の報告書には丁寧に数値が出ていますので、問題ない記載にはなっています。

○今井座長 ありがとうございます。

中山先生、今のような御意見もございましたが、いかがでしょうか。

○中山専門委員 記載をそのまま残してもよいと思うのですが、吉田緑委員が言ったようなことで削るのであれば、こちらをあわせて削ったほうがよい。残すのだったら両方残す

ということだと思います。

○今井座長 ありがとうございます。

私もこの分野にかかわっているので意見を述べますと、確かに吉田専門委員からなるべく残したほうがという話もあったのですが、血液生化学検査のLDHとT.Bilに関しては、たしか5%投与群のみですね。最終的に試験施設における背景データの正常範囲内ということとでまとめているようなこともあり、5%投与群と対照群10分の9例で全く同じ頻度で記載しているのとニュアンスが多少違うところもあるかなと思ひまして、もし御異議がないようであれば、病理組織学的検査に関しましては、当初、吉田緑委員と中山専門委員からいただいていたように削除して、事務局の修正案がボックスの一番下の形で書いてありますが、病理組織学的検査では投与による変化はみられなかったという記載でまとめさせていただければと思います。

剖検のところですが、10分の1例で5%投与群のみに見られていることに関して、他の個体では認められないことが投与による変化ではないと考える根拠として十分なのかどうかというところがあるのですが、残すか残さないかという点につきましては、残してもよいのではと考えるのは、私の意見です。他の個体では認められないというのは、この最終報告書に記載されている文章がそのまま転記されているのですが、中山先生、このところは最高用量で10分の1例のみに認められたというときにどういう書きぶりが、皆さんが納得されるような理由になるのでしょうか。

○中山専門委員 それであれば、全部残すというほうがよいのかなという気もします。何となく、この削るのと削らないのと、その基準を納得のいくような基準で一致させておけば、どちらでもよいかなと思うのですが。

○今井座長 今の御意見に関して、私は先ほど触れました血液生化学で背景データの正常範囲内というのでまとめているのは、これは残しても大丈夫ですか。

○中山専門委員 はい。

○今井座長 わかりました。ありがとうございます。

それでは、吉田専門委員。

○吉田専門委員 病理のほうは明らかに対照群と差がないことがわかるので、削除して問題ないと思うのですが、やはり剖検のところの根拠が弱くて、できれば背景的に精嚢の小型化がコントロールでも数例が見られていて、なので投与の影響でなかったというように本当は書いてもらったほうがよいので、そのことを質問してもよいですか。

○今井座長 それでは、吉田先生から後ほどメーカー側に質問していただく項目として加えさせていただきたいと思います。ありがとうございます。

そのほか、先生方から毒性試験に関しまして、コメントはございますか。9ページの14行目、以上の結果から、著者はそれぞれの用量を超えると考えたという記載なのですが、ここは少し違和感があるといいますか、この食品安全委員会専門調査会としてということで、特に「著者は考えた」ではなく、NOAELはそれぞれの用量を超えると考えられたと

か、通常書きぶりでよろしいですね。特に御意見がなければ、事務局でそのように記載整備をしていただければと思います。事務局、よろしいですか。

○水野評価専門官 まだ評価書の最後の結論のところになるのですが、食品健康影響評価で、これについてはヒトへの影響を無視できると考えられるということで、特にADI等を設定することは想定しておりませんでしたので、特にここに「食品安全委員会は」というものを記載しなくてもよいかと思ひまして、現在の記載にさせていただいております。

○今井座長 ほかの専門調査会も含めて、本専門調査会におけるほかの剤も含めて、ADIの設定をしないときは毒性試験の記載はこのような記載で統一されているという理解でよろしいですか。

○水野評価専門官 申しわけございません。ほかの分野のところまで確認をしていないです。

○今井座長 唐木先生、どうぞ。

○唐木専門参考人 これは座長のおっしゃるように、ここはここの判断というのが非常に大事だということで、最後のADIに関係するかしらないかは別として、我々はこう判断をするという書きぶりにしたほうがよいのではないのでしょうか。

○今井座長 事務局に、先ほどのほかの専門調査会等の状況も確認いただいて、唐木専門参考人の御意見をあわせて、もしそのような修正でよろしければ、そのようにまとめてください。もしも何か問題が出てくるようであれば、また次回ということではなくて、メール等でお知らせいただければ、改めて調整させていただくことにいたします。

○鋤柄評価第二課長 ここの部分でございますが、このNOAELを5%として云々かんぬんとした人は、実は「申請者は」ということでございます。過去の本専門調査会の書き方ですと、「申請者は」という場合に「著者は」と書いているということでございますので、そういった意味では、過去の作法に従った書き方だと、このようなことになるかなと思ってるところでございます。

○今井座長 ありがとうございます。今の御発言からいくと、過去において「申請者らは」というのを「著者らは」ということに書き変えて、こういう書きぶりで残している前例があるということだと確認させていただきました。そのような前例について、先ほど事務局からございましたように、最終的にADIを設定しないような剤の場合は、そのような書きぶりにしていると。また話が戻りますが、そのような確認で大丈夫ですか。

○鋤柄評価第二課長 よろしいかと思います。

○今井座長 ありがとうございます。

では、唐木専門参考人、そのような御説明でしたので。

○唐木専門参考人 説明はそういうことだろうと思いますが、これをそのまま見ると、著者が考えている。では、専門調査会はどう考えているのだと。その判断がないところが気になるということで、事実は事実で結構ですが、もしこのままの書き方をするとしたら、本専門調査会にはこれはおかしいと思うとか、これは適当と思うとか、何か一言ないと余り

に無責任という感じがしないでもないです。

○今井座長 冒頭、私がこの件に関して触れさせていただいたわけですが、もしもこれまでの記載がそのような形であっても、私は唐木専門参考人と同意見で、結論としては、この試験の中では本専門調査会の考えを述べ、最終的なADI設定を行わないというような流れに今後していただいても、特に大きな問題はないような気がいたすわけですが、いかがでしょうか。

○高橋課長補佐 今の御意見を踏まえまして、今のところの結論で「食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は」と書くという方向で確認をさせていただいて、もし書けないようなルール等がありましたら、もう一度、座長に御相談をさせていただくということでよろしいでしょうか。

○今井座長 よろしく願いいたします。

それでは、引き続き、10ページの11行目からの飼養試験で豚と鶏がございますが、こちらに関して、先生方から御意見がございましたら、お願いいたします。

1つ、10ページの21行目、文言のみのことで恐縮なのですが、「絶対及び相対重量が測定されたが」ということですが、相対重量は計算に基づくので、ここに関しては単に「及び甲状腺の重量が測定されたが」という記載で6文字を削除するか、あるいは少し肉づけをするのであれば、重量が測定されたが、投与による絶対及び相対重量の変化は認められなかったとか、何かそのような記載がよいと思いますので、事務局で御対応をお願いできますでしょうか。

○水野評価専門官 承知しました。

○今井座長 それと、10ページの31行目に移っていただきまして、最終投与日に採血したということで、こちらはわかるのですが、次に「試験終了時に全羽剖検した」という点に関して、これは事務局にお問い合わせなのですが、最終投与日と試験終了時をあえて使い分けているのは、違う日なのですか。

○水野評価専門官 こちらは最終投与の翌日も含まれていたような気がしますので、正確なところを確認しまして、適切な表現にさせていただければと思います。

○今井座長 そのようにお願いいたします。

それに引き続きまして、38～39行目にかけてまして、先ほどと同じ「絶対及び相対重量の測定」と記載がございますので、こちらも御対応をお願いできればと思います。

そのほかに飼養試験のところで、ほかのコメントは特にございませんか。

それでは、先に進めさせていただきます。事務局、11ページ目からの御説明をお願いいたします。

○林評価専門官 11ページの5行目「10. その他の試験」から御説明させていただきます。

6行目から、豚または鶏の腸内細菌叢分離菌の*in vitro*における増殖に関する影響について、調べております。*Bacillus subtilis* JA-ZK株を各種試験菌株と混合培養し、試験菌の増殖に対する影響が調べられております。混合培養により、大腸菌3株、サルモネラでは、

増殖が抑制されるという結果となっております。一方、黄色ブドウ球菌、*Lactobacillus* 2株、腸球菌2株には、混合培養による増殖への影響は認められなかったという結果となっております。

17行目からボックス内に、石原先生、山中先生からいただいたコメントを記載しております。

石原先生からはボックス内の3行目からになりますが、本試験は、ヒトの腸内細菌叢への影響を推定する上で、記載が必要か判断に迷うことから、参考資料にしてもよいのでは、とのコメントをいただいております。

山中先生からは、いただいたコメントの4行目からになりますが、本試験は*in vitro*の効果を裏づける基礎的試験として行ったものであることから、食品の安全性を検証するデータとしては参考程度ではないかと思えますとのコメントをいただいております。

先生方からいただいた御意見を踏まえまして、ボックス内の【事務局より】としまして、本試験は参考資料としましたとの記載をしております。また、あわせて脚注に参考資料とした理由についても記載させていただいております。こちらの記載でよろしいか御検討をお願いいたします。

12ページの7行目から、薬剤感受性に関する試験について記載しております。

「①ヒト及び動物用医薬品として使用される主要な抗菌性物質に対する薬剤感受性試験」が実施されております。主要な抗菌性物質11種類について、*Bacillus subtilis* JA-ZK株に対する最小発育阻止濃度（MIC）が測定されております。

結果につきましては、13行目から記載しております。*Bacillus subtilis* JA-ZK株は、11種類の抗菌性物質全てに対して感受性を示す結果となっております。

13ページの4行目から「②抗菌性飼料添加物として使用される抗菌性物質に対する薬剤感受性試験」の結果について記載しております。まず、本文の内容について御説明する前に、石原先生からいただきましたコメントに伴う本文の修正理由について御説明をさせていただきます。

14ページの6行目からのボックスに、石原先生からのコメントについて記載しております。コメントの内容についてですが、15ページの3行目から記載しておりました表6については、*Bacillus subtilis* BGA株の数値がディスク拡散法により求められた値であることから、最小発育措置濃度（MIC）ではないので、*Bacillus subtilis* JA-ZK株のMICと比較するデータとしては不適切ではないかとのコメントを石原先生からいただきました。

表6の削除に伴いまして、この項目の記載内容について事務局内で検討し、13ページの12行目から14ページに5行目にかけまして、修文を行っております。

それでは、本文について御説明いたします。抗菌性飼料添加物として使用される主な抗菌性物質について、*Bacillus subtilis* JA-ZK株に対するMICを測定した結果、一部の抗生物質について、MICが高い結果が得られました。しかし、自然耐性を有するものであったり、既に飼料添加物としての指定が取り消されていたり、また、ヒト用医薬品として使用

されておらず、耐性遺伝子の伝達に関する報告も確認されませんでした。こちらの記載でよろしいか御検討をお願いいたします。

15ページの7行目から「11. ヒトにおける知見」について記載しております。*Bacillus subtilis* JA-ZK株に関するヒトにおける知見は得られておりません。しかし、*Bacillus subtilis*は、国立感染症研究所病原体等安全管理規定においてバイオセーフティーレベル1に相当するとされております。また、納豆などの発酵食品として長年にわたって広く使用されております。

13行目から「Ⅲ. 国際機関等における評価」について記載しております。本飼料添加物は、海外で使用されていないことから、国際機関等による評価はされております。EFSAにおいて、*Bacillus subtilis*はQPS手法を用いた安全性評価を実施することが妥当な微生物として位置づけられており、QPSリストに推薦されております。このリストに推薦される菌種につきましては、これまでの使用経験等から、ある程度、安全性が担保されている菌種となっておりますので、EUで認可を行う場合には、21行目から記載されております対象動物種、消費者及び環境に関する安全性評価は要求されないこととなっております。

以上です。

○今井座長 ありがとうございます。

ただいま15ページの国際機関等における評価まで、事務局から御説明をいただいたところですが、一旦、11ページのその他の試験のところまでお戻りください。

6行目の表題が変更されております*in vitro*試験に関する内容について、石原先生、山中先生からコメントをいただきました。それを受けて、まず第一に、石原先生のタイトルに関するコメントに関しては、赤字で事務局で修正されているということですが、石原先生、コメントに関して、御修正いただいたこの内容でよろしいでしょうか。

○石原専門委員 10の(1)のタイトルは結構かと思うのですが、その脚注として2がついてあって、下にその説明が書いてあると思うのですが、「豚及び鶏の腸内細菌叢に対する効果を調べた試験であるため」というところをこの10の(1)のタイトルと同じように「腸内細菌叢分離菌の増殖に対する効果」と狭めて書いていただいたほうがよいかと思います。

○今井座長 ありがとうございます。

こちらは山中先生のコメントの中にあるので、山中先生から御説明をいただいたほうがよいかもしれないですが、内容としては*in vitro*の効果を裏づける基礎的試験という項目の中に入っているということなのですが、脚注のことも含めまして、石原先生から少し表題を短くして、もう少し内容を詳しくという御意見をいただきましたが、追加で何か御意見をいただけますでしょうか。

○山中専門委員 脚注のところはやはり石原先生の御意見と同じなのと、さらに*in vitro*であるということはおいておいたほうがよいのではないかと思います。

○今井座長 ありがとうございます。

石原先生、*in vitro*ということも含めることは御異議ございませんか。

○石原専門委員 すみません、タイトルから*in vitro*を削るのではなくて、脚注に分離菌の増殖というのを入れたほうがよいかなと思って、そこにさらに*in vitro*を入れたほうがよいということですか。

腸内細菌叢という言葉自体が、今回のデータは2つの菌を混ぜて試験管で培養した結果になっていますが、腸内細菌叢と言うと、様々な菌がいるバランスのことを言っていると思いますので、このページの一番下の説明のところにも、腸内細菌叢全体に対する影響を評価したのではなくて、その分離した菌についての評価だという、タイトルと同じようにしたほうがよいという私の趣旨です。

○山中専門委員 反対意見では全然なくて、もちろんそうなのです。「腸内細菌叢に対する」と下の脚注に書いてあるので、これだと私がコメントに書いておいた、生菌剤一般の効果を確かめる論文が世の中にたくさんあって、そういうものには、その生菌剤を実際に動物に投与して、糞便の腸内細菌叢を調べて、こういうよいバランスになっていますよということを調べるというのはたくさんあるのですが、この場合には、多分ここに私が書いたように、有害な細菌が減っていますよということを一つ見せたかったというのがあって*in vitro*の試験の結果を出しているのですが、それはあくまで*in vitro*であって、腸内細菌叢を見ているのではないというところがわかるようになっていけばよいと思います。

○今井座長 ありがとうございます。

実は私も参考資料をひも解いていく中で、*in vitro*の試験は何だろうという疑問がまず湧いて、中身を見てみたら、山中先生、石原先生からコメントをいただいたような内容である程度納得したといえますか、この評価書案の中にも記載されていますが、大腸菌が格段に減っていて、その他の細菌に対しては大きな影響はなかったというような最終的な取りまとめがされているような文章ですので、6～7行目の表題は石原先生から御修文をいただいて、これでよしといたしまして、脚注に関しては、豚及び鶏の腸内細菌叢分離菌の増殖に対して、すみません、石原先生、もう一回おまとめいただけますか。

○石原専門委員 脚注の2の「豚及び鶏の腸内細菌叢分離菌の増殖に対する効果を調べた試験であるため、参考資料とした」。

○今井座長 「調べた」と「試験」の間に何か、この試験の目的が何となくわかるような数文字は何かないですか。

○鋤柄評価第二課長 今お話があった目的は、「分離菌の増殖に対する効果を」というところが目的だと思いますので、最初から申し上げますと、「豚及び鶏の腸内細菌叢分離菌の増殖に対する効果を*in vitro*で調べた試験であるため、参考資料とした」と、そんな感じの御議論だったように思いますが、いかがでございましょうか。

○今井座長 ありがとうございます。

○石原専門委員 これは、大もとはヒトの腸内細菌叢に対する評価ではないため、結局、今、下に書こうとしていることは、この10の(1)のタイトルと余り変わらないと思うのですが、ほかの人が読んだときにわかりやすいとするならば、ヒトの腸内細菌叢に対する

評価ではないため、みたいなほうが理解しやすいかなと思うのですが、それはだめですか。

○鋤柄評価第二課長 今の石原先生の御意見ですと、ヒトの腸内細菌叢に関する試験ではないため、参考資料としたと、そういうことでよろしいでしょうか。

○石原専門委員 私は最初もともとその資料を読んだときに、この結果からヒトの腸内細菌叢に対する影響を考えてくれと言われているのだと思って読んでいたのですが、そうではないということなので、逆に今この豚や鶏の腸内細菌叢分離菌の評価をしていることは、このタイトルを読めばわかりますので、下に逆の視点から、ヒトの腸内細菌叢に対する評価ではないということを書いたほうがわかりやすいような気がします、いかがでしょうか。

○今井座長 私個人としては、今の石原先生のコメントはとてもしっくりきたわけですが、山中先生、それでよろしいですか。

○山中専門委員 私もそう思います。

○今井座長 ありがとうございます。

今の繰り返しになりますが、石原先生のコメントとしては、表題とほとんど同じになってしまうので、本当に言いたかったところとして、「ヒトの腸内細菌叢に対する影響を見る試験ではないため、参考資料とした」と、そのような文章に事務局で調整していただくという、お願いをいたします。よろしくお願いします。

○水野評価専門官 ありがとうございます。

○今井座長 引き続きまして、13ページにお進みください。12ページの「①ヒト及び動物用医薬品として使用される主要な抗菌性物質に対する薬剤感受性試験」で、13ページの4行目から「②抗菌性飼料添加物として使用される抗菌性物質に対する薬剤感受性試験」であります。石原先生からのコメントをもう一度繰り返しますと、表6にある試験に関してはディスク法を用いた試験であり、ここで引用するのは不適切のため削除ということで、それを受けて、13ページに赤字で事務局の文章案として記載されているわけですが、この修文案に関しまして、石原先生からコメントをお願いできますか。

○石原専門委員 7行目からのバシトラシンとセデカマイシンのMICについての記載です。まず最初に、この2つの成分が7行目に、ヒト用医薬品と類縁のものであることが記載されています。その逆の内容が12行目のところで、セデカマイシンは既に飼料添加物としての指定が取り消されており、ヒト用医薬品としても使用されておらず、となっていて、このセデカマイシンはマクロライド系の抗生物質で医療用の医薬品としてはエリスロマイシンなどと同系統の抗生物質ということになりますので、ここのセデカマイシンそのものがヒト用の医薬品として使われていないから、という記載は削除したほうがよいと思います。

耐性遺伝子の伝達に関してですが、セデカマイシンはやはりヒト用として使われていないので、セデカマイシン独特の耐性遺伝子という報告がないと思うので、報告が確認できないから、よいとしていいとは言いがたいのではないかと、私としては思っています。

ただ、この株はセデカマイシンにはMICが高いのですが、同系統でヒト用の医薬品に使

われるエリスロマイシンのMICは表4の上から7個目を見ますと、MICが0.125と低く、それと同系統のタイロシンに対しても表5の下から9個目を見ますと、0.78と低いので、このあたりのことを書いたほうがよいのかなと、私としては思います。セデカマイシンにはMICが高いが、同系統の医療に使うマクロライド系には感受性が高いということのほうが、まだ科学的にも理解をしやすいような気がしています。

1つ、私は知識がなくて、わかれば教えていただきたいのですが、バシトラシンの耐性というものを *Bacillus subtilis* が主として持っているということなのですが、その遺伝子は伝達しないものであると結論づけてよいのかということです。

○今井座長 ありがとうございます。

まず、第1点目としましては、13ページの13行目になりますが、セデカマイシンと非常に狭い単品に関して、ヒトでの医薬品としての使用がないということを理由に、特にMICが高いことをなしにするということは、少し乱暴ではないかということで、その代案を示していただきました。

第2点目としましては、バシトラシンに対する耐性関連遺伝子に関して伝達があるかないかというところでコメントをいただいたところですが、戸塚先生、その2点に関して御意見をいただけたら、ありがたいと思います。

○戸塚専門委員 私は存じ上げておりません。

○今井座長 ありがとうございます。

今の石原先生の第1点目ですが、類縁の化合物として、さきの試験にありますヒトの医薬品として使用されている抗菌性物質に対する薬剤感受性試験の中にあるエリスロマイシンあるいは当該試験の中にありますタイロシンなどを例に挙げて、こちらのMICに関して低い値が得られているということで、別途説明を加えたほうがよいということに関しましては、私は素人なりにその説明も十分あり得るように理解いたしましたので、石原先生と事務局で文章をお考えいただきまして、特にヒト用医薬品として使用されていないというところに関して削除することもないと思うのですが、追記という形で、より理由づけを重厚にいただければと考えます。その点に関しましては、ほかの先生方から御意見はございますか。

それでは、そのように修文を進めていただくということで、あと耐性遺伝子の伝達に関する記載でございますが、今、セデカマイシンに関してではなくて、上のバシトラシンに話に移ったわけですが、バシトラシンの耐性というものがほかに伝達するかということに関しては、事務局で今の懸念があるかないかということで、耐性菌に関する専門の先生、ワーキンググループの先生ですか。そちらに御意見といいますか、御確認をいただいたほうが確実のように思いますので、もしこの記述で問題があるということであれば、そちらの専門の先生に御修文をいただき、もし科学的にこの記載で問題がないということであれば、このまま進めていただくという形をとらせていただければと思います。

○水野評価専門官 本日御欠席ですが、荒川先生は耐性菌ワーキンググループの委員もや

っておりますので、荒川先生にも確認をさせていただければと思います。

○今井座長 そのようにお願いいたします。

そのほかの点について、先生方はいかがでしょう。文言の修正になって恐縮ですが、バシトラシンの耐性に関して記載が変わらないという前提ですが、9行目です。本当に言葉の話で恐縮です。「それら自身」は人ではないので、「それら自体」にしたほうがよいであろうと思いましたのと、10行目のところで「関与する遺伝子を有することから、種として高いMIC」、これはバチルス属のことを指しているのかもしれませんが、この4文字は必要がなければ削除いただいて、「高いMICとなることが報告されている」で意味が通ると思いますので、そのようにしていただければと思います。

19行目に「ポリエーテル系抗菌性物質は」という形で、その前に幾つかの抗菌物質の名前があってポリエーテル系抗菌性物質と出てきているわけですが、このポリエーテル系抗菌性物質を前のほうに持っていく。つまり、17行目に「ポリエーテル系抗菌性物質であるセンデュラマイシン、アンプロリウム、エトパベート」という記載にさせていただいたほうがわかりやすいように思います。それでよろしければ、先生方から特に御意見がなければ、そのように修文をいただくということでまとめさせていただければと思います。

それでは、現段階でほかに特段コメントがないようでしたら、この段階でメーカーの方を。

○山中専門委員 ごめんなさい。話が戻ってしまって、先ほどの例のその他の試験の *in vitro* ですが、よく考えてみると、これは向こうが基礎的な効果のための試験として持ち出したのは、やはりサルモネラエンテリティディスが減っていくということを出していて、そうすると、これは豚あるいは鶏、特に鶏の腸管内のSEが少なくなっているということは、ヒトの食肉としての安全性が高まるということをお願いするための基礎的な知見であるので、そうするとヒトの腸内細菌叢のバランスだけのことではなくなってくるので、ヒトではないのという言い方を脚注でしてしまうと、少し間違いになってしまうのかなと思います。

これはつまり、有害な細菌が食肉を通じてヒトに行かないようになる可能性があるという効果を謳えるかどうかはわかりませんが、*in vitro* では基礎的にはそういうことが言えるのだというための試験だと思うのです。したがって、やはり *in vitro* なので、という形にするのがよいのかなと思いました。戻してしまって、すみません。

○今井座長 ありがとうございます。

今の点に関して、私の印象としては、この評価書案自体が今回、*Bacillus subtilis* を添加物として用いることに対する当該生菌のヒトに対する影響を評価しているのであって、そこから附随して鶏に投与されたときの鶏の腸内細菌が云々ということまで考慮する必要があるのかなのか。そこまで考える必要があるのかなというところも疑問といえますか、苦慮するところなのですが、唐木先生、そのあたりはいかがでしょう。

○唐木専門参考人 それほど本質には関係がないので、どちらでもよいような気がします。

○今井座長 山中先生がおっしゃったのは、鶏の腸内細菌の中で有害なものが減ることが、食肉の安全につながるというお話をされていると思います。

○山中専門委員 そういことです。要するに安全性が高まるという、また基礎的知見と言っているので、余り重要なところではないと言ってしまうでもいいのかもしれないのですが、ただ、ヒトの腸内細菌叢を見ているのでないので、参考にしたという言い方になってしまうと、少し意味が違ってしまうのかなということです。

○今井座長 お願いいたします。

○石原専門委員 おっしゃっているとおり、サルモネラが減るということは食の安全を高めているデータの一番最初のステップの結果かなと思うのですが、サルモネラはヒトの腸管内にいつでもいるわけではないので、腸内細菌叢なのですかね。

○山中専門委員 したがって、もともとこの一番最初に出てきた効果のための基礎的試験だったわけです。その効果というのが特に鶏だと思うのですが、お腹の中の有害細菌をヒトに持ち込まないために生菌剤を使いますよという効能を証明したかったのだということです。したがって、どちらにしても、それをここの安全性と言っても、この試験の内容を安全性試験に使うことはできないと思うのですが、ただし、それはヒトの腸内に普段いるものでないからではなくて、食肉としての鶏の安全性を見るために実施しているから、これは鶏や豚の腸内細菌叢を見るのでなければ、試験として成り立たないわけです。その上でなので、*in vitro*なので、ということなのかなという感じです。

○今井座長 大もとに戻りまして、ヒトの健康影響評価に資する試験とは判断しなかった。したがって、参考資料にしたと、そのような言い方でいかがでしょうか。

お願いいたします。

○熊谷委員 この表3の上から大腸菌が3つあって、サルモネラ、スタフィロコッカスと来ています。それらは豚または鶏のみならず、ほかにも生息している。この大腸菌の由来が実は今、知らなくて、わからないのですが、ヒトも含めて、恐らく環境中にいるのだろうというふうに考えると、このタイトルの豚または鶏と限定するのは無理があるのかなという気はします。

どう言ったらよいかがわからないのですが、厳密に言えば、腸内に生息することのある細菌で、その腸内というのは昆虫など、そういうのは含みませんので、少なくともそういうものは含まない腸内ですが、正確に言えば、腸内に生息することのある細菌ということになるかと思います。しかし、その言い方はなかなか詳し過ぎる言い方なのかもしれないです。

○今井座長 今の熊谷先生からのコメントですが、私は実は試験の中身を詳しく十分に確認できていないのですが、12ページの表3の脚注にもありますように、b、cの説明が豚の消化管内容物からの分離株、cが鶏からの分離株ということで、実際に鶏と豚からとってきたので、試験の脚注に記載されているような、あるいは表題に記載されているような豚及び鶏の腸内細菌叢に対するという表題がつけられていると理解しています。

ただ、熊谷委員の御説明にありましたように、それに限定されるものでもないし、ということで、ここにそこまで、特に脚注に説明をするための文章として入れるのはいかがなものかということもあり、本当に抽象的な言い方になるのですが、健康影響評価に資するデータではないと判断したため、参考資料にするなど、何かそんな言い回しにしたらいかがかと思うわけですが、熊谷先生はいかがですか。

○熊谷委員 よいと思います。直接という言葉が入ったほうがよいかもしれないです。ほかの文言を今お聞きして忘れてしまったのですが、直接に何々するものではないため、参考としたと。直接影響評価に基づくデータではないなど、直接ということなのだと思います。間接的には、示唆するところは多少あるわけです。

○今井座長 大変貴重な御意見をありがとうございます。今の熊谷委員の御意見も踏まえて、事務局でキーワードとして「直接的に」ということと、「ヒトの健康影響評価に」というような言葉を入れつつ、脚注を修正していただくということで取りまとめさせていただきます。

○水野評価専門官 「ヒトの健康影響評価に直接資するデータではないと判断したことから」ということでしょうか。

○今井座長 そのような形でよろしいかと思います。

それでは、一旦、11ページ、12ページまで戻っていただいたところですが、一段落として、15ページ目の食品健康影響評価の前まで一とおり議論が進んだということで、このタイミングでメーカーの担当の方に御入室いただいて、今のところは4点質問をするという形で進めていきたいと思います。

4点、質問いただく先生方を順に申し上げます。山中先生、戸塚先生、細川先生、吉田先生。それぞれの御質問をいただく項目に関しては、山中先生は、腸内の菌数の定量あるいは検出に関して。戸塚先生には、組織の中の菌数の評価について。細川先生におかれましては、体内動態に関して7日間の日数を置く必要がある妥当性について。吉田先生からは、毒性試験で精囊の件に関してということですが、そのほかにメーカー側に聞いておいたほうがよかろうと思われるポイントがありましたら、このタイミングで御提案をいただければと思います。

○熊谷委員 この机上配布資料2の回答書に、非常に特異的なコロニーと認識しているらしいのですが、このコロニーの特異性以外に生化学性状など、もろもろの性状についてはどうなのかということをお聞きしたいのですが、専門的にやはりつかんでおいたほうがよいのであろうと思うのですが、よろしければ。

○今井座長 ぜひよろしくお願いいたします。

それでは、順番としまして、まず、メーカーに対しての質問に対する回答があり、それを踏まえてということもございますので、トップバッターは熊谷先生、今の点をお願いしてよろしいですか。それに引き続いて、菌数の算定方法などを先ほど申し上げた順番で御質問いただければと思います。

それでは、御入室をお願いします。

○高橋課長補佐 申請者は評価書を見て、お話しすることができないので、質問されるときは申請資料で該当のところをおっしゃっていただくようお願いいたします。熊谷先生の菌の性状は、もしこちらを引用いただくようでしたら、資料2-3、動態の試験に関しては、資料4-5になります。亜急性毒性試験は、資料4-3になります。

(申請企業担当者入室)

○今井座長 質問をいただくときに、資料のこの部分と御指定をいただくのもよいかと思うのですが、メーカーは資料の中身を把握していると思いますので、事務局から御紹介があった資料番号と、あとは実際の中身の文章で御質問いただいて差し支えないと思いますので、そのような形でお願いいたします。

○熊谷委員 すみません、机上配布資料2は、回答の部分は聞いてもよいのですか。

○高橋課長補佐 はい。

○今井座長 それでは、進めさせていただきます。本日はお忙しいところを本専門調査会に御出席いただきまして、まことにありがとうございます。

それでは、申請者の方、自己紹介をお願いできますでしょうか。

○説明者 今日は調査会にお招きいただきまして、ありがとうございます。申請いたしました科学飼料研究所開発センターの〇〇と申します。今日はよろしくお願いいたします。

○説明者 こんにちは、同じく科学飼料研究所の〇〇と申します。本日はよろしくお願いいたします。

○今井座長 よろしくお願いいたします。

それでは、質疑応答に入ります。順次、先生方から御質問をお願いいたします。熊谷先生。

○熊谷委員 この机上配布資料2というのは、お手元にありますか。培地上のコロニーなのですが、この株はほかの株にはない特異的な外観を示すということをおっしゃっていますが、このコロニーのみでなくて、ほかの細菌のもろもろの性質について、ほかの株との際立った違いというのはないのでしょうか。

○説明者 御質問をいただきました件ですが、ほかの生菌剤の株で、私どもは株を保有しておりませんので、詳細な比較はできなかったというのが現状でございます。コロニーはほかの株と比べて、我々のZKというコロニーがこういった形というのは出たのですが、その他では増殖温度が若干違うなど、そういうところの確認をとった程度でございます。

○今井座長 熊谷委員、今のような御回答ですが。

○熊谷委員 お答えは理解できました。ありがとうございます。

○今井座長 関連して、私から1点教えていただきたいのは、コロニーの形態が特異的と言われたのは、*Bacillus subtilis*のほかの菌株と比べても大きいお花が咲いたようなコロニーの形態というのは特異的なのか。あるいは*Bacillus subtilis*は一般的にそういうものなのかという点に関しましてはいかがですか。

○説明者 私どもも *Bacillus* は非常に株が多い中で全部見れていないのですが、この2-3の資料につけたような比較的大きい、先生が言われたような花の開いたような形状が多かったのですが、比較させてもらったものは、この色が違ったり、少しコロニーにしわが寄ったような株があったり、あとは辺縁が比較的丸いものなど、ぎざぎざにならないもの。それと辺縁が不明瞭なものもございました。そういう意味では、比較的様々な形状を出したかなとは思ってはおります。

○今井座長 ありがとうございます。

それでは、質問の2点目に移らせていただきます。山中先生、お願いいたします。

○山中専門委員 生体内動態について伺いたいののですが、特に腸管内での消長ということを見ておられるときに、培養で生菌数をはかられているのですが、そのときに50倍からというようなことで、大分濃度として薄くして始められているのですが、この辺の詳細なやり方について教えていただければと思います。

○説明者 御質問いただいたとおり、1 gの検体を50 mLの希釈液で希釈するというスタートから始めております。その後は10倍の段階希釈という希釈方法で希釈液を培養するという形をとらせていただいております。この最初の50倍というところなのですが、消化管内内容物も糞も未消化の穀物だったり、様々なものがありまして、これ以上、濃いものにしますと、ピペットの先に全部そのとうもろこしの粒が詰まったりというようなことで、きちんとした操作ができにくくなるというのが現状でした。

公定法もスタートが50倍ということで、1法も2法もその希釈液のところはそうなっているかと思うのですが、我々の検査もそれに準ずる形で50倍からスタートさせていただいているというところであります。

○今井座長 よろしいですか。今の点につきまして、私から、さらに今お答えいただいた範囲内かもしれないのですが、質問の内容として、10倍希釈でも実施してみたのか。スタート時点としても実施してみられたかという点。あるいはピペットの先が詰まるということであれば、どのようなチップを使われたかということにもよるのですが、少し口径の大きなチップを使うなど何らかの対策があったようにも思うのですが、そのあたりはいかがでしょうか。

○説明者 申しわけありません。10倍とか等倍というような濃い希釈のところは我々も記憶にないというか、大分古い試験で私も直接関与していないので、その部分はこの場での答えではなくて、もしよろしければ、持ち帰らせていただければと思います。

チップは口の広いものを使って、普段の検査の中でも、そこではチップは口の大きなものを使わせていただいております。

○今井座長 わかりました。それでは、可能な範囲での御対応をお願いできればと思います。お願いいたします。

では、続きまして、3つ目の質問になりますが、戸塚先生からお願いいたします。

○戸塚専門委員 同じ体内動態についてですが、臓器の生菌数の検査でスタンプ法を使わ

れているということですが、ホモジネートを作成したりした、そういう臓器の検査法もあると思うのですが、そういう検討はされたのか。ないしはほかの飼料添加物のバチルス例では、そういう検討をされているのかどうか、おわかりでしたら。

○説明者 こちらの臓器からの生菌の確認ですが、全農の家畜衛生研究所に実施していただきまして、乳剤にしてというのも一番最初にZK株を確認する際に実施していたかと思うのですが、定かではありません。申しわけないのですが、全農では検体数も多かったりするので、スタンプ法で普段も実施しているということのようです。

他メーカーさんのものというお話もありましたが、ここにつきましては、先ほど冒頭でも言いましたように、その株を我々は持っておりませんので、実施しておりません。

○戸塚専門委員 どうもありがとうございました。

○今井座長 今の家畜衛生研究所での検討というのは、御社の株ではなくて、別の株についてということですか。

○説明者 このZK株というのが全農家畜衛生研究所の略でして、もともと全農家畜衛生研究所で分離してきて、基礎研究はあちらでも実施していただいたという株になります。ですので、その段階で検討をしていただいたというお話は聞いているのですが、細かいところを乳剤にして、どういう結果だったかというところまでは確認できておりません。

○今井座長 もし遡っていただくことが可能であれば、その乳剤を使ったような試験結果というのも参考資料として御提出をいただくようなことは可能でしょうか。

○説明者 その部分が定かではないのですが、報告書という形では残っていないかもしれません。一番最初に様々な検討をした中で見ているかどうかという試験ですので、申しわけございません。探してはみます。

○今井座長 それでは、そのようによろしくお願いいたします。

それでは、4番目の質問に移させていただきます。細川先生からお願いいたします。

○細川専門委員 また体内動態に関する質問ですが、これは臓器の分布を調べるのに最終投与後、7日後のみを使っているのですが、分布というと1日後、例えば、最終投与後、1日後、2日後、3日後は見られなかったというのと、7日後の妥当性。こういう試験の場合は7日後を通常は使うのかどうかについて教えてください。

○説明者 申しわけありませんでした。私もこの試験をした当時、まだこの部署にいなかったもので、関係者なり、隣の熊谷の記憶なのですが、糞便中に出ている菌数を確認した同じ家畜で試験をさせていただいてしまっているのですが、糞便中の生菌の確認を終わった後に解剖をしたという試験だったのではないかとということでありまして、7日がよいのかどうかというところは、7日たった時点で糞便中にもう菌がないということで、組織を見させてもらっているという感じだと思います。

○細川専門委員 7日後にもう菌がないので、この評価書だと侵入がないことがわかったと書いてあるのですが、侵入を見るのだったら、1日後から見たほうがよかったのではないかとということで質問をしたのですが、わかりました。終わってしまったものだから、

しようがないです。

○今井座長 試験のプロトコルの概要は少しイメージできたところですので、次の質問に移らせていただきます。次は5番目の質問になりますが、吉田先生、お願いいたします。

○吉田専門委員 ラットの反復投与試験について確認をさせてください。資料は4-3になると思います。剖検で5%投与群の雄10例中1例で精嚢の小型化が見られておりまして、これが投与による影響でないという理由が、同群も含めた個体では認められないことからということだと思いましたが、これだと否定する材料としては弱いので、ほかの根拠は何か御提示していただくことは可能でしょうか。

○説明者 お答えします。これにつきましては、試験を行っていただきました畜安研に問い合わせたことがございます。そもそも突発的にこういう個体が発生するということを知っております。また、10匹中1匹ということでは有意的にこれが発生しているとは言えないという結論をいただきましたので、我々もこれを検体による発生ではなくて、個体の突発的な発生と判断をいたしました。

○吉田専門委員 突発的というのは、背景的に発現する病変であるということでしょうか。

○説明者 試験の担当者からは、あり得るというようには聞いております。

○吉田専門委員 剖検以外の例えば、血液生化学のところだと背景値との比較があって丁寧に議論がされているので、可能であれば、背景的にこの所見が発現しているということを示していただければ、こちらでも理解がしやすいと思います。

○今井座長 それでは、ただいまの点につきまして、申請者の御担当の方、畜産生物科学安全研究所に背景データとして、どの程度、精嚢の小型化というのが発現しているかを御確認いただいて、後日、御回答をいただくという形でお願いできればと思います。

そのほかに専門委員あるいは委員の方から質問はございますか。

では、説明者の方、以上ですので御退席ください。ありがとうございます。

(申請企業担当者退室)

○今井座長 それでは、審議に戻ります。ただいま5名の先生方から御質問をいただいたところですが、一部、後日回答が得られる可能性があるものもございましたが、その他の部分につきましては、今日御審議いただきました評価書案の中に盛り込めるような御回答は、残念ながら特になかったように思います。先生方から今の質問の回答内容を受けまして、追加の御発言はございますでしょうか。よろしいでしょうか。

石原先生。

○石原専門委員 投与した動物の腸管内の菌数の測定で、評価書案の6ページで山中先生から、今は定量限界ということで結果がまとめられていると思うのですが、検出限界の結果を入れたらどうかというコメントで、6ページのボックスの中のコメントの中で、1コロニーでも検出されれば、いたということになりますので、その検出限界については記録があれば、その追加ができるような気がするのですが、そこはもうよいのですか。

○今井座長 どうぞ。

○山中専門委員 これは、特に組織であるかないかというのが大事だと思ったのです。腸管はその後を書いてあるように、定着したら、したでもというようなことで、侵入して感染しているという可能性があるのだとしたら、検出されるかどうかというところ。ところが結局スタンプ法だったので、希釈率などはなくて、スタンプ法であるということの御連絡をいただいたのが割と最近だったものですから、さらにコメントをしなかったのですが、スタンプ法というところでも、この500個などという形ではもう既になくなっているのです、それは要らないかなと思います。

○今井座長 石原先生、よろしいですか。

○石原専門委員 はい。

○今井座長 そのほかにいかがでしょうか。

それでは、事務局から、食品健康影響評価の御説明をお願いいたします。

○林評価専門官 15ページ目の25行目「IV. 食品健康影響評価」について取りまとめてございます。*Bacillus subtilis* JA-ZK株の体内動態に関する試験において、投与7日後の豚及び鶏の組織からは、本菌株は検出されませんでした。また、豚では最終投与7日後、鶏では最終投与1日後に消化管内容物の本菌株の生菌数は定量限界未満でありました。

遺伝毒性試験、慢性毒性試験、発がん性試験及び生殖発生毒性試験は実施されておりましたが、ラットを用いた91日間亜急性毒性試験並びに豚及び鶏を用いた飼養試験において影響は見られませんでした。

薬剤感受性試験では、主要な抗菌性物質に対して、耐性遺伝子の伝達に関する報告は確認されませんでした。

以上のことから、*Bacillus subtilis* JA-ZK株が飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できると考えられるとしております。

どうぞよろしくお願いいたします。

○今井座長 ありがとうございます。

食品健康影響評価について、事務局から御説明があったところですが、先生方からコメントあるいは御質問等がございましたら、お願いいたします。

16ページの8行目ですが、耐性遺伝子の伝達に関する報告に関する記載がございますが、この点については荒川先生に問題点等の有無を確認するというものでありました。したがって、この点について、もし荒川先生がありということになりますと、また後戻りということになりますが、もし荒川先生が問題なしということであれば、評価書案どおりの文章でよろしいかと思しますので、お進めいただけるようお願いいたします。

そのほかはいかがでしょう。中山先生。

○中山専門委員 全体的なことでもよろしいですか。また後戻りをしてしまうのですが、ラットを用いた亜急性毒性試験で9ページなのですが、ここの文章の構造を見てみますと、要するに何か異常があったものを記載して記述して、それは実は投与による変化ではない

と考えられたというコメントを書いている、そういう構造になっているわけです。ほかのところを見ても、異常はなかったというようなことで終わっていて、それでトータルで、以上のことからとなっている。

ここの亜急性のところは、やはり異常があります。異常があるのだが、それはほかの個体では認められなかったなど、あるいは有意な差があるようなものもあるのですが、背景データだとかいうことで投与による影響ではないと、ここでそれぞれ言っているわけです。ということになりますと、これは吉田先生が臓器重量も消されていますが、ここも同じような並びになりますので、異常を書いておいて、投与による変化ではないという、全部そういう記述の仕方になっていますので、これは原文のまま全部残したほうが整合性はとれるといいますか、どこかだけ削ってとかいうことにならないのではないかと思います、いかがでしょうか。

○今井座長 今の中山先生のコメントですが、書きぶりとして今の御意見を踏まえた上で、一方で、結論的に剤の影響ではないものは極力記載は簡便に、という流れも今まであったかのように思うところであります。吉田先生はいかがでしょう。

○吉田専門委員 臓器重量については中間用量の0.05%の所見だったので、不要だと思って消したのですが、実はほかのところを見ると、例えば、血液学的検査は8ページの一番下のところですが、APTTは0.05%でもあったり、9ページの3行目、LDHとT.Bilは0.05%でもあったりして記載が残っていますので、そういう点からすると、今おっしゃったように、こちらを残したほうが整合性がとれると思い直しました。削るのであれば、0.05を全部削りたいなというところですが、作業が増えてしまうので、残すほうが簡単かと思います。

○今井座長 ありがとうございます。

ただいまの所見の記載の方法につきましては、評価書案それぞれで個別に議論という原則でいかせていただくという前提で、吉田先生からもコメントをいただき、中山先生からコメントをいただきましたように、今回の場合に関しては全て臓器重量に関しても残して、それぞれ否定した根拠を記載していくという形で取りまとめさせていただければと思います。事務局、もとに戻していただくところもございますが、そのような形での修正をお願いいたします。

○中山専門委員 もう一つ、すみません。これは全然関係ないのですが、机上配布資料2ですが、上のほうで「*Bacillus subtilis* JA-ZA株」となっていますが、「ZK株」ですよね。

○鋤柄評価第二課長 Kの間違いです。すみませんでした。

○中山専門委員 3カ所、Aとなっているところがあります。

○今井座長 ありがとうございます。

今、中山先生にそれぞれの項目、毒性試験に戻っていただきましたところで、追加で便乗して申しわけありませんが、私から今回の評価書案の中で、例えばですが、8ページの32行目「試験期間中」という言葉が毒性試験の中と飼養試験の中でも実は使われていると

ころがございまして、GLPで言いますと、試験期間と言うとまた別の意味合いがあるので、こちらは事務局で投与期間という形で修正していただいて差し支えなければ、そのようにお願いしたいと思っています。

8ページの19行目ですが、「ラットに本製剤を精製水に懸濁し」という、少し混乱する文章がありますので、こちらにつきましては、「ラットに精製水に懸濁した本製剤を強制経口投与し」というような形での修文をお願いするということ。

飼養試験で10ページの21行目と38行目、こちらは先ほど申し上げましたが、「絶対及び相対重量が測定された」は、相対重量は測定しないので少し修文いただくということです。すみません、今の点は繰り返しになりました。

戻っていただいても結構ですので、文言の修正はほかにございませんでしょうか。もしないようでしたら、最終結論の食品健康影響評価に戻らせていただきまして、事務局から御説明いただきました内容で特に御異議がないということでございまして、最終的な結論としまして、*Bacillus subtilis* JA-ZK株につきましては、飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できると考えられるということでございますが、それでよろしいでしょうか。

（「異議なし」と声あり）

○今井座長 ありがとうございます。

それでは、これまでの審議をもとに評価をまとめてまいりたいと存じます。幾つか確認事項ですとか文言の修正は出てまいりましたが、*Bacillus subtilis* JA-ZK株の健康影響評価につきましては、今、申しました飼料添加物として適切に使用される限らにおいて、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できると考えられるということで、資料2をもとにして評価書案を取りまとめたいと思います。事務局は、作業をよろしく願います。

熊谷先生、どうぞ。

○熊谷委員 結論はもちろん異議はないのですが、この健康影響評価の16ページ2段落目あたりに相当すると思うのですが、急性毒性試験の話は入らなくてよろしいのですか。

○今井座長 ありがとうございます。すみません、私も見落としていましたが、ラットを用いた91日間亜急性毒性試験について記載があるのですが、急性毒性試験については記載がない。数少ない試験の中で評価されているものについては、記載したほうがよいのではないかという御意見だと理解しておりますが、事務局としては、毒性試験の中で投与期間が一番長いものを選択して記載されたということでしょうか。

○水野評価専門官 これまで特に急性毒性試験についての記載はしていなかったのですが、今回、評価に用いられる試験は少ないので、急性毒性試験の結果も記載したほうがよいという御意見でありましたら、記載できると思います。

○今井座長 冒頭で御説明いただきました生菌剤に対する飼料添加物としての評価基準の中で、健康影響評価に係る試験が安全性に関する事項ということで幾つか並んでいるわけ

ですが、これを全て記載される形にはなりますか。毒性試験の項を見ますと、御意見が出ました単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、生体内分布、生体内動態に関する試験、対象家畜などを用いた飼養試験。最後に、自然環境に及ぼす影響に関する試験というのが今回の評価書案の中には。

○高橋課長補佐 そちらは食品を通じてということではないので、今回の評価書では対象外になると思います。

○今井座長 わかりました。それでは、こちらの評価基準の中にリスト化もされているわけですので、それとあわせまして、先ほど事務局からもございましたが、試験数が全体的に少ないので、単回投与毒性試験も結論に加えていただくということでお願いいたします。

○水野評価専門官 承知しました。

○今井座長 それでは、結論には特に御異議がないということですので、以上で取りまとめさせていただきます。よろしくお願いいたします。

それでは、事務局から、ほかにございますでしょうか。

○高橋課長補佐 ありがとうございます。そのほかは特にございません。

次回の肥料・飼料等専門調査会の開催は3月4日金曜日の午後を予定しております。改めて御連絡を差し上げますので、どうぞよろしくお願いいたします。

○今井座長 ありがとうございます。

それでは、これで本日の議事は全て終了いたしました。

以上をもちまして、閉会いたします。ありがとうございます。