

菌末を添加する乳児用調製粉乳の審査事項案に関する知見のまとめ（案）
（これまでの主な御意見及び関連知見を踏まえて作成したもの。）

1. 添加菌株について（食品への使用状況等）	p1
2. FAO/WHO ガイドラインについて	p3
3. 食品に添加される生菌の安全性に関する海外の意見書等	p5
4. 乳児の腸内細菌叢及び母乳に含まれる細菌と添加菌株に関する知見	p8
（１）腸内細菌叢形成過程と添加菌株に関する知見	p8
（２）母乳と添加菌株に関する知見	p10
5. 乳児を対象とした摂取試験に関する知見	p12
（１）生菌が添加された調製粉乳を用いた摂取試験	p12
（２）調製粉乳への死菌の添加について	p14
6. 知見のまとめ（論点整理）	p16
参照一覧	p17

1. 添加菌株について（食品への使用状況）

[御意見]

- ・ 菌末を添加している調製粉乳について海外の状況はどうか。
- ・ 海外で販売される菌末添加調製粉乳は、販売の事前に承認を行っているのか。

[事務局]

- ・ 欧米を中心に海外の状況に関する知見をとりまとめました。追加すべき知見がないかご確認をお願いします。

- ・ 審査事項案に規定されている *Bifidobacterium* 属菌及び *Lactobacillus* 属菌は、FAO/WHO ガイドラインにおいて、ほ乳類の腸内細菌叢における常在菌として存在し、様々な食品及びサプリメント製品として安全な使用実績が確立している菌種とされている（参照 1）。
- ・ 食品等に添加される *Bifidobacterium* 属菌及び *Lactobacillus* 属菌等の生菌はプロバイオティクスと呼ばれている。プロバイオティクスは、FAO/WHO ガイドラインにおいて、「適切な量を摂取した際に宿主の健康に有益な効果をもたらす生きた微生物」と定義されている（参照 1）。
- ・ *Bifidobacterium* 属菌及び *Lactobacillus* 属菌の乳児用調製粉乳への使用は比較的新しいものである。欧州市場においては、1980 年代後期より、良好な腸の健康を通じて乳児の栄養の維持を助けることを目的として、乳酸菌等が添加された乳児用調製粉乳の市場が発展してきた（参照 2）。
- ・ 欧州市場における *Bifidobacterium* 属菌及び *Lactobacillus* 属菌の乳児用調製粉乳への使用には *Bifidobacterium. animalis subsp. lactis* CNCMI-3446、*Lactobacillus helveticus*、*L. johnsonii* La1、*B. longum* BL999、*L. rhamnosus* LPR、*L. rhamnosus* GG、*L. reuteri* ATCC 55730、*L. salivarius* CECT5713、*L. fermentum* CECT5716 が含まれている（参照 3）。
- ・ これらの生菌の乳児用調製粉乳への使用規制に関して、欧州で販売される乳児用調製粉乳に関して定めている EU 指令（2006/141/EC）においては、生菌を添加することは禁止してはいないが、添加物質は適切な実験等

により得られたデータを用いた体系的なレビューにより、乳児に与えることが適切であることを食品事業者が責任を負う必要があることを定めている。また、EFSAにおいては、食品等に使用されている微生物に関する包括的な安全性評価（Qualified Presumption Safety）を実施しており、その最新のリストには、*Bifidobacterium* 属菌は 5 菌種、*Lactobacillus* 属菌は 38 菌種が掲載されている（参照 4,5）。

- 米国においては、食品に使用される生菌は添加物又は **generally recognized as safe (GRAS)** に分類される。申請者は生菌の安全性及び効能効果のデータを添付してその物質が **GRAS** であることについて、米国食品医薬品局（FDA への届出（任意））を行う（参照 6）。

2. FAO/WHO ガイドラインについて

[御意見]

- ・ FAO/WHO ガイドラインを含め、菌末を乳児用調製粉乳に添加することについて海外の動向や知見を注視し、必要に応じて新規試験を追加するような検討を行うべきではないか。

[事務局]

- ・ FAO/WHO のガイドラインについて、その不備を指摘する海外の知見やガイドラインが更新される情報は確認されませんでした。

- ・ 審査事項案中以下の項目は、FAO/WHO ガイドラインにおいて、食品に添加される生菌の安全性を確認するために最低限実施すべき項目として含まれている（参照 1）。

- 添加菌株の抗生物質耐性（同種の菌株に関する知見と比較し、抗生物質への耐性が同等程度以下であること。）
- 副作用の可能性のある代謝活性がないことについて、以下の 2 点が示されていること。
- D 乳酸の産生（産生する D 乳酸の量が、同種の他の菌株と同等であること。）
- 有害な二次胆汁酸の産生（胆汁酸から有害な二次胆汁酸を生成しないこと。）
- ほ乳類に対する毒素を産生する菌株及び溶血性を有する菌株と同じ属に所属する添加菌株の場合は、毒素産生性及び溶血性がないことが示されていること。
- 免疫低下動物を用いた感染性の有無の評価等により、添加菌株に感染性がないことが示されていること。
- FAO/WHO ガイドラインに従い、添加菌株についての摂取試験を行い、調製粉乳に菌末を添加する目的について明らかにすること。摂取試験の実施に当たっては、当該調製粉乳の販売対象月齢の健康な乳幼児を対象として行い、添加菌株の摂取量は当該調製粉乳から摂取される菌量と比較し同等以上であること。
- 摂取試験の結果において、安全性に問題が見られていないこと。
- 国内外において、当該菌末を含む調製粉乳その他の食品を対象とした製造販売後の調査が実施されており、摂取したことによる健康被害の発生が確認されていないこと。

- ・ **FAO/WHO** 合同ワーキンググループでは、ガイドラインを国際的なレベルで促進していくこと及びプロバイオティクスの機能性及び安全性を評価するための手法（**in vitro** 及び **in vivo**）をさらに更新させていくことについても勧告している（参照 1）が、2020 年 8 月現在、ガイドラインの更新は行われていない。

3. 食品に添加される生菌の安全性に関する海外の意見書等

[御意見]

- ・FAO/WHO ガイドラインを含め、菌末を乳児用調製粉乳に添加することについて海外の動向や知見を注視し、必要に応じて新規試験を追加するような検討を行うべきではないか。

[事務局]

- ・生菌（プロバイオティクス）を食品や乳児用調製粉乳に添加することの安全性等に関し、政府機関や第三者機関を中心とした海外の動向に関する知見を取りまとめました。海外の動向に関する追加すべき知見がないかご確認をお願いします。

- ・食品に添加される生菌については、近年の食品への使用実態等を反映して、その安全性に関する総説レビューや個別の菌株の安全性や摂取試験を評価した知見が、食品の安全性を所管する政府機関や医療関係団体を含め様々な機関や研究機関から発表されている。
- ・これらの知見において、生菌は、乳児用調製粉乳への使用に関する安全性も含め、更なる調査研究が必要な分野であることが共通認識であり、現時点においては、今後の研究動向等を注視していく必要があると考えられる。
- ・以下に乳児用調製粉乳を含む食品への生菌の使用に関する代表的な意見書等及び総説レビューを挙げる。

- 欧州食品安全機関（European Food Safety Authority : EFSA の栄養製品、栄養及びアレルギーに関する科学パネル（Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies）では、生菌添加調製粉乳の多くの研究及び最近の系統的レビューについて検討した結論として、更なる研究は必要であるが、現時点において試験された特定のプロバイオティクス又はシンバイオティクスの安全性に係る懸念を示す証拠はないとしている（2014年）。また、プロバイオティクス又はシンバイオティクスを調製粉乳に添加することによる有益性について、説得力のある証拠が不足しているとして、プロバイオティクス又はシンバイオティクスとして調製粉乳に添加する必要はないとしている（参照3）。

- オランダ国立公衆衛生環境研究所（Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu : RIVM）のプロバイオティクスによる免疫調節の効能効果及び安全性の評価は、プロバイオティクスの潜在的な有害影響という観点で、安全性の評価アプローチが必要としている（2005年）。また、プロバイオティクス又はプロバイオティック製品に係る入手可能な全てのデータは、専門家の判断により評価すべきであるとしている。調製粉乳へのプロバイオティクスの使用に関しては、健康な新生児及び未熟な防御システムであるとても若い乳児ともにプロバイオティクスの安全性を支持するための、入手可能な科学的データは十分ではないことを指摘している（参照 7）。
- ドイツ連邦リスク評価機関（German Federal Institute for Risk Assessment (BfR)）は、ドイツにおいて現時点で使用されているプロバイオティック細菌として乳児用調製乳及びフォローオン調製乳に含まれている菌株の安全性及び有益性の可能性について評価を行った（2015年）。BfR は、いくつかの菌株について、健康な乳児を含んで実施された研究はわずかであったと結論付けた。しかしながら、現時点で入手可能な結果からは、これらの菌株は健康な乳児に係る望まない効果を示唆するものは示されなかった。BfR の見解として、これらの微生物を乳児用調製乳としてルーチンに使用することに係る安全性について信頼性のある判断をするためには、良く計画され、管理された介入試験のさらなるデータが必要とされるだろうと言及している。さらに、BfR は乳児用調製乳及びフォローアップ調製乳に添加された菌株が、乳児の健康に有益であると推測することは不可能であるとしている（参照 8）。
- ニュージーランド保健省では、乳児用調製乳におけるプロバイオティクスの効果は確立されていないとしている（2012年）。ただし、オーストラリア及びニュージーランドの食品基準コードでは、乳児用調製乳製品及び乳児用食品にプロバイオティクスを添加することが許可されている。なお、プロバイオティクスを乳児用調製乳に添加することの効果及び安全性試験の研究では、プロバイオティクスは菌株特異的であるということに言及している（参照 9）。
- 欧州小児栄養消化器肝臓学会（European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition: ESPGHAN）の総説では、現時点で評価されているプロバイオティック/プレバイオティックス添加調製乳を健康な乳児に摂取させることは、成長及び有害影響に係る安全性の懸念はないと推測しているが、現時点では、プロバイオティック及び又はプレバイオティック添加調製乳をルーチンで使用するデータを推奨するためのデータは不十分であ

るとしている（2011 年）。また、同学会は、摂取試験は、適切な分類及び適切なサンプルサイズに基づいて計画されたランダム二重盲検トライアルを注意深く行う必要があること、最適な投与量や投与期間及び長期的な安全性に関するより多くの情報を提供する必要性について述べている。（参照 10）。

- 米国国立科学アカデミーの乳児用調製粉乳に添加する原材料に係る評価委員会（Committee on the Evaluation of the Addition of Ingredients New to Infant Formula）では、乳児期は急速な成長及び発達が見られる時期であり、乳児期間における安全性のパラメーターの測定は、ライフサイクルのその他の期間と同等又はそれ以上に厳しいものが必要であり、調製粉乳への新たな原材料の導入は乳児に対して最小限のリスクでなければならないとしている（2005 年）。プロバイオティクスは、乳児調製粉乳に関する新たな原材料であり、各国で乳児用調製乳において安全に使用されてきた歴史があり、科学文献においてもこれらの原材料に関連した健康危害は示されていないとしている。ただし、プロバイオティクスのような新たな原材料の安全性を評価するためのアプローチに係る国家及び国際機関によるガイドラインや勧告が不足していると言及している（参照 11）。
- イタリア小児学会（Italian Society of Pediatrics）が設置した乳幼児へのプロバイオティクス投与に関する専門パネルの報告書では、多くの臨床試験において、プロバイオティクスの乳幼児への投与による有害事象の報告はないが、免疫不全等の疾患を有する乳児への敗血症等のリスクへの懸念も示されていると言及している（2020 年）。また、低出生体重児において実施された、いくつかの安全性に係る研究において、プロバイオティクスの経口的摂取は神経発達、成長及び気管支肺異形成症のリスクには影響を及ぼさないとしている報告もあるが、さらなる研究が必要であることについて言及している（参照 12）。
- 2013 年に開催された国際プロバイオティクス・プレバイオティクス学術機関（International Scientific Association for probiotics and prebiotics）の専門家会合の報告において、FAO/WHO のプロバイオティクスに係るガイドライン公表後 12 年経過（この論文の公表が 2014 年）していることに言及し、12 年経過していることによる研究の前進は、プロバイオティクスの概念に係る根拠について正当化している（参照 13）。

4. 乳児の腸内細菌叢及び母乳に含まれる細菌と添加菌株に関する知見

(1) 腸内細菌叢形成過程と添加菌株に関する知見

[御意見]

- ・調製粉乳に生菌末を添加することは、その菌種が母乳栄養の乳児の腸内細菌として含まれないものである場合や、または含まれているものであっても、単独の菌種を摂取し続けることになる。このようなことが、発達過程にある乳児の腸管免疫系などに及ぼす影響についての知見は十分でないのではないか。
- ・国内と海外における乳児の腸内細菌叢や環境中の菌などの違いを考えるべきではないか。

[事務局]

- ・生菌を乳児用調製粉乳に添加することに関する乳児への健康影響を検討する前提として、添加菌株であるビフィズス菌と乳酸菌を中心に乳児の腸内細菌叢形成に関する知見を取りまとめました。
- ・国内と海外の乳児の腸内細菌叢の差異を明確に示した知見は確認されませんでした。
- ・乳児の腸内細菌叢形成に関して追加すべき知見がないかご確認をお願いします。

- ・腸内細菌叢の構成は、出生後初めて排泄される胎便は通常無菌であるが、その3-4時間後には、*Streptococcus* 属菌、*Escherichia. Coli* (*E. coli*)、*Clostridium* 属菌、酵母などが出現し、哺乳後に細菌数は急激に増加する。生後1日目にはほとんどの新生児の糞便内に *E. coli*、*Streptococcus* 属菌、*Lactobacillus* 属菌、*Clostridium* 属菌、*Staphylococcus* 属菌が認められるようになり、総菌数は $10^{11}/g$ (糞便) 以上に達するとされている。母乳栄養児では、通常、生後3日目頃に *Bifidobacterium* 属菌が出現しはじめるようになる一方で既に出現していた菌群が減少しはじめるようになり、生後4～7日目には *Bifidobacterium* 属菌が最優勢となる。*E. coli*、*Streptococcus* 属菌、*Staphylococcus* 属菌、*Bacteroides* 属菌、*Clostridium perfringens* の菌数は抑えられ、7日目頃には腸内菌叢のバランスは、ほぼ安定するとされている。乳児が離乳食を摂るようになると、腸内菌叢はグラム陰性桿菌優勢の成人のパターンに近くなってくると考えられている。新生児の腸内細菌叢の形成過程には、母子伝播や出産形態、授乳形態など様々な因子が関与することが示唆されており、普遍的なものではないとされている (参照 14～17)。

- 新生児の腸内細菌叢の発達は、出産様式、食事の摂取、薬剤の使用、病院の環境、初期の生活のストレス及び遺伝的性質のような複合的な要因により影響を受ける。また、脳 - 腸 - 細菌叢シグナリングシステムのメカニズム、ヒト新生児の健康、ストレス及び発達の調節における宿主 - 細菌叢の相関の動態に焦点を当てた様々な分野の研究にまたがる、さらなる研究が必要とされている（参照 18）。
- *Bifidobacterium* 属菌を含む腸内細菌の乳児への伝播経路及びその後の腸管内での選択的な増殖の仕組みについても研究が行われている。乳児の腸内細菌の由来については諸説あるが、出生時に母親由来又は環境由来の細菌にばく露されることにより、腸内細菌叢形成が始まるとされる説が支持されている仮説の 1 つである。出産前の母親の糞便と経膈分娩で生まれた乳児の糞便を用いた研究では、両者から同一系統の *Bifidobacterium* 属菌が分離されており、*Bifidobacterium* 属菌の母子伝播が菌株レベルで証明されている（参照 19～21）。
- 健康な日本の新生児の出生～3 歳までの糞便を用い、*Bifidobacterium* 属菌を調査した報告では、約 21%の乳児において、生後 1 日目の糞便中に *Bifidobacterium* 属菌が検出され、生後 7 日目は 64%、生後 1 か月では 79%、生後 6 か月では 99%の乳幼児の糞便中から *Bifidobacterium* 属菌が検出された。生後 1 週の早い時期から乳児用調製粉乳の摂取を開始した乳児は、母乳栄養児と比較して、糞便中に検出される *Bifidobacterium* 属菌の量が多かった。分娩形式の差異について、経膈分娩で生まれた乳児と比較した場合に帝王切開で生まれた乳児では、*Bifidobacterium* 属菌の糞便中の排出量が少なかった。母親から新生児には *Lactobacillus* 属菌及び *Bifidobacterium* 属菌は、垂直に伝播することが考えられてきたが、*Bifidobacterium* 属菌は乳児の出生前にも腸に定着しており、帝王切開で生まれた乳児の胎便にも *Bifidobacterium* 属菌が定着していることが示唆された（参照 22）。
- 乳児についての知見ではないが、小学児童から高齢者までの 500 を超える菌叢データを用いて、各国ごとに年齢との相関を調べた結果、アジア諸外国（日本、中国、台湾、タイ、インドネシア）で共通して、年齢に関連して *Bifidobacterium* 属菌が減少し、*Enterobacteriaceae* 属菌が増加する傾向が認められた（参照 23）。

(2) 母乳と添加菌株に関する知見

[御意見]

- ・調製粉乳に生菌末を添加することは、その菌種が母乳栄養の乳児の腸内細菌として含まれないものである場合や、または含まれているものであっても、単独の菌種を摂取し続けることになる。このようなことが、発達過程にある乳児の腸管免疫系などに及ぼす影響についての知見は十分でないのではないか。
- ・添加菌量については母乳に含まれる菌量を超えないようにするべきではないか。

[事務局]

- ・生菌を乳児用調製粉乳に添加することに関する乳児への健康影響を検討する前提として、添加菌株であるビフィズス菌と乳酸菌を中心に母乳に関する知見を取りまとめました。
- ・母乳と添加菌株の関係に関して追加すべき知見がないかご確認をお願いします。

- ・正常な胎児の消化管は無菌であると考えられ、誕生の過程で迅速に母親及び環境由来の微生物が乳児の消化管に定着し、細菌叢が発達する。分娩形式の違いは腸内細菌叢の発達に影響するとされている。誕生後、環境、母親の口腔及び皮膚由来の細菌が授乳や接触により新生児に移行するとされている。さらに新生児は誕生後、母乳など食物と共に新たな細菌が消化管に入り、持続的にばく露されるという報告がある（参照 24）。
- ・健康な人の母乳には 10^9 個/L の細菌が含まれており、*Staphylococcus* 属菌、*Streptococcus* 属菌、*Corynebacteria* 属菌、*Lactobacillus* 属菌、*Micrococcus* 属菌、*Propionibacterium* 属菌、*Bifidobacterium* 属菌を含む常在菌は乳首由来及び乳房中の乳管を取り囲んでいる皮膚組織由来であるとされている（参照 24）。
- ・母乳に含まれる細菌に関する別の調査は、母乳栄養児は 1 日当たり平均 800 ml の乳を摂取することに基づく、約 $8 \times 10^4 \sim 8 \times 10^6$ 個/日の常在細菌を授乳の間に受け取っており、主要な分離菌は、*Staphylococcus* 属菌、*Streptococcus* 属菌、*Lactobacillus* 属菌及び *Bifidobacterium* 属菌であったと報告している（参照 25）。

- 母乳に含まれる *Bifidobacterium* 属菌が母乳を経由して乳児の消化管に移り得るかについて調べたスペインの研究では、出生後 4-7 日の母乳及び乳児の糞便中の細菌を調べた結果、*Bifidobacterium breve*、*Bifidobacterium adolescentis*、*Bifidobacterium bifidum* は母乳から分離され、乳児の糞便には *Bifidobacterium longum* 及び *Bifidobacterium pseudocatenulatum* も含まれていた（参照 26）。
- 母乳中に確認された生きた細菌の由来は、母親の腸管の細菌が、樹状細胞及びマクロファージを含む内部からの経路を介して乳腺に移行する（entero-mammary pathway）可能性が示唆されている（参照 28）。また、無菌的に採取した母乳には $<10^3$ CFU/ml の生きた細菌が存在しているとされている（参照 27）。
- 母乳中の *Lactobacillus* 属菌及び *Bifidobacterium* 属菌について、海外（ドイツ、オーストリア）の母親の母乳を調べたところ、66 検体中 27 検体（40.91%）の母乳から *Lactobacillus* 属菌が、66 検体中 7 検体（10.61%）の母乳から *Bifidobacterium* 属菌が分離された（参照 28）。
- 正期産の健康な母子で母乳栄養を行っている母子 10 組について、母乳中の生きた *Bifidobacterium* 属菌及び *Lactobacillus* 属菌の存在について調べた海外（アイルランド）の研究では、10 組中 1 人の母親の母乳から、生後 3 週間の時点で 1×10^2 CFU/ml の *Bifidobacterium* 属菌が、 3×10^3 CFU/ml の *Lactobacillus* 属菌が検出され、その子供の乳児糞便検体から 4×10^6 CFU/ml の *Bifidobacterium* 属菌が、 7×10^7 CFU/ml の *Lactobacillus* 属菌が検出された。一方、その他の母子検体からは、DNA シークエンシングでは、*Bifidobacterium* 属菌及び *Lactobacillus* 属菌は確認されたが、生きた細菌を培養することができなかった（参照 29）。

5. 乳児を対象とした摂取試験に関する知見

(1) 生菌が添加された調製粉乳を用いた摂取試験

[御意見]

- ・調製粉乳に生菌末を添加することは、その菌種が母乳栄養の乳児の腸内細菌として含まれないものである場合や、または含まれているものであっても、単独の菌種を摂取し続けることになる。このようなことが、発達過程にある乳児の腸管免疫系などに及ぼす影響についての知見は十分でないのではないか。
- ・摂取試験を行う場合のエンドポイント、時期などの設定が困難だと考えられる。
- ・免疫賦活化や生活習慣病の予防・改善作用等の知見が無い中で、どのような目的で菌末を添加するのかを確認すべきではないか。
- ・エンテロバクター・サカザキ対策として 70℃調乳は引き続き必要とするべきではないか。

[事務局]

- ・審査事項案の摂取試験の要件に沿った海外の試験報告例を「資料2」にとりまとめましたので、追加すべき摂取試験の報告事例や知見がないかご確認をお願いします。
- ・調乳に関する御意見を踏まえ、エンテロバクター・サカザキ対策に係るリスク管理措置に関する状況をまとめました。

- ・健康な乳児を対象とした菌末を含む調製粉乳の摂取試験について、審査事項案で示されている条件を考慮して、国内外の報告事例を調査したところ、以下の知見が得られた。

- 生菌を添加した調製粉乳について、生後から離乳までの長期間（概ね6か月以上）乳児に摂取させ、その臨床症状を観察した海外の報告事例においては、摂取期間の範囲で乳児の健康への有害な影響が認められたとする報告は確認されなかった。
- これらの海外の摂取試験において、その一部では調製粉乳の摂取期間後のフォローアップ観察期間（2歳の時点まで）を設定していた。
- これらの海外の摂取試験におけるエンドポイント及びエンドポイントと明記されていない場合でも主な評価項目には、「体重」、「身長」、「便の回数・性状」、「調製粉乳の摂取量」、「一般臨床状態」等が含まれていた。
- 国内で実施された健康な乳児を対象とした摂取試験の報告例の存在は確認されなかった。

- FAO/WHO の専門家会議（2004 年及び 2006 年）は、乳児用調製粉乳は、最新の衛生基準に沿って製造されたものであっても無菌の食品ではなく、病原菌が含まれている可能性や調製粉乳の摂取による乳児への感染リスクを指摘している。FAO/WHO のリスク評価（2006 年）は、70℃以上の湯で乳児用調製粉乳を調乳することにより、粉乳中に存在している *Enterobaceter sakazakii* は死滅し、そのリスクは劇的に減少すると評価している。この評価を踏まえ、WHO のガイドライン（「Safe preparation, storage and handling of powdered infant formula Guidelines」）は、乳児用調製粉乳は 70℃以上の湯で調乳後、速やかに消費し、後で消費するための保管は行わないよう勧告している（参照 30）。
- 国内でも、WHO ガイドラインを踏まえ、調製粉乳は 70℃以上の湯で調乳することが消費者等に周知されている（参照 31）。

(2) 調製粉乳への死菌の添加について

[事務局]

- ・ 審査事項案は、生菌に加え、死菌を添加した乳児用調製粉乳についても想定*しているため、事務局において関連する知見をとりまとめました。追加すべき知見がないかご確認をお願いします。

*審査事項案（抜粋）

死菌の菌末を添加した調製粉乳についても、本審査事項案により安全性の確認を行うこととする。なお、調製粉乳に添加する死菌の菌末について、安全性の問題とならないことが明らかな項目については、省略することができる。

- ・ プロバイオティクスとして用いられる微生物は、必ずしも生菌である必要はなく、死菌や菌体成分、代謝産物の作用によってもその期待される効果は発揮され得るとする考え方もある（参照 32）。
- ・ 死菌は生物ではないため、プロバイオティクスとは異なり、食品成分（バイオジェニクスと呼ばれている。）とする考えもある（参照 33）。
- ・ 広く食品利用されているとはいえ、生菌の食品使用による未解明なリスク（脆弱者におけるバクテリアルトランスロケーションによる全身感染等）を避ける利点があるため、プロバイオティクスを不活化したものの食品利用が行われており、加熱殺菌（間欠滅菌）は、主要なプロバイオティクスの不活化方法と考えられている（参照 34）。
- ・ *Lactobacillus* 属菌及び *Bifidobacterium* 属菌の耐熱性に係る知見は限られているが、いくつかの報告例について以下に示す。
 - *Lactobacillus bulgaricus* の 71℃における死滅に要する時間は 30 分であるとする報告がある。また、乳酸菌発酵物中の *Lactobacillus plantarum* の Z 値は 7.49℃とし、55℃、60℃及び 65℃における D 値は、0.87 分、0.23 分及び 0.04 分とする報告がある（参照 35, 36）。
 - *Lactobacillus viridescence* は 71℃で 8 分間程度は生存しているとする報告がある。また、*Lactobacillus bulgaricus*、*Lactobacillus plantarum* などの高温性乳

酸菌は、死滅に要する温度が高いとされ、70℃以上の高温条件が必要であるとされている（参照 37）。

- 29 種の *Bifidobacterium* 属菌の耐熱性（42℃、52℃、55℃、57℃、60℃で 5 分間加熱）について調査した報告では、菌株毎に耐熱性に相違があることが確認されている（参照 38）。
- ・ 死菌をあらかじめ添加した調製粉乳を使用した健康な乳児への摂取試験の安全性に関する知見は確認されなかったが、死菌を乳児用調製乳と混合して摂取した低出生体重児における臨床試験の結果では、生菌と同様に死菌の摂取でも安全であり、寛容性が良好であったとされている（参照 39）。

6. 知見のまとめ（論点整理）

論点 1：生菌が添加された乳児用調製粉乳を長期間摂取することによる乳児への健康影響について

論点 2：生菌が添加された乳児用調製粉乳の安全性の確認のため、審査事項案に示された項目が適切であるか。

論点 3：死菌が添加された乳児用調製粉乳の安全性について

[参考]

フォローアップミルクに係る食品健康影響評価（参考資料 3）抜粋

フォローアップミルクについては、以下に示す理由から、既存の審査事項において、調製粉乳の安全性が確保されていることを前提として、菌末が添加されたことによる対象となる乳幼児への健康影響は無視できる程度と考えられる。

< 参照一覧 >

1. Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food: Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food 2002
2. Nestlé USA: GRAS Exemption Claim for the Use in Infant Formula of Bifidobacterium, Lactobacillus and Streptococcus thermophiles. June 9, 2000
3. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA): Scientific Opinion on the essential composition of infant and follow-on formulae. EFSA Journal 2014; 12: 1-106
4. EFSA: Introduction of a Qualified Presumption of Safety (QPS) approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA. Opinion of the Scientific Committee (Question No. EFSA-Q-2005-293) Adopted on 19 November 2007. The EFSA Journal 2007; 587: 1-16
5. EFSA: The 2016 updated list of QPS status recommended biological agents in support of EFSA risk assessments. EFSA Journal 2019; 17(7): 5753
6. 内閣府食品安全委員会事務局：先進国における健康食品に関する安全性評価のための調査報告書。財団法人 未来工学研究所 平成 18 年度食品安全確保総合調査報告書 平成 19 年 3 月
7. Ezendam J, Opperhuizen A, van Loveren H: Immunomodulation by probiotics efficacy and safety evaluation. RIVM report 340320003/2005
8. Bundesinstitut für Risikobewertung: BfR: Infant and follow-on formula: no evidence for health benefits of probiotic additives. BfR opinion No. 025/2015 14 August 2015
9. New Zealand Ministry of Health: Food and Nutrition Guidelines for Healthy Infants and Toddlers (Aged 0-2): A background paper (4th ed) 2012
10. Braegger C, Chmielewska A, Decsi T, Kolacek S, Mihatsch W, Moreno L et al.: Supplementation of Infant Formula With Probiotics and/or Prebiotics: A Systematic Review and Comment by the ESPGHAN Committee on Nutrition. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2011; 52: 238-50
11. Committee on the Evaluation of the Addition of Ingredients New to Infant Formula: Infant Formula: Evaluating the Safety of New Ingredients 2004

12. Martinelli M, Banderali G, Bobbio M, Civardi E, Chiara A, D'Elia S et al: Probiotics' efficacy in paediatric diseases: which is the evidence? A critical review on behalf of the Italian Society of Pediatrics. Ital J Pediatr. 2020 Jul 25; 46(1):104
13. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson G R, Merenstein D J, Pot B et al.: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology 2014; 11: 506
14. 光岡知足：腸内菌叢研究の歩み。腸内細菌学雑誌 2011;25:113-124
15. 内川彩夏、田中優、中山二郎：ヒト腸内細菌叢のダイナミズムとダイバーシティ。Japanese Journal of Lactic Acid Bacteria 2017; 28(2): 74-83
16. 牧野博、久保田博之、石川英司、酒井隆史、松田一乗、秋山拓哉 他：新生児・乳児期の腸内細菌叢とその形成因子 腸内細菌学雑誌 2019;33: 15-29
17. Mitsuoka T: Developmet of functional foods. Biosci Microbiota Food Health 2014 ; 33 : 117－128
18. Cong X, Xu W, Romisher R, Poveda S, Forte S, Starkweather A et al: Gut Microbiome and Infant Health: Brain-Gut-Microbiota Axis and Host Genetic Factors. Yale Journal of Biology and Medicine 2016; 89: 299-308
19. Makino H, Kushiro A, Ishikawa E, Muylaert D, Kubota H, Sakai T et al: Transmission of intestinal *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* strains from mother to infant, determined by multilocus sequencing typing and amplified fragment length polymorphism. Appl Environ Microbiol 2011;77(19): 6788-6793
20. Makino H, Kushiro A, Ishikawa E, Kubota H, Gawad A, Sakai T et al: Mother-to-infant transmission of intestinal *bifidobacterium* strains has an impact on the early development of vaginally delivered infant's microbiota. PLOS One 2013;8: e78331
21. Ferretti P, Pasolli E, Tett A, Huttenhower C, Bork P, Segata N: Mother-to-infant microbial transmission from different body sites shapes the developin infant gut microbiome. Cell Host Microbe 2018;24: 133-145:e135
22. Nagpal R, Kurakawa T, Tsuji H, Takahashi T, Kawashima K, Nagata S et al: Evolution of gut *Bifidobacterium* population in healthy Japanese infants over the first three years of life: a quantitative assessment. SCIENTIFIC REPORTS 2017 ;7:10097:1-11

23. 中山二郎：アジア マイクロビオーム プロジェクト：アジア人の食と健康のインターフェースとしての腸内フローラの理解に向けて
24. Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR: Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 1035S-1045S
25. Heikkilä MP, Saris PEJ: Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *Journal of Applied Microbiology* 2003; 95: 471-478
26. Martín R, Jiménez E, Heilig H, Fernández L, Marín ML, Zoetendal EG et al.: Isolation of Bifidobacteria from Breast Milk and Assessment of the Bifidobacterial Population by PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis and Quantitative Real-Time PCR. *Applied And Environmental Microbiology* 2009;75(4): 965-969
27. Perez PF, Doré J, Leclerc M, Levenez F, Benyacoub J, Serrant P et al.: Bacterial imprinting of the neonatal immune system: Lessons from maternal cells? *Pediatrics* 2007; 119(3): e724-732
28. Soto A, Martín V, Jiménez E, Mader I, Rodríguez JM, Fernández L: *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* in Human Breast Milk: Influence of Antibiotherapy and Other Host and Clinical Factors. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2014;59:78-88
29. Murphy K, Curley D, O'Callaghan TF, O'Shea C-A, Dempsey EM, O'Toole PW et al.: The Composition of Human Milk and Infant Faecal Microbiota Over the First Three Months of Life: A Pilot Study. *Scientific Reports* 2017;7:40597
30. World Health Organization: Safe preparation, storage and handling of powdered infant formula Guidelines 2007
31. 厚生労働省：厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課長及び監視安全課長通知「乳児用調製粉乳の安全な調乳、保存及び取り扱いに関するガイドラインについて」。食安基発第 0605001 号及び食安監発第 0605001 号平成 19 年 6 月 5 日
32. 小村智美, 西川禎一：プロバイオティクスの免疫調節作用。日本食品微生物学会雑誌 2013; 30(1):1-14
33. 浅田雅宣：身近だけれど以外に知らない乳酸菌・ビフィズス菌の姿。生物工学 2012; 90(8): 504-508
34. Piqué N, Berlanga M, Miñana-Galbés D: Health Benefits of Heat-Killed (Tyndallized) Probiotics: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20; 2534: 1-30

35. 芝崎勲：環境微生物制御法（その 1）。日本コールドチェーン研究会誌「食品と低温」1985; 11(1):11-18
36. 竹友直生、三枝静江、磯野未来、馬場隆：乳酸菌を利用した漬物加工技術に関する研究 平成 27～29 年度
37. 芝崎勲：改訂・新版 新・食品殺菌工学。光琳 平成 10 年 7 月 15 日
38. Simpson PJ, Stanton C, Fitzgerald GF, Ross RP: Intrinsic tolerance of *Bifidobacterium* species to heat and oxygen and survival following spray drying and storage. *Journal of Applied Microbiology* 2005; 99: 493-501
39. Tanaka K, Tsukahara T, Yanagi T, Nakahara S, Furukawa O, Tsutsui H et al.: *Bifidobacterium bifidum* OLB6378 Simultaneously Enhances Systemic and Mucosal Humoral Immunity in Low Birth Weight Infants: A Non-Randomized Study. *Nutrients* 2017; 9: 195