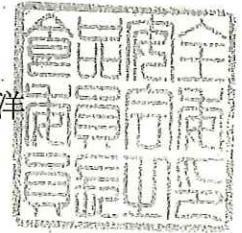


府食第417号
平成28年6月28日

農林水産大臣

森山 裕 殿

食品安全委員会
委員長 佐藤 洋



食品健康影響評価の結果の通知について

平成27年11月18日付け27消安第4277号をもって貴省から当委員会に意見を求められたバチルス サブチルスに係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（昭和28年法律第35号）第3条第1項の規定に基づき、バチルス サブチルスの基準及び規格並びにバチルス サブチルスを含む飼料の基準及び規格を改正することについては、今回追加するバチルス サブチルス 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。

別添

飼料添加物評価書

バチルス サブチルス JA-ZK 株

2016年6月

食品安全委員会

目次

	頁
○ 審議の経緯	2
○ 食品安全委員会委員名簿	2
○ 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	2
○ 要約	3
I. 評価対象飼料添加物の概要	4
1. 用途	4
2. 有効成分の名称	4
3. 製造方法の概要	4
4. 使用目的及び使用状況等	4
II. 安全性に係る知見の概要	5
1. 体内動態に関する試験	5
(1) 体内動態に関する試験 (豚)	5
(2) 体内動態に関する試験 (鶏)	5
2. 残留試験	6
3. 遺伝毒性試験	6
4. 急性毒性試験	6
5. 亜急性毒性試験	6
6. 慢性毒性及び発がん性試験	7
7. 生殖発生毒性試験	7
8. 一般薬理試験	7
9. 対象動物における飼養試験	7
(1) 飼養試験 (豚)	7
(2) 飼養試験 (鶏)	7
10. その他の試験	8
(1) 豚又は鶏の腸内細菌叢分離菌の <i>in vitro</i> における増殖に関する影響 (参考資料)	8
(2) 薬剤感受性に関する試験	9
11. ヒトにおける知見	11
III. 国際機関等における評価	11
IV. 食品健康影響評価	11
・別紙：検査値等略称	13
・参照	14

〈審議の経緯〉

- 2015年 11月 18日 農林水産大臣から飼料添加物の基準及び規格並びに当該飼料添加物を含む飼料の基準及び規格の改正に係る食品健康影響評価について要請（27 消安第 4277 号）、関係資料の接受
- 2015年 11月 24日 第 585 回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2016年 2月 3日 第 111 回肥料・飼料等専門調査会
- 2016年 5月 17日 第 606 回食品安全委員会（報告）
- 2016年 5月 18日 から 6月 16 日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2016年 6月 22日 肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2016年 6月 28日 第 612 回食品安全委員会（報告）
（同日付け農林水産大臣に通知）

〈食品安全委員会委員名簿〉

（2015年7月1日から）

佐藤 洋 （委員長）
山添 康 （委員長代理）
熊谷 進
吉田 緑
石井 克枝
堀口 逸子
村田 容常

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

（2015年10月1日から）

今井 俊夫（座長）
山中 典子（座長代理）
荒川 宜親 高橋 和彦
石原 加奈子 戸塚 恭一
今田 千秋 中山 裕之
植田 富貴子 細川 正清
桑形 麻樹子 宮島 敦子
小林 健一 宮本 亨
下位 香代子 山田 雅巳
管井 基行 吉田 敏則

〈第 111 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明

要 約

飼料添加物であるバチルス サブチルス JA-ZK 株 (*Bacillus subtilis*JA-ZK 株) について、飼料添加物指定審査用資料等を用いて食品健康影響評価を実施した。

バチルス サブチルス JA-ZK 株 (*B. subtilis* JA-ZK 株) の体内動態に関する試験において、*B. subtilis*JA-ZK 株の混餌投与 7 日後の豚及び鶏の組織からは、本菌株は検出されなかった。また、最終投与 7 日後には、豚及び鶏の消化管内容物中の本菌株の生菌数は定量限界未満であった。

急性毒性試験において、全ての強制経口投与群で死亡はみられず、また一般状態、体重及び剖検においても異常はみられなかった。

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いないが、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みられなかった。なお、亜急性毒性試験においては最高用量が無毒性量 (NOAEL) と判断され、その用量 ($10^{8.8}$ 個/g 飼料) は飼料添加物としての推奨添加量の上限 (10^7 個/g 飼料) の 63 倍であることから、*B. subtilis* JA-ZK 株が飼料添加物として適切に使用される場合、安全性に懸念がないと考えられ、一日摂取許容量 (ADI) を特定する必要はないと判断した。

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なかった。

以上のことから、*B. 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。

I. 評価対象飼料添加物の概要

1. 用途

飼料添加物（豚及び鶏用飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進）

2. 有効成分の名称

一般名 和名：バチルス サブチルス（枯草菌）

英名：*Bacillus subtilis*

株名：JA-ZK 株 (参照 1、2)

3. 製造方法の概要

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いる。(参照 3、4)

4. 使用目的及び使用状況等

今回の評価対象であるバチルス サブチルス JA-ZK 株 (*Bacillus subtilis* JA-ZK 株) は、全農家畜衛生研究所が 2000 年に日本の竹林土壌から分離した株であり、安全性、家畜の生産性改善、保存安定性等が認められ、2006 年に株式会社科学飼料研究所に分与され、飼料添加物としての開発に至った。

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る（飼料 1g に対し生菌数として $10^5 \sim 10^7$ 個¹）。

バチルス サブチルス (*Bacillus subtilis*) は、1835 年に Ehrenberg により *Vibrio subtilis* として発見された。1872 年に Cohn によりその芽胞形成などのライフサイクルが発見され、新たに *B. subtilis* として分類された。

バチルス サブチルスは、グラム陽性桿菌で芽胞を形成し、嫌気条件下では発育しない。芽胞は熱、放射線、化学薬品等に対して耐性を示し、長期にわたって休眠状態を維持することが可能である。土壌や枯れた植物等広く自然界に分布し、稲わら等にも付着していることから間接的に家畜に摂取されている。また、食用として利用される納豆菌も当菌種の一つであり、飼料や食品として長年にわたって広く使用されている。

近年、バチルス サブチルスを飼料に添加し家畜や家禽に給与することで、その生産性が改善されることが報告されており、日本では既に 4 菌株が飼料添加物として指定されている。なお、対象飼料の規定はされているが、添加量の規定はない。

また、米国をはじめとして世界的に広く使用されている。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 *B. subtilis* C-3102 株 (EC No 1444/2006) が飼料添加物として使用されている。なお、*B. subtilis* JA-ZK 株は、海外において飼料添加物として使用されていない。(参照 1、3、5)

今般、農林水産省から、バチルス サブチルスについて、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律 (昭和 28 年法律第 35 号) 第 3 条第 1 項の規定に基づく飼料添加物の基準及び規格並びに当該飼料添加物を含む飼料の基準及び規格の改正に関する食品健康影響評価の要請がなされた。

¹ コロニー形成単位 CFU(Colony Forming Unit)で生菌数を測定している。(参照 6)

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、飼料添加物指定のための審査用資料等を基に、*B. subtilis* JA-ZK 株に関する科学的知見を整理した。

1. 体内動態に関する試験

(1) 体内動態に関する試験（豚）

子豚（交雑種(LWD)、5 週齢、雄 5 頭）に本製剤を 14 日間混餌投与（生菌数として $10^{6.5}$ 個/g 飼料）し、投与期間中及び最終投与 7 日後まで糞便中の被験菌数を測定した。最終投与 7 日後に、組織（肝臓、腎臓、心臓、肺、脾臓、膵臓及び腸間膜リンパ）中の被験生菌の有無を確認した。消化管（胃、十二指腸、空腸、盲腸、結腸及び直腸）内容物については、被験生菌数を測定した。

糞便中の被験生菌数の測定結果を表 1 に示した。糞便中の被験生菌数は、投与開始 1 日後に飼料中の被験生菌数と同程度に増加し、最終投与 1 日後に 1/10 まで減少した。最終投与 7 日後には定量限界（ $10^{4.0}$ 個/g 糞便）未満となった。

最終投与 7 日後の各組織に被験生菌は検出されなかった。また、消化管内容物中の被験生菌数は、いずれの消化管においても定量限界（ $10^{4.0}$ 個/g 糞便）未満であった。（参照 3、7）

表 1 豚における糞便中 *B. subtilis* JA-ZK 株生菌数（個/g 糞便(常用対数値)）

投与開始後日数						
0	1	2	7	9	12	14
<4.0	6.5 ± 0.3	6.5 ± 0.3	6.8 ± 0.2	6.5 ± 0.4	6.9 ± 0.3	6.8 ± 0.4
最終投与後日数						
1	2	5	7			
5.7 ± 0.2	<4.0~4.9 ^a	<4.0~4.1	<4.0			

n=5 平均±標準偏差 定量限界：4.0 個/g 糞便（常用対数値）

a：定量限界未満の個体を含む場合は、範囲で示した。

(2) 体内動態に関する試験（鶏）

鶏（白色レグホン種、2 週齢、雌 10 羽）に本製剤を 7 日間混餌投与（生菌数として $10^{5.8}$ 個/g 飼料）し、投与期間中及び最終投与 7 日後まで糞便中の被験生菌数を測定した。最終投与 7 日後に、組織（肝臓、腎臓、心臓、肺、脳、脾臓、膵臓及びファブリキウス嚢）中の被験生菌の有無を確認した。消化管（そ嚢、腺胃、筋胃、十二指腸、空回腸、盲腸及び直腸）内容物については、被験生菌数を測定した。

糞便中の被験生菌数の測定結果を表 2 に示した。糞便中の被験生菌数は、投与開始 1 日後に飼料中の被験生菌数と同程度に増加し、投与期間中の被験生菌数は安定していた。最終投与 1 日後には定量限界（ $10^{4.0}$ 個/g 糞便）未満となった。

最終投与 7 日後の各組織に被験生菌は検出されなかった。また、消化管内容物中の被験生菌数は、いずれの消化管においても定量限界（ $10^{4.0}$ 個/g 糞便）未満であった。（参照 3、8）

表2 鶏における糞便中 *B. subtilis* JA-ZK 株生菌数 (個/g 糞便(常用対数値))

投与開始後日数							
0	1	2	3	4	5	6	7
<4.0	6.2±0.4	6.0±0.3	6.1±0.3	6.0±0.2	6.1±0.2	6.1±0.4	6.0±0.3
最終投与後日数							
1	2	3	4	5	6	7	
<4.0	<4.0	<4.0	<4.0	<4.0	<4.0	<4.0	<4.0

n=10 平均±標準偏差 定量限界：4.0 個/g 糞便 (常用対数値)

2. 残留試験

実施されていない。

3. 遺伝毒性試験

実施されていない。

4. 急性毒性試験

ラット (SD 系、5 週齢、雌雄各 5 匹/群) に精製水に懸濁した本製剤を強制経口投与 (0、30、300 又は 3,000 mg/kg 体重(生菌数として 0、 $10^{9.3}$ 、 $10^{10.3}$ 又は $10^{11.3}$ 個/kg 体重)) し、14 日間観察した。

その結果、対照群を含む全ての群で死亡はみられず、また、一般状態、体重及び剖検においても、異常は認められなかった。

以上の結果から、申請者は、本試験における LD₅₀ は、雌雄ともに 3,000 mg/kg 体重 (生菌数として $10^{11.3}$ 個/kg 体重) を超えると考えた。(参照 3、9、10)

5. 亜急性毒性試験

ラット (SD 系、5 週齢、雌雄各 10 匹/群) に本製剤を混餌投与 (飼料中濃度 0、0.05、0.5 又は 5%(生菌数として 0、 $10^{6.8}$ 、 $10^{7.8}$ 又は $10^{8.8}$ 個/g 飼料)) し、91 日間亜急性毒性試験が実施された。

その結果、投与期間中に死亡は認められず、一般状態、体重、摂餌量、眼検査及び尿検査において投与に起因する変化はみられなかった。

血液学的検査では、0.05%投与群の雌雄及び 5%投与群の雌で APTT が有意に延長したが、いずれも試験施設における背景データの正常値の範囲内であり、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た。

血液生化学検査では、5%投与群の雄で LDH 及び T.Bil が有意に高く、0.05%投与群の雌で Alb 及び A/G 比が有意に高かったが、いずれも試験施設における背景データの正常値の範囲内であり、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た。

剖検では、5%投与群の雄で精嚢の小型化がみられたが、10 例中 1 例のみに認められた所見であり、臓器重量においても対照群と各投与群の間に有意差は認められなかったことから投与による変化ではないと考えられた。

その他の臓器重量として、0.05%投与群の雌で唾液腺の絶対及び相対重量の有意な低下がみられたが、用量相関性はみられず、投与による変化ではないと考えられた。

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。

以上の結果から、申請者は、本試験における NOAEL を飼料中濃度として 5% (生菌数として $10^{8.8}$ 個/g 飼料(本製剤平均摂取量：雄 3,808 mg/kg 体重/日、雌 4,167 mg/kg 体重/日)) を超えると考えた。(参照 3、11、12、13)

食品安全委員会は、本試験の最高用量である 5%投与群に投与による影響はみられていないことから、本試験における NOAEL は飼料中濃度として 5% (生菌数として $10^{8.8}$ 個/g 飼料) と判断した。

6. 慢性毒性及び発がん性試験

実施されていない。

7. 生殖発生毒性試験

実施されていない。

8. 一般薬理試験

実施されていない。

9. 対象動物における飼養試験

(1) 飼養試験 (豚)

豚 (交雑種(LWD)、3 週齢、去勢雄 6 頭/群) に本製剤を 21 週間混餌投与 (0、10 又は 1,000 ppm、生菌数として 0、 $10^{6.1}$ 又は $10^{8.1}$ 個/g 飼料(推奨添加量の上限(10^7 個/g 飼料)の 13 倍)) し、飼養試験が実施された。投与前、投与開始後 11 週及び投与期間終了後に全頭から採血を行い、投与期間終了日及び翌日にそれぞれ各群 3 頭ずつ剖検し、組織を採取した。投与期間中の本剤平均摂取量は、10 ppm 投与群で 0.5 mg/kg 体重/日、1,000 ppm 投与群で 45 mg/kg 体重/日であった。

全ての群で投与期間中に死亡はみられなかった。一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査及び血液生化学的検査において投与による変化は認められなかった。また、剖検においても投与による変化は認められなかった。

肝臓、腎臓、心臓、脾臓、副腎及び甲状腺の重量が測定されたが、絶対及び相対重量に対して投与による変化は認められなかった。

病理組織学的検査は、剖検及び臓器重量において投与による影響が認められなかったため、実施されなかった。

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。(参照 3、14、15)

(2) 飼養試験 (鶏)

鶏 (肉用種、1 日齢、雌雄各 15 羽/群) に本製剤を 8 週間混餌投与 (0、10 又は 1,000 ppm、生菌数として 0、 $10^{6.1}$ 又は $10^{8.1}$ 個/g 飼料(推奨添加量の上限(10^7 個/g 飼料)の 13

倍) し、飼養試験が実施された。最終投与日に雌雄各群 6 羽から採血した。最終投与後、全羽剖検した (雄: 最終投与日、雌: 最終投与の翌日)。また、採血に用いた雌雄各群 6 羽から組織を採取した。投与期間中の本剤平均摂取量は、10 ppm 投与群の雄で 0.88 mg/kg 体重/日、雌で 0.87 mg/kg 体重/日であり、1,000 ppm 投与群の雄で 88 mg/kg 体重/日、雌で 87 mg/kg 体重/日であった。

全ての群で投与期間中に死亡はみられなかった。一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査及び血液生化学的検査において投与による変化は認められなかった。また、剖検においても投与による変化は認められなかった。

脳、肝臓、腎臓、心臓、脾臓及びファブリキウス嚢の重量が測定されたが、絶対及び相対重量に対して投与による変化は認められなかった。

病理組織学的検査は、剖検及び臓器重量において投与による影響が認められなかったため、実施されなかった。

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。(参照 3、16、17)

10. その他の試験

(1) 豚又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 (参考資料²⁾)

B. subtilis JA-ZK 株を各種試験菌株と混合培養 (37°C、48 時間、好気条件下) し、試験菌の菌数を経時的に測定して試験菌の増殖に対する影響が調べられた。

B. subtilis JA-ZK 株との混合培養により、大腸菌 3 株の増殖は 10 分の 1 以下に抑制され、特に NBRC 14249 及び N-810 株では検出限界 (10^{2.0} 個/mL) 未満まで抑制された。サルモネラでは、検出限界未満まで増殖が抑制された。

一方、グラム陽性菌である黄色ブドウ球菌、豚の消化管内容物から分離された *Lactobacillus* 2 株及び鶏から分離された腸球菌 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。(参照 3、18)

表 3 *B. subtilis* JA-ZK 株との混合培養時における各種試験菌株の生菌数 (個/mL(常用対数値))

菌株名	培養	JA-ZK 株	培養時間 (h)		
			0	24	48
<i>Escherichia coli</i> NBRC 14249	単独	0 ^a	4.7	7.9	6.6
	混合	6.2	4.7	<2.0	<2.0
<i>E. coli</i> N-810	単独	0	4.8	8.9	9.3
	混合	6.2	4.8	<2.0	<2.0
<i>E. coli</i> 2D-5	単独	0	4.9	9.3	9.1
	混合	6.2	4.9	4.1	8.1
<i>Salmonella</i> Enteritidis ZK-3	単独	0	3.1	10.1	10.2
	混合	5.8	3.1	4.3	<2.0

² ヒトに対する食品健康影響評価に直接的に資するデータではないと判断したため、参考資料とした。

<i>Staphylococcus aureus</i> NBRC 12732	単独	0	5.4	8.7	8.9
	混合	5.8	5.4	8.8	8.3
<i>Lactobacillus johnsonii</i> LA-3 ^b	単独	0	3.1	8.4	7.9
	混合	6.0	3.1	8.7	7.2
<i>L. plantarum</i> LP-1 ^b	単独	0	3.1	9.0	7.3
	混合	6.0	3.1	8.4	7.3
<i>Enterococcus faecalis</i> APU-14 ^c	単独	0	3.4	8.9	9.5
	混合	6.6	3.4	9.3	9.4
<i>E. mundtii</i> APU-27 ^c	単独	0	1.6	8.3	9.0
	混合	6.6	1.6	9.1	9.2

検出限界：2.0 個/mL(常用対数値)

a：0 個/mL b：豚の消化管内容物からの分離株 c：鶏からの分離株

(2) 薬剤感受性に関する試験

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

国内外で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 11 種類について、*B. subtilis* JA-ZK 株に対する最小発育阻止濃度 (MIC) が測定された。

感受性について、CLSI の判断基準又は EFSA の Cut-off 値に基づき判断したところ、*B. 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した。(表 4) (参照 3、19、20、21)

表 4 ヒト及び動物用医薬品として使用される抗菌性物質の *B. subtilis* JA-ZK 株に対する MIC ($\mu\text{g/mL}$)

抗菌性物質名	JA-ZK 株	CLSI のブレイクポイント		EFSA Cut-off 値
		感性	耐性	
アンピシリン	≤ 0.063	≤ 0.25	≥ 0.5	
セファゾリン	0.5	≤ 8	≥ 32	
ストレプトマイシン	1			≤ 8
ゲンタマイシン	≤ 0.063	≤ 4	≥ 16	≤ 4
カナマイシン	0.25			≤ 8
バンコマイシン	≤ 0.063	≤ 4		≤ 4
エリスロマイシン	0.125	≤ 0.5	≥ 8	≤ 4
クリンダマイシン	0.25	≤ 0.5	≥ 4	≤ 4
テトラサイクリン	≤ 0.063	≤ 4	≥ 16	≤ 8
クロラムフェニコール	1	≤ 8	≥ 32	≤ 8
シプロフロキサシン	≤ 0.063	≤ 1	≥ 4	

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

抗菌性飼料添加物として使用される主な抗菌性物質の *B. subtilis* JA-ZK 株に対す

る MIC が測定され、結果を表 5 に示した。(参照 19、22)

測定した飼料添加物のうち、ヒト用医薬品と類縁のものは 8 種類あり、そのうちバシトラシン及びセデカマイシンの MIC が特に高かった。バシトラシンは、*B. subtilis* 等により産生される天然のペプチド系抗生物質であり、*B. subtilis* 自体がバシトラシン耐性に関与する遺伝子を有することから、高い MIC となることが報告されており(参照 23)、*B. subtilis*JA-ZK 株に特有のものではなかった。セデカマイシンの MIC は高かったが、同系統でヒト用医薬品として使用されるエリスロマイシン及び抗菌性飼料添加物として使用されるタイロシンに対して、*B. subtilis*JA-ZK 株は感受性を示した。

また、専ら動物に使用される抗菌性物質にも MIC が高いものがあつたが、ポリエーテル系抗生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、デコキネート、ナイカルバジン及びクエン酸モランテルは、ヒト用医薬品として使用されておらず、当該物質と化学構造が類似したヒト用抗菌性物質及び交差耐性を示すヒト用抗菌性物質は報告されていない。また、ポリエーテル系抗菌性物質はほぼ同様の作用機序や生物活性を示すことから細菌において交差耐性が認められる場合があるが、耐性遺伝子が菌株間で伝達するという事実や可能性はこれまでに報告されていない。

(参照 24) ビコザマイシンは、グラム陽性菌には無効とされている。(参照 25) また、ビコザマイシン、エフロトマイシン及びハロフジノンポリスチレン酸カルシウムは、ヒト用医薬品として使用されておらず、また、耐性遺伝子の伝達に関する報告は確認されなかった。

表 5 抗菌性飼料添加物の *B. subtilis* JA-ZK 株
に対する MIC (μg 力価/mL)

抗菌性物質名	MIC
デストマイシン	50
サリノマイシン	1.6
センデュラマイシン	100
ナラシン	0.78
モネンシン	3.1
ラサロシド	1.6
エンラマイシン	0.39
コリスチン ^a	13
ノシヘプタイド	0.049
バージニアマイシン ^a	3.1
バシトラシン ^a	>1,000
オキシテトラサイクリン ^a	1.6
クロルテトラサイクリン ^a	0.2
フラボフォスフォリポール	3.1
セデカマイシン ^a	>100

タイロシン ^a	0.78
アビラマイシン	6.3
エフロトマイシン	>100
ビコザマイシン	>100
アンプロリウム	>100
エトパベート	>100
スルファキノキサリン ^a	13
デコキネート	>100
ナイカルバジン	>100
クエン酸モランテル	>100
ハロフジノンポリスチレン酸 カルシウム	>100

a : ヒト用医薬品と類縁

1 1. ヒトにおける知見

B. subtilis JA-ZK 株に関するヒトにおける知見は得られていない。

しかし、*B. 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 (BSL) 1³⁾に相当するとされている。(参照 26) 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いる。(参照 27)

III. 国際機関等における評価

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いない。

EFSA において、*B. subtilis* は、QPS (Qualified presumption of safety) 手法⁴⁾を用いた安全性評価を実施することが可能な微生物として QPS 推薦リスト (The QPS status recommended list) に掲載されている。このリストに掲載されている微生物を用いて生産される飼料添加物について評価する際に、QPS 手法によって安全性を評価することが適していると認められた場合には、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。

2013 年に *B. subtilis* について、安全性に関する新たな情報に基づき、QPS 推薦リストへの掲載の適性が再検討され、特段問題ないと判断されている。(参照 28、29)

IV. 食品健康影響評価

バチルス サブチルス JA-ZK 株 (*B. subtilis* JA-ZK 株) の体内動態に関する試験に

³ BSL2 に属さない細菌で、健常者への病原性がないか低いもの、及び BCG ワクチン株

⁴ EFSA が、微生物を用いて生産される食品及び飼料添加物、酵素等の安全性評価を行う際の支援を目的として開発した評価法。細菌の分類学上のグループ (属又は関連する種のグループ等) 毎の安全性について 4 つの項目 (分類同定、知見の集積、病原性及び最終用途) に基づいて評価する。

において、*B. subtilis* JA-ZK 株の混餌投与 7 日後の豚及び鶏の組織からは、本菌株は検出されなかった。また、最終投与 7 日後には、豚及び鶏の消化管内容物中の本菌株の生菌数は定量限界未満であった。

急性毒性試験において、全ての強制経口投与群で死亡はみられず、また一般状態、体重及び剖検においても異常はみられなかった。

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いないが、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みられなかった。なお、亜急性毒性試験においては最高用量が NOAEL と判断され、その用量 ($10^{8.8}$ 個/g 飼料) は飼料添加物としての推奨添加量の上限 (10^7 個/g 飼料) の 63 倍であることから、*B. subtilis* JA-ZK 株が飼料添加物として適切に使用される場合、安全性に懸念がないと考えられ、ADI を特定する必要はないと判断した。

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なかった。

以上のことから、*B. 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。

〈別紙：検査値等略称〉

略称等	名称
ADI	一日摂取許容量
A/G 比	アルブミン/グロブリン比
Alb	アルブミン
APTT	活性化プロトロンボプラスチン時間
CLSI	臨床検査標準協会
EFSA	欧州食品安全機関
LD ₅₀	半数致死量
LDH	乳酸脱水素酵素
MIC	最小発育阻止濃度
NOAEL	無毒性量
T.Bil	総ビリルビン

〈参照〉

1. 株式会社 科学飼料研究所：生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 資料 1-1 (非公表)
2. 株式会社 科学飼料研究所：生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 資料 2-1 (非公表)
3. 株式会社 科学飼料研究所：生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 抄録 (非公表)
4. 株式会社 科学飼料研究所：生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 資料 2-2 (非公表)
5. 株式会社 科学飼料研究所：生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 資料 1-2 (非公表)
6. 株式会社 科学飼料研究所：生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 資料 2-4 (非公表)
7. 株式会社 科学飼料研究所：生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 資料 4-5 (非公表)
8. 株式会社 科学飼料研究所：生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 資料 4-4 (非公表)
9. 株式会社 科学飼料研究所：生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 資料 4-2 (非公表)
10. 株式会社 科学飼料研究所：生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 GLP 単回投与試験 (非公表)
11. 株式会社 科学飼料研究所：生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 資料 4-3 (非公表)
12. 株式会社 科学飼料研究所：生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 GLP 反復投与試験 (非公表)
13. 株式会社 科学飼料研究所：生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 指摘事項回答書添付資料 11 (非公表)
14. 株式会社 科学飼料研究所：生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 資料 4-7 (非公表)
15. 株式会社 科学飼料研究所：生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 GLP 豚飼養試験 (非公表)
16. 株式会社 科学飼料研究所：生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 資料 4-6 (非公表)
17. 株式会社 科学飼料研究所：生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 GLP 鶏飼養試験 (非公表)
18. 株式会社 科学飼料研究所：生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 資料 3-1 (非公表)
19. 株式会社 科学飼料研究所：生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 資料 4-8 (非公表)
20. Clinical and Laboratory Standards Institute : Methods for Antimicrobial Dilution

- and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria: Approved Guideline-Second Edition. M45-A2, Vol. 30 No.18, Replace M45-A, Vol.26 No.19.
21. EFSA : Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance. *EFSA Journal* 2012; 10(6): 2740
 22. 株式会社 科学飼料研究所 : 生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 資料 3-3 (非公表)
 23. Adimpong DB, Sorensen KI, Thorsen L, Stuer-Lauridsen B, Abdelgadir WS, Nielsen DS, et al.: Antimicrobial susceptibility of *Bacillus* strains isolated from primary starters for African traditional bread production and characterization of the bacitracin operon and bacitracin biosynthesis. *Appl Environ Microbiol* 2012; 78: 7903-7914
 24. 食品安全委員会 : 家畜等に使用するセンデュラマイシンナトリウムによる薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価について 2013年4月
 25. 吐山豊秋 : 家畜薬理学 改訂版 株式会社養賢堂 1994年
 26. 国立感染症研究所 : 国立感染症研究所病原体等安全管理規定 別冊1 「病原体等のBSL分類等」 (平成22年6月)
 27. 株式会社 科学飼料研究所 : 生菌剤 *Bacillus subtilis* JA-ZK 株 飼料添加物指定審査用資料 資料 4-1 (非公表)
 28. EFSA: Introduction of a Qualified Presumption of Safety (QPS) approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA. *EFSA Journal* 2007;587:1-16.
 29. EFSA : Scientific Opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents intentionally added to food and feed (2013 update). *EFSA Journal* 2013; 11(11): 3449