参考資料

食品衛生分科会　審議事項

厚生労働省発生食 1219 第 1 号
平成 29 年 12 月 19 日

薬事・食品衛生審議会
会長 橋田 充 殿

厚生労働大臣 加藤 勝信

諮問書

食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 11 条第 1 項の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

次に掲げる農薬等の食品中の残留基準等について

（残留基準の見直し）
動物用医薬品オルビフロキサシン
動物用医薬品カナマイシン
動物用医薬品メチルプレドニゾロン
農薬・動物用医薬品ジフルベンズロン
農薬・動物用医薬品フルバリネート
農薬アセフェート
農薬メタミドホス
農薬トリフルメゾピリム
農薬フルジオキソニル

平成 30 年 2 月 15 日

薬事・食品衛生審議会
　食品衛生分科会長　村田　勝敬　殿

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
　農薬・動物用医薬品部会長　穐山　浩

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
農薬・動物用医薬品部会報告について

平成 29 年 12 月 19 日付け厚生労働省発生食 1219 第 1 号をもって諮問された、食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 11 条第 1 項の規定に基づくトリフルメゾピリムに係る食品中の農薬の残留基準の設定について、当部会で審議を行った結果を別添のとおり取りまとめたので、これを報告する。

トリフルメゾピリム

今般の残留基準の検討については、農薬取締法に基づく新規の農薬登録申請に伴う基準値設定依頼が農林水産省からなされたことに伴い、食品安全委員会において食品健康影響評価がなされたことを踏まえ、農薬・動物用医薬品部会において審議を行い、以下の報告を取りまとめるものである。

１．概要

（１）品目名：トリフルメゾピリム[Triflumezopyrim（ISO）]

（２）用　途：殺虫剤

メソイオン系の殺虫剤である。ニコチン性アセチルコリン受容体と結合することで神経伝達物質の働きを阻害し、神経伝達を遮断することにより、殺虫効果を示すと考えられている。

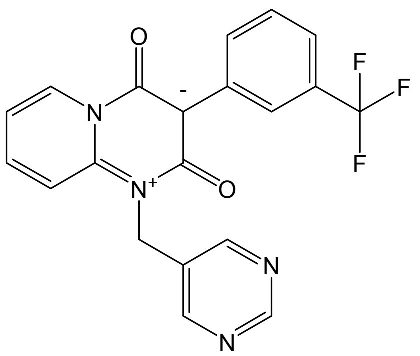
（３）化学名及びCAS番号

2,4-Dioxo-1-(pyrimidin-5-ylmethyl)-3-(3-(trifluoromethyl)phenyl)-3,4-dihydro-2*H*-pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-1-ium-3-ide (IUPAC)

2*H*-Pyrido[1,2-*a*]pyrimidinium, 3,4-dihydro-2,4-dioxo-1-(5-pyrimidinylmethyl)-3-[3-(trifluoromethyl)phenyl]-, inner salt

(CAS：No. 1263133-33-0)

（４）構造式及び物性



分子式	$C_{20}H_{13}F_3N_4O_2$
分子量	398.34
水溶解度	0.23±0.01 g/L (20±0.5℃)
分配係数	$\log_{10}$Pow ＝ 1.26±0.01 (pH 7)
	＝ 1.24±0.02 (pH 9)
	＝ 1.23±0.01 (pH 4)

２．適用の範囲及び使用方法

本剤の適用の範囲及び使用方法は以下のとおり。

（１）国内での使用方法

①　0.75%トリフルメゾピリム粒剤

<table>
<tr><th>作物名</th><th>適用</th><th>使用量</th><th>使用時期</th><th>本剤の
使用回数</th><th>使用方法</th><th>ﾄﾘﾌﾙﾒｿﾞﾋﾟﾘﾑ
を含む農薬の
総使用回数</th></tr>
<tr><td rowspan="2">稲
(箱育苗)</td><td rowspan="2">ｳﾝｶ類
ﾂﾏｸﾞﾛﾖｺﾊﾞｲ</td><td rowspan="2">育苗箱
(30×60×3 cm、
使用土壌約5 L)
1箱当たり50 g</td><td>は種時
(覆土前)
～移植当日</td><td rowspan="2">1回</td><td>育苗箱の上から
均一に散布する。</td><td rowspan="2">1回</td></tr>
<tr><td>は種前</td><td>育苗箱の床土又は
覆土に均一に混和
する。</td></tr>
</table>

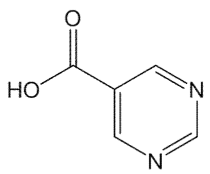
３．作物残留試験

（１）分析の概要

①　分析対象物質

・トリフルメゾピリム

・5-ピリミジンカルボン酸（以下、代謝物Bという）



代謝物B

②　分析法の概要

i)トリフルメゾピリム

試料からメタノール及びメタノール・水（7：3)混液で抽出し、液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計(LC-MS/MS)で定量する。

定量限界：0.01 mg/kg

ⅱ)代謝物Ｂ

試料からメタノール及びメタノール・水（7：3)混液で抽出し、グラファイトカーボン/NH_2積層カラムを用いて精製した後、LC-MS/MS で定量する。

なお、代謝物Ｂの分析値は、換算係数 3.21 を用いてトリフルメゾピリム濃度に換算した値として示した。

定量限界：0.04 mg/kg（トリフルメゾピリム換算濃度）

（２）作物残留試験結果

国内で実施された作物残留試験の結果の概要については別紙 1 を参照。

４．ADI 及び ARfD の評価

食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）第 24 条第 1 項第 1 号の規定に基づき、食品安全委員会あて意見を求めたトリフルメゾピリムに係る食品健康影響評価において、以下のとおり評価されている。

（１）ADI

無毒性量：3.23 mg/kg 体重/day

(動物種)　雌ラット

(投与方法)　混餌

(試験の種類)　慢性毒性/発がん性併合試験

(期間)　2 年間

安全係数：100

ADI：0.032 mg/kg 体重/day

ラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験において雌で子宮（頚部を含む）の扁平上皮癌、マウスを用いた 18 ヶ月間発がん性試験において雄で肝細胞腺腫の発生頻度がそれぞれ増加したが、腫瘍の発生機序は遺伝毒性メカニズムによるものとは考え難く、評価に当たり閾値を設定することは可能であると考えられた。

(参考)

染色体異常試験の 2 試験において、染色体異常を有する細胞割合の統計学的有意な増加が認められたが、これらの結果は、1 試験では S9 mix の存在下、もう 1 試験では非存在下で陽性を示し、再現性がなく、追加で実施された 2 試験の結果はいずれの条件においても陰性であった。さらに、*in vivo* で実施された小核試験を含むその他の試験において全て陰性の結果が得られていることから、トリフルメゾピリムに生体において問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。

（２）ARfD

無毒性量：100 mg/kg 体重

(ARfD 設定根拠①)　急性神経毒性試験

(動物種)　ラット

(投与方法)　強制経口

無毒性量：100 mg/kg 体重/day

(ARfD 設定根拠②)　発生毒性試験

（動物種）　　　ラット
（投与方法）　　強制経口
（期間）　　　　妊娠 6～20 日
安全係数：100
ARfD：1 mg/kg 体重

5．諸外国における状況
JMPR における毒性評価はなされておらず、国際基準も設定されていない。
米国、カナダ、EU、豪州及びニュージーランドについて調査した結果、米国において米に基準値が設定されている。

6．基準値案
（1）残留の規制対象
トリフルメゾピリムとする。

作物残留試験において、代謝物 B の分析が行われているが、いずれも定量限界未満であることから､残留の規制対象には代謝物 B を含めず､トリフルメゾピリムのみとする。

なお、食品安全委員会は、食品健康影響評価において、農産物及び畜産物中の暴露評価対象物質をトリフルメゾピリム（親化合物のみ）としている。

（2）基準値案
別紙 2 のとおりである。

（3）暴露評価
① 長期暴露評価
1 日当たり摂取する農薬等の量の ADI に対する比は、以下のとおりである。詳細な暴露評価は別紙 3 参照。

	TMDI／ADI(%) 注）
国民全体（1 歳以上）	0.1
幼小児（1～6 歳）	0.2
妊婦	0.1
高齢者（65 歳以上）	0.1

注）各食品の平均摂取量は、平成 17 年～19 年度の食品摂取頻度・摂取量調査の特別集計業務報告書による。
TMDI 試算法：基準値案×各食品の平均摂取量

② 短期暴露評価

各食品の短期推定摂取量(ESTI)を算出したところ、国民全体（1 歳以上）及び幼小児（1～6 歳）のそれぞれにおける摂取量は急性参照用量(ARfD)を超えていない注)。詳細な暴露評価は別紙 4-1 及び 4-2 参照。

注）作物残留試験における中央値（STMR）を用い、平成 17～19 年度の食品摂取頻度・摂取量調査及び平成 22 年度の厚生労働科学研究の結果に基づき ESTI を算出した。

（別紙1）

トリフルメゾピリムの作物残留試験一覧表（国内）

農作物	試験圃場数	試験条件 剤型	使用量・使用方法	回数	経過日数	各化合物の残留濃度（mg/kg）[注1)] 【トリフルメゾピリム／代謝物B】
水稲（玄米）	8	0.75%粒剤	50 g/箱 育苗箱施用	<u>1</u>	133	圃場A：<0.01/<0.04
					105	圃場B：<0.01/<0.04
					124	圃場C：<0.01/<0.04
					108	圃場D：<0.01/<0.04
					134	圃場E：<0.01/<0.04
					121	圃場F：<0.01/<0.04
					125	圃場G：<0.01/<0.04
					111	圃場H：<0.01/<0.04
	8	0.75%粒剤 ＋ *10.0%フロアブル剤*	50 g/箱 育苗箱施用 ＋ *4000倍散布 100,101 L/10 a*	<u>1</u>＋*2*	7,14,21	圃場A：<0.01/<0.04(3回,7日)(#)[注2)]
					7,14,21	圃場B：<0.01/<0.04(3回,7日)(#)
					7,15,21	圃場C：<0.01/<0.04(3回,7日)(#)
					7,14,21	圃場D：<0.01/<0.04(3回,7日)(#)
					7,14,21	圃場E：<0.01/<0.04(3回,7日)(#)
					7,14,21	圃場F：<0.01/<0.04(3回,7日)(#)
					7,14,20	圃場G：<0.01/<0.04(3回,7日)(#)
					7,14,21	圃場H：<0.01/<0.04(3回,7日)(#)

注１）当該農薬の登録又は申請された適用の範囲内で最も多量に用い、かつ最終使用から収穫までの期間を最短とした場合の作物残留試験（いわゆる最大使用条件下の作物残留試験）を複数の圃場で実施し、それぞれの試験から得られた残留濃度の最大値を示した。

代謝物Bの残留濃度は、トリフルメゾピリム濃度に換算した値で示した。

表中、最大使用条件下の作物残留試験条件に、アンダーラインを付しているが、経時的に測定されたデータがある場合において、収穫までの期間が最短の場合にのみ最大残留量が得られるとは限らないため、最大使用条件以外で最大残留量が得られた場合は、その使用回数及び経過日数について（　）内に記載した。

注２）(#)印で示した作物残留試験成績は、登録又は申請された適用の範囲内でが行われていないことを示す。また、適用範囲内ではない試験条件を斜体で示した。

農薬名　トリフルメゾピリム

(別紙2)

食品名	基準値案 ppm	基準値現行 ppm	登録有無	参考基準値		作物残留試験成績等 ppm
				国際基準 ppm	外国基準値 ppm	
米(玄米をいう。)	0.01		申			<0.01(n=8)

「登録有無」の欄に「申」の記載があるものは、国内で農薬の登録申請等の基準値設定依頼がなされたものであることを示している。

（別紙３）

トリフルメゾピリム推定摂取量 （単位：μg／人／day）

食品名	基準値案 (ppm)	国民全体 (1歳以上) TMDI	幼小児 (1～6歳) TMDI	妊婦 TMDI	高齢者 (65歳以上) TMDI
米（玄米をいう。）	0.01	1.6	0.9	1.1	1.8
計		1.6	0.9	1.1	1.8
ADI比（%）		0.1	0.2	0.1	0.1

TMDI：理論最大1日摂取量（Theoretical Maximum Daily Intake）
TMDI試算法：基準値案×各食品の平均摂取量

トリフルメゾピリムの推定摂取量（短期）：国民全体(1歳以上)

食品名 (基準値設定対象)	食品名 (ESTI推定対象)	基準値案 (ppm)	評価に用いた数値 (ppm)	ESTI (μg/kg 体重/day)	ESTI/ARfD (%)
米（玄米）	米	0.01	○ 0.01	0.1	0

ESTI：短期推定摂取量（Estimated Short-Term Intake）
ESTI/ARfD(%)の値は、有効数字1桁（値が100を超える場合は有効数字2桁）とし四捨五入して算出した。
○：作物残留試験における中央値（STMR）を用いて短期摂取量を推計した。

トリフルメゾピリムの推定摂取量（短期）：幼小児(1～6歳)

食品名 (基準値設定対象)	食品名 (ESTI推定対象)	基準値案 (ppm)	評価に用いた数値 (ppm)	ESTI (μg/kg 体重/day)	ESTI/ARfD (%)
米（玄米）	米	0.01	○ 0.01	0.1	0

ESTI：短期推定摂取量（Estimated Short-Term Intake）

ESTI/ARfD(%)の値は、有効数字1桁（値が100を超える場合は有効数字2桁）とし四捨五入して算出した。

○：作物残留試験における中央値（STMR）を用いて短期摂取量を推計した。

（参考）

これまでの経緯

平成２８年　８月１８日	農林水産省から厚生労働省へ農薬登録申請に係る連絡及び基準値設定依頼（新規：稲）
平成２９年　２月１３日	厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請
平成２９年１０月　３日	食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに食品健康影響評価について通知
平成２９年１２月１９日	薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成２９年１２月２１日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

● 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

［委員］

○穐山　浩	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
石井　里枝	埼玉県衛生研究所化学検査室長
井之上　浩一	立命館大学薬学部薬学科臨床分析化学研究室准教授
折戸　謙介	麻布大学獣医学部生理学教授
魏　民	大阪市立大学大学院医学研究科分子病理学准教授
佐々木　一昭	東京農工大学大学院農学研究院動物生命科学部門准教授
佐藤　清	元　一般財団法人残留農薬研究所理事
佐野　元彦	東京海洋大学海洋生物資源学部門教授
永山　敏廣	明治薬科大学薬学部薬学教育研究センター基礎薬学部門教授
根本　了	国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長
二村　睦子	日本生活協同組合連合会組織推進本部長
宮井　俊一	一般社団法人日本植物防疫協会技術顧問
由田　克士	大阪市立大学大学院生活科学研究科公衆栄養学教授
吉成　浩一	静岡県立大学薬学部衛生分子毒性学分野教授

（○：部会長）

答申（案）

トリフルメゾピリム

食品名	残留基準値 ppm
米（玄米をいう。）	0.01

府　食　第　６６３　号
平成29年10月3日

厚生労働大臣
　加藤　勝信　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29年2月13日付け厚生労働省発生食0213第2号をもって厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められたトリフルメゾピリム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

トリフルメゾピリムの一日摂取許容量を0.032 mg/kg体重/日、急性参照用量を1 mg/kg体重と設定する。

別　添

農薬評価書

トリフルメゾピリム

２０１７年１０月

食品安全委員会

目　次

＜審議の経緯＞

2016 年	8 月	18 日	農林水産省から厚生労働省へ農薬登録申請に係る連絡及び基準値設定依頼（新規：稲）
2017 年	2 月	13 日	厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発生食 0213 第 2 号）
2017 年	2 月	15 日	関係書類の接受（参照 1～66）
2017 年	2 月	21 日	第 639 回食品安全委員会（要請事項説明）
2017 年	5 月	10 日	第 64 回農薬専門調査会評価第三部会
2017 年	6 月	21 日	第 65 回農薬専門調査会評価第三部会
2017 年	8 月	2 日	第 151 回農薬専門調査会幹事会
2017 年	8 月	22 日	第 662 回食品安全委員会（報告）
2017 年	8 月	23 日	から 9 月 21 日まで　国民からの意見・情報の募集
2017 年	9 月	27 日	農薬専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
2017 年	10 月	3 日	第 668 回食品安全委員会（報告） （同日付け厚生労働大臣へ通知）

＜食品安全委員会委員名簿＞

（2017 年 1 月 7 日から）

佐藤　洋（委員長）
山添　康（委員長代理）
吉田　緑
山本茂貴
石井克枝
堀口逸子
村田容常

＜食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿＞

（2016 年 4 月 1 日から）

・幹事会

西川秋佳（座長）	三枝順三	長野嘉介
納屋聖人（座長代理）	代田眞理子	林　　真
浅野　哲	清家伸康	本間正充*
小野　敦	中島美紀	與語靖洋

・評価第一部会

浅野　哲（座長）	桑形麻樹子	平林容子
平塚　明（座長代理）	佐藤　洋	本多一郎
堀本政夫（座長代理）	清家伸康	森田　健
相磯成敏	豊田武士	山本雅子

小澤正吾	林　　真	若栗　忍

・評価第二部会

三枝順三（座長）	高木篤也	八田稔久
小野　敦（座長代理）	中島美紀	福井義浩
納屋聖人（座長代理）	中島裕司	本間正充*
腰岡政二	中山真義	美谷島克宏
杉原数美	根岸友惠	義澤克彦

・評価第三部会

西川秋佳（座長）	加藤美紀	髙橋祐次
長野嘉介（座長代理）	川口博明	塚原伸治
與語靖洋（座長代理）	久野壽也	中塚敏夫
石井雄二	篠原厚子	増村健一
太田敏博	代田眞理子	吉田　充

*：2017 年 9 月 30 日まで

＜第 64 回農薬専門調査会評価第三部会専門参考人名簿＞

玉井郁巳	山手丈至

＜第 65 回農薬専門調査会評価第三部会専門参考人名簿＞

玉井郁巳	山手丈至

＜第 151 回農薬専門調査会幹事会専門参考人名簿＞

赤池昭紀	永田　清	松本清司
上路雅子		

要　約

メソイオン系殺虫剤である「トリフルメゾピリム」（CAS No. 1263133-33-0）について、各種資料を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績は、動物体内運命（ラット、ヤギ及びニワトリ）、植物体内運命（水稲）、作物等残留、亜急性毒性（ラット、マウス及びイヌ）、慢性毒性（イヌ）、慢性毒性/発がん性併合（ラット）、発がん性（マウス）、繁殖毒性（ラット）、発生毒性（ラット及びウサギ）、免疫毒性（ラット）、遺伝毒性等の試験成績である。

各種毒性試験結果から、トリフルメゾピリム投与による影響は、主に体重（増加抑制）、血液（貧血）及び肝臓（重量増加、T.Chol 増加等）に認められた。催奇形性、免疫毒性及び生体にとって問題となる遺伝毒性は認められなかった。雌のラットにおいて、血中プロラクチン濃度の低下が認められた。

ラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験において雌で子宮の扁平上皮癌、マウスを用いた 18 か月間発がん性試験において雄で肝細胞腺腫の発生頻度がそれぞれ増加したが、腫瘍の発生機序は遺伝毒性メカニズムによるものとは考え難く、評価に当たり閾値を設定することは可能であると考えられた。

ラットを用いた 2 世代繁殖試験において繁殖能に対する影響は認められなかったが、より高用量で実施された 1 世代繁殖試験において着床数及び産児数の減少並びに雌雄 F_1 動物の生殖機能発達の遅延傾向が認められた。

各種試験結果から、農産物及び畜産物中の暴露評価対象物質をトリフルメゾピリム（親化合物のみ）と設定した。

食品安全委員会は、各試験で得られた無毒性量のうち最小値は、ラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験の 3.23 mg/kg 体重/日であったことから、これを根拠として、安全係数 100 で除した 0.032 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量（ADI）と設定した。

また、トリフルメゾピリムの単回経口投与等により生ずる可能性のある毒性影響に対する無毒性量のうち最小値は、ラットを用いた急性神経毒性試験及び発生毒性試験の 100 mg/kg 体重/日であったことから、これを根拠として、安全係数 100 で除した 1 mg/kg 体重を急性参照用量（ARfD）と設定した。

Ⅰ．評価対象農薬の概要

１．用途

殺虫剤

２．有効成分の一般名

和名：トリフルメゾピリム

英名：triflumezopyrim（ISO 名）

３．化学名

IUPAC

和名：3,4-ジヒドロ-2,4-ジオキソ-1-(ピリミジン-5-イルメチル)-3-(α,α,α-トリフルオロ-*m*-トリル)-2*H*-ピリド[1,2-*a*]ピリミジン-1-イウム-3-イド

英名：3,4-dihydro-2,4-dioxo-1-(pyrimidin-5-ylmethyl)-3-(α,α,α-trifluoro-*m*-tolyl)-2*H*-pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-1-ium-3-ide

CAS（No. 1263133-33-0）

和名：2,4-ジオキソ-1-(5-ピリミジニルメチル)-3-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]-2*H*-ピリド[1,2-*a*]ピリミジニウム塩

英名：2,4-dioxo-1-(5-pyrimidinylmethyl)-3-[3-(trifluoromethyl)phenyl]-2*H*-pyrido[1,2-*a*]pyrimidinium inner salt

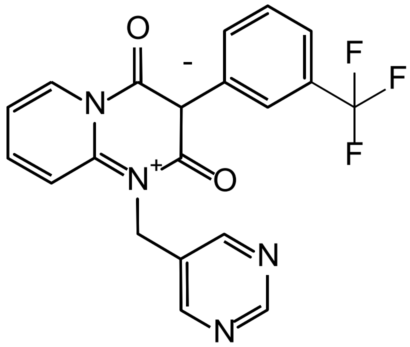
４．分子式

$C_{20}H_{13}F_3N_4O_2$

５．分子量

398.34

６．構造式



７．開発の経緯

トリフルメゾピリムは、米国デュポン社により開発された新規の構造を有するメソイオン系殺虫剤であり、ニコチン作動性アセチルコリン受容体に結合し、神経伝達を遮断することにより殺虫効果を示すと考えられている。

今回、農薬取締法に基づく農薬登録申請（新規：稲）がなされている。海外での登録はなされていない。

Ⅱ．安全性に係る試験の概要

各種運命試験［Ⅱ.1～4］は、トリフルメゾピリムのピリジン環の 2 及び 6 位の炭素を ^{14}C で標識したもの（以下「[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム」という。）、縮合ピリミジン環の 3 位の炭素を ^{14}C で標識したもの（以下「[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム」という。）及びメチレン部位の炭素を ^{14}C で標識したもの（以下「[met-^{14}C]トリフルメゾピリム」という。）を用いて実施された。放射能濃度及び代謝物濃度は、特に断りがない場合は比放射能（質量放射能）からトリフルメゾピリムの濃度（mg/kg 又はμg/g）に換算した値として示した。

代謝物/分解物略称及び検査値等略称は別紙 1 及び 2 に示されている。

1．動物体内運命試験

（1）ラット

① 吸収

a. 血中濃度推移

SD ラット（雌雄各 4 匹）に[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム、[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム若しくは[met-^{14}C]トリフルメゾピリムを 10 mg/kg 体重（以下[1.]において「低用量」という。）若しくは 200 mg/kg 体重（以下[1.]において「高用量」という。）で単回経口投与して、又は SD ラット（雌 4 匹）に[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリムを低用量で 14 日間反復経口投与（以下[1.]において「反復投与」という。）して、血中濃度推移について検討された。

単回投与群における血漿中薬物動態学的パラメータは表 1 に示されている。

いずれの投与群においてもトリフルメゾピリムは比較的速やかに吸収及び分布し、消失は二相性を示した。顕著な性差は認められなかった。

反復投与群においては血漿中の T_{max} は最終投与後 0.5 時間、C_{max} は 3.20 μg/g、$T_{1/2}$ は 48 時間と算出され、単回投与と同様の濃度推移を示した。（参照 2、3、4）

表 1　血漿中薬物動態学的パラメータ

標識体	[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム				[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム				[met-^{14}C]トリフルメゾピリム			
投与量 (mg/kg 体重)	10		200		10		200		10		200	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
T_{max}(hr)	0.38	0.44	2.5	2.0	0.81	0.31	2.5	2.3	0.50	0.44	2.3	1.8
C_{max}(μg/g)	3.86	5.34	28.8	33.0	2.83	3.79	26.6	34.5	3.21	4.49	24.7	31.8
$T_{1/2}$(hr)	47.2	54.0	52.8	44.7	45.7	44.7	50.7	44.5	35.0	47.9	13.6*	12.4*
$AUC_{0\text{-}\infty}$ (hr・μg/g)	17.1	14.9	367	352	14.5	12.7	289	355	9.57	13.0	295	315

*：投与後 96 時間の測定値により算出。

b. 吸収率

胆汁中排泄試験[1.(1)④b.]で得られた胆汁、尿、ケージ洗浄液、胃腸管及び

カーカス[1]の放射能の合計から、単回投与後 48 時間の吸収率は、低用量群では少なくとも雄で 77.4%、雌で 84.2%、高用量群では少なくとも雄で 54.4%、雌で 63.4%と算出された。（参照 2、3）

② 分布

SD ラット（一群雌雄各 4 匹）に[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム、[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム若しくは[met-^{14}C]トリフルメゾピリムを低用量若しくは高用量で単回経口投与し、又は血中濃度推移検討試験[1. (1)①a]で得られた反復投与群の臓器及び組織を用いて体内分布試験が実施された。

主要臓器及び組織中の残留放射能濃度は表 2 に示されている。

単回投与群では T_{max} 付近の残留放射能濃度は胃腸管、肝臓、腎臓、膀胱及び副腎で高く、高用量ではさらに下垂体及び甲状腺でも高濃度に認められた。残留放射能濃度には標識体及び性別による差は認められなかった。

反復投与群における最終投与 120 時間後の残留放射能濃度は、皮膚の 0.288 µg/g 及び肝臓の 0.117 µg/g を除いて 0.1 µg/g 未満であった。特定の臓器及び組織における蓄積性は認められなかった。（参照 2、3、4）

表 2　主要臓器及び組織中の残留放射能濃度（µg/g）

標識体	投与量	投与方法	性別	T_{max} 付近 [a]	168 時間後 [b]
[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム	10 mg/kg 体重	単回経口	雄	胃腸管(42.8)、膀胱(20.9)、肝臓(18.9)、腎臓(15.1)、副腎(12.9)、下垂体(9.46)、甲状腺(8.62)、肺(7.84)、膵臓(7.74)、心臓(5.99)、脾臓(4.96)、骨髄(4.64)、血漿(3.93)	肝臓(0.0352)、皮膚(0.0341)、骨髄(0.0188)、腎臓(0.0139)、赤血球(0.0071)、全血(0.0068)、血漿(0.0057)
			雌	胃腸管(47.0)、膀胱(21.8)、肝臓(17.1)、腎臓(14.6)、副腎(11.1)、肺(9.00)、甲状腺(8.71)、膵臓(7.88)、下垂体(7.86)、心臓(6.05)、脾臓(4.82)、骨髄(4.44)、卵巣(4.02)、子宮(3.81)、筋肉(3.79)、胸腺(3.78)、血漿(3.75)	肝臓(0.0152)、腎臓(0.0086)、胃腸管(0.0082)、肺(0.0045)、子宮(0.0043)、脾臓(0.0040)、全血(0.0034)、赤血球(0.0033)、皮膚(0.0033)、胸腺(0.0030)、膵臓(0.0029)、骨(0.0028)、血漿(0.0023)
	200 mg/kg		雄	胃腸管(541)、甲状腺(132)、肝臓(128)、副腎(125)、肺(103)、膀胱(92.7)、下垂体(89.3)、腎臓	肝臓(0.323)、腎臓(0.202)、赤血球(0.127)、全血(0.121)、肺(0.120)、血漿(0.0943)

[1] 組織及び臓器を取り除いた残渣のことをカーカスという（以下同じ。）。

標識体	投与量	投与方法	性別	T_{max}付近[a]	168 時間後[b]
	体重			(86.7)、膵臓(68.2)、心臓(51.6)、脾臓(43.8)、骨髄(42.7)、筋肉(35.1)、胸腺(34.8)、血漿(32.6)	
			雌	胃腸管(453)、副腎(155)、下垂体(154)、肝臓(142)、膀胱(131)、甲状腺(114)、肺(102)、腎臓(98.4)、膵臓(85.4)、心臓(79.7)、卵巣(62.3)、子宮(58.4)、脾臓(56.4)、骨髄(52.6)、胸腺(47.6)、血漿(46.9)	肝臓(0.320)、腎臓(0.220)、肺(0.152)、赤血球(0.118)、全血(0.0979)、皮膚(0.0916)、骨(0.0837)、胃腸管(0.0715)、脾臓(0.0713)、子宮(0.0688)、膵臓(0.0667)、血漿(0.0610)
[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム	10 mg/kg 体重		雄	胃腸管(39.1)、肝臓(16.6)、腎臓(14.1)、副腎(11.0)、膵臓(7.31)、甲状腺(6.70)、下垂体(6.49)、膀胱(6.45)、肺(6.39)、心臓(5.68)、脾臓(4.52)、骨髄(4.32)、血漿(3.85)	肝臓(0.0334)、皮膚(0.0083)、腎臓(0.0075)、血漿(0.0043)
			雌	胃腸管(35.7)、肝臓(18.8)、腎臓(17.2)、副腎(14.2)、膵臓(10.0)、下垂体(9.22)、膀胱(8.93)、甲状腺(8.03)、肺(7.59)、心臓(7.53)、脾臓(6.29)、卵巣(5.71)、骨髄(5.57)、血漿(5.34)	肝臓(0.0137)、腎臓(0.0056)、筋肉(0.0034)、赤血球(0.0034)、皮膚(0.0028)、全血(0.0027)、胃腸管(0.0026)、骨(0.0024)、肺(0.0018)、血漿(0.0018)
	200 mg/kg 体重		雄	胃腸管(474)、下垂体(210)、副腎(161)、膀胱(145)、肝臓(139)、甲状腺(120)、腎臓(88.6)、膵臓(71.7)、心臓(62.0)、肺(59.0)、脾臓(47.3)、胸腺(42.6)、骨髄(42.2)、筋肉(41.4)、血漿(38.6)	肝臓(0.422)、皮膚(0.257)、腎臓(0.111)、骨(0.0848)、血漿(0.0848)
			雌	胃腸管(376)、下垂体(183)、副腎(155)、甲状腺(139)、肝臓(131)、腎臓(90.9)、膵臓(77.7)、膀胱(69.3)、肺(69.1)、心臓(60.0)、卵巣(52.7)、脾臓(52.4)、骨髄(46.6)、筋肉(45.5)、胸腺(45.3)、血漿(41.8)	肝臓(0.284)、腎臓(0.118)、赤血球(0.105)、皮膚(0.0932)、全血(0.0802)、肺(0.0651)、骨(0.0572)、血漿(0.0516)
[met-^{14}C]トリフルメゾピリム	10 mg/kg 体重		雄	胃腸管(48.6)、膀胱(20.4)、肝臓(19.4)、腎臓(16.5)、副腎(13.9)、甲状腺(10.4)、膵臓(8.75)、下垂体(8.27)、心臓(6.60)、肺(6.50)、脾臓(5.54)、骨髄(5.00)、血漿(4.41)	肝臓(0.0328)、腎臓(0.0101)、胸腺(0.0043)、肺(0.0042)、骨(0.0032)、赤血球(0.0030)、胃腸管(0.0029)、皮膚(0.0028)、心臓(0.0024)、脾臓(0.0022)、膵臓(0.0018)、筋肉(0.0015)、精巣(0.0011)、血漿(0.0008)

標識体	投与量	投与方法	性別	T_{max}付近[a]	168 時間後[b]
			雌	胃腸管(42.6)、肝臓(18.6)、副腎(17.1)、腎臓(15.9)、膀胱(11.4)、膵臓(9.45)、下垂体(8.17)、甲状腺(7.68)、肺(7.08)、心臓(7.06)、脾臓(5.81)、卵巣(5.61)、骨髄(5.14)、血漿(4.82)	肝臓(0.0128)、腎臓(0.0061)、肺(0.0036)、皮膚(0.0035)、赤血球(0.0028)、胃腸管(0.0027)、子宮(0.0027)、筋肉(0.0011)、膵臓(0.0010)、血漿(0.0009)
	200 mg/kg 体重		雄	胃腸管(487)、膀胱(206)、下垂体(130)、肝臓(115)、副腎(93.9)、肺(87.6)、腎臓(85.7)、甲状腺(62.7)、膵臓(53.3)、心臓(44.9)、脾臓(37.5)、骨髄(31.9)、胸腺(31.6)、筋肉(30.8)、皮膚(29.2)、血漿(27.7)	肝臓(0.259)、皮膚(0.236)、腎臓(0.156)、肺(0.0696)、赤血球(0.0512)、全血(0.0397)、胃腸管(0.0366)、膵臓(0.0309)、筋肉(0.0170)、血漿(<LOQ)
			雌	胃腸管(360)、下垂体(150)、甲状腺(126)、肝臓(116)、副腎(114)、腎臓(91.7)、膵臓(68.2)、膀胱(67.1)、肺(66.1)、心臓(56.4)、骨髄(49.2)、胸腺(46.2)、脾臓(44.4)、卵巣(43.7)、子宮(39.0)、筋肉(37.0)、赤血球(33.3)、血漿(32.9)	肝臓(0.209)、腎臓(0.151)、肺(0.111)、皮膚(0.0968)、赤血球(0.0635)、骨(0.0509)、全血(0.0477)、胃腸管(0.0377)、血漿(<LOQ)
[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム	10 mg/kg 体重/日	反復経口	雌		皮膚(0.288)、肝臓(0.117)、腎臓(0.0925)、赤血球(0.0742)、全血(0.0547)、肺(0.0516)、胃腸管(0.0437)、脾臓(0.0381)、血漿(0.0337)

<LOQ：定量限界未満
a：10 mg/kg 体重：投与 30 分後、200 mg/kg 体重：投与 2 時間後
b：[met-^{14}C]トリフルメゾピリム 10 mg/kg 体重投与群は投与 155 時間後、[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム 10 mg/kg 体重/日反復投与群では最終投与 120 時間後

③ 代謝

尿及び糞中排泄試験[1. (1) ④a.]で得られた尿及び糞並びに血中濃度推移検討試験[1. (1) ①a.]で得られた血漿を試料として、代謝物同定・定量試験が実施された。

尿、糞及び血漿中における代謝物は表 3 に示されている。

尿、糞及び血漿中放射能の大部分は未変化のトリフルメゾピリムであった。尿中では代謝物として A、C、J、P-OH 等が認められ、最大で 3.35%TAR であった。糞中では代謝物 J が最大 27.3%TAR 認められたほか、A、F、Eg 等が最大で 1.90%TAR 検出された。血漿中では代謝物 A、C、D 等が検出されたが、最大で 1.20%TAR であった。

反復投与群においても、尿、糞及び血漿中放射能の大部分は未変化のトリフルメゾピリムであり、尿中では代謝物 C、J、L 及び P-OH、糞中では代謝物 A、J 及び L、血漿中では代謝物 D が認められ、糞中の代謝物 J（最大 20.4%TAR）を除いていずれも 5.28%TAR 以下であった。

代謝物のプロファイルには、標識体、投与量及び性別による大きな差は認められなかった。

トリフルメゾピリムのラットにおける主要代謝経路は、①ピリミジン環窒素の酸化による代謝物 C の生成、②トリフルオロメチルフェニル環の水酸化による代謝物 J の生成並びに代謝物 J の加水分解及び脱フッ素による L の生成、③ジオキソピリミジン環が開裂した代謝物 A の生成、④メチルピリミジン基の脱離による代謝物 D の生成が考えられた。（参照 2、3、4）

表 3　尿、糞及び血漿中における代謝物（%TAR）

標識体	投与量	投与方法	性別	試料	採取時間	トリフルメゾピリム	代謝物
[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム	10 mg/kg 体重	単回経口	雄	尿	0-24	35.1	C(2.15)、J(1.02)、P-OH(0.559)、A(0.365)、D/E-OH[a](0.203)、Eg(0.150)
				糞	0-48	18.0	J(19.6)、A(1.09)、F(0.507)、Eg(0.465)、F-OH(0.287)、P-OH(0.278)、C(0.270)、D/E-OHa(0.204)、K(0.187)、L(0.162)
				血漿	2	2.77	D(0.285)、C(0.075)、P-OH(0.056)、F(0.040)
			雌	尿	0-24	40.8	J(2.20)、C(1.88)、P-OH(0.223)、D/E-OH[a](0.146)
				糞	0-48	17.9	J(20.1)、A(0.888)、Eg(0.555)、F(0.342)、P-OH(0.193)
				血漿	2	4.00	D(0.075)、L(0.036)、A(0.025)、P-OH(0.022)、Kg(0.017)
	200 mg/kg 体重		雄	尿	0-48	20.2	C(1.69)、J(0.696)、P-OH(0.397)、Jg(0.397)、A(0.359)、D/E-OH[b] (0.174)、F(0.073)
				糞	0-48	33.4	J(24.3)、A(1.65)、F(0.398)、Eg(0.355)、C(0.226)、L(0.140)
				血漿	2	34.7	ND
			雌	尿	0-48	25.9	C(1.50)、J(1.13)、A(0.467)、P-OH(0.458)
				糞	0-48	34.6	J(14.2)、A(1.14)、Eg(0.397)、F(0.304)、P-OH(0.223)、F-OH(0.115)
				血漿	2	40.1	P-OH(0.438)、C(0.356)

標識体	投与量	投与方法	性別	試料	採取時間	トリフルメゾピリム	代謝物
[fpm-14C]トリフルメゾピリム	10 mg/kg体重		雄	尿	0-24	37.8	C(2.76)、J(1.39)、P-OH(0.909)、Eg(0.645)、H(0.645)、D/E-OH[a] (0.148)
				糞	0-48	15.4	J(24.9)、Eg(0.766)、P-OH(0.676)、H(0.621)
				血漿	2	2.84	D(0.119)、P-OH(0.063)、C(0.034)、E(0.022)
			雌	尿	0-24	38.1	C(3.35)、J(2.00)、P-OH(0.737)、Eg(0.334)、H(0.312)
				糞	0-48	13.3	J(19.9)、P-OH(1.02)、F(0.501)、H(0.392)、L(0.308)、Eg(0.192)
				血漿	2	3.55	D(0.051)、C(0.027)
	200 mg/kg体重		雄	尿	0-48	21.3	C(3.13)、J(0.769)、H(0.746)、P-OH(0.688)、Eg(0.682)
				糞	0-48	37.1	J(24.7)、Eg(0.496)、H(0.486)、P-OH(0.347)、F(0.299)、K(0.061)
				血漿			
			雌	尿	0-48	26.0	C(3.07)、J(1.68)、P-OH(1.29)、Eg(0.575)、H(0.353)、
				糞	0-48	33.4	J(20.5)、F(0.511)、H(0.450)、P-OH(0.394)、Eg(0.339)、F-OH(0.247)、C(0.201)、L(0.067)
				血漿	2	45.5	D(1.20)
[met-14C]トリフルメゾピリム	10 mg/kg体重		雄	尿	0-24	30.5	C(2.32)、A(1.49)、J(1.12)、P-OH(0.666)、I(0.532)、Jg(0.257)
				糞	0-48	12.4	J(27.3)、A(1.90)、F(0.667)、F-OH(0.287)、K(0.246)
				血漿	2	3.04	C(0.041)、P-OH(0.032)、A(0.20)
			雌	尿	0-24	38.5	C(1.93)、J(1.93)、P-OH(0.523)、A(0.458)、I(0.277)
				糞	0-48	16.5	J(19.8)、A(1.28)、F(0.290)、L(0.262)、P-OH(0.171)
				血漿	2	4.47	P-OH(0.031)、L(0.022)、C(0.016)
	200 mg/kg体重		雄	尿	0-48	20.8	C(1.85)、P-OH(0.858)、J(0.850)、I(0.576)、Jg(0.384)、A(0.245)
				糞	0-72	25.1	J(26.0)、A(1.50)、F(0.160)、C(0.152)
				血漿	2	34.1	ND
			雌	尿	0-48	26.2	J(1.51)、C(0.938)、A(0.680)、P-OH(0.642)、I(0.389)、F(0.123)

標識体	投与量	投与方法	性別	試料	採取時間	トリフルメゾピリム	代謝物
				糞	0-48	36.9	J(19.1)、A(1.38)、F(0.204)、P-OH(0.183)
				血漿	2	39.4	ND
[pyr-14C]トリフルメゾピリム	10 mg/kg 体重	反復経口	雌	尿	0-24	34.3	J(1.63)、C(1.01)
					144-168	35.6	J(1.39)、C(0.758)、P-OH(0.343)
					312-336	35.8	C(1.17)、J(0.772)、L(0.634)
				糞	0-24	18.1	J(20.4)、A(0.998)
					144-168	24.0	J(19.6)、A(1.01)、L(0.43)
					312-336	21.9	J(18.6)、L(0.746)、A(0.734)
				血漿 [b]	313	94.7	D(5.28)

ND：検出されず　/：分析せず
P-OH 及び Eg はそれぞれ 4 種及び 2 種異性体の合計値。
[a]：ラジオクロマトグラム上で 1 ピークとして定量され、LC/MS で分離された。
[b]：血漿試料中における割合（%TRR）

④　排泄

a.　尿及び糞中排泄

SD ラット（一群雌雄各 4 匹）に[pyr-14C]トリフルメゾピリム、[fpm-14C]トリフルメゾピリム若しくは[met-14C]トリフルメゾピリムを低用量若しくは高用量で単回経口投与して、又は血中濃度推移検討試験[1. (1)①a.]の反復投与群で得られた尿及び糞を用いて排泄試験が実施された。なお、SD ラット（雌雄各 1 匹）を用いて低用量で実施された予備試験において、呼気中に検出された放射能はいずれの標識体においても僅か（0.07%TAR 以下）であったことから、本試験では呼気中への排泄は検討されなかった。

単回投与後 168 時間及び反復投与の最終投与後 120 時間（反復投与）の尿及び糞中排泄率は表 4 に示されている。

単回投与群においては投与放射能の大部分が投与後 24 時間までに尿（17%TAR～46%TAR）及び糞（26%TAR～55%TAR）中に排泄され、投与後 48 時間ではほぼ完全に排泄された。反復投与群においては糞中排泄が尿より僅かに多く、投与後 120 時間では 38.7%TAR が尿中に、46.4%TAR が糞中に排泄された。

低用量においては尿中に、高用量においては糞中に排泄される割合が多い傾向が認められたが、標識体及び性別による差は認められなかった。 高用量で糞中排泄率が高くなるのは、吸収率の低下が一因と考えられた。（参照 2、3、4）

表 4　尿及び糞中排泄率（%TAR）

投与方法 (採取時間)	標識体	投与量 (mg/kg 体重)	性別	尿	ケージ洗浄液	糞	体内残留
単回経口 (投与後 168 時間)	[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム	10	雄	41.7	0.966	48.6	0.586
			雌	47.8	1.13	45.0	0.553
		200	雄	25.0	3.21	64.1	0.415
			雌	30.6	3.49	56.4	0.276
	[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム	10	雄	46.1	0.678	48.3	0.581
			雌	47.1	4.65	43.3	0.368
		200	雄	28.7	2.49	68.8	0.357
			雌	35.3	3.73	62.0	0.260
	[met-^{14}C]トリフルメゾピリム	10*	雄	39.9	0.861	52.6	0.486
			雌	46.3	1.49	47.7	0.364
		200	雄	28.3	1.84	58.4	0.255
			雌	32.3	1.13	62.0	0.116
反復経口 (最終投与後 120 時間)	[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム	10	雌	38.7	4.97	46.4	0.470

*：投与後 155 時間に試料を採取した。

b.　胆汁中排泄

胆管カニューレを挿入した SD ラット（一群雌雄各 4 匹）に[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム、[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム又は[met-^{14}C]トリフルメゾピリムを低用量若しくは高用量で単回経口投与して、胆汁中排泄試験が実施された。

投与後 48 時間の尿、糞及び胆汁中排泄率は、表 5 に示されている。

投与放射能は低用量群及び高用量群で尿中へは 48.5%TAR～68.0%TAR 及び 33.8%TAR～46.8%TAR、糞中へは 8.85%TAR～12.4%TAR 及び 22.9%TAR～38.2%TAR 並びに胆汁へは 16.1%TAR～31.3%TAR 及び 17.8%TAR～30.6%TAR が排泄されたが、いずれの場合も尿中排泄に比べ胆汁中への排泄率は低かった。（参照 2、3）

表 5　投与後 48 時間の尿、糞及び胆汁中排泄率（%TAR）

標識体	投与量 (mg/kg 体重)	性別	尿	ケージ 洗浄液	糞	胆汁	胃腸管 [a]	カー カス	全血
[pyr-^{14}C] トリフルメ ゾピリム	10	雄	54.0	1.50	10.3	31.3	0.00196	0.405	0.00457
		雌	68.0	1.02	12.4	16.1	0.00233	0.542	0.00228
	200	雄	33.8	3.82	34.6	23.1	0.0291	0.588	0.00686
		雌	39.7	2.38	22.9	25.5	0.191	0.932	0.00834
[fpm-^{14}C] トリフルメ ゾピリム	10	雄	48.5	1.55	10.6	26.7	0.00353	0.671	0.00483
		雌	60.7	1.17	11.6	22.0	0.00286	0.287	0.00223
	200	雄	34.1	1.79	38.2	17.8	0.0264	0.711	0.00887
		雌	40.7	1.89	31.1	20.6	0.00323	0.240	0.00263
[met-^{14}C] トリフルメ ゾピリム	10	雄	53.0	0.982	8.85	31.2	0.00170	0.561	0.00422
		雌	67.0	0.998	10.6	18.0	0.00250	0.904	0.00526
	200	雄 [b]	46.8	1.56	34.1	25.0	0.00462	0.530	0.00511
		雌	43.6	1.65	29.2	30.6	0.00412	0.265	0.00776

[a]：内容物は含まない。
[b]：2 匹の平均

（２）ヤギ

泌乳ヤギ（ザーネン種/トッケンブルグ種交配種、一群雌 1 頭）に、[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム、[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム又は[met-^{14}C]トリフルメゾピリムをそれぞれ 20.4、22.0 又は 24.8 mg/kg 飼料の用量で 1 日 1 回 7 日間カプセル経口投与し、尿及び糞を 1 日 1 回、乳汁を午前及び午後に採取し、最終投与 6 時間後にと殺し、臓器及び組織を採取して、動物体内運命試験が実施された。

試料中残留放射能は表 6 に、試料中代謝物は表 7 にそれぞれ示されている。

残留放射能濃度は腎臓及び肝臓で高く、それぞれ 0.581～0.932 μg/g、0.484～0.813 μg/g であり、脂肪組織の特異的部位への分布は認められなかった。乳汁では 0.281～0.604 μg/g であった。

表 6　試料中残留放射能

試料	[pyr-^{14}C] トリフルメゾピリム		[fpm-^{14}C] トリフルメゾピリム		[met-^{14}C] トリフルメゾピリム	
	µg/g	%TAR	µg/g	%TAR	µg/g	%TAR
尿	/	28.6	/	19.4	/	29.4
糞	/	35.9	/	52.6	/	50.2
ケージ洗浄液	/	3.03	/	2.53	/	0.96
乳汁*	0.360	1.15	0.281	1.94	0.604	2.32
肝臓	0.484	0.24	0.538	0.23	0.813	0.35
腎臓	0.889	0.07	0.581	0.03	0.932	0.06
筋肉	0.041	0.25	0.024	0.12	0.039	0.23
大網脂肪	0.013	<0.1	0.007	<0.1	0.011	<0.1
腎脂肪	0.044	<0.1	0.009	<0.1	0.016	<0.1
皮下脂肪	0.020	<0.1	0.015	<0.1	0.015	<0.1

/：該当なし　　*：4～6 日に採取した乳汁を混合した。

いずれの標識体においても、試料中の主な成分は未変化のトリフルメゾピリムであった。可食部において、10%TRR を超える代謝物として J（乳汁で最大 17.0%TRR）及び Jg（肝臓で最大 27.0%TRR、腎臓で最大 14.5%TRR）が認められた。ほかに 10%TRR を超える代謝物は認められなかった。胆汁においては、未変化のトリフルメゾピリムのほか、代謝物 C、J、Jg 及び Js が検出されたが、いずれも 0.05%TAR 未満であった。

トリフルメゾピリムのヤギにおける主要代謝経路は、トリフルオロメチルフェニル環の水酸化による代謝物 J の生成及び代謝物 J の抱合体の生成であると考えられた。また、ピリミジン環窒素の酸化による代謝物 C の生成も認められた。（参照 2、5）

表 7　試料中代謝物（%TRR）

標識体	試料	トリフルメゾピリム	代謝物
[pyr-^{14}C] トリフルメゾピリム	乳汁 [a]	82.8	J(16.0)
	肝臓	54.1	Jg(10.3)、J(9.5)*、Js(8.0)、C(5.5)、M(1.5)**、未同定(5.8)[c]**
	腎臓	82.6	J(6.1)、Jg(4.5)、C(1.5)、Js(1.3)、未同定(1.8)[d]
	筋肉	78.3	J(4.9)
	大網膜脂肪	82.8	J(1.7)
	腎周囲脂肪	69.6	J(7.8)、C(2.5)、D(0.9)
	皮下脂肪	82.2	J(5.7)、C(2.5)
	尿 [b]	54.0	Jg/L(24.8)[e]、J(7.0)、C(4.9)、M(2.6)、未同定(5.7)[c]
	糞 [b]	47.7	J(38.1)、L(7.0)

標識体	試料	トリフルメゾピリム	代謝物
[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム	乳汁[a]	82.4	J(17.0)
	肝臓	36.8*	Jg(27.0)、Js(8.3)、J(5.0)、C(3.4)、M(4.1)*、未同定(9.4)[f]*
	腎臓	71.7	Jg(14.5)、J(6.6)、C(2.7)、Js(2.0)
	筋肉	63.7	J(7.3)、未同定(20.4)[d]
	大網膜脂肪	88.1	ND
	腎周囲脂肪	82.0	J(6.2)
	皮下脂肪	76.8	J(7.2)
	尿[b]	34.6	Jg/L(35.6)[e]、C(8.0)、J(7.8)、M(3.3)、未同定(9.5)[d]
	糞[b]	28.1	J(49.2)、L(7.7)
[met-^{14}C]トリフルメゾピリム	乳汁[a]	81.1	J(11.6)、C(3.9)
	肝臓	45.9*	Jg(13.0)、J(4.7)、Js(4.1)、C(4.0)*、M(2.2)*、未同定(16.0)[f]*
	腎臓	69.5	J(9.8)、Jg(5.6)、C(2.2)、B(1.0)、Js(0.8)、未同定(6.9)[d]
	筋肉	88.7	J(3.9)
	大網膜脂肪	92.6	J(2.2)
	腎周囲脂肪	84.2	J(8.3)
	皮下脂肪	82.3	J(4.8)、C(1.8)
	尿[b]	45.1	Jg/L(26.9)[e]、J(8.6)、C(8.1)、M(3.1)、未同定(5.0)[c]
	糞[b]	26.0	J(44.8)、L(4.5)、C(1.1)、未同定(1.4)

ND：検出せず
*：抽出残渣のプロテアーゼ処理により遊離した量を含む。
**：抽出残渣のプロテアーゼ処理により遊離。
a：投与4～6日に採取した試料を混合した。
b：投与1～7日に採取した試料を混合した。
c：2種の合計
d：3種の合計
e：HPLCで分離しなかったが、TLCにより確認した。
f：4種以上の合計

（3）ニワトリ

産卵鶏（アビアンハイライン、一群雌5羽）に、[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム、[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム又は[met-^{14}C]トリフルメゾピリムをそれぞれ14.9、13.8又は14.3 mg/kg飼料の用量で1日1回14日間カプセル経口投与し、卵を1日2回、排泄物を1日1回採取し、最終投与6時間後にと殺し、臓器及び組織を採取して、動物体内運命試験が実施された。

試料中残留放射能は表8に、試料中代謝物は表9にそれぞれ示されている。

残留放射能濃度はいずれの標識体においても肝臓で最も高く、0.284～0.380 μg/gであった。

表 8　試料中残留放射能

試料	[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム		[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム		[met-^{14}C]トリフルメゾピリム	
	μg/g	%TAR	μg/g	%TAR	μg/g	%TAR
排泄物		83.3		89.5		83.7
ケージ洗浄液		4.15		5.92		4.69
全卵*	0.025	0.07	0.025	0.07	0.025	0.09
肝臓	0.284	0.05	0.304	0.05	0.380	0.06
筋肉	0.005	<0.01	0.006	<0.01	0.012	<0.01
腹部脂肪	0.014	<0.01	0.004	<0.01	0.008	<0.01

*：9～13 日混合試料の濃度

いずれの標識体においても、試料中の主な成分は未変化のトリフルメゾピリムであった。可食部において、10%TRR を超える代謝物として C（肝臓で最大 14.0%TRR）及び J（筋肉で最大 21.8%TRR、腹部脂肪で最大 25.1%TRR）が認められた。

トリフルメゾピリムのニワトリにおける主要代謝経路は、①ピリミジン環窒素の酸化による代謝物 C の生成、②トリフルオロメチルフェニル環の水酸化による代謝物 J の生成であると考えられた。また、メチルピリミジン基の脱離による代謝物 D の生成及びピリジン環の転移による代謝物 F の生成が考えられた。（参照 2、6）

表 9　試料中代謝物（%TRR）

標識体	試料	トリフルメゾピリム	代謝物
[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム	全卵[a]	47.6	C(4.0)、J(4.0)、D(3.2)、F(2.6)、未同定(17.8、Jg (11.6)*を含む)[c]
	肝臓	50.3**	C (10.2) **、J(2.9)、D(1.4)、未同定(24.1**、Js (1.2)*を含む)[c]
	筋肉	ND	未同定(30.6)[c]
	腹部脂肪	ND	J(11.8)、未同定(23.4)
	排泄物[b]	54.9	C (32.2)、J(8.8)
[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム	全卵[a]	65.2	J(3.5)、D(2.4)、F(1.9)、未同定 (19.0、Jg (7.0)*を含む)[c]
	肝臓	51.0	C(13.3)、J(2.9)、未同定(22.3**、Jg (1.1)*及び Js(1.4)*を含む)[c]
	筋肉	2.4	J(1.7)、未同定(26.3)[c]
	腹部脂肪	ND	J(25.1)、未同定(46.0)
	排泄物[b]	45.0	C(41.2)、J(10.3)
[met-^{14}C]トリフルメゾピリム	全卵[a]	54.8	J(3.0)、F(2.0)、C(0.8)、未同定 (19.2、Jg (6.1)*及び Js(0.6)*を含む)[c]
	肝臓	52.0	C(14.0)、J(2.9)、未同定(21.2**、Jg(0.4)*及び Js(0.9)*を含む)[c]
	筋肉	ND	J(21.8)、未同定(23.5)[d]
	腹部脂肪	ND	J(17.2)、未同定(21.8)
	排泄物[b]	53.3	C(32.7)、J(5.9)、F(3.9)

ND：検出せず
*：HPLC 保持時間がヤギ[1. (2)]における Jg 又は Js と一致した。
**：抽出残渣のプロテアーゼ処理により遊離した量を含む。
[a]：投与 9～13 日に採取した試料を混合した。
[b]：投与 1～14 日に採取した試料を混合した。
[c]：4 種以上の合計
[d]：3 種の合計

2．植物体内運命試験

砂壌土を充填したコンテナで土耕栽培した水稲（品種：Gleva）に、フロアブル製剤に調製した[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム、[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム若しくは[met-^{14}C]トリフルメゾピリムを、播種 29 日後に 300 g ai/ha の用量で 1 回土壌処理（以下[2.]において「土壌処理区」という。）し、処理 2 日後に湛水した。処理 51 日後に未成熟茎葉部及び根部を、処理 119 日後に稲わら、もみ殻、玄米及び根部を採取して、又は播種 57 及び 127 日後に 35 g ai/ha の用量で 2 回茎葉処理（以下[2.]において「茎葉処理区」という。）し、1 回目処理 23 日後に未成熟茎葉部及び根部を、2 回目処理 21 日後に稲わら、もみ殻、玄米及び根部を採取して、植物体内運命試験が実施された。

土壌処理区及び茎葉処理区における各試料中の残留放射能分布及び代謝物は、表10 及び 11 にそれぞれ示されている。土壌処理区における玄米の抽出液中の残留放射能量は定量限界未満であったため、代謝物の同定は実施されなかった。

各試料中の放射能分布に標識体による違いは認められず、未成熟試料（茎葉部及び根部）においては土壌処理区では主に根部に、茎葉処理区では主に茎葉部に分布し、成熟試料（稲わら、もみ殻、玄米及び根部）においては両処理区とも大部分が稲わら及びもみ殻に分布していたが、土壌処理区においては根部にも多くの放射能が認められた。可食部である玄米中の残留放射能濃度は、いずれの試料においても0.1 mg/kg 未満であった。

いずれの試料においても、残留放射能の主要成分は未変化のトリフルメゾピリムであった。[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリムの茎葉処理区において未成熟茎葉及び稲わらに代謝物Lがそれぞれ16.4%TRR 及び14.0%TRR、玄米に代謝物H が12.3%TRR認められたほかに 10%TRR を超える代謝物は認められなかった。

トリフルメゾピリムの水稲における代謝経路は、①トリフルオロメチルフェニル環 4 位又は 6 位の水酸化による代謝物 J 又は K の生成とそれに続くそれぞれの酸化的脱フッ素化による代謝物 L 又は M の生成、②酸化的加水分解に起因するジオキソピリミジン環の開裂による代謝物 A 及び H の生成並びにピリジン環の転移による代謝物 F の生成、③メチルピリミジン基の脱離による代謝物 B 及び D の生成、④ピリミジン環窒素の酸化による代謝物 C の生成であると考えられた。（参照 2、7）

表 10　土壌処理区各試料中の残留放射能分布及び代謝物（%TRR）

標識体	採取時期	試料	総残留放射能(mg/kg)	抽出画分 トリフルメゾピリム	抽出画分 代謝物	抽出残渣
[pyr-14C]トリフルメゾピリム	処理後51日	茎葉	0.066	24.2	A(3.3)、F(1.9)、未同定(10.7)[a]	48.0
		根部[b]	0.118	/		
	処理後119日	稲わら	0.114	9.1	A(3.1)、D(1.6)、L(1.4)、C(1.1)、J(1.0)、未同定(17.7)[a]	53.0
		もみ殻	0.093	6.0	D(1.4)、F(1.1)、A(1.0)、L(0.4)、C(0.3)、J(0.3)、未同定(12.3)[a]	68.7
		玄米	0.013	<LOQ		100
		根部[b]	0.087	/		
[fpm-14C]トリフルメゾピリム	処理後51日	茎葉	0.049	13.5	D(6.6)、L(1.8)、F(1.4)、J(1.3)、未同定(17.2)[a]	46.6
		根部[b]	0.091	/		
	処理後119日	稲わら	0.050	14.1	L(4.6)、H(2.2)、D(2.1)、C(1.5)、F(1.1)、未同定(12.8)[a]	44.0
		もみ殻	0.031	7.3	L(3.5)、D(2.4)、F(0.8)、未同定(12.1)[a]	61.1
		玄米[b]	0.006	/		
		根部[b]	0.074	/		
[met-14C]トリフルメゾピリム	処理後51日	茎葉	0.062	18.1	A(2.9)、F(2.4)、K(1.4)、未同定(9.1)[a]	46.5
		根部[b]	0.114	/		
	処理後119日	稲わら	0.093	8.1	A(2.4)、C(1.0)、J(0.8)、F(0.5)、K(0.3)、未同定(19.8)[a]	47.8
		もみ殻	0.045	4.8	F(0.8)、L(0.3)、未同定(7.5)[a]	74.0
		玄米	0.009	<LOQ		100
		根部[b]	0.079	/		

<LOQ：定量限界未満　　/：分析せず
[a]：複数の代謝物を含み、各成分はいずれも 10%TRR 未満
[b]：燃焼法による測定

表 11 茎葉処理区各試料中の残留放射能分布及び代謝物（%TRR）

標識体	採取時期	試料	総残留放射能(mg/kg)	抽出画分		抽出残渣
				トリフルメゾピリム	代謝物	
[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム	1回目処理後23日	茎葉[a]	0.129	21.5	A(9.3)、F(3.7)、K(1.9)、J(0.9)、C(0.3)、L(0.1)、M(0.1)、未同定(23.5)[b]	30.9
		根部[d]	0.024	/	/	/
	2回目処理後21日	稲わら	0.338	18.9	F(2.9)、D(1.7)、J(1.1)、M(0.7)、C(0.4)、未同定(28.8)[b]	9.9
		もみ殻	0.940	17.2	A(4.1)、F(1.6)、D(1.3)、J(0.4)、M(0.3)、C(0.2)、未同定(9.8)[b]	57.5
		玄米	0.065	27.7	F(2.4)、D(1.8)、C(0.2)、M(0.2)、未同定(18.7)[b]	36.3
		根部[d]	0.100	/	/	/
[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム	1回目処理後23日	茎葉[a]	0.096	18.2	L(16.4)、K(5.6)、F(3.3)、C(2.2)、J(2.2)、未同定(29.8)[b]	20.6
		根部[d]	0.021	/	/	/
	2回目処理後21日	稲わら	0.225	19.5	L(14.0)、H(3.6)、F(3.1)、K(1.7)、C(1.5)、D(1.5)、M(0.1)、未同定(25.3)[b]	25.2
		もみ殻	0.594	24.6	H(5.7)、L(3.8)、D(2.1)、F(2.1)、K(0.8)、C(0.6)、J(0.2)、未同定(13.1)[b]	47.0
		玄米	0.076	21.8	H(12.3)、L(3.3)、F(1.9)、C(0.9)、K(0.9)、D(0.8)、J(0.5)、未同定(14.3)[b]	19.9
		根部[d]	0.061	/	/	/
[met-^{14}C]トリフルメゾピリム	1回目処理後23日	茎葉[a]	0.124	17.6	A(7.7)、F(3.6)、L(3.0)、K(2.3)、J(0.4)、B(0.3)、未同定(35.2)[c]	23.9
		根部[d]	0.032	/	/	/
	2回目処理後21日	稲わら	0.331	20.9	A(8.1)、F(2.0)、J(1.0)、C(0.9)、K(0.9)、M(0.9)、未同定(30.9)[b]	7.5
		もみ殻	0.763	19.9	A(3.9)、F(2.0)、M(0.5)、C(0.4)、K(0.3)、未同定(14.2)[b]	53.1
		玄米	0.043	22.2	A(2.8)、F(2.3)、K(0.6)、J(0.3)、未同定(9.6)[b]	27.1
		根部[d]	0.060	/	/	/

/：分析せず
a：表面洗浄液及び抽出画分の合計値
b：複数の代謝物を含み、各成分はいずれも 10%TRR 未満
c：複数の代謝物を含み、各成分はいずれも 11.1%TRR 以下
d：燃焼法による測定

３．土壌中運命試験

（１）好気的湛水土壌中運命試験

壌土（埼玉）を好気的湛水条件（水深 1 cm）で 25±2℃、暗条件下で 18～19 日間プレインキュベートした後、[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム又は[met-^{14}C]トリフルメゾピリムを 0.2 mg/kg 乾土となるように処理し、最長 180 日間インキュベートして、好気的湛水土壌中運命試験が実施された。また、滅菌土壌区が設定された。

試料中の残留放射能分布及び分解物は表 12 に示されている。

非滅菌土壌では、水層中放射能は処理当日の 12.1%TAR～16.0%TAR から徐々に減少し、180 日後には 1.85%TAR～1.91%TAR となった。一方、土壌層中放射能は、処理当日の 74.3%TAR～83.6%TAR から処理 180 日後には 48.6%TAR～49.0%TAR まで減少した。

水層及び土壌層を合わせた系全体における主要成分は未変化のトリフルメゾピリムで、処理当日の 88.5%TAR～94.4%TAR から処理 30 日後には 51.3%TAR～53.3%TAR まで減少したが、その後の減衰は穏やかで、処理 180 日後でも 44.7%TAR～45.7%TAR が認められた。分解物は、一部の試料で B 及び D が、僅かに認められた。

揮発性成分として、$^{14}CO_2$が処理 180 日後で 3.38%TAR～3.83%TAR 検出された。揮発性有機物は認められなかった。

抽出残渣中放射能は、処理 180 日後に 45.9%TAR～51.9%TAR 認められた。

滅菌土壌では、水層中及び土壌層中放射能は処理当日の 2.18%TAR～12.4%TAR 及び 81.9%TAR～94.1%TAR から処理 180 日後には 2.74%TAR～3.22%TAR 及び 77.6%TAR～78.8%TAR となった。系全体における主要成分は未変化のトリフルメゾピリムであり、処理当日の 91.5%TAR～95.0%TAR から処理 180 日後には 77.1%TAR～78.8%TAR となり、ほかに非滅菌土壌と同様に分解物 B 及び D が僅かに認められた。抽出残渣中放射能は処理 180 日後で 19.4%TAR～24.8%TAR であった。

好気的湛水土壌におけるトリフルメゾピリムの推定半減期は、非滅菌土壌で 184 日、滅菌土壌で 740 日と算出された。（参照 2、8）

表 12　試料中の残留放射能分布及び分解物（%TAR）

標識体	試験区	処理後日数	試料	抽出性					$^{14}CO_2$	抽出残渣
					トリフルメゾピリム	B	D	未同定分解物		
[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム	非滅菌	0	水層	16.0	15.4	/	ND	0.65	－	6.53
			土壌層	74.3	73.2	/	ND	1.16		
		7	水層	8.71	6.95	/	ND	1.76	0.21	26.7
			土壌層	64.5	61.6	/	ND	2.81		
		30	水層	3.81	2.29	/	ND	1.53	0.91	44.0
			土壌層	57.5	51.0	/	ND	6.45		
		120	水層	4.28	2.55	/	ND	1.72	2.51	45.5
			土壌層	49.0	42.6	/	ND	6.44		
		180	水層	1.91	1.25	/	ND	0.65	3.83	51.9
			土壌層	49.0	44.4	/	ND	4.55		
	滅菌	0	水層	12.4	11.9	/	ND	0.52	－	2.65
			土壌層	81.9	79.7	/	0.27	1.99		
		30	水層	7.15	6.73	/	ND	0.38	記載なし	10.5
			土壌層	84.4	81.5	/	ND	2.97		
		120	水層	3.59	3.17	/	ND	0.41		18.0
			土壌層	80.7	80.1	/	0.67	ND		
		180	水層	3.22	2.69	/	0.09	0.44		19.4
			土壌層	78.8	74.4	/	0.81	3.61		
[met-^{14}C]トリフルメゾピリム	非滅菌	0	水層	12.1	11.9	0.10	/	0.06	－	5.22
			土壌層	83.6	82.5	ND	/	1.06		
		7	水層	8.57	7.21	ND	/	1.36	0.19	28.3
			土壌層	60.9	59.3	ND	/	1.69		
		30	水層	3.16	2.50	0.08	/	0.57	0.77	43.0
			土壌層	53.8	48.8	0.96	/	4.05		
		120	水層	2.35	1.78	ND	/	0.57	2.38	43.4
			土壌層	47.4	44.9	ND	/	2.49		
		180	水層	1.85	1.62	ND	/	0.23	3.38	45.9
			土壌層	48.6	43.1	1.10	/	4.41		
	滅菌	0	水層	2.18	2.18	ND	/	ND	－	2.92
			土壌層	94.1	92.8	ND	/	1.30		
		30	水層	3.61	3.59	ND	/	0.02	記載なし	12.7
			土壌層	85.4	83.5	ND	/	1.85		
		120	水層	3.86	3.79	ND	/	0.07		19.0
			土壌層	76.2	75.6	ND	/	0.65		
		180	水層	2.74	2.62	0.04	/	0.08		24.8
			土壌層	77.6	76.2	ND	/	1.37		

ND：検出されず　－：試料なし　/：標識部分を含まないため検出されず

（２）好気的土壌中運命試験①

シルト質埴壌土（米国）及び壌土（埼玉）の土壌水分を最大容水量の 50%に調整し、25±2℃、暗条件下で 18～19 日間プレインキュベートした後、[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム、[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム又は[met-^{14}C]トリフルメゾピリムを 1.0 mg/kg 乾土となるように処理し、最長 178 日間インキュベートして、好気的土壌中運命試験が実施された。

シルト質埴壌土及び壌土における各試料中の残留放射能分布及び分解物は表 13 及び 14 にそれぞれ示されている。

抽出性放射能は経時的に減少し、処理 178 日後にはシルト質埴壌土で 27.7%TAR～36.9%TAR、壌土で 17.5%TAR～35.0%TAR となった。

抽出放射能の主な成分は未変化のトリフルメゾピリムであり、処理 178 日後ではシルト質埴壌土で 16.3%TAR～24.8%TAR、壌土で 13.1%TAR～27.7%TAR となった。シルト質埴壌土における主要分解物は G で、[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム処理 150 日後に最大 7.72%TAR 認められた。ほかに分解物 B、D 及び F が認められた。壌土において認められた分解物はシルト質埴壌土と同様であったが、[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム処理 120 日後の D が最大で 2.71%TAR であった。抽出残渣中放射能は処理後経時的に増加し、処理 60 日以降同様の値を示した。

主要な揮発性物質はいずれの標識体とも $^{14}CO_2$ であり、処理 178 日後のシルト質埴壌土では 22.8%TAR～37.2%TAR、壌土では 9.46%TAR～32.2%TAR であった。トリフルメゾピリムの無機化により高濃度の $^{14}CO_2$ が発生し、抽出残渣はヒューミン、フルボ酸及びフミン酸から構成されると考えられた。揮発性有機物は[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム処理壌土から 0.10%TAR 検出されたほかは定量限界未満であった。

好気的土壌におけるトリフルメゾピリムの分解経路は、メチルピリミジン基の脱離による分解物 B 及び D の生成のほか、ピリジン環の転移による分解物 F の生成及びそのジオキソン体である G の生成を介して最終的に CO_2 へ無機化されるか、土壌結合残渣を生成するものと考えられた。

好気的土壌におけるトリフルメゾピリムの推定半減期は、シルト質埴壌土及び壌土でそれぞれ 52.9 及び 71.9 日と算出された。（参照 2、9）

表 13　シルト質埴壌土各試料中の残留放射能分布及び分解物（%TAR）

標識体	処理後日数	抽出性	トリフルメゾピリム	B	D	F	G	未同定分解物[a]	$^{14}CO_2$	抽出残渣
[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム	0	96.9	96.5	/	ND	ND	ND	0.42	－	5.21
	7	87.3	77.4	/	0.24	2.63	1.61	5.38	1.25	19.1
	28	66.4	52.6	/	0.22	2.58	4.70	6.28	5.93	34.2
	90	44.4	32.3	/	0.24	1.37	6.21	4.21	15.8	39.3
	150	41.2	28.9	/	0.66	0.52	6.30	4.81	21.0	38.9
	178	36.9	24.8	/	0.84	0.90	6.80	3.54	22.8	42.4
[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム	0	93.8	92.6	/	ND	ND	ND	1.18	－	4.85
	7	83.3	75.9	/	0.34	2.29	0.40	4.41	4.65	15.4
	28	60.3	48.0	/	0.34	2.24	4.09	5.64	16.0	27.1
	90	32.2	21.4	/	0.56	1.33	7.03	1.97	31.6	30.9
	150	30.6	19.4	/	0.36	0.85	7.72	2.25	35.9	29.3
	178	29.6	18.1	/	0.44	0.76	7.11	3.18	37.2	30.4
[met-^{14}C]トリフルメゾピリム	0	100	99.5	0.56	/	0.09	ND	0.12	－	4.86
	7	85.4	77.3	0.92	/	3.37	1.10	2.65	1.63	17.2
	28	56.9	41.2	0.97	/	2.40	4.88	7.50	11.1	34.9
	90	30.9	18.6	0.44	/	1.25	6.24	4.38	26.1	40.7
	150	26.2	14.9	0.32	/	0.88	6.74	3.34	30.4	38.4
	178	27.7	16.3	0.43	/	0.93	6.92	3.08	32.3	39.7

ND：検出されず　　－：試料なし　　/：標識部分を含まないため検出されず

[a]：複数の分解物を含み、各成分はいずれも 5%TAR 以下

表 14　壌土各試料中の残留放射能分布及び分解物（%TAR）

標識体	処理後日数	抽出性	トリフルメゾピリム	B	D	F	G	未同定分解物 [a]	$^{14}CO_2$	抽出残渣
[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム	0	107	106	/	ND	ND	ND	1.30	－	7.98
	7	86.1	83.0	/	0.22	0.30	0.27	2.32	0.35	20.6
	28	65.4	61.7	/	0.52	0.31	0.51	2.43	1.69	39.8
	90	44.2	39.4	/	1.23	0.68	1.04	1.79	5.76	49.6
	150	42.6	35.8	/	1.41	0.67	0.82	3.91	8.54	60.9
	178	35.0	27.7	/	0.97	1.05	0.88	4.38	9.46	58.2
[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム	0	96.8	95.5	/	ND	ND	ND	1.33	－	7.32
	7	79.5	76.6	/	0.24	0.20	ND	2.49	4.48	19.1
	28	56.7	52.0	/	0.41	0.45	0.81	3.03	13.9	32.2
	90	41.9	37.6	/	1.23	0.67	1.40	0.99	25.6	38.8
	150	33.3	28.4	/	0.82	0.86	1.11	2.17	30.5	41.4
	178	29.4	24.0	/	0.90	0.97	1.30	2.17	32.2	39.2
[met-^{14}C]トリフルメゾピリム	0	92.8	91.3	1.44	/	ND	ND	ND	－	7.25
	7	80.9	78.3	0.88	/	0.31	0.15	1.19	0.47	20.9
	28	64.7	60.4	0.91	/	0.59	0.64	2.21	4.33	34.3
	90	23.9	18.9	1.04	/	0.60	1.01	2.35	15.0	58.8
	150	36.3	30.6	0.72	/	0.66	0.88	3.47	20.1	49.2
	178	17.5	13.1	0.79	/	0.49	1.18	1.97	22.1	56.5

ND：検出されず　　－：試料なし　　/：標識部分を含まないため検出されず
[a]：複数の分解物を含み、各成分はいずれも 5%TAR 以下

（３）好気的土壌中運命試験②

埴土（スペイン）、壌質砂土（ドイツ）及び砂壌土（米国）の土壌水分を最大容水量の 50%に調整し、25±2℃、暗条件下で 7 日間プレインキュベートした後、[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム及び[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリムを 5 mg/kg 乾土となるように処理し、最長 180 日間インキュベートして、好気的土壌中運命試験が実施された。

各試料中の残留放射能分布及び分解物は表 15 に示されている。

抽出性放射能は経時的に減少し、処理 180 日後には埴土で 29.0%TAR～38.8%TAR、壌質砂土で 48.5%TAR～52.7%TAR、砂壌土で 55.5%TAR～55.8%TAR となった。

抽出放射能の主な成分は未変化のトリフルメゾピリムであり、処理 180 日後では、埴土で 16.6%TAR～19.9%TAR、壌質砂土で 39.3%TAR～42.4%TAR 及び砂壌土で 39.9%TAR～44.1%TAR となった。主要分解物は D 及び G で、それぞれ最大 9.1%TAR（砂壌土、処理 180 日後）及び 8.3%TAR（埴土、処理 180 日

後）認められた。

抽出残渣中放射能は、標識体間で顕著な差はなく、処理後経時的に増加し、各土壌とも処理 180 日後に最大 36.7%TAR～61.4%TAR となった。

揮発性物質の生成はいずれの標識体及び土壌においても少量であり、有機物及び CO_2 の最大累積量はそれぞれ 0.7%TAR 及び 0.8%TAR であった。

好気的土壌におけるトリフルメゾピリムの推定半減期は、埴土、壌質砂土及び砂壌土でそれぞれ 60.5、132 及び 133 日と算出された。（参照 2、10）

表 15　各試料中の残留放射能濃度及び分解物（%TAR）

標識体	土壌	処理後日数	抽出性	トリフルメゾピリム	D	G	未同定分解物[a]	揮発性有機物(累積)	$^{14}CO_2$(累積)	抽出残渣
[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム	埴土	0	96.8	95.3	<LOQ	<LOQ	1.5	－	－	1.8
		28	68.1	60.9	4.6	2.5	<LOQ	<LOQ	0.2	25.4
		90	44.2	28.3	5.9	6.9	3.1	<LOQ	0.6	47.6
		180	29.0	16.6	4.0	4.8	3.7	<LOQ	0.8	61.4
	壌質砂土	0	89.3	89.3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	－	－	3.1
		28	74.1	69.4	1.9	1.5	1.3	<LOQ	<LOQ	17.6
		90	60.5	50.0	3.8	2.7	3.9	<LOQ	<LOQ	30.8
		180	48.5	39.3	1.9	3.7	3.6	<LOQ	0.2	42.4
	砂壌土	0	90.7	89.2	<LOQ	<LOQ	1.5	－	－	3.6
		28	71.3	61.9	3.2	3.9	2.2	0.1	<LOQ	21.2
		90	63.0	49.0	8.6	2.9	2.5	0.1	<LOQ	30.4
		180	55.5	39.9	9.1	1.8	4.7	0.1	0.1	36.7
[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム	埴土	0	100	100	<LOQ	<LOQ	<LOQ	－	－	2.0
		28	74.7	64.7	4.5	2.5	3.0	0.1	0.2	19.5
		90	54.5	38.6	6.3	5.5	4.1	0.1	0.5	36.6
		180	38.8	19.9	4.7	8.3	6.0	0.1	0.7	51.4
	壌質砂土	0	94.3	94.3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	－	－	3.5
		28	73.9	69.8	1.7	2.4	<LOQ	<LOQ	0.2	19.4
		90	63.7	56.6	3.2	2.3	1.5	<LOQ	0.4	29.0
		180	52.7	42.4	2.4	3.0	4.9	<LOQ	0.7	38.0
	砂壌土	0	89.8	89.8	<LOQ	<LOQ	<LOQ	－	－	3.0
		28	73.1	66.1	3.0	4.0	<LOQ	0.3	0.2	18.9
		90	64.0	53.3	7.9	2.8	<LOQ	0.3	0.3	27.9
		180	55.8	44.1	8.6	1.7	1.4	0.7	0.5	34.4

＜LOQ：定量限界未満　　－：試料なし

[a]：複数の分解物を含み、各成分はいずれも 5%TAR 以下

（４）好気的/嫌気的湛水土壌中運命試験

シルト質埴壌土（米国）に[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム、[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム又は[met-^{14}C]トリフルメゾピリムを 5 mg/kg 乾土となるよう添加し、25±2℃の暗所、好気的条件下で 30 日間インキュベートした後に湛水条件とし、窒素ガスを通気し、最長 180 日間インキュベートして、好気的/嫌気的湛水土壌中運命試験が実施された。

各試料中の残留放射能分布及び分解物は表 16 に示されている。

抽出放射能は嫌気的条件開始直後の 67.6%TAR～72.8%TAR から、嫌気的条件 180 日後には 49.3%TAR～52.1%TAR まで減少した。抽出残渣中放射能は経時的に増加し、嫌気的条件 180 日後に 39.2%TAR～43.0%TAR となった。

残留放射能中の主な成分は未変化のトリフルメゾピリムであり、嫌気的条件開始直後の 57.1%TAR～65.8%TAR から、試験終了時には 42.7%TAR～48.2%TAR まで減少した。分解物として D 及び G がそれぞれ最大 4.1%TAR 及び 3.4%TAR 認められた。

$^{14}CO_2$ は[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリムからは検出されず、他の 2 標識体処理でも最大 0.3%TAR であった。揮発性有機物はいずれの標識体においても定量限界未満であった。

嫌気的湛水土壌におけるトリフルメゾピリムの推定半減期は 303 日と算出された。（参照 2、11）

表 16　各試料中の残留放射能分布及び分解物（%TAR）

標識体	試験条件	試料採取日 [a]	抽出性	トリフルメゾピリム	D	G	未同定分解物 [b]	抽出残渣
[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム	好気的	0	93.6	93.6	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3.6
		30 [c]	72.8	65.8	1.4	2.1	3.5	19.5
	嫌気的*	1	74.5	66.7	<LOQ	1.7	6.1	17.0
		60	70.4	61.9	1.4	1.8	5.3	21.7
		120	49.8	40.7	4.1	2.8	2.2	41.5
		180	50.1	42.7	<LOQ	1.5	5.9	41.1
[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム	好気的	0	94.9	94.9	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3.6
		30 [c]	67.6	57.1	2.4	2.9	5.2	23.3
	嫌気的*	1	68.6	56.7	2.8	3.4	5.8	22.4
		60	66.0	57.2	2.0	2.2	4.6	24.8
		120	54.7	47.8	0.9	<LOQ	6.0	36.5
		180	52.1	48.2	1.4	<LOQ	2.5	39.2
[met-^{14}C]トリフルメゾピリ	好気的	0	91.4	91.4		<LOQ	<LOQ	3.2
		30 [c]	71.1	60.9		2.5	7.7	22.5
	嫌気	1	73.2	65.6		1.6	5.9	19.3

ム	的*	60	69.7	60.5		1.8	7.4	21.6
		120	49.5	40.8		2.5	6.1	42.8
		180	49.3	43.9		1.5	3.9	43.0

<LOQ：定量限界未満　　/：標識部位を含まないため検出されず
*：水層及び土壌層を混合して分析した。
[a]：好気的条件では処理後日数、嫌気的条件では湛水後日数を表す。
[b]：複数の分解物を含み、各成分はいずれも 5%TAR 以下
[c]：嫌気的条件の開始時

（５）土壌吸着試験①

[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリムを用いて、5 種類の土壌 ［砂壌土（①フランス及び②米国）、シルト質埴壌土（米国）、埴土（スペイン）及び壌土（ドイツ）］における土壌吸脱着試験が実施された。

各土壌における吸着係数は表 17 に示されている。（参照 2、12）

表 17　各土壌における吸着係数

土壌	K^{ads}	K^{ads}_{oc}
砂壌土①	2.75	162
砂壌土②	7.19	232
シルト質埴壌土	8.51	448
埴土	3.28	164
壌土	3.06	255

K^{ads}：Freundlich の吸着係数
K^{ads}_{oc}：有機炭素含有率により補正した吸着係数

（６）土壌吸着試験②

トリフルメゾピリムを用いて、4 種類の国内土壌［砂土（宮崎）、壌土（埼玉）、シルト質埴土（埼玉）及びシルト質壌土（茨城）］における土壌吸着試験が実施された。

各土壌における吸着係数は表 18 に示されている。（参照 2、13）

表 18　各土壌における吸着係数

土壌	K^{ads}	K^{ads}_{oc}
砂土	0.915	183
壌土	1.52	50.3
シルト質埴土	4.79	134
シルト質壌土	4.30	197

K^{ads}：Freundlich の吸着係数
K^{ads}_{oc}：有機炭素含有率により補正した吸着係数

４．水中運命試験

（１）加水分解試験

pH 4（酢酸緩衝液）、pH 7（リン酸緩衝液）及び pH 9（ホウ酸緩衝液）の各滅菌緩衝液に[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム又は[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリムを 5 mg/L となるように添加し、50±0.5℃の暗条件下で、最長 5 日間インキュベートして、加水分解試験が実施された。

いずれの pH においても、トリフルメゾピリムは 5 日目でも 98.2%TAR～102%TAR が残存しており、加水分解に対して安定であった。（参照 2、14）

（２）水中光分解試験（緩衝液及び自然水）

滅菌したリン酸緩衝液（pH 7）及び滅菌自然水［河川水（英国）、pH 6.8］に[pyr-^{14}C]トリフルメゾピリム、[fpm-^{14}C]トリフルメゾピリム又は[met-^{14}C]トリフルメゾピリムを 5 mg/L となるように添加した後、25±1℃で 12 時間照射／12 時間暗下でキセノン光（光強度：647 W/m^2、波長：290 nm 以下、800 nm 以上をフィルターでカット）を合計最長 355 時間照射して、水中光分解試験が実施された。また、暗所対照区が設けられた。

光照射区において、トリフルメゾピリムは処理 335 時間後には 0.47%TAR～0.80%TAR（緩衝液）及び 1.88%TAR～5.69%TAR（河川水）まで減少した。

主要分解物として E が認められ、光照射 335 時間後には 68.4%TAR～75.6%TAR（緩衝液）及び 66.2%TAR～84.7%TAR（河川水）まで増加した。ほかに、複数の成分から成る未同定分解物が最大 27.9%TAR 認められたが、その成分はいずれも 5%TAR 未満であった。$^{14}CO_2$ は最大 0.28%TAR、揮発性有機物は最大 0.12%TAR 検出された。

暗所対照区において、トリフルメゾピリムは処理 355 時間後においても 92.2%TAR～98.3%TAR であり、安定であった。

トリフルメゾピリムの推定半減期は、光照射区の緩衝液及び河川水でそれぞれ 2.1 及び 2.8 日、自然太陽光（東京、春）換算でそれぞれ 6.9 及び 9.1 日であった。（参照 2、15）

５．土壌残留試験

沖積土・シルト質壌土（高知）及び火山灰土・砂壌土（鹿児島）を用いて、トリフルメゾピリム並びに分解物 D 及び E を分析対象化合物とした土壌残留試験が実施された。

推定半減期は表 19 に示されている。（参照 2、16）

表 19　土壌残留試験成績

試験	濃度	土壌	推定半減期(日)	
			トリフルメゾピリム	トリフルメゾピリム＋分解物 D、E
ほ場試験(水田)	75 g ai /ha [a] (1 回)	沖積土・シルト質壌土	3.6	4.2
		火山灰土・砂壌土	2.8	4.0

[a]：0.75%粒剤を使用

６．作物等残留試験

（１）作物残留試験

水稲を用いてトリフルメゾピリム及び代謝物 B を分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。結果は別紙 3 に示されている。

トリフルメゾピリムの最大残留値は、育苗箱処理 133 日後に収穫した稲わらの 0.02 mg/kg であった。可食部である玄米では全て定量限界（0.01 mg/kg）未満であった。代謝物 B は全ての試料で定量限界（0.04 mg/kg）未満であった。

なお、可食部においてトリフルメゾピリムは定量限界未満であったため、推定摂取量の計算に含めなかった。（参照 2、17、18）

（２）畜産物残留試験

泌乳牛（ホルスタイン種、主群：一群 2～3 頭、消失試験群：2 頭）に、トリフルメゾピリムを 0.038、0.115 及び 0.392 mg/kg 体重/日（1、3 及び 10 mg/kg 飼料相当）で 1 日 2 回 30 日間カプセル経口投与して、トリフルメゾピリムを分析対象化合物とした畜産物残留試験が実施された。消失試験群の 2 頭は 0.392 mg/kg 体重/日で 30 日間投与後 4 又は 8 日の消失期間が設けられた。乳汁は 1 日 2 回採取し、同一日の試料を混合して試料とした。最終投与翌日又は消失期間経過後と殺し、肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪を採取して試料とした。また、0.392 mg/kg 体重/日投与群の投与 14 及び 21 日の乳汁から脱脂乳及びクリームを調製した。結果は別紙 4 に示されている。

トリフルメゾピリムの最大残留値は、肝臓で 0.036 μg/g、腎臓で 0.024 μg/g であった。脂肪及び筋肉中には、最高用量においても検出されなかった。乳汁中の残留は投与 14 日以内に定常状態となり、消失試験群の投与 29 日に最大値 0.034 μg/g を示した。脱脂乳及びクリームの最大残留値はそれぞれ 0.021 及び 0.029 μg/g であり、クリームへの蓄積は認められなかった。

消失試験群の乳汁、肝臓及び腎臓のトリフルメゾピリムは、それぞれ投与終了 4、4 及び 8 日に検出限界（0.003 μg/g）未満となった。（参照 2、19）

（３）推定摂取量

別紙 4 の畜産物残留試験の分析値に基づき、トリフルメゾピリムを暴露評価対象物質とした際に食品中から摂取される推定摂取量が表 20 に示されている。

なお、本推定摂取量の算定には、畜産物残留試験における各試料の最大値を用い、加工・調理による残留農薬の増減が全くないとの仮定の下に行った。

表 20　食品中から摂取されるトリフルメゾピリムの推定摂取量

畜産物	残留値 (mg/kg)	国民平均 (体重：55.1 kg)		小児 (体重：16.5 kg)		妊婦 (体重：58.5 kg)		高齢者（65歳以上） (体重：56.1 kg)	
		ff (g/人/日)	摂取量 (µg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (µg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (µg/人/日)	ff (g/人/日)	摂取量 (µg/人/日)
牛・肝臓	0.036	0.1	0	0	0	1.4	0.05	0	0
牛・腎臓	0.024	0	0	0	0	0	0	0	0
乳	0.034	264	8.98	332	11.3	365	12.4	216	7.34
合計			8.98		11.3		12.5		7.34

注）畜産物における推定摂取量については、農薬登録の使用条件の範囲内での計算が困難であることから、試験結果のうちの最大残留値を用いたため、過大評価となっている可能性がある。
・ff：平成 17～19 年の食品摂取頻度・摂取量調査（参照 67）の結果に基づく食品摂取量（g/人/日）
・摂取量：残留値及び畜産物摂取量から求めたトリフルメゾピリムの推定摂取量（µg/人/日）
・玄米並びに牛の筋肉及び脂肪は定量限界未満であったため、推定摂取量の計算に含めていない。

7．一般薬理試験

ラット及びマウスを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 21 に示されている。（参照 2、20）

表 21　一般薬理試験

試験の種類		動物種	動物数 (匹/群)	投与量 (mg/kg 体重) (投与経路)	最大 無作用量 (mg/kg 体重)	最小 作用量 (mg/kg 体重)	結果の概要
中枢神経系	一般状態 (Irwin 法)	ICR マウス	雌雄 各 5	0、80、400、 2,000 (経口)	2,000	－	影響なし
	自発運動量	ICR マウス			400	2,000	2,000 mg/kg 体重で自発運動量減少 (雄：投与 1～3 時間後 雌：投与 0.5～2 時間後)
	体温	SD ラット			2,000	－	影響なし
呼吸・循環器系	呼吸数及び 1 回換気量	SD ラット			2,000	－	影響なし
	血圧及び 心拍数	SD ラット			2,000	－	影響なし

注）溶媒は 0.5%MC 水溶液を使用
－：最小作用量は設定できなかった。

８．急性毒性試験

（１）急性毒性試験

ラットを用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 22 に示されている。（参照 2、21～25）

表 22　急性毒性試験概要（原体）

投与 経路	動物種 性別・匹数	LD_{50} (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口[a]	SD ラット① 雌雄各 5 匹	>5,000	4,930	投与量： 雄：5,000 mg/kg 体重 雌：2,500、3,750、4,375、5,000 mg/kg 体重 雄：5,000 mg/kg 体重；体重減少(投与 1～5 日)、高い姿勢(投与日～投与 1 日)、眼瞼下垂(投与日) 雌：5,000 mg/kg 体重；体重減少(投与 1～2 日)、運動失調(投与日～投与 1 日)、眼瞼下垂及び高い姿勢(投与日～投与 2 日)、低い姿勢及び筋緊張低下(投与 1 日)、前肢・後肢・全身の痙攣(投与 1～2 日)、瀕死状態、被毛の汚れ、無便(投与 2 日)、体温低下(投与 1～2 日) 4,375 mg/kg 体重；体重減少(投与 2 日) 2,500、3,750 mg/kg 体重；高い姿勢(投与日～投与 1 日) 2,500 mg/kg 体重以上;汚れ(投与 1 日以降) 雄：死亡例なし 雌：5,000 mg/kg 体重で死亡例
	SD ラット②[b] 雌 4 匹		>5,000	投与量：4,390 mg/kg 体重(1 匹)、5,000 mg/kg 体重(3 匹) 5,000 mg/kg 体重；糞量減少(投与 1～2 日) 死亡例なし
	SD ラット③[b] 雌 3 匹		>5,000	投与量：5,000 mg/kg 体重 症状及び死亡例なし

経皮	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	投与量：5,000 mg/kg 体重 症状及び死亡例なし
吸入	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC_{50} (mg/L)		雌雄：不規則呼吸、体重減少/増加抑制 死亡例なし
		>5.04	>5.04	

/ : 該当なし
[a]：溶媒は 0.1%Tween80 添加 0.5%MC 溶液を使用
[b]：上げ下げ法による評価

（２）急性神経毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 12 匹）を用いた単回強制経口（原体：0、100、500 及び 2,000 mg/kg 体重）投与による急性神経毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 23 に示されている。

神経病理学的検査において、検体投与の影響は認められなかった。

本試験において、500 mg/kg 体重以上投与群の雌雄で自発運動量減少等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 100 mg/kg 体重であると考えられた。（参照 2、26）

表 23　急性神経毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
2,000 mg/kg 体重	・体重増加抑制(投与 0～7 日) ・高い姿勢の回数増加(投与 2 時間後)	・高い姿勢の回数増加(投与 2 時間後) ・前肢握力増加(投与 2 時間後) ・立ち上がり動作減少(投与 2 時間後)
500 mg/kg 体重以上	・体重減少及び摂餌量減少(投与 0～1 日) ・体温低下(投与 2 時間後) ・自発運動量減少[§§]及び総運動回数減少(投与日)	・体重減少[§]及び摂餌量減少(投与 0～1 日) ・体温低下(投与 2 時間後) ・自発運動量減少[§§]及び総運動回数減少(投与日)
100 mg/kg 体重	毒性所見なし	毒性所見なし

[§]：2,000 mg/kg 体重投与群では統計的有意差はないが、検体投与による影響と判断した。
[§§]：500 mg/kg 体重投与群では統計的有意差はないが、検体投与による影響と判断した。

９．眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW ウサギを用いた眼及び皮膚刺激性試験が実施された。その結果、ウサギの眼に対して軽度の刺激性が認められた。皮膚に対する刺激性は認められなかった。

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験（Maximization 法）が実施され、結果は陰性であった。（参照 2、27～32）

１０．亜急性毒性試験

（１）28 日間亜急性毒性試験（ラット）[2]

SD ラット（一群雌雄各 5 匹）を用いた混餌（原体：0、200、800、4,000 及び 20,000/10,000 ppm[3]：平均検体摂取量は表 24 参照）投与による 28 日間亜急性毒性試験が実施された。また、血清中甲状腺関連ホルモン及び肝酵素活性が測定された。

表 24　28 日間亜急性毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		200 ppm	800 ppm	4,000 ppm	20,000 / 10,000 ppm
平均検体摂取量（mg/kg 体重/日）	雄	16.6	64.9	309	653
	雌	16.1	63.6	317	627

各投与群で認められた毒性所見は表 25 に示されている。

血清中甲状腺関連ホルモンに検体投与の影響は認められなかった。また、20,000/10,000 ppm 投与群の雌雄で CYP1A2 及び 2B1/2 の増加、同投与群の雄で UDPGT 活性及び P450 総量の増加、4,000 ppm 以上投与群の雌雄でペルオキシゾームの脂肪酸β酸化活性の増加、同投与群の雌で UDPGT 活性及び P450 総量の増加が認められた。

本試験において、20,000/10,000 ppm 投与群の雄及び 4,000 ppm 以上投与群の雌で RBC 減少等が認められたので、無毒性量は雄で 4,000 ppm（309 mg/kg 体重/日）、雌で 800 ppm（63.6 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 2、33）

[2] 本試験は 90 日間亜急性毒性試験（ラット）①及び②［10. (2) 及び (3)］の用量設定試験として実施された。

[3] 最高用量群は 20,000 ppm の用量で開始したが、著しい体重減少がみられたため投与 3 日から 10,000 ppm に変更された。

表 25　28 日間亜急性毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
20,000 / 10,000 ppm	・体重増加抑制(投与 3 日以降）及び摂餌量減少(投与 0～7、0～28 日） ・RBC、Hb 及び Ht 減少 ・RDW 増加 ・T.Chol 増加 ・小葉中心性肝細胞肥大§ ・精嚢及び凝固腺内容液減少§	・体重増加抑制(投与 3 日以降）及び摂餌量減少(投与 0～7、0～28 日） ・T.Chol 増加 ・肝絶対及び比重量[4]増加 ・小葉中心性肝細胞肥大
4,000 ppm 以上	4,000 ppm 以下 毒性所見なし	・RBC、Hb 及び Ht 減少 ・RDW 増加
800 ppm 以下		毒性所見なし

§：統計学的解析を行っていないが、検体投与による影響と判断した。

（２）90 日間亜急性毒性試験（ラット）①

SD ラット（一群雌雄各 16 匹）を用いた混餌（原体：0、100、400、1,500 及び 6,000 ppm：平均検体摂取量は表 26 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 26　90 日間亜急性毒性試験（ラット）①の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	400 ppm	1,500 ppm	6,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	4.5	18	70	274
	雌	6.0	23	83	316

各投与群で認められた毒性所見は表 27 に示されている。

6,000 ppm 投与群の雄で肝比重量増加及び小葉中心性肝細胞肥大が認められたが、肝毒性を示唆する血液生化学的パラメータの変化及び病理組織学的変化がみられなかったことから、適応性変化であると考えられた。

本試験において 6,000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制、摂餌量減少等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 1,500 ppm（雄：70 mg/kg 体重/日、雌：83 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 2、34）

[4] 体重比重量のことを比重量という（以下同じ。）。

表 27　90 日間亜急性毒性試験（ラット）①で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
6,000 ppm	・体重増加抑制(投与 8 日以降)及び摂餌量減少(投与 1 週以降)	・体重増加抑制(投与 8 日以降)及び摂餌量減少(投与 1 週以降) ・T.Chol 増加 ・肝比重量増加
1,500 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

（３）90 日間亜急性毒性試験（ラット）②

SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、100、400、1,500 及び 6,000 ppm：平均検体摂取量は表 28 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 28　90 日間亜急性毒性試験（ラット）②の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	400 ppm	1,500 ppm	6,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	4.17	17.0	63.9	257
	雌	5.13	20.4	74.3	278

各投与群において認められた毒性所見は表 29 に示されている。

本試験において、6,000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制、摂餌量減少等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 1,500 ppm（雄：63.9 mg/kg 体重/日、雌：74.3 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 2、35）

表 29　90 日間亜急性毒性試験（ラット）②で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
6,000 ppm	・体重増加抑制(投与 7 日以降)及び摂餌量減少(投与 1 週以降) ・RBC、Hb 及び Ht 減少	・体重増加抑制(投与 7 日以降)及び摂餌量減少(投与 1 週以降) ・RBC、Hb 及び Ht 減少
1,500 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

（４）28 日間亜急性毒性試験（マウス）[5]

ICR マウス（主群：一群雌雄各 5 匹、生化学検査群：一群雌雄各 5 匹）を用いた混餌（原体：0、200、800、2,500 及び 7,000 ppm：平均検体摂取量は表 30 参照）投与による 28 日間亜急性毒性試験が実施された。生化学検査群では肝酵素活性が測定された。

[5] 本試験は 90 日間亜急性毒性試験（マウス）［10. (5)］の用量設定試験として実施された。

表 30　28 日間亜急性毒性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		200 ppm	800 ppm	2,500 ppm	7,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	33.6	129	416	1,100
	雌	40.7	161	504	1,340

7,000 ppm 投与群の雌雄で T.Chol 増加、肝絶対及び比重量増加並びに小葉中心性肝細胞肥大が認められた。

また、肝酵素活性測定の結果では、7,000 ppm 投与群の雄で CYP2B1/2 の増加、雌でペルオキシゾームの脂肪酸β酸化活性の増加が、2,500 ppm 以上投与群の雌雄で P450 総量、CYP1A2、2E1 及び 4A1/2/3 の増加が認められた。

本試験において、7,000 ppm 投与群の雌雄で小葉中心性肝細胞肥大、T.Chol 増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 2,500 ppm（雄：416 mg/kg 体重/日、雌：504 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 2、36）

（５）90 日間亜急性毒性試験（マウス）

ICR マウス（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、200、800、2,500 及び 7,000 ppm：検体摂取量は表 31 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 31　90 日間亜急性毒性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		200 ppm	800 ppm	2,500 ppm	7,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	31.4	125	417	1,130
	雌	44.1	177	476	1,530

7,000 ppm 投与群の雌及び 2,500 ppm 以上投与群の雄で肝絶対及び比重量増加並びに肝細胞肥大（小葉全体）が認められたが、肝毒性を示唆する血液生化学的パラメータの変化及び病理組織学的変化がみられなかったことから、適応性変化であると考えられた。

本試験において、いずれの投与群でも検体投与の影響は認められなかったので、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量 7,000 ppm（雄：1,130 mg/kg 体重/日、雌：1,530 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 2、37）

（６）90 日間亜急性毒性試験（イヌ）

ビーグル犬（一群雌雄各 4 匹）を用いた混餌（原体：0、100、400、1,000 及び 4,000 ppm：平均検体摂取量は表 32 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 32　90 日間亜急性毒性試験（イヌ）の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	400 ppm	1,000 ppm	4,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	3.05	12.2	26.6	115
	雌	2.69	12.2	26.9	131

各投与群で認められた毒性所見は表 33 に示されている。

4,000 ppm 投与群の雌 1 例で投与 72 日以降にるい痩が認められ、さらに運動低下、呼吸数の増加等が進行したため、投与 77 日に切迫と殺された。

本試験において、4,000 ppm 投与群の雌雄で体重減少/体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 1,000 ppm（雄 : 26.6 mg/kg 体重/日、雌 : 26.9 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 2、38）

表 33　90 日間亜急性毒性試験（イヌ）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
4,000 ppm	・るい痩(2 例) ・体重減少/体重増加抑制(投与 8 日以降[a]) ・摂餌量減少(投与 1 週以降[b]) ・RBC、Hb 及び Ht 減少 ・Alb 減少 ・副腎絶対及び比重量増加 ・精巣、精巣上体、前立腺絶対及び比重量減少[§] ・胸腺絶対及び比重量[§]減少 ・副腎皮質細胞肥大 ・骨髄赤芽球過形成(大腿骨、肋骨、及び胸骨) ・胸腺、脾及びリンパ節(下顎及び腸間膜)リンパ球減少 ・脾色素貪食マクロファージ ・脾髄外造血 ・精巣精子形成減少 ・前立腺成熟不良 ・精巣上体精子減少/生殖細胞破片 ・肝クッパー細胞色素沈着	・るい痩(3 例) ・体重減少/体重増加抑制(投与 8 日以降)[§] ・摂餌量減少(投与 1 週以降)[§] ・RBC[§]、Hb 及び Ht 減少 ・Ret 増加 ・Alb 減少及び Glob 増加 ・卵巣絶対及び比重量[§]減少 ・子宮(頚部を含む)、胸腺絶対及び比重量減少[§] ・脾絶対及び比重量増加[§] ・副腎皮質細胞肥大 ・骨髄赤芽球過形成(大腿骨、肋骨及び胸骨) ・胸腺、脾及びリンパ節(下顎及び腸間膜)リンパ球減少 ・脾髄外造血 ・卵巣及び子宮（頚部を含む）成熟不良 ・肝クッパー細胞色素沈着
1,000 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

[§]：統計学的有意差はないが、検体投与の影響と考えられた。
[a]：投与 78 及び 85 日に統計学的有意差が認められた。
[b]：投与 7、8、11、12 及び 13 週に統計学的有意差が認められた。

（７）28 日間亜急性経皮毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた経皮（原体：0、100、350 及び 1,000 mg/kg/日、6 時間/日）投与による 28 日間亜急性経皮毒性試験が実施された。

本試験において、いずれの投与群でも検体投与による影響は認められなかった

ので、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量 1,000 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 2、39）

１１．慢性毒性試験及び発がん性試験

（１）1 年間慢性毒性試験（イヌ）

ビーグル犬（一群雌雄各 4 匹）を用いた混餌［原体：0、40、100、400、1,000/2,000 ppm（雌のみ）及び 2,000（雄のみ）ppm[6]：平均検体摂取量は表 34 参照］投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

表 34　1 年間慢性毒性試験（イヌ）の平均検体摂取量

投与群		40 ppm	100 ppm	400 ppm	1,000/2,000 ppm	2,000 ppm
平均検体摂取量(mg/kg 体重/日)	雄	1.53	3.31	11.1	－	53.2
	雌	1.20	3.37	10.8	55.9	－

－：実施せず

400 ppm 投与群の雌 1 例に運動低下、軟便～水様便、嘔吐及び食欲低下が認められ、投与 45 週で体重が著しく減少したため、切迫と殺されたが、原因は主に心臓に観察された特発性の多発性動脈炎で、対照群の雄 1 例にも精巣上体に認められ、ビーグル犬にしばしば観察される偶発的な所見と考えられ、検体投与の影響とは考えられなかった。

本試験において、いずれの投与群でも検体投与による影響は認められなかったので、無毒性量は雌雄とも本試験の最高用量 2,000 ppm（雄：53.2 mg/kg 体重/日、雌：55.9 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 2、40）

（２）2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）

SD ラット（主群：一群雌雄各 70 匹、中間と殺群：一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、100、500、2,000 及び 8,000 ppm：平均検体摂取量は表 35 参照）投与による 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

表 35　2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	500 ppm	2,000 ppm	8,000 ppm
平均検体摂取量(mg/kg 体重/日)	雄	3.03	15.9	70.6	284
	雌	3.23	17.3	73.8	396

各投与群で認められた毒性所見（非腫瘍性病変）は表 36 に、子宮（頚部を含

[6] 雌の最高用量群は 1,000 ppm の用量で開始されたが、検体投与の影響が認められなかったため投与 14 週以降 2,000 ppm に変更された。

む）における過形成及び腫瘍性病変の発生頻度は表 37 に示されている。

雌の子宮（頚部を含む）において、扁平上皮癌については Cochran-Armitage 及び Peto の傾向検定で有意差が認められ、8,000 ppm 投与群における発生頻度 5/70 例（7.14%）が試験実施施設の背景データ（0%～1.5%）を超えたため、検体投与の影響と考えられた。腺癌については Cochran-Armitage の傾向検定で、良性顆粒細胞腫については Cochran-Armitage 及び Peto の傾向検定でそれぞれ有意差が認められたが、いずれも Fisher 直接検定では有意差はなく、8,000 ppm 投与群における発生頻度 2/70 例（2.86%）及び 4/70 例（5.71%）は試験実施施設の背景データ（0%～3.3%及び 0%～15%）の範囲内であったことから、検体投与の影響とは考えられなかった。また、雌の肝細胞腺腫について、Cochran-Armitage の傾向検定で有意差が認められ、8,000 ppm 投与群における発生頻度 2/70 例（2.86%）は試験実施施設の背景データ（0%～1.7%）を若干上回ったが、Fisher 直接検定では有意差はなく変異肝細胞巣等の前癌病変も認められなかったため、検体投与の影響とは考えられなかった。

本試験において、2,000 ppm 以上投与群の雄及び 500 ppm 以上投与群の雌で体重増加抑制が認められたので、無毒性量は雄で 500 ppm（15.9 mg/kg 体重/日）、雌で 100 ppm（3.23 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 2、41）

表 36-1　2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）で認められた毒性所見（非腫瘍性病変）

投与群	雄	雌
8,000 ppm	・摂餌量減少(投与 1 週以降) ・RBC、Hb、Ht 及び Eos 減少 ・BUN 増加 ・肝限局性嚢胞変性、胆管過形成及び小葉中心性肝細胞肥大 ・精巣間細胞過形成	・RBC、Hb、Ht 及び Eos 減少 ・BUN 及び T.Chol 増加 ・肝比重量増加 ・子宮（頚部を含む）絶対及び比重量増加 ・肝単細胞壊死及び小葉中心性肝細胞肥大 ・子宮(頚部を含む)拡張/炎症及び内膜上皮過形成並びに嚢胞状過形成 ・子宮(頚部を含む)扁平上皮過形成[§]
2,000 ppm 以上	・体重増加抑制[a、b]	・摂餌量減少(投与 1 週以降) ・肺胞組織球症(軽微～軽度)[§§]
500 ppm 以上	500 ppm 以下 毒性所見なし	・体重増加抑制(累積増加量)[c]
100 ppm		毒性所見なし

[§]：統計学的有意差はないが、検体投与の影響と考えられた。
[§§]：2,000 ppm 投与群では統計学的有意差はないが、検体投与の影響と考えられた。
[a]：8,000 ppm 投与群は投与 1 週以降、2,000 ppm 投与群は投与 8 週以降
[b]：最終体重は 8,000 ppm 投与群で 81%、2,000 ppm 投与群で 92%（いずれも対照群比）
[c]：最終体重は 8,000 ppm 投与群で 55%、2,000 ppm 投与群で 77%、500 ppm 投与群で 88%（いずれも対照群比）

表 36-2　52 週と殺群（1 年間慢性毒性試験群）で認められた毒性所見
（非腫瘍性病変）

投与群	雄	雌
8,000 ppm	・摂餌量減少(投与 1 週以降) ・RBC、Hb、Ht 及び Eos 減少 ・BUN 増加 ・精巣間質細胞過形成	・RBC、Hb、Ht 及び Eos 減少 ・BUN 及び T.Chol 増加 ・肝比重量増加 ・子宮（頚部を含む）絶対及び比重量増加 ・肺胞組織球症[§] ・小葉中心性肝細胞肥大
2,000 ppm 以上	・体重増加抑制[a]	・体重増加抑制及び摂餌量減少（投与 1 週以降）
500 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

8,000 ppm 投与群の雄で小葉中心性肝細胞肥大が認められたが、肝毒性を示唆する血液学的パラメータの変化及び病理組織学的変化が認められなかったため、適応性変化と考えられた。
§：統計学的有意差はないが、検体投与の影響と考えられた。
a：8,000 ppm 投与群は投与 1 週以降、2,000 ppm 投与群は投与 8 週以降

表 37　子宮（頚部を含む）における過形成及び腫瘍性病変の発生頻度

性別	雌				
投与群(ppm)	0	100	500	2,000	8,000
検査動物数	70	70	70	70	70
拡張/炎症/過形成	0*	1	0	0	6+
嚢胞状過形成	1*	0	1	2	8+
扁平上皮過形成	2	0	3	1	6
扁平上皮癌[a]	0##	0	0	1	5
腺癌	0*	0	0	0	2
良性顆粒細胞腫	0#	1	1	0	4

*：Cochran-Armitage 傾向検定で有意差あり($p<0.05$)
#：Cochran-Armitage 傾向検定及び Peto 傾向検定で有意差あり($p<0.05$)
##：Cochran-Armitage 傾向検定及び Peto 傾向検定で有意差あり($p<0.01$)
+：Fisher 直接検定で有意差あり($p<0.05$)
a：8,000 ppm 投与群 5 例のうち 3 例は頚部に認められた。

（３）18 か月間発がん性試験（マウス）

ICR マウス（一群雌雄各 60 匹）を用いた混餌（原体：0、200、800、2,500 及び 7,000 ppm：平均検体摂取量は表 38 参照）投与による 18 か月間発がん性試験が実施された。

表 38　18 か月間発がん性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		200 ppm	800 ppm	2,500 ppm	7,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	20.1	84.5	248	727
	雌	21.8	88.0	283	810

非腫瘍性病変として、7,000 ppm 投与群の雄で肝/胆嚢絶対及び比重量増加、精嚢/凝固腺絶対及び比重量減少並びに小葉中心性肝細胞肥大、雌で肝髄外造血亢進及び乳管拡張が、2,500 ppm 以上投与群の雌で肝/胆嚢絶対及び比重量増加が認められた。肝/胆嚢絶対及び比重量増加並びに小葉中心性肝細胞肥大について、マウスを用いた 28 日間亜急性毒性試験［10. (4)］では T.Chol の増加が認められたが、本試験においては血液生化学的検査が実施されていないため、適応性変化とは判断できなかった。

肝臓における腫瘍性病変の発生頻度は表 39 に示されている。

雄の肝細胞腺腫について、Cochran-Armitage 及び Peto の傾向検定で有意差が認められ、7,000 ppm 投与群における発生頻度 17/60 例（28.3%）が、試験実施施設の背景データ（2 年間、6.7%～24.6%）を超えたため、検体投与の影響と考えられた。

また、雌の細気管支肺胞腺癌について、Cochran-Armitage 及び Peto の傾向検定で有意差が認められたが、7,000 ppm 投与群における発生頻度 6/60 例（10.0%）は、背景データ（0.0%～10.0%）の範囲内であった。当該データは 2 年間の試験によるものであるが、同系統のマウスを用いた 18 か月間の他の試験施設における背景データ（0.0%～12.0%）及び日本毒性病理学会による背景データ[7]（1.8%～21.2%）の範囲内であったことを考慮し、食品安全委員会は、この変化は検体投与の影響ではないと判断した。

本試験において、7,000 ppm 投与群の雄で小葉中心性肝細胞肥大等、2,500 ppm 以上投与群の雌で肝/胆嚢絶対及び比重量増加が認められたので、無毒性量は雄で 2,500 ppm（248 mg/kg 体重/日）、雌で 800 ppm（88.0 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 2、42）

[7] 日本毒性病理学会編：新毒性病理組織学, 西村書店, 2017；731p.

表 39　肝臓における腫瘍性病変の発生頻度

性別	雄					雌				
投与群(ppm)	0	200	800	2,500	7,000	0	200	800	2,500	7,000
検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
肝細胞腺腫	9* (15.0)	6 (10.0)	4 (6.67)	12 (20.0)	17 (28.3)	1 (1.67)	1 (1.67)	1 (1.67)	2 (3.33)	3 (5.00)
肝細胞癌	1 (1.67)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (1.67)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)

( )内数値は検査動物数に対する割合(%)
*：Cochran-Armitage 傾向検定($p<0.05$)及び Peto 傾向検定($p<0.01$）で有意差あり

１２．生殖発生毒性試験

（１）１世代繁殖試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、400、1,500 及び 6,000 ppm、授乳期間中並びに雌雄 F_1 動物の離乳後 3 週間における投与濃度は 0、240、900 及び 3,600 ppm：平均検体摂取量は表 40 参照）投与による 1 世代繁殖試験が実施された。F_1 児動物には生後 60 日まで混餌投与が行われた。

表 40　１世代繁殖試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群				400/240 ppm	1,500/900 ppm	6,000/3,600 ppm
平均検体摂取量(mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	交配前	28.1	106	375
		雌	交配前	31.7	112	376
			妊娠期	28.1	99.0	369
			哺育期(生後 0～14 日)[b]	33.2	124	471
	F_1 世代[a]	雄	生後 21～42 日[b]	29.0	109	465
			生後 42～60 日	33.1	125	516
		雌	生後 21～42 日[b]	29.1	109	449
			生後 42～60 日	33.5	123	492

a：投与全期間を通じての平均検体摂取量は算出されていない。
b：親動物の授乳期間及び児動物の離乳後 3 週間（計 42 日間）は飼料中濃度が 0、240、900 及び 3,600 ppm に変更された。

各投与群で認められた毒性所見は表 41 に示されている。

児動物では、6,000/3,600 ppm 投与群の雄で包皮分離遅延が認められ（平均 5.1 日間）、性成熟後には精巣上体の絶対重量減少及び精巣上体管の萎縮が認められた。また、同投与群の雌雄では産児数の減少が認められており、親動物の 6,000/3,600 ppm 投与群の雌で認められた着床痕数の減少と関連するものと考えられた。

本試験において、親動物では 1,500/900 ppm 以上投与群の雄で小葉中心性肝細胞肥大等が、6,000/3,600 ppm 投与群の雌で体重増加抑制、着床痕数減少等が、児動物では 6,000/3,600 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制、産児数減少等が認め

られた。

親動物において体重増加抑制等の毒性がみられた高用量ではあるが、繁殖能に対する影響（着床数減少及びそれに起因する産児数減少）が認められた。本試験は2世代繁殖試験（ラット）［12. (2)］の用量設定のために実施された試験であり、一群当たりの動物数が少ないことから無毒性量は判断されなかったが、本剤投与による毒性プロファイルは把握可能と考えられたことから、食品安全委員会は本試験を評価資料とした。（参照2、43）

表41　1世代繁殖試験（ラット）で認められた毒性所見

<table>
<tr><th colspan="2" rowspan="2">投与群</th><th colspan="2">親：P、児：F_1</th></tr>
<tr><th>雄</th><th>雌</th></tr>
<tr><td rowspan="3">親動物</td><td>6,000/3,600 ppm</td><td>・体重増加抑制(投与7日以降)
・摂餌量減少(投与7日以降)
・門脈周囲性肝細胞空胞化[§]</td><td>・体重増加抑制(投与7日以降)
・摂餌量減少(投与7日以降)
・肝比重量増加
・小葉中心性肝細胞肥大[§]
・卵巣絶対重量減少
・着床痕数減少</td></tr>
<tr><td>1,500/900 ppm以上</td><td>・肝比重量増加
・小葉中心性肝細胞肥大[§]</td><td rowspan="2">1,500 ppm以下
毒性所見なし</td></tr>
<tr><td>400/240 ppm</td><td>毒性所見なし</td></tr>
<tr><td rowspan="3">児動物</td><td rowspan="2">6,000/3,600 ppm</td><td colspan="2">・出生時低体重
・産児数減少</td></tr>
<tr><td>・体重増加抑制
・摂餌量減少
・肝比重量増加
・脾絶対及び比重量減少(離乳時)[a]
・包皮分離遅延
・精巣上体絶対重量減少
・精巣上体管萎縮</td><td>・体重増加抑制
・摂餌量減少
・肝比重量増加
・脾絶対及び比重量減少(離乳時)[a]
・卵巣絶対重量減少</td></tr>
<tr><td>1,500/900 ppm以下</td><td>毒性所見なし</td><td>毒性所見なし</td></tr>
</table>

[§]：統計検定は実施されていないが、検体投与の影響と判断した。
[a]：毒性学的意義は不明であったが、有意差が認められたため検体投与の影響と判断した。

（２）2世代繁殖試験（ラット）

SDラット（一群雌雄各30匹）を用いた混餌（原体：0、100、500、1,500及び3,000 ppm、授乳期間中並びに雌雄F_1動物の離乳後3週間における投与濃度は0、60、300、900及び1,800 ppm：平均検体摂取量は表42参照）投与による2世代繁殖試験が実施された。

表 42　2 世代繁殖試験（ラット）の平均検体摂取量

<table>
<tr><th colspan="5">投与群</th><th>100/60
ppm</th><th>500/300
ppm</th><th>1,500/900
ppm</th><th>3,000/1,800
ppm</th></tr>
<tr><td rowspan="10">平均検体摂取量
(mg/kg 体重/日)</td><td rowspan="4">P
世代</td><td>雄</td><td colspan="2">交配前</td><td>6.29</td><td>31.7</td><td>92.8</td><td>184</td></tr>
<tr><td rowspan="3">雌</td><td colspan="2">交配前</td><td>7.17</td><td>34.8</td><td>103</td><td>197</td></tr>
<tr><td colspan="2">妊娠期</td><td>6.34</td><td>30.7</td><td>93.4</td><td>182</td></tr>
<tr><td colspan="2">哺育期(生後 0～14 日)[b]</td><td>8.20</td><td>41.1</td><td>125</td><td>256</td></tr>
<tr><td rowspan="6">F₁
世代</td><td rowspan="2">雄</td><td rowspan="4">交配前[a]</td><td>生後 21～42 日[b]</td><td>7.80</td><td>39.6</td><td>116</td><td>231</td></tr>
<tr><td>生後 42～91 日</td><td>7.21</td><td>36.0</td><td>106</td><td>211</td></tr>
<tr><td rowspan="4">雌</td><td>生後 21～42 日[b]</td><td>7.58</td><td>38.4</td><td>116</td><td>231</td></tr>
<tr><td>生後 42～91 日</td><td>7.50</td><td>38.5</td><td>112</td><td>226</td></tr>
<tr><td colspan="2">妊娠期</td><td>6.59</td><td>32.7</td><td>95.3</td><td>193</td></tr>
<tr><td colspan="2">哺育期(生後 0～14 日)</td><td>7.94</td><td>41.8</td><td>121</td><td>253</td></tr>
</table>

[a]：交配前全期間を通じての平均検体摂取量は算出されていない。
[b]：P 世代親動物の授乳期間及び F_1 世代親動物の離乳後 3 週間（計 42 日間）は飼料中濃度が 0、60、300、900 及び 1,800 ppm に変更された。

各投与群で認められた毒性所見は表 43 に示されている。

児動物では、3,000 ppm 投与群の F_1 雄で包皮分離遅延が認められたが（平均 2 日間）、体重増加抑制に伴う二次的な影響の可能性も考えられた。

本試験において、親動物では 1,500/900 ppm 以上投与群の雌雄で体重増加抑制及び摂餌量減少が、児動物では 3,000/1,800 ppm 投与群の雄及び 1,500/900 ppm 以上投与群の雌で脾絶対及び比重量減少等が認められたので、無毒性量は親動物の雌雄で 500/300 ppm（P 雄：31.7 mg/kg 体重/日、P 雌：30.7 mg/kg 体重/日、F_1 雄 : 36.0 mg/kg 体重/日、F_1 雌 : 32.7 mg/kg 体重/日）、児動物の雄で 1,500/900 ppm（P 雄 : 92.8 mg/kg 体重/日、F_1 雄 : 106 mg/kg 体重/日）、雌で 500/300 ppm（P 雌 : 30.7 mg/kg 体重/日、F_1 雌 : 32.7 mg/kg 体重/日）であると考えられた。繁殖能に対する影響は認められなかった。（参照 2、44）

表 43　2 世代繁殖試験（ラット）で認められた毒性所見

<table>
<tr><td colspan="2" rowspan="2">投与群</td><td colspan="2">親：P、児：F_1</td><td colspan="2">親：F_1、児：F_2</td></tr>
<tr><td>雄</td><td>雌</td><td>雄</td><td>雌</td></tr>
<tr><td rowspan="3">親動物</td><td>3,000/1,800 ppm</td><td></td><td></td><td></td><td>・体重増加抑制
・摂餌量減少</td></tr>
<tr><td>1,500/900 ppm 以上</td><td>・体重増加抑制[a]
・摂餌量減少[b]</td><td>・体重増加抑制[c]
・摂餌量減少[d]</td><td>・体重増加抑制
・摂餌量減少</td><td rowspan="2">1,500 ppm 以下
毒性所見なし</td></tr>
<tr><td>500/300 ppm 以下</td><td>毒性所見なし</td><td>毒性所見なし</td><td>毒性所見なし</td></tr>
<tr><td rowspan="4">児動物</td><td rowspan="2">3,000/1,800 ppm</td><td colspan="2">・体重増加抑制</td><td colspan="2">・体重増加抑制</td></tr>
<tr><td>・包皮分離遅延
・脾絶対及び比重量減少[e]</td><td></td><td>・脾絶対及び比重量減少[e]</td><td>・脾絶対及び比重量減少[e]</td></tr>
<tr><td>1,500/900 ppm 以上</td><td rowspan="2">1,500 ppm 以下
毒性所見なし</td><td>・脾絶対及び比重量減少[e]</td><td rowspan="2">1,500 ppm 以下
毒性所見なし</td><td rowspan="2">1,500 ppm 以下
毒性所見なし</td></tr>
<tr><td>500/300 ppm 以下</td><td>毒性所見なし</td></tr>
</table>

[a]：3,000/1,800 ppm 投与群：投与 8 日以降、1,500/900 ppm 投与群：投与 15 日以降
[b]：3,000/1,800 ppm 投与群：投与 1～8 日以降、1,500/900 ppm 投与群：投与 50～57 日
[c]：3,000/1,800 ppm 投与群：投与 8 日以降、1,500/900 ppm 投与群：妊娠 7 日以降
[d]：3,000/1,800 ppm 投与群：投与 1～8 日以降、1,500/900 ppm 投与群：投与 1～8 日
[e]：毒性学的意義は不明であったが、有意差が認められたため検体投与の影響と判断した。

（３）発生毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌 20 匹）の妊娠 6～20 日に強制経口（原体：0、25、50、100 及び 200 mg/kg 体重/日、溶媒：0.1% Tween 80 添加 0.5%MC 水溶液）投与して、発生毒性試験が実施された。

本試験において、母動物では 200 mg/kg 体重/日投与群で体重減少/増加抑制（妊娠 6～7 日以降）及び摂餌量減少（妊娠 6～8 日以降）が認められ、胎児ではいずれの投与群においても検体投与による影響は認められなかったので、無毒性量は母動物で 100 mg/kg 体重/日、胎児で本試験の最高用量 200 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。（参照 2、45）

（４）発生毒性試験（ウサギ）

NZW ウサギ（一群雌 22 匹）の妊娠 7～28 日に強制経口（原体：0、50、100、250 及び 500 mg/kg 体重/日、溶媒：0.1% Tween 80 添加 0.5%MC 水溶液）投与して、発生毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 44 に示されている。

母動物では、500 mg/kg 体重/日投与群の 1 例で体重減少及び摂餌量減少が認められ、妊娠 26 日にと殺された。

本試験において、500 mg/kg 体重/日投与群の母動物で体重減少/増加抑制等が認められ、胎児ではいずれの投与群においても検体投与による影響は認められな

かったので、無毒性量は母動物で 250 mg/kg 体重/日、胎児で本試験の最高用量 500 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 2、46)

表 44　発生毒性試験（ウサギ）で認められた毒性所見

投与群	母動物	胎児
500 mg/kg 体重/日	・排便減少(妊娠 8 日以降) ・体重減少(妊娠 8～9 日及び 28～29 日) ・体重増加抑制(妊娠 7～29 日) ・摂餌量減少(妊娠 7～8 日以降) ・RBC 減少 ・MCV、MCH 及び Ret 増加 ・脾絶対重量及び対脳重量比[8]増加	500 mg/kg 体重/日以下 毒性所見なし
250 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし	

１３．遺伝毒性試験

トリフルメゾピリム（原体）の細菌を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター卵巣由来細胞（CHO-K$_1$-BH$_4$）を用いた遺伝子突然変異試験、ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験並びにマウスの骨髄細胞及び末梢血細胞を用いた小核試験が実施された。

結果は表 45 に示されている。

染色体異常試験①及び②において、染色体異常を有する細胞割合の統計学的有意な増加が認められたが、これら 2 試験の結果は、それぞれ S9 mix の存在下及び非存在下で陽性を示し、再現性がなく、追加で実施された 2 試験（③及び④）の結果はいずれも陰性であった。さらに、***in vivo*** で実施された小核試験を含むその他の試験において全て陰性の結果が得られていることから、トリフルメゾピリムに生体において問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。（参照 2、47～58）

[8] 脳重量に比した重量を対脳重量比という。

表 45　遺伝毒性試験概要（原体）

試験		対象	処理濃度・投与量	結果
in vitro	復帰突然 変異試験①	*Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株) *Escherichia coli* (WP2*uvrA* 株)	50～5,000 μg/プレート(+/-S9)	陰性
	復帰突然 変異試験②	*S. typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株) *E. coli* (WP2*uvrA* 株)	50～5,000 μg/プレート(+/-S9)	陰性
	復帰突然 変異試験③	*S. typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株) *E. coli* (WP2*uvrA* 株)	667～5,000 μg/プレート (+/-S9)	陰性
	復帰突然 変異試験④	*S. typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株) *E. coli* (WP2*uvrA* 株)	667～5,000 μg/プレート (+/-S9)	陰性
	遺伝子 突然変異試験	チャイニーズハムスター卵巣 由来細胞 (CHO-K_1-BH_4)	250～1,500 μg/mL(+/−S9)	陰性
	染色体 異常試験①	ヒト末梢血リンパ球	①500～2,500 μg/mL(−S9) (4 時間処理後 16 時間で標本作製) ②500～2,000 μg/mL(+S9) (4 時間処理後 16 時間で標本作製) ③250～750 μg/mL(−S9) (20 時間処理後標本作製) ④500～2,800 μg/mL(+S9) (4 時間処理後 16 時間で標本作製)	+S9 で 陽性 [a]
	染色体 異常試験②	ヒト末梢血リンパ球	①250～1,500 μg/mL(+/−S9) (4 時間処理後 16 時間で標本作製) ②250～800 μg/mL(−S9) (20 時間処理後標本作製)	−S9 で 陽性 [a]
	染色体 異常試験③	ヒト末梢血リンパ球	①250～950 μg/mL(+/−S9) (4 時間処理後 18 時間で標本作製) ②100～750 μg/mL(−S9) (22 時間処理後標本作製)	陰性

	染色体 異常試験④	ヒト末梢血リンパ球	①250～750 μg/mL(+/-S9) (4 時間処理後 18 時間で標本作製) ②250～750 μg/mL(-S9) (22 時間処理後標本作製)	陰性
in vivo	小核試験①	ICR マウス(骨髄細胞) (一群雌雄各 5 匹)	500、1,000 及び 2,000 mg/kg 体重 (単回強制経口投与、24 及び 48 時間後採取)	陰性
	小核試験②	ICR マウス(骨髄細胞) (一群雌雄各 5 匹)	500、1,000 及び 2,000 mg/kg 体重 (単回強制経口投与、24 及び 48 時間後採取)	陰性
	小核試験③	ICR マウス(末梢血細胞) (一群雌雄各 5 匹)	500、1,000 及び 2,000 mg/kg 体重 (単回強制経口投与、48 及び 72 時間後採取)	陰性

注）+/-S9：代謝活性化系存在下及び非存在下
[a]：染色体の構造異常が認められた。

１４．その他の試験

（１）肝臓における発がんメカニズム試験（マウス）

マウスを用いた 18 か月間発がん性試験[11. (3)]において、7,000 ppm 投与群の雄で肝細胞腺腫の発生頻度の増加が認められたことから、そのメカニズムを解明する目的で、ICR マウス（一群雄 10 匹）にトリフルメゾピリムを 28 日間混餌（原体：0、200、800、2,500 及び 7,000 ppm：平均検体摂取量は表 46 参照）投与し、投与 3、8 及び 29（投与終了後）日に肝臓を採取して、肝細胞増殖活性及び CYP 酵素活性について検討された。陽性対照として、フェノバルビタール（PB）1,000 ppm（168 mg/kg 体重/日）投与群が設けられた。

表 46　肝臓における発がんメカニズム試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群		200 ppm	800 ppm	2,500 ppm	7,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	31.9	133	411	1,270

肝 Ki67 陽性細胞数は表 47 に、CYP 酵素活性と遺伝子発現の測定結果は表 48 にそれぞれ示されている。

7,000 ppm 投与群において肝細胞の増殖（投与 8 日）が、2,500 ppm 投与群において肝重量増加（投与 3、8 及び 29 日）及び小葉中心性肝細胞肥大がそれぞれ認められた。

本試験において、トリフルメゾピリム投与により CYP1A、CYP2B 及び CYP4A の増加は認められたが、CYP3A の増加は認められなかった。（参照 2、59）

表 47　肝 Ki67 陽性細胞数

測定日	トリフルメゾピリム					陽性対照 (PB)
	0 ppm	200 ppm	800 ppm	2,500 ppm	7,000 ppm	1,000 ppm
3	10.7	10.1	10.5	11.6	13.6	154*
8	16.0	9.5#	9.4#	16.4	32.7#	80.5#
29	13.0	13.5	14.2	24.3	17.5	25.0*

#：ノンパラメトリック Dunnet 検定 $p<0.05$、　*：Dunnet 検定 $p<0.05$
単位　Ki67 陽性肝細胞核数/mm^2

表 48　CYP 酵素活性と遺伝子発現

測定項目		測定日	トリフルメゾピリム					陽性対照 (PB)
			0 ppm	200 ppm	800 ppm	2,500 ppm	7,000 ppm	1,000 ppm
酵素活性[a]	CYP1A	3	15.4	14.8	24.5*	31.4*	41.1*	21.1*
		8	21.1	19.2	32.6*	39.3*	78.3*	89.2*
		29	16.5	14.6	23.4*	24.2*	43.5*	37.9*
	CYP2B	3	14.0	9.84*	15.4	17.2	35.8*	49.0*
		8	16.1	15.5	16.1	19.4*	48.9*	114*
		29	14.3	10.5*	11.8	12.6	28.4*	58.1*
	CYP3A	3	2,880	2,120#	2,280#	2,180#	1,680#	5,720#
		8	2,870	2,670	2,500	2,130*	2,280*	13,300*
		29	2,970	2,320*	2,380	1,750*	1,900*	6,770*
	CYP4A	3	2,010	2,190	2,750	3,190*	4,980*	1,450*
		8	2,310	1,980	2,990*	3,420*	6,230*	6,250*
		29	2,040	1,940	2,570	2,380	4,360*	2,560
	総 P450	3	325	258	330	377	400	260
		8	311	223	333	360	736*	1,200*
		29	239	156	202	170	353	301
遺伝子発現[b]	*CYP1A1*	3	1.0	-	-	-	1.8+	1.5+
		8	1.0	-	-	-	1.7+	1.4+
	CYP2B10	3	1.0	-	-	-	29.7+	100+
		8	1.0	-	-	-	99.4+	247+
	CYP3A11	3	1.0	-	-	-	2.1+	2.5+
		8	1.0	-	-	-	3.4+	2.8+
	CYP4A10	3	1.0	-	-	-	8.6+	0.3
		8	1.0	-	-	-	2.7	0.9

-：実施せず
#：ノンパラメトリック Dunnet 検定 $p<0.05$、　*：Dunnet 検定 $p<0.05$
+：Tukey 検定 $p<0.05$
a：単位　pmol/min/mg、総 P450 については nmol/mg
b：対照群の値を 1 とした場合の値

（２）ヒト及びマウスの肺ミクロソームにおける *in vitro* 比較代謝試験

肺におけるトリフルメゾピリムの代謝の種間比較を検討することを目的とし

て、ヒト女性及びマウス雌の肺ミクロソームを用いたトリフルメゾピリムの *in vitro* 代謝試験が実施された。

ミクロソームをNADPHとともにP450阻害剤の存在下又は非存在下でインキュベートした結果、両ミクロソームにおいていずれの条件下でもトリフルメゾピリムは代謝されなかった。（参照 2、60）

（３）肺におけるメカニズム試験（マウス）

マウスにおける 18 か月間発がん性試験[11. (3)]において、7,000 ppm 投与群の雌で肺の細気管支肺胞腺癌の発生頻度の増加が認められた。そのメカニズムを解明する目的で、ICR マウス（一群雌 10 匹）にトリフルメゾピリムを 4 又は 8 日間混餌（原体：0、200、2,500 及び 7,000 ppm：平均検体摂取量は表 49 参照）投与し、試験開始前日に BrdU 溶液を埋め込み、投与終了後に肺を採取して肺細気管支上皮における細胞増殖が検討された。陽性対照として、イソニアジド 1,300 ppm 投与群が設けられた。

表 49　肺におけるメカニズム試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群			200 ppm	2,500 ppm	7,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雌	4 日間	39	462	1,240
		8 日間	44	533	1,580

いずれの投与群においても、検体投与に関連した肉眼的又は病理組織学的所見並びに終末細気管支上皮における細胞増殖は認められなかった。（参照 2、61）

（４）ドーパミン受容体結合試験

ヒト受容体組換え細胞（CHO、CHO-K1 又は CHO-S）を用い、トリフルメゾピリム（濃度：0.003、0.01、0.03、0.1、0.3、1、3 及び 10 μM）の放射性リガンド法によるドーパミン受容体に対する結合阻害について検討された。その結果、最高濃度 10 μM においてもトリフルメゾピリムにはドーパミン受容体に対する結合能は認められなかった。（参照 2、62）

（５）子宮肥大（卵巣除去ラット）及びプロラクチン測定試験

トリフルメゾピリムのエストロゲン受容体アゴニスト様作用及び血清プロラクチンへの影響について検討するため、卵巣を摘出した SD ラット（一群雌 15 匹）を用いた 6 日間反復経口（原体：0、300 及び 500 mg/kg 体重/日）投与試験が実施された。陽性対照として、17α-エチニルエストラジオール及びメシル酸ブロモクリプチン投与群が設定された。

各投与群で認められた変化は表 50 に示されている。

トリフルメゾピリムには、エストロゲン受容体アゴニスト様作用は認められなかったが、500 mg/kg 体重/日投与群ではドーパミン様作用である血清プロラク

チン濃度の低下が認められた。（参照 2、63）

表 50　各投与群で認められた変化

投与群		所見及び変化
トリフルメゾピリム	500 mg/kg 体重/日	・血清プロラクチン濃度低下(39.5%)*
	300 mg/kg 体重/日以上	・体重増加抑制 ・摂餌量及び摂餌効率減少
17α-エチニルエストラジオール（陽性対照）	0.1 mg/kg 体重/日	・体重増加抑制 ・摂餌量及び摂餌効率減少 ・発情前期～発情期の膣スメア像 ・子宮絶対及び比重量増加 ・血清プロラクチン濃度上昇
メシル酸ブロモクリプチン（陽性対照）	20 mg/kg 体重/日	・体重増加抑制 ・摂餌量及び摂餌効率減少 ・血清プロラクチン濃度低下(1.9%)*

*：陰性対照群に対する%

（６）*In vitro* テストステロン及びエストロゲン受容体結合アッセイ

LnCAP 細胞の[^{3}H]メチルトリエノロンを用いて、トリフルメゾピリムのヒトテストステロン受容体への結合性が、また、MCF-7 細胞の 17-β-エストラジオールを用いて、ヒトエストロゲン受容体への結合性がそれぞれ確認された。トリフルメゾピリムは 1.0×10^{-8}～1.0×10^{-4}M の範囲の 8 濃度が設定された。陽性対照として非放射性メチルトリエノロン及び非放射性 17-β-エストラジオールがそれぞれ用いられた。

本試験の結果、トリフルメゾピリムにはテストステロン及びエストロゲン受容体いずれに対しても競争結合性はないことが示された。（参照 2、64）

（７）子宮における発がんメカニズム試験（ラット）

ラットにおける 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験[11. (2)]において、8,000 ppm 投与群の雌で認められた子宮（頚部を含む）における扁平上皮過形成及び扁平上皮癌の発生頻度増加のメカニズムについて検討するため、SD ラット（一群雌 50 匹）にトリフルメゾピリムを 85 日間混餌［原体：0 及び 8,000 ppm（平均検体摂取量：389 mg/kg 体重/日）］投与し、投与 2 週及び 1 か月に血漿中プロラクチン、プロゲステロン及びエストラジオールが測定された。陽性対照として、メシル酸ブロモクリプチン（強制経口投与：10 mg/kg 体重/日）投与群が設定された。

血漿中ホルモン濃度及び各発情周期の動物数は表 51 に示されている。

トリフルメゾピリム投与群では、ほぼ投与期間にわたって体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。また、統計学的に有意な肝比重量の増加が認められた。

本剤投与により、いずれの性周期においても血漿中プロラクチン、プロゲステロン及びエストラジオール濃度の低下が認められ、特にプロラクチンで顕著であ

った。メシル酸ブロモクリプチン投与群のホルモン値に有意差は認められなかった。

発情個体の減少（投与 2 週及び 1 か月で、対照群 18 及び 16 例に対しトリフルメゾピリム投与群 3 及び 10 例）が認められた。（参照 65）

表 51 血漿中ホルモン濃度及び各発情周期の動物数

検査時期	群	動物数	エストラジオール (pg/mL)	プロゲステロン (ng/mL)	プロラクチン (ng/mL)	P4:E2[b]
全動物						
2 週	対照	50	102 ± 31.6	10.7 ± 9.87	55.9 ± 65.3	106 ± 113
	トリフルメゾピリム	50	67.5 ± 17.1*	4.42 ± 5.14*	4.67 ± 9.68*	59.5 ± 63.5*
	陽性対照[a]	50	78.1 ± 23.4*	10.0 ± 6.92	28.5 ± 37.5	124 ± 92.2
1 か月	対照	50	111 ± 32.5	15.4 ± 11.9	54.0 ± 51.7	136 ± 113
	トリフルメゾピリム	50	84.9 ± 27.9*	9.40 ± 8.98*	26.1 ± 33.9*	104 ± 101
	陽性対照[a]	48	94.9 ± 30.1*	13.8 ± 8.03	33.1 ± 25.6	145 ± 110
発情間期[c]						
検査時期	群	動物数	エストラジオール (pg/mL)	プロゲステロン (ng/mL)	プロラクチン (ng/mL)	P4:E2[b]
2 週	対照	28	97.0 ± 24.9	14.6 ± 11.6	38.2 ± 51.4	147 ± 135
	トリフルメゾピリム	40	66.5 ± 17.3*	4.50 ± 5.68*	4.58 ± 10.3*	61.6 ± 70.1*
	陽性対照[a]	29	71.9 ± 15.8*	12.6 ± 7.96	26.0 ± 41.1	160 ± 103
1 か月	対照	29	107 ± 30.0	18.8 ± 13.4	37.6 ± 43.3	167 ± 126
	トリフルメゾピリム	34	82.8 ± 26.8*	10.1 ± 9.19*	19.1 ± 23.3*	112 ± 104
	陽性対照[a]	26	85.3 ± 16.5*	18.1 ± 8.31	26.1 ± 19.9	198 ± 118
発情前期[c]						
検査時期	群	動物数	エストラジオール (pg/mL)	プロゲステロン (ng/mL)	プロラクチン (ng/mL)	P4:E2[b]
2 週	対照	4	152 ± 50.8	5.46 ± 3.81	24.8 ± 22.0	41.2 ± 45.3
	トリフルメゾピリム	7	67.3 ± 14.9*	4.02 ± 2.18	6.14 ± 8.05	52.1 ± 26.4
	陽性対照[a]	3	90.3 ± 21.8*	5.93 ± 2.53	25.4 ± 10.1	63.5 ± 41.3
1 か月	対照	5	166 ± 22.6	4.77 ± 2.87	47.5 ± 50.7	25.0 ± 15.8
	トリフルメゾピリム	6	88.2 ± 18.1*	11.9 ± 13.1	39.8 ± 49.5	120 ± 140
	陽性対照[a]	6	123 ± 37.2*	8.55 ± 5.24	27.4 ± 25.1	76.7 ± 84.1
発情期[c]						
検査時期	群	動物数	エストラジオール (pg/mL)	プロゲステロン (ng/mL)	プロラクチン (ng/mL)	P4:E2[b]
2 週	対照	18	97.5 ± 27.8	5.68 ± 2.62	90.3 ± 77.6	57.6 ± 33.4
	トリフルメゾピリム	3	81.3 ± 20.0	4.30 ± 1.34	2.31 ± 2.62*	48.8 ± 22.2
	陽性対照[a]	18	86.2 ± 30.9	6.45 ± 2.31	33.0 ± 35.1*	76.7 ± 41.6
1 か月	対照	16	100 ± 21.3	12.6 ± 7.60	85.9 ± 54.0	115 ± 73.6
	トリフルメゾピリム	10	90.1 ± 37.2	5.58 ± 3.30*	41.7 ± 48.2*	64.5 ± 56.2*

	陽性対照[a]	16	100 ± 37.6	8.62 ± 2.49	46.8 ± 29.8*	85.5 ± 40.3

Dunnett 検定　*：$p<0.05$
[a]：メシル酸ブロモクリプチン投与群
[b]：プロゲステロンのモル濃度/エストラジオールのモル濃度
[c]：採血時におけるスメアの状態により判断

［ラットにおける子宮（頚部を含む）の扁平上皮癌発生メカニズムのまとめ］

子宮における発がんメカニズム試験[14. (7)]において、トリフルメゾピリム投与により血漿中プロラクチン濃度の低下が認められた。ドーパミン受容体結合試験[14. (4)]及び子宮肥大試験[14. (5)]の結果から、本剤がエストロゲン作用を示さず、メシル酸ブロモクリプチンとは異なる作用を有すると考えられたが、ラットにおける扁平上皮癌の発生機序を明らかにすることはできなかった。

（８）28 日間免疫毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌 10 匹）を用いて、トリフルメゾピリムを 28 日間混餌（原体：0、100、500、2,000 及び 6,000 ppm：平均検体摂取量は表 52 参照）投与し、投与 24 日にヒツジ赤血球を静脈内投与して 28 日間免疫毒性試験が実施された。陽性対照として、投与終了 5 日前から 25 mg/kg 体重/日の用量でシクロフォスファミドが腹腔内投与された。

表 52　28 日間免疫毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		100 ppm	500 ppm	2,000 ppm	6,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雌	8.84	41.4	166	474

いずれの検体投与群においても、抗ヒツジ赤血球 IgM 価に検体投与の影響は認められず、脳、脾臓及び胸腺の重量についても対照群との差は認められなかった。

本試験において、2,000 ppm 以上投与群で体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。本試験条件下で免疫毒性は認められなかった。（参照 2、66）

Ⅲ．食品健康影響評価

参照に挙げた資料を用いて、農薬「トリフルメゾピリム」の食品健康影響評価を実施した。

^{14}C で標識したトリフルメゾピリムのラットを用いた動物体内運命試験の結果、単回経口投与後 48 時間の吸収率は、低用量群では少なくとも雄で 77.4%、雌で 84.2%、高用量群では少なくとも雄で 54.4%、雌で 63.4%と算出された。臓器及び組織中残留放射能は胃腸管、肝臓、腎臓、膀胱、下垂体等で高かったが、経時的に減少し、特定の臓器及び組織における放射能の蓄積性は認められなかった。投与放射能は投与後 48 時間でほとんど排泄され、低用量では尿中に、高用量では糞中に多く排泄された。高用量で糞中排泄率が高くなるのは、吸収率の低下が一因と考えられた。尿、糞及び血漿中放射能の大部分は未変化のトリフルメゾピリムであり、代謝物として尿中では A、C、J、L、P-OH 等が、糞中では A、F、J 等が、血漿中では A、C、D 等が検出された。

^{14}C で標識したトリフルメゾピリムの畜産動物を用いた動物体内運命試験の結果、主要成分は未変化のトリフルメゾピリムであり、10%TRR を超える代謝物として、ヤギでは J 及び Jg が、ニワトリでは C 及び J が検出された。

^{14}C で標識したトリフルメゾピリムの水稲を用いた植物体内運命試験の結果、残留放射能の主要成分は未変化のトリフルメゾピリムであり、10%TRR を超える代謝物として、茎葉処理の玄米で H が、未成熟茎葉及び稲わらで L がそれぞれ認められた。

トリフルメゾピリム及び代謝物 B を分析対象化合物とした作物残留試験の結果、トリフルメゾピリムの最大残留値は、稲わらの 0.02 mg/kg であり、可食部である玄米では全て定量限界未満であった。代謝物 B は全ての試料で定量限界未満であった。泌乳牛を用いた畜産物残留試験の結果、トリフルメゾピリムの最大残留値は肝臓における 0.036 μg/g であった。

各種毒性試験結果から、トリフルメゾピリム投与による影響は、主に体重（増加抑制）、血液（貧血）及び肝臓（重量増加、T.Chol 増加等）に認められた。催奇形性、免疫毒性及び生体において問題となる遺伝毒性は認められなかった。雌のラットにおいて、血中プロラクチン濃度の低下が認められた。

ラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験において雌で子宮（頚部を含む）の扁平上皮癌、マウスを用いた 18 か月間発がん性試験において雄で肝細胞腺腫の発生頻度がそれぞれ増加したが、腫瘍の発生機序は遺伝毒性メカニズムによるものとは考え難く、評価に当たり閾値を設定することは可能であると考えられた。

ラットを用いた 2 世代繁殖試験において繁殖能に対する影響は認められなかったが、より高用量で実施された 1 世代繁殖試験において着床数及び産児数の減少並びに雌雄 F_1 動物の生殖機能発達の遅延傾向が認められた。

植物体内運命試験において代謝物 H 及び L が、畜産動物を用いた動物体内運命試験において代謝物 C、J 及び Jg がそれぞれ 10%TRR を超えて認められたが、これらはラットにおいても認められていることから、農産物及び畜産物中の暴露評価

対象物質をトリフルメゾピリム（親化合物のみ）と設定した。

各試験における無毒性量等は表 53 に、単回経口投与等により惹起されると考えられる毒性影響等は表 54 にそれぞれ示されている。

食品安全委員会は、各試験で得られた無毒性量のうち最小値は、ラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験の 3.23 mg/kg 体重/日であったことから、これを根拠として、安全係数 100 で除した 0.032 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量（ADI）と設定した。

また、トリフルメゾピリムの単回経口投与等により生ずる可能性のある毒性影響に対する無毒性量のうち最小値は、ラットを用いた急性神経毒性試験及び発生毒性試験の 100 mg/kg 体重/日であったことから、これを根拠として、安全係数 100 で除した 1 mg/kg 体重を急性参照用量（ARfD）と設定した。

ADI	0.032 mg/kg 体重/日
（ADI 設定根拠資料）	慢性毒性/発がん性併合試験
（動物種）	ラット
（期間）	2 年間
（投与方法）	混餌
（無毒性量）	3.23 mg/kg 体重/日
（安全係数）	100

ARfD	1 mg/kg 体重
（ARfD 設定根拠資料①）	急性神経毒性試験
（動物種）	ラット
（期間）	単回
（投与方法）	強制経口
（無毒性量）	100 mg/kg 体重
（ARfD 設定根拠資料②）	発生毒性試験
（動物種）	ラット
（期間）	妊娠 6～20 日
（投与方法）	強制経口
（無毒性量）	100 mg/kg 体重/日
（安全係数）	100

表 53　各試験における無毒性量等

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)	最小毒性量 (mg/kg 体重/日)	備考 [1)]
ラット	28 日間亜急性毒性試験	0、200、800、4,000、20,000/10,000 ppm 雄：0、16.6、64.9、309、653 雌：0、16.1、63.6、317、627	雄：309 雌：63.6	雄：653 雌：317	雌雄：RBC 減少等
	90 日間亜急性毒性試験①	0、100、400、1,500、6,000 ppm 雄：0、4.5、18、70、274 雌：0、6.0、23、83、316	雄：70 雌：83	雄：274 雌：316	雌雄：体重増加抑制及び摂餌量減少
	90 日間亜急性毒性試験②	0、100、400、1,500、6,000 ppm 雄：0、4.17、17.0、63.9、257 雌：0、5.13、20.4、74.3、278	雄：63.9 雌：74.3	雄：257 雌：278	雌雄：体重増加抑制及び摂餌量減少
	2 年間慢性毒性/発がん性併合試験	0、100、500、2,000、8,000 ppm 雄：0、3.03、15.9、70.6、284 雌：0、3.23、17.3、73.8、396	雄：15.9 雌：3.23	雄：70.6 雌：17.3	雌雄：体重増加抑制 (雌：子宮(頸部を含む)扁平上皮癌の発生頻度の増加)
	1 世代繁殖試験	0、400/240、1,500/900、6,000/3,600 ppm P 雄：0、28.1、106、375 P 雌：0、28.1、99.0、369 F_1 雄：0、29.0、109、465 F_1 雌：0、29.1、109、449			(着床数減少及びそれに起因する産児数減少)
	2 世代繁殖試験	0、100/60、500/300、1,500/900、3,000/1,800 ppm	親動物 P 雄：31.7 P 雌：30.7 F_1 雄：36.0	親動物 P 雄：92.8 P 雌：93.4 F_1 雄：106	親動物 雌雄：体重増加抑制及び摂餌量減少

<table>
<tr><th>動物種</th><th>試験</th><th>投与量
(mg/kg 体重/日)</th><th>無毒性量
(mg/kg 体重/日)</th><th>最小毒性量
(mg/kg 体重/日)</th><th>備考 1)</th></tr>
<tr><td rowspan="2"></td><td></td><td>P 雄:0、6.29、31.7、92.8、184
P 雌:0、6.34、30.7、93.4、182
F1 雄：0、7.21、36.0、106、211
F1 雌：0、6.59、32.7、95.3、193</td><td>F1 雌：32.7

児動物
P 雄：92.8
P 雌：30.7
F1 雄：106
F1 雌：32.7</td><td>F1 雌：95.3

児動物
P 雄：184
P 雌：93.4
F1 雄：211
F1 雌：95.3</td><td>児動物
雌雄：脾絶対及び比重量減少等

(繁殖能に対する影響は認められない)</td></tr>
<tr><td>発生毒性試験</td><td>0、25、50、100、200</td><td>母動物：100
胎児：200</td><td>母動物：200
胎児：－</td><td>母動物：体重増加抑制及び摂餌量減少

胎児：毒性所見なし

(催奇形性は認められない)</td></tr>
<tr><td rowspan="3">マウス</td><td>28 日間亜急性毒性試験</td><td>0、200、800、2,500、7,000 ppm
雄：0、33.6、129、416、1,100
雌：0、40.7、161、504、1,340</td><td>雄：416
雌：504</td><td>雄：1,100
雌：1,340</td><td>雌雄：小葉中心性肝細胞肥大及び T.Chol 増加</td></tr>
<tr><td>90 日間亜急性毒性試験</td><td>0、200、800、2,500、7,000 ppm
雄：0、31.4、125、417、1,130
雌：0、44.1、177、476、1,530</td><td>雄：1,130
雌：1,530</td><td>雄：－
雌：－</td><td>雌雄：毒性所見なし</td></tr>
<tr><td>18 か月間発がん性試験</td><td>0、200、800、2,500、7,000 ppm
雄：0、20.1、84.5、248、727
雌：0、21.8、88.0、283、810</td><td>雄：248
雌：88.0</td><td>雄：727
雌：283</td><td>雄：小葉中心性肝細胞肥大等
雌：肝絶対及び比重量増加

(雄：肝細胞腺腫の発生頻度の増加)</td></tr>
<tr><td>ウサギ</td><td>発生毒性試験</td><td>0、50、100、250、500</td><td>母動物：250
胎児：500</td><td>母動物：500
胎児：－</td><td>母動物：体重減少及び摂餌量減少等

胎児：毒性所見なし</td></tr>
</table>

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)	最小毒性量 (mg/kg 体重/日)	備考[1)]
					(催奇形性は認められない)
イヌ	90 日間亜急性毒性試験	0、100、400、1,000、4,000 ppm 雄：0、3.05、12.2、26.6、115 雌：0、2.69、12.2、26.9、131	雄：26.6 雌：26.9	雄：115 雌：131	雌雄：体重減少/体重増加抑制等
	1 年間慢性毒性試験	0、40、100、400、1,000/2,000(雌)、2,000(雄) ppm 雄：0、1.53、3.31、11.1、53.2 雌：0、1.20、3.37、10.8、55.9	雄：53.2 雌：55.9	雄：－ 雌：－	雌雄：毒性所見なし
ADI			NOAEL：3.23 SF：100 ADI：0.032		
ADI 設定根拠資料			ラット 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験		

ADI：一日摂取許容量　SF：安全係数　NOAEL：無毒性量
－：最小毒性量が設定できなかった。
/：該当なし
1)：備考欄には最小毒性量で認められた主な毒性所見等を記した。

表 54　単回経口投与等により生ずる可能性のある毒性影響等

<table>
<tr><th>動物種</th><th>試験</th><th>投与量
(mg/kg 体重
又は mg/kg 体重/日)</th><th>無毒性量及び急性参照用量設定
に関連するエンドポイント [1]
(mg/kg 体重又は mg/kg 体重/日)</th></tr>
<tr><td rowspan="4">ラット</td><td>急性毒性試験①</td><td>雄：5,000
雌：2,500、3,750、
4,375、5,000</td><td>雄：－
雌：－

雄：体重減少、高い姿勢、眼瞼下垂
雌：高い姿勢、汚れ</td></tr>
<tr><td>急性毒性試験②</td><td>雌：4,390、5,000</td><td>雌：4,390

雌：糞量減少</td></tr>
<tr><td>急性神経毒性試験</td><td>0、100、500、2,000</td><td>雌雄：100

雌雄：体重減少及び摂餌量減少、体温低下、自発運動量減少及び総運動回数減少</td></tr>
<tr><td>発生毒性試験</td><td>0、25、50、100、200</td><td>母動物：100

母動物：体重増加抑制</td></tr>
<tr><td>マウス</td><td>一般薬理試験
(中枢神経系)</td><td>0、80、400、2,000</td><td>雌雄：400

雌雄： 自発運動量減少</td></tr>
<tr><td colspan="3">ARfD</td><td>NOAEL：100
SF：100
ARfD：1</td></tr>
<tr><td colspan="3">ARfD 設定根拠資料</td><td>ラット急性神経毒性試験
ラット発生毒性試験</td></tr>
</table>

ARfD：急性参照用量　SF：安全係数　NOAEL：無毒性量
－：無毒性量が設定できなかった。
[1]：最小毒性量で認められた主な毒性所見を記した。

＜別紙１：代謝物/分解物略称＞

記号	略称	化学名
P-OH	トリフルメゾピリム水酸化体、OH-RAB55	－
Pg	トリフルメゾピリムグルクロン酸抱合体 RAB55 gluc	2-(β-D-グルクロノピラノシルオキシ) -2,3-ジヒドロ-1-(ピリミジン-5-イルメチル)-3-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]-2*H*-ピリド[1,2-*a*]ピリミジン-1-イウム-4-オン
A	IN-RPA19	*N*-[(5-ピリミジニル)メチル]-2-ピリジンアミン
B	IN-RPA16	5-ピリミジンカルボン酸
C	IN-R3Z91	1-[(1-オキシドピリミジン-1-イウム-5-イル)メチル]-4-オキソ-3-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ピリド[1,2-*a*]ピリミジン-1-イウム-2-オレート
D	IN-RPD47	2-ヒドロキシ-3-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]-4*H*-ピリド[1,2-*a*]ピリミジン-4-オン
E	IN-RUB93	2-(2-ピリジル)-*N*-(ピリミジン-5-イルメチル)-2-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]アセタミド
E-OH	IN-RUB93 水酸化体、OH-RUB93	－
Eg	IN-RUB93-O-グルクロン酸抱合体、RUB93-O-gluc	－
F	IN-SBV06	2-(2-ピリジルオキシ)-*N*-(ピリミジン-5-イルメチル)-2-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]アセタミド
F-OH	IN-SBV06 水酸化体、OH-SBV06	－
G	IN-SBY68	*N*-[(2,4-ジオキソ-1*H*-ピリミジ-5-イル)メチル]-2-(2-ピリジルオキシ)-2-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]アセタミド
H	IN-Y2186	3-トリフルオロメチル安息香酸
I	IN-RUA92	5-ピリミジンメチルアミン
J	IN-R6U70	3,4-ジヒドロ-2,4-ジオキソ-1-(ピリミジン-5-イルメチル)-3-(4-ヒドロキシ-3-(トリフルオロメチル)フェニル)-2*H*-ピリド[1,2-*a*]ピリミジン-1-イウム-3-イド
Jg	IN-R6U70 グルクロン酸抱合体、R6U70-gluc	3,4-ジヒドロ-2,4-ジオキソ-1-(ピリミジン-5-イルメチル)-3-[4-(β-D-グルクロノピラノシルオキシ)-3-(トリフルオロメチル)フェニル]-2*H*-ピリド[1,2-*a*]ピリミジン-1-イウム-3-イド
Js	IN-R6U70 硫酸抱合体、R6U70 sulfate	3,4-ジヒドロ-2,4-ジオキソ-1-(ピリミジン-5-イルメチル)-3-(4-スルホオキシ-3-(トリフルオロメチル)フェニル)-2*H*-ピリド[1,2-*a*]ピリミジン-1-イウム-3-イド

K	IN-R6U71	3,4-ジヒドロ-2,4-ジオキソ-1-(ピリミジン-5-イルメチル)-3-(2-ヒドロキシ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-2*H*-ピリド[1,2-*a*]ピリミジン-1-イウム-3-イド
Kg	IN-R6U71 グルクロン酸抱合体、 R6U71-gluc	3,4-ジヒドロ-2,4-ジオキソ-1-(ピリミジン-5-イルメチル)-3-[2-(β-D-グルクロノピラノシルオキシ)-5-(トリフルオロメチル)フェニル]-2*H*-ピリド[1,2-*a*]ピリミジン-1-イウム-3-イド
L	IN-R6U72	3-[3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル]-3,4-ジヒドロ-2,4-ジオキソ-1-(5-ピリミジニルメチル)-2*H*-ピリド[1,2-*a*]ピリミジニウム分子内塩
M	IN-R6U73	3-[5-カルボキシ-2-ヒドロキシフェニル]-3,4-ジヒドロ-2,4-ジオキソ-1-(5-ピリミジニルメチル)-2*H*-ピリド[1,2-*a*]ピリミジニウム分子内塩

＜別紙 2：検査値等略称＞

略称	名称
A/G 比	アルブミン/グロブリン比
ai	有効成分量（active ingredient）
Alb	アルブミン
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ ［=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ（GPT）］
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ ［=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ（GOT）］
AUC	薬物濃度曲線下面積
BCF	生物濃縮係数
BUN	血液尿素窒素
CAR	恒常性アンドロスタン受容体の同義語（constitutively active receptor）
C_{max}	最高濃度
CYP	チトクローム P450 アイソザイム
Eos	好酸球数
Glob	グロブリン
Hb	ヘモグロビン（血色素量）
HPLC	高速液体クロマトグラフ
Ht	ヘマトクリット値［＝血中血球容積（PCV）］
LUC	大型非染色球数
MC	メチルセルロース
MCH	平均赤血球血色素量
MCV	平均赤血球容積
NADPH	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
PEC	環境中予測濃度
PHI	最終使用から収穫までの日数
PLT	血小板数
RBC	赤血球数
RDW	赤血球分布幅
Ret	網状赤血球数
$T_{1/2}$	消失半減期
TAR	総投与（処理）放射能
T.Chol	総コレステロール
TLC	薄層クロマトグラフ
T_{max}	最高濃度到達時間
TP	総蛋白質

略称	名称
TRR	総残留放射能
UDPGT	UDP-グルクロン酸抱合酵素

＜別紙 3：作物残留試験成績＞

作物名 (栽培形態) (分析部位) 実施年度	使用量 (g ai/ha)	試験ほ場数	回数 (回)	PHI (日)	残留値(mg/kg)[*1,*2]				
					トリフルメゾピリム		代謝物 B		合計値
					最高値	平均値	最高値	平均値	
水稲 (露地) (玄米) 平成 25 年度	50 g ai/箱[G]	1	1	133	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
		1	1	105	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
		1	1	124	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
		1	1	108	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
水稲 (露地) (もみ米) 平成 25 年度		1	1	133	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
		1	1	105	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
		1	1	124	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
		1	1	108	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
水稲 (露地) (稲わら) 平成 25 年度		1	1	133	0.02	0.02	<0.04	<0.04	0.06
		1	1	105	0.01	0.01	<0.04	<0.04	0.05
		1	1	124	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
		1	1	108	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
水稲 (露地) (玄米) 平成 26 年度	50 g ai/箱[G]	1	1	134	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
		1	1	121	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
		1	1	125	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
		1	1	111	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
水稲 (露地) (もみ米) 平成 26 年度		1	1	134	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
		1	1	121	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
		1	1	125	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
		1	1	111	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05

作物名 (栽培形態) (分析部位) 実施年度	使用量 (g ai/ha)	試験ほ場数	回数 (回)	PHI (日)	残留値(mg/kg) [*1,*2]				
					トリフルメゾピリム		代謝物 B		合計値
					最高値	平均値	最高値	平均値	
水稲 (露地) (稲わら) 平成 26 年度		1	1	134	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
		1	1	121	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
		1	1	125	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
		1	1	111	<0.01	<0.01	<0.04	<0.04	<0.05
水稲 (露地) (玄米) 平成 25 年度	50 g ai/箱 [G] + 25 [SC] (茎葉散布)×2 [a]	1	3	7 14 21	<0.01 <0.01 <0.01	<0.01 <0.01 <0.01	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	<0.05 <0.05 <0.05
		1	3	7 14 21	<0.01 <0.01 <0.01	<0.01 <0.01 <0.01	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	<0.05 <0.05 <0.05
		1	3	7 15 21	<0.01 <0.01 <0.01	<0.01 <0.01 <0.01	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	<0.05 <0.05 <0.05
		1	3	7 14 21	<0.01 <0.01 <0.01	<0.01 <0.01 <0.01	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	<0.05 <0.05 <0.05
水稲 (露地) (もみ米) 平成 25 年度		1	3	7 14 21	0.18 0.08 0.02	0.18 0.08 0.02	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	0.22 0.12 0.06
		1	3	7 14 21	0.06 0.03 0.04	0.06 0.03 0.04	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	0.10 0.07 0.08
		1	3	7 15 21	0.08 0.07 0.04	0.08 0.07 0.04	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	0.12 0.11 0.08
		1	3	7 14 21	0.05 0.03 0.04	0.04 0.03 0.04	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	0.08 0.07 0.08
水稲 (露地) (稲わら)		1	3	7 14 21	0.41 0.29 0.08	0.40 0.28 0.08	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	0.44 0.32 0.12

作物名 (栽培形態) (分析部位) 実施年度	使用量 (g ai/ha)	試験ほ場数	回数 (回)	PHI (日)	残留値(mg/kg) [*1,*2]				
					トリフルメゾピリム		代謝物 B		合計値
					最高値	平均値	最高値	平均値	
平成 25 年度		1	3	7 14 21	0.27 0.08 0.10	0.27 0.08 0.10	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	0.31 0.12 0.14
		1	3	7 15 21	0.56 0.18 0.10	0.56 0.18 0.10	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	0.60 0.22 0.14
		1	3	7 14 21	0.16 0.11 0.08	0.16 0.11 0.08	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	0.20 0.15 0.12
水稲 (露地) (玄米) 平成 26 年度	50 g ai/箱 [G] + 25 [SC] (茎葉散布)×2 [a]	1	3	7 14 21	<0.01 <0.01 <0.01	<0.01 <0.01 <0.01	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	<0.05 <0.05 <0.05
		1	3	7 14 21	<0.01 <0.01 <0.01	<0.01 <0.01 <0.01	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	<0.05 <0.05 <0.05
		1	3	7 14 20	<0.01 <0.01 <0.01	<0.01 <0.01 <0.01	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	<0.05 <0.05 <0.05
		1	3	7 14 21	<0.01 <0.01 <0.01	<0.01 <0.01 <0.01	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	<0.05 <0.05 <0.05
水稲 (露地) (もみ米) 平成 26 年度		1	3	7 14 21	0.12 0.10 0.05	0.12 0.10 0.05	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	0.16 0.14 0.09
		1	3	7 14 21	0.13 0.14 0.15	0.13 0.14 0.15	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	0.17 0.18 0.19
		1	3	7 14 20	0.03 0.04 0.04	0.03 0.04 0.04	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	0.07 0.08 0.08
		1	3	7 14 21	0.06 0.04 0.05	0.06 0.04 0.05	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	0.10 0.08 0.09
水稲 (露地) (稲わら)		1	3	7 14 21	0.38 0.33 0.14	0.38 0.32 0.14	<0.04 <0.04 <0.04	<0.04 <0.04 <0.04	0.42 0.36 0.18

作物名 (栽培形態) (分析部位) 実施年度	使用量 (g ai/ha)	試験ほ場数	回数 (回)	PHI (日)	残留値(mg/kg) *1,*2				
					トリフルメゾピリム		代謝物B		合計値
					最高値	平均値	最高値	平均値	
平成26年度		1	3	7	0.17	0.16	<0.04	<0.04	0.20
				14	0.24	0.24	<0.04	<0.04	0.28
				21	0.12	0.12	<0.04	<0.04	0.16
		1	3	7	0.07	0.07	<0.04	<0.04	0.11
				14	0.09	0.09	<0.04	<0.04	0.13
				20	0.07	0.07	<0.04	<0.04	0.11
		1	3	7	0.19	0.18	<0.04	<0.04	0.22
				14	0.06	0.06	<0.04	<0.04	0.10
				21	0.03	0.03	<0.04	<0.04	0.07

G：0.75%粒剤、SC：10%フロアブル剤
[a]：土壌処理と茎葉処理の体系処理は申請された使用方法から逸脱している。
*1：トリフルメゾピリム換算値
*2：全てのデータが定量限界未満の場合は定量限界値の平均に<を付して記載した。

＜別紙 4：畜産物残留試験成績＞

試料	試料 採取日	残留値(μg/g)			
		1 mg/kg 飼料	3 mg/kg 飼料	10 mg/kg 飼料	10 mg/kg 飼料 (消失試験群)
乳汁	投与-1 日	ND	ND	ND	−
	投与 1 日	ND	0.003	0.013 0.015 0.012	−
	投与 3 日	ND	0.007	0.021 0.022 0.017	−
	投与 5 日	0.003 [a]	0.006	0.019 0.022 0.018	−
	投与 7 日	0.003	0.005	0.015 0.017 0.022 0.019	−
	投与 10 日	<0.003 [b]	0.006	0.021 0.023 0.018	−
	投与 14 日	<0.003 [b]	0.005	0.021 0.021 0.025	−
	投与 21 日	<0.003 [b]	0.005	0.022 0.020 0.021	−
	投与 24 日	−	−	0.020 0.018 0.020	−
	投与 28 日	<0.003 [b]	0.004	0.018 0.021 0.020 0.017 0.017	−
	投与 29 日	−	−	−	0.034 0.027
	投与 30 日	−	−	−	0.029 0.029

試料	試料 採取日	残留値(μg/g)			
		1 mg/kg 飼料	3 mg/kg 飼料	10 mg/kg 飼料	10 mg/kg 飼料 (消失試験群)
	投与終了 1 日	―	―	―	0.012 0.012
	投与終了 2 日	―	―	―	0.021 ND
	投与終了 3 日	―	―	―	0.006 ND
	投与終了 4 日	―	―	―	ND
	投与終了 5 日	―	―	―	ND
	投与終了 6 日	―	―	―	ND
	投与終了 7 日	―	―	―	ND
クリーム	投与 14 日	―	―	0.022 0.027 0.029	―
	投与 21 日	―	―	0.023 0.020 0.026	―
脱脂乳	投与 14 日	―	―	0.018 0.019 0.021	―
	投与 21 日	―	―	0.019 0.021 0.017	―
肝臓	投与終了 1 日	0.005～0.007 0.008～0.010 0.010～0.011	0.005～0.008 0.007～0.008 0.006～0.010	0.031 0.036 0.035	―
	投与終了 4 日	―	―	―	ND
	投与終了 8 日	―	―	―	ND
腎臓	投与終了 1 日	0.004～0.009 0.005～0.013 0.006～0.010	ND～0.008 0.006～0.008 0.006～0.008	0.022 0.024 0.024	―
	投与終了 4 日	―	―	―	0.004
	投与終了 8 日	―	―	―	ND
筋肉	投与終了 1 日	―	―	ND	―
	投与終了 4 日	―	―	―	ND
	投与終了 8 日	―	―	―	ND
脂肪	投与終了 1 日	―	―	ND	―

試料	試料 採取日	残留値(μg/g)			
		1 mg/kg 飼料	3 mg/kg 飼料	10 mg/kg 飼料	10 mg/kg 飼料 (消失試験群)
	投与終了 4 日	－	－	－	ND
	投与終了 8 日	－	－	－	ND

－：試料なし又は分析せず　　ND：検出されず(検出限界 0.003 μg/g)
[a]：3 動物中 1 動物で 0.004 μg/g 検出
[b]：0.003 μg/g の検出例があるが、平均すると 0.003 μg/g 未満となる。

<参照>

1. 食品健康影響評価について（平成 29 年 2 月 13 日付け厚生労働省発生食 0213 第 2 号）
2. トリフルメゾピリム　試験成績の概要及び考察（平成 28 年 5 月 10 日）：デュポン株式会社、一部公表
3. ^{14}C-DPX-RAB55: Absorption, Distribution, Metabolism, and Elimination in the Sprague-Dawley Rats（GLP 対応）：DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2015 年、未公表
4. ^{14}C-DPX-RAB55: Disposition in Female Rats During and After Multiple Dose Administration（GLP 対応）：DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2015 年、未公表
5. Metabolism of [^{14}C]DPX-RAB55 in the Lactating Goat（GLP 対応）：Charles River、2015 年、未公表
6. Metabolism of [^{14}C]DPX-RAB55 in the Laying Hen（GLP 対応）：Charles River、2015 年、未公表
7. The Metabolism of [^{14}C]DPX-RAB55 in Rice（GLP 対応）：Charles River、2015 年、未公表
8. Fate of [^{14}C]-DPX-RAB55 in Flooded Aerobic Soil（GLP 対応）：Charles River、2014 年、未公表
9. Aerobic Soil Metabolism of [^{14}C]-DPX-RAB55（GLP 対応）：Charles River、2014 年、未公表
10. Rate of Degradation of ^{14}C-DPX-RAB55 in Three Aerobic Soils（GLP 対応）：Advinus Therapeutics Limited、2014 年、未公表
11. Anaerobic Soil Metabolism of ^{14}C-DPX-RAB55（GLP 対応）：Advinus Therapeutics Limited、2014 年、未公表
12. ^{14}C-DPX-RAB55:Batch Equilibrium（Adsorption/Desorption）in Five Soils（GLP 対応）：Advinus Therapeutics Limited、2012 年、未公表
13. DPX-RAB55 の土壌吸着係数試験（GLP 対応）：株式会社化学分析コンサルタント、2014 年、未公表
14. ^{14}C-DPX-RAB55: Laboratory Study of Hydrolysis as a Function of PH（GLP 対応）：Advinus Therapeutics Limited、2012 年、未公表
15. Photolysis of [^{14}C]-DPX-RAB55 in Aqueous Systems（GLP 対応）：Charles River、2013 年、未公表
16. 土壌残留分析結果報告書（水田状態の圃場試験）：株式会社化学分析コンサルタント、2014 年、未公表
17. DPX-RAB55 粒剤　DPX-RAB55 SC　水稲　作物残留試験（GLP 対応）：一般社団法人日本植物防疫協会、2014、未公表

18. DPX-RAB55 粒剤　DPX-RAB55 SC　水稲　作物残留試験（GLP 対応）：一般社団法人日本植物防疫協会、2015、未公表
19. Magnitude of Residues of Triflumezopyrim (DPX-RAB55) in Edible Tissues and Milk of Lactating Dairy Cows Following Dosing with Technical Triflumezopyrim（GLP 対応）：ABC Laboratories, Inc.、Genesis Midwest, LLC、Pyxant Labs Inc.、2015 年、未公表
20. General Pharmacology Study of DPX-RAB55（GLP 対応）：Biosafety Research Center、2014 年、未公表
21. DPX-RAB55 Technical: Acute Oral Toxicity Study in Rats（GLP 対応）：DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2013 年、未公表
22. DPX-RAB55 Technical: Acute Oral Toxicity－Up-And-Down Procedure in Rats（GLP 対応）：Product Safety Labs、2014 年、未公表
23. Triflumezopyrim (DPX-RAB55) Technical: Acute Oral Toxicity Study in Rats －Up-And-Down Procedure（GLP 対応）：DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2014 年、未公表
24. DPX-RAB55 Technical: Acute Dermal Toxicity in Rats（GLP 対応）：Eurofins PSL、2012 年、未公表
25. DPX-RAB55 Technical: Acute Inhalation Toxicity（GLP 対応）：Eurofins PSL、2012 年、未公表
26. DPX-RAB55 Technical: Acute Oral Neurotoxicity Study in Rats（GLP 対応）：DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2013 年、未公表
27. DPX-RAB55 Technical: Primary Skin Irritation in Rabbits（GLP 対応）：Eurofins PSL、2012 年、未公表
28. Triflumezopyrim (DPX-RAB55) Technical: Primary Skin Irritation in Rabbits（GLP 対応）：Product Safety Labs、2014 年、未公表
29. DPX-RAB55 Technical: Primary Eye Irritation in Rabbits（GLP 対応）：Eurofins PSL、2012 年、未公表
30. Triflumezopyrim (DPX-RAB55) Technical: Primary Eye Irritation in Rabbits（GLP 対応）：Product Safety Labs、2014 年、未公表
31. DPX-RAB55 Technical: Dermal Sensitization-Magnusson-Kligman Maximization Method（GLP 対応）：Eurofins PSL、2012 年、未公表
32. Triflumezopyrim (DPX-RAB55) Technical: Dermal Sensitization Test in Guinea Pigs-Magnusson and Kligman (M&K) Method（GLP 対応）：Product Safety Labs、2014 年、未公表
33. DPX-RAB55 Technical: Repeated-Dose Oral Toxicity 28-Day Feeding Study in

Rats：DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2013 年、未公表
34. DPX-RAB55 Technical: A 13-Week Feeding Study in Rats（GLP 対応）：MPI Research, Inc.、 2013 年、未公表
35. Triflumezopyrim（DPX-RAB55）Technical: A Subchronic Toxicity 13-Week Feeding Study in Rats（GLP 対応）：MPI Research, Inc.、 2015 年、未公表
36. DPX-RAB55 Technical: Repeated-Dose Oral Toxicity 28-Day Feeding Study in Mice：DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2013 年、未公表
37. DPX-RAB55 Technical: A 13-Week Feeding Study in Mice（GLP 対応）：MPI Research, Inc.、 2013 年、未公表
38. DPX-RAB55 Technical: Subchronic Toxicity 90-Day Feeding Study In Dogs（GLP 対応）：MPI Research, Inc.、 2013 年、未公表
39. DPX-RAB55 Technical: 28-Day Repeated Dose Dermal Toxicity Study in Rats（GLP 対応）：DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2013 年、未公表
40. Triflumezopyrim（DPX-RAB55）Technical: Chronic Toxicity 1-Year Feeding Study in Dogs（GLP 対応）：MPI Research, Inc.、 2015 年、未公表
41. Triflumezopyrim（DPX-RAB55）Technical: Combined Chronic Toxicity/Oncogenicity Study 2-Year Feeding Study in Rats（GLP 対応）：MPI Research, Inc.、2015 年、未公表
42. Triflumezopyrim（DPX-RAB55）Technical: Oncogenicity Study 18-Month Feeding Study in Mice（GLP 対応）：MPI Research, Inc.、 2015 年、未公表
43. DPX-RAB55 Technical: One-Generation Reproduction Study in Rats（GLP 対応）：DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2013 年、未公表
44. Triflumezopyrim（DPX-RAB55）Technical: Multi-Generation Reproduction Study in Rats（GLP 対応）：DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2015 年、未公表
45. DPX-RAB55 Technical: Developmental Toxicity Study in Rats（GLP 対応）：DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2013 年、未公表
46. An Oral（Gavage）Prenatal Developmental Toxicity Study of DPX-RAB55 Technical in Rabbits（GLP 対応）：WIL Research、 2013 年、未公表
47. DPX-RAB55 Technical: Bacterial Reverse Mutation Test（GLP 対応）：BioReliance、2012 年、未公表
48. DPX-RAB55 Technical: Bacterial Reverse Mutation Test（GLP 対応）：

BioReliance、2013 年、未公表
49. DPX-RAB55 Technical: Bacterial Reverse Mutation Test（GLP 対応）: DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2014 年、未公表
50. DPX-RAB55 Technical: Bacterial Reverse Mutation Test（GLP 対応）: DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2014 年、未公表
51. DPX-RAB55 Technical: *In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test in Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL)（GLP 対応）: BioReliance、2013 年、未公表
52. DPX-RAB55 Technical: *In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test in Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL)（GLP 対応）: BioReliance、2013 年、未公表
53. Triflumezopyrim (DPX-RAB55) Technical: *In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test in Human Peripheral Blood Lymphocytes（GLP 対応）: DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2015 年、未公表
54. Triflumezopyrim (DPX-RAB55) Technical: *In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test in Human Peripheral Blood Lymphocytes（GLP 対応）: DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2015 年、未公表
55. DPX-RAB55 Technical: In Vivo Micronucleus Test in Mice（GLP 対応）: BioReliance、2012 年、未公表
56. Triflumezopyrim (DPX-RAB55) Technical: Mouse Bone Marrow Micronucleus Test（GLP 対応）: DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2014 年、未公表
57. Triflumezopyrim (DPX-RAB55) Technical: Mouse Micronucleus Test（GLP 対応）: DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2015 年、未公表
58. DPX-RAB55 Technical: *In Vitro* Mammalian Cell Gene Mutation Test (CHO/HGPRT Assay)（GLP 対応）: BioReliance、2012 年、未公表
59. Triflumezopyrim (DPX-RAB55) Technical: Liver Mechanistic Study in Male Mice（GLP 対応）: DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2015 年、未公表
60. Triflumezopyrim（DPX-RAB55）Technical: Special Design *In Vitro* Lung Metabolism Assay（GLP 対応）: DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2015 年、未公表

61. Triflumezopyrim (DPX-RAB55) Technical: Lung Mechanistic Study in Female Mice（GLP 対応）: DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2015 年、未公表
62. Triflumezopyrim (DPX-RAB55) Technical: Receptor Binding Assay : Eurofins Panlabs、2015 年、未公表
63. Triflumezopyrim（DPX-RAB55）Technical: 6 Day Uterotrophic Assay for Detecting Estrogenic Activity and Prolactin Changes in Overiectomized Rats（GLP 対応）: DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2015 年、未公表
64. Triflumezopyrim (DPX-RAB55) Technical: *In Vitro* Testosterone and Estrogen Receptor Binding Assay : Caliper Life Sciences、2010 年、未公表
65. Triflumezopyrim（DPX-RAB55）Technical: Uterine Mechanistic Study in Female Rats（GLP 対応）: DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2016 年、未公表
66. Triflumezopyrim（DPX-RAB55）Technical: 28-Day Immunotoxicity Feeding Study in Rats（GLP 対応）: DuPont Haskell Global Centers for Health & Environmental Sciences、2015 年、未公表
67. 平成 17～19 年の食品摂取頻度・摂取量調査（薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会資料、2014 年 2 月 20 日）

厚生労働省発生食1219第１号
平　成　２９　年　１２　月　１９　日

薬事・食品衛生審議会
会長　橋田　充　殿

厚生労働大臣　　加藤　勝信

諮問書

食品衛生法（昭和22年法律第233号）第11条第１項の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

食品、添加物等の規格基準（昭和34年厚生省告示第370号）第１　食品の部Ａ食品一般の成分規格の５（２）及び６（２）表中「カカオ豆及びコーヒー豆」に掲げる部位を変更することについて

平成 30 年２月 15 日

薬事・食品衛生審議会
　食品衛生分科会長　村田　勝敬　殿

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
　農薬・動物用医薬品部会長　穐山　浩

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
農薬・動物用医薬品部会報告について

平成 29 年 12 月 19 日付け厚生労働省発生食 1219 第１号をもって諮問された、食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 11 条第１項の規定に基づく食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）第１　食品の部Ａ食品一般の成分規格の５（２）、６（２）及び７（２）表中「カカオ豆及びコーヒー豆」に掲げる部位を変更することについて、当部会で審議を行った結果を別添のとおり取りまとめたので、これを報告する。

カカオ豆の分析部位の変更について

１．現状

食品衛生法におけるカカオ豆の分析部位は、食品、添加物等の規格基準第１食品Ａの部食品一般の成分規格の５（2)、６（2）及び７（2）検体の表（以下「検体の規定」という。）中「カカオ豆及びコーヒー豆」で『豆』と規定されている。

カカオ豆の検体として規定されている『豆』は、外皮が容易に除去できないことから、従来、外皮を含めて調製した試料において検査を実施し基準の適否を判断してきた。一方で、EU 諸国では、外皮を除去した試料において検査を実施していること、近年、我が国でも選別機の開発・導入により外皮の除去が可能となっていることから、新たに基準値の見直しを行った一部の農薬等については、「カカオ豆（外皮を含まない)」との基準値を設定している。

このようにカカオ豆について２種類の基準が混在しており、検査部位の統一が必要となっていることからその方法について検討を行った。

２．検討結果

今後は、国際的状況から、カカオ豆の検体は外皮を含まない部位に統一することが望ましいことから、検体の規定を改定し、カカオ豆の検体は原則として「外皮を除去したもの」に改める。

一方で、農薬の残留基準は、原則として当該農薬の使用基準に従った作物残留試験の成績を根拠に設定されており、基準値が「カカオ豆（外皮を含まない)」と規定されている以外の農薬については、外皮を含めた基準値と解されている。

このため、これらの農薬については、検体の規定を従来どおり外皮を含む「豆」とし、外皮を除いたデータに基づく基準値の設定又は基準値の削除がなされた場合には、当該部分の農薬名を削除する。

なお、基準値が「カカオ豆（外皮を含まない)」とされている農薬については、基準値の改定の際に「カカオ豆」と記載を改める。

（参考）

これまでの経緯

平成　４年１０月２７日　残留基準告示改正
平成２９年１２月１９日　薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成２９年１２月２１日　薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

● 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会
［委員］

○穐山　浩	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
石井　里枝	埼玉県衛生研究所化学検査室長
井之上　浩一	立命館大学薬学部薬学科臨床分析化学研究室准教授
折戸　謙介	麻布大学獣医学部生理学教授
魏　民	大阪市立大学大学院医学研究科分子病理学准教授
佐々木　一昭	東京農工大学大学院農学研究院動物生命科学部門准教授
佐藤　清	元　一般財団法人残留農薬研究所理事
佐野　元彦	東京海洋大学海洋生物資源学部門教授
永山　敏廣	明治薬科大学薬学部薬学教育研究センター基礎薬学部門教授
根本　了	国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長
二村　睦子	日本生活協同組合連合会組織推進本部長
宮井　俊一	一般社団法人日本植物防疫協会技術顧問
由田　克士	大阪市立大学大学院生活科学研究科公衆栄養学教授
吉成　浩一	静岡県立大学薬学部衛生分子毒性学分野教授

（○：部会長）

食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件　新旧対照条文

○食品、添加物等の規格基準（昭和34年厚生省告示第370号）（抄）

（傍線部分は改正部分）

改　　正　　案	現　　行
第１　食品 Ａ～Ｃ　（略） Ｄ　各条 ○　清涼飲料水～○　生あん　（略） ○　豆腐 １　豆腐の成分規格 豆腐のうち，常温で保存するもの（移動販売に係る豆腐及び成型した後水さらしをしないで直ちに販売の用に供されることが通常である豆腐を除く。）にあつては，当該豆腐中で発育し得る微生物が陰性でなくてはならない。 ２　豆腐の製造基準 (1)～(4)　（略） (5)　豆腐（次項の無菌充填豆腐を除く。）の水さらしは，絶えず換水をしながら行わなければならない。 (6)　無菌充填豆腐（連続流動式の加熱殺菌機で殺菌した豆乳に，殺菌又は除菌された凝固剤を添加して，容器包装に無菌的に充てんした後加熱凝固させたものをいう。以下この項において同じ。）は，原材料等に由来して当該食品中に存在し，かつ，当該豆腐中で発育し得る微生物を死滅，又は除去するのに十分な効力を有する方法で殺菌又は除菌した原材料を用い，あらかじめ殺菌した適切な容器包装へ無菌的に充てんする方法を定め，その定めた方法により行わなければならない。この場合における殺菌又は除菌の方法は，次のとおりとする。 １．豆乳の殺菌にあつては，その中心部の温度を120℃で４分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法であること。 ２．凝固剤の殺菌又は除菌にあつては，原材料等に由来して当該食品中に存在し，かつ，発育し得る微生物を死滅させ，又は除去するのに十分な効力を有する方法であること。 (7)　包装豆腐（豆乳に凝固剤を添加して容器包装に充てんした後加熱凝固させたものをいう。）のうち，無菌充填豆腐以外のものについては，90℃で40分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法により殺菌しなければならない。	第１　食品 Ａ～Ｃ　（略） Ｄ　各条 ○　清涼飲料水～○　生あん　（略） ○　豆腐 （新設） １　豆腐の製造基準 (1)～(4)　（略） (5)　豆腐の水さらしは，絶えず換水をしながら行わなければならない。 （新設） (6)　包装豆腐（豆乳に凝固剤を添加して容器包装に充てんした後加熱凝固させたものをいう。）は，90°で40分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法により殺菌しなければならない。

(8)・(9)　（略） 3　豆腐の保存基準 (1)　豆腐は，冷蔵するか，又は十分に洗浄し，かつ，殺菌した水槽内において，冷水（食品製造用水に限る。）で絶えず換水をしながら保存しなければならない。ただし，移動販売に係る豆腐，成型した後水さらしをしないで直ちに販売の用に供されることが通常である豆腐及び無菌充填豆腐にあつては，この限りでない。 (2)　（略）	(7)・(8)　（略） 2　豆腐の保存基準 (1)　豆腐は，冷蔵するか，又は十分に洗浄し，かつ，殺菌した水槽内において，冷水（食品製造用水に限る。）で絶えず換水をしながら保存しなければならない。ただし，移動販売に係る豆腐及び成型した後水さらしをしないで直ちに販売の用に供されることが通常である豆腐にあつては，この限りでない。 (2)　（略）

平成 30 年２月 21 日

薬事・食品衛生審議会
食品衛生分科会長　村田　勝敬　殿

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
食品規格部会長　大前　和幸

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
食品規格部会報告について

平成 28 年 11 月 22 日付け厚生労働省発生食 1122 第２号をもって諮問された、食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 11 条第１項の規定に基づく豆腐の規格基準の改正について、当部会で審議を行った結果を別添のとおり取りまとめたので、これを報告する。

豆腐の規格基準の改正について

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
食　品　規　格　部　会　報　告　書

１．経緯

「豆腐」については、食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号。以下「告示」という。）の各条において昭和 49 年に製造基準及び保存基準が定められた。

当時、「豆腐」が原因食品となり人の健康に危害を及ぼした例のほとんどは、腸チフス、赤痢などいずれも病原細菌に起因するものであった。また、その発生は製造及び保管中における食品及び器具等の取扱いが不衛生であったために「豆腐」が汚染されたことが原因とされている。さらに、「豆腐」は、ごくわずかであっても細菌が生存していれば、保管方法によっては急激な細菌増殖が起こることから、できるだけ低温で管理する必要があるため、保存基準では、冷蔵しなければならない旨が規定されている。

昨今、技術の進歩に伴い、連続流動式の加熱殺菌機で殺菌した後、無菌的に充填を行った豆腐（以下「無菌充填豆腐」という。）の製造が可能となったことから、無菌充填豆腐について、常温保存が可能か否か検証するため、製造が可能な２施設の製品（現在は、冷蔵保存にて流通している。）に対して、平成 27 年度に、微生物に関する試験検査等調査を実施した。

また、事業者によると、当該無菌充填豆腐は、常温保存品として昭和 61 年から欧州等の諸外国への幅広い輸出実績や米国現地生産実績があり、これまでに当該品を原因とした食中毒等の報告はない。

今般、技術の進歩及び調査の結果等を踏まえ、「豆腐」に係る規格基準の改正について、厚生労働大臣から薬事・食品衛生審議会長宛てに平成 28 年 11 月 22 日付けで諮問され、同年 11 月 29 日に薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食品規格部会（以下「部会」という。）で審議された。

２．審議の結果

豆腐の成分規格及び製造基準において、次の条件を設定することで、無菌充填豆腐を常温保存した場合の安全性が確保できるため、保存基準として常温保存を設定できるものと考える。なお、無菌充填豆腐に必要な条件として、原料管理、各製造ラインの洗浄や定期的な確認、記録の保存等が実施されることが必要であ

り、製造する際には十分な衛生管理が求められる。

（１）原材料等に由来して当該食品中に存在し、かつ、発育し得る微生物を死滅させ、又は除去するのに十分な効力を有する方法で殺菌又は除菌を行うこと
・豆乳にあっては、120℃・４分間と同等以上
・凝固剤にあっては、衛生度の高い凝固剤を用いた上で、適切なフィルターを用い、かつ、製造時にフィルター性能を恒常的に確認する方法により除菌する、またはこれと同等以上

（２）無菌充填に相応しい機器を用いて、あらかじめ殺菌された適切な容器包装を用いて、無菌的に充填されていること

（３）最終製品は、容器包装詰加圧加熱殺菌食品の成分規格に規定する試験法において発育し得る微生物が陰性であること

３．食品健康影響評価の結果

平成 29 年４月 12 日付け厚生労働省発生食 0412 第１号により、豆腐の規格基準の改正について、食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）第 24 条第１項第１号の規定に基づき、食品安全委員会に対し意見を求めた。

食品安全委員会は、豆腐の規格基準の改正に係る食品健康影響評価について審議を行い、「豆腐の規格基準では冷蔵保存することとされている無菌充填豆腐について、その保存基準を常温保存に変更した場合のリスクに差があるとは考えられない。」旨の結果をまとめ、平成 30 年 1 月 23 日付け府食第 34 号により厚生労働省へ通知した。

４．まとめ

以上を踏まえ、次のとおり、豆腐の規格基準を改正し、無菌充填豆腐について常温保存を認めることとする。

【告示改正案】（下線部が改正箇所）

第１　食品　Ｄ　各条

○　豆腐

１　豆腐の成分規格

豆腐のうち，常温で保存するもの（移動販売に係る豆腐及び成型した後水さらしをしないで直ちに販売の用に供されることが通常である豆腐を除く。）にあつては，当該豆腐中で発育し得る微生物が陰性でなくてはならない。

２　豆腐の製造基準

(1)～(4)　（略）

(5)　豆腐（次項の無菌充填豆腐を除く。）の水さらしは，絶えず換水をしながら行わなければならない。

(6)　無菌充填豆腐（連続流動式の加熱殺菌機で殺菌した豆乳に，殺菌又は除菌された凝固剤を添加して，容器包装に無菌的に充てんした後加熱凝固させたものをいう。以下この項において同じ。）は，原材料等に由来して当該食品中に存在し，かつ，当該豆腐中で発育し得る微生物を死滅，又は除去するのに十分な効力を有する方法で殺菌又は除菌した原材料を用い，あらかじめ殺菌した適切な容器包装へ無菌的に充てんする方法を定め，その定めた方法により行わなければならない。この場合における殺菌又は除菌の方法は，次のとおりとする。

１．豆乳の殺菌にあつては，その中心部の温度を 120℃で４分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法であること。

２．凝固剤の殺菌又は除菌にあつては，原材料等に由来して当該食品中に存在し，かつ，発育し得る微生物を死滅させ，又は除去するのに十分な効力を有する方法であること。

(7)　包装豆腐（豆乳に凝固剤を添加して容器包装に充てんした後加熱凝固させたものをいう。）のうち，無菌充填豆腐以外のものについては，90℃で 40 分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法により殺菌しなければならない。

(8)・(9)　（略）

３　豆腐の保存基準

(1)　豆腐は，冷蔵するか，又は十分に洗浄し，かつ，殺菌した水槽内において，冷水（食品製造用水に限る。）で絶えず換水をしながら保存しなければならない。ただし，移動販売に係る豆腐，成型した後水さらしをしないで直ちに販売の用に供されることが通常である豆腐及び無菌充填豆腐にあつては，こ

の限りでない。

(2)　（略）

（参考）

これまでの経緯

平成 28 年 11 月 29 日　薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食品規格部会開催

平成 29 年 4 月 12 日　内閣府食品安全委員会へ諮問

平成 30 年 1 月 23 日　内閣府食品安全委員会より答申

●薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食品規格部会委員名簿

氏　名	ﾌﾘｶﾞﾅ	所　属・　役　職
明石　真言	ｱｶｼ ﾏｺﾄ	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構執行役
浅見　真理	ｱｻﾐ ﾏﾘ	国立保健医療科学院生活環境研究部上席主任研究官
阿部　郁朗	ｱﾍﾞ ｲｸﾛｳ	東京大学大学院薬学系研究科天然物化学教室教授
大前　和幸	ｵｵﾏｴ ｶｽﾞﾕｷ	慶應義塾大学医学部衛生学公衆衛生学教室教授
小川　久美子	ｵｶﾞﾜ ｸﾐｺ	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター病理部長
春日　文子	ｶｽｶﾞ ﾌﾐｺ	国立研究開発法人　国立環境研究所・特任フェロー
苅田　香苗	ｶﾘﾀ ｶﾅｴ	杏林大学医学部衛生学公衆衛生学教室教授
小西　良子	ｺﾆｼ ﾖｼｺ	麻布大学生命環境科学部食品生命科学科食品衛生学研究室教授
阪口　雅弘	ｻｶｸﾞﾁ ﾏｻﾋﾛ	麻布大学獣医学部獣医学科微生物第一研究室教授
下村　吉治	ｼﾓﾑﾗ ﾖｼﾊﾙ	名古屋大学大学院生命農学研究科教授
寺嶋　淳	ﾃﾗｼﾞﾏ ｼﾞｭﾝ	国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部長
二村　睦子	ﾌﾀﾑﾗ ﾁｶｺ	日本生活協同組合連合会組合員活動部長
堀端　薫	ﾎﾘﾊﾞﾀ ｶｵﾘ	女子栄養大学給食システム研究室准教授

※所属・役職は部会開催時（平成 28 年 11 月 29 日）のもの

別紙

【調査結果等】

①施設の殺菌条件

〇Ａ社：120～140℃・10 秒

Ａ社のＦ値（※１）（Ｚ＝10）は 120℃・４分間の加熱条件を満たさないが、加熱殺菌工程前のヒートショック処理（※２）等を含め、大豆の煮沸から冷却までを加熱殺菌工程とみなした場合、120℃・４分間と同等以上の殺菌効果を有する。

※１　Ｆ値：各製造工程における致死率を積分した数値。基準温度 121℃における殺菌時間に相当。

※２　ヒートショック処理（70℃、40 分）：芽胞菌の発芽を促す処理

〇Ｂ社：120℃・４分間と同等以上の方法

Ｂ社のＦ値（Ｚ＝10）は 120℃・４分間と同等以上の殺菌効果を満たす値であった。

②施設の無菌充填技術

充填ラインは、他の施設と分けた HEPA フィルターを用いた隔離室で稼働されており、包材は過酸化水素水の浸漬層を通過し、連続流動式にて無菌的に豆乳が充填される。また、充填前に添加される凝固剤は、衛生度の高い凝固剤を用いた上で、適切なフィルターを用い、かつ、製造時にフィルター性能が恒常的に確認されている方法により除菌されている。

③最終製品の微生物試験

１．細菌数検出試験（指標菌：一般細菌、大腸菌群、好気性芽胞形成菌、嫌気性芽胞形成菌）、容器包装詰加圧加熱殺菌食品に対する発育し得る微生物（恒温・細菌試験）を実施したところ、結果は全て陰性。

検体数：120 検体×２社＝240 検体

２．製品の長期保存微生物試験

各事業者が設定した賞味期限（６ヶ月又は 10 ヶ月）の約 1.1～1.2 倍の期間を室温で保存（25℃）し、一般細菌検査、容器包装詰加圧加熱殺菌食品に対する発育し有無微生物（恒温・細菌試験）を実施したところ、結果は全て陰性。

検体数：120 検体×２社＝240 検体

④自主検査結果

〇Ａ社

最終製品を製造日から３日間恒温庫（35℃）で保管後、一般細菌及び大腸菌群の検査データについて全て陰性（2014 年６月２日～2015 年５月 30 日：計 2,486 検体）。

〇Ｂ社

最終製品を製造日から５日間恒温庫（35℃）で保管後、一般細菌の検査データについて全て陰性（2014 年～2016 年：計 660 検体）。

厚生労働省発生食1122第2号
平 成 28 年 11 月 22 日

薬事・食品衛生審議会
会長 橋 田 充 殿

厚生労働大臣 塩 崎 恭 久

諮問書

食品衛生法（昭和22年法律第233号）第11条第1項の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

豆腐の規格基準の改正について

府　食　第　３　４　号
平成３０年１月２３日

厚生労働大臣
　加藤　勝信　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29年４月12日付け厚生労働省発生食0412第１号をもって厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められた、豆腐の規格基準の改正に係る食品健康影響評価の結果について、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、本件について意見・情報の募集を行ったところ、リスク管理措置に関する意見が別添のとおり寄せられましたので、お伝えします。

医薬・生活衛生局食品基準審査課
薬生食基収0125第6号
H30.1.25

別添

微生物・ウイルス評価書

豆腐の規格基準改正に係る食品健康影響評価

２０１８年　１月

食品安全委員会

目次

別添資料
朝倉 宏:「無菌充填豆腐中の微生物に関する試験検査」(平成29年５月24日 食品安全委員会第69回微生物・ウイルス専門調査会資料)

＜審議の経緯＞

2017年	4月	12日	厚生労働大臣から豆腐の規格基準の改正に係る食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
2017年	4月	18日	第646回食品安全委員会（要請事項説明）
2017年	5月	24日	第69回微生物・ウイルス専門調査会
2017年	7月	24日	第70回微生物・ウイルス専門調査会
2017年	9月	15日	第71回微生物・ウイルス専門調査会
2017年	10月	30日	第72回微生物・ウイルス専門調査会
2017年	11月	21日	第674回食品安全委員会（報告）
2017年	11月	22日	国民からの意見・情報の募集
～	12月	21日	
2018年	1月	17日	微生物・ウイルス専門調査会座長から食品安全委員会委員長に報告
2018年	1月	23日	第681回食品安全委員会（報告・審議）（同日付で厚生労働大臣へ通知）

＜食品安全委員会委員名簿＞

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

＜食品安全委員会微生物・ウイルス専門調査会専門委員名簿＞

（2017年9月30日まで）

岡部　信彦（座長）
吉川　泰弘（座長代理）
浅井　鉄夫
安藤　匡子
大西　貴弘
大西　なおみ
小坂　健
甲斐　明美
木村　凡
小関　成樹
鈴木　孝子
砂川　富正
田村　豊
豊福　肇
野崎　智義
野田　衛
皆川　洋子
脇田　隆字

工藤　由起子

＜食品安全委員会微生物・ウイルス専門調査会専門委員名簿＞

（2017 年 10 月 1 日から）

脇田　隆字（座長）	木村　凡
豊福　肇（座長代理）	工藤　由起子
浅井　鉄夫	小関　成樹
安藤　匡子	鈴木　孝子
大西　貴弘	砂川　富正
大西　なおみ	野田　衛
甲斐　明美	三澤　尚明
岸本　剛	皆川　洋子

要　約

厚生労働省からの諮問を受け、豆腐の規格基準では冷蔵保存することとされている無菌充填豆腐について、その保存基準を常温保存に変更した場合の食品健康影響評価を実施した。

厚生労働省が条件として示す製造工程を踏まえて製造された無菌充填豆腐は、常温下で長期間保存及び流通することが想定されることから、ハザードとなり得る対象病原体として特定したボツリヌス菌及びセレウス菌が当該食品の最終製品に残存した場合、人に健康被害を引き起こす可能性がある。

「食品等事業者が実施すべき管理運営基準に関する指針」（平成 26 年 10 月 14 日付け食安発 1014 第 1 号）に基づき十分に衛生管理されることを前提として、かつ、厚生労働省が条件として示す殺菌、除菌等の製造工程を経た場合、ボツリヌス菌及びセレウス菌は死滅し、最終製品に残存しないと考えられることから、現在、豆腐の規格基準に基づき冷蔵で保存されている無菌充填豆腐について、冷蔵保存から常温保存に変更した場合のリスクに差があるとは考えられないと結論付けた。

なお、大豆の浸漬工程については、耐熱性が高い毒素を産生する細菌を、毒素産生に必要とされる菌数まで増殖させないように適切に管理することが必要である。

また、120℃・4 分間加熱又はこれと同等以上の殺菌条件を確保するための工程管理にはモニタリングが必要であり、管理措置が適切に講じられていないと認められたときには、速やかに改善措置を実施することが必要である。

容器包装には、種々の物理的影響に耐え、破損等による微生物の汚染を防止できるものを用いること、並びに冷蔵保存が必要な豆腐には冷蔵が必要である旨及び常温で保存できる豆腐には常温保存ができる旨を消費者等が明確にわかるように表示することに留意する必要がある。

Ⅰ. 評価要請の経緯

1. 背景

豆腐については、食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）において 1974 年に規格基準が定められた（参照 1)。

1974 年当時、豆腐による人の健康危害のほとんどは、製造及び保管中における食品及び器具等の不衛生な取扱いにより、腸チフス、赤痢等の病原細菌に汚染されたことが原因とされていた。そのため、豆腐の製造工程における細菌汚染をできるだけ少なくするための製造基準及び細菌の増殖を防ぐためできるだけ低温で管理するための保存基準が規定された。（参照 1、2)

現在は、技術の進歩に伴い、豆腐の原料である豆乳を連続流動式の加熱殺菌機で殺菌した後、殺菌・除菌した凝固剤を添加し、無菌的に充填を行った豆腐（以下「無菌充填豆腐[1]」という。）が製造されており、告示に規定する保存基準に基づき、冷蔵で流通している（参照 3, 別添資料）。

厚生労働省によると、常温保存の無菌充填豆腐は、欧州等諸外国への輸出の実績及び米国での現地製造の実績がある。欧州等諸外国への輸出は、過去 10 年間で合計約 5,995 トンであり、常温で流通している。また、米国での現地製造は過去 10 年間で約 52,000 トンであり、常温で流通している。どちらについても、食中毒等の健康被害の報告は確認されていない。（参照 4、5)

なお、連続流動式の加熱殺菌機で殺菌した後、無菌的に充填する技術については、既に牛乳等の常温保存可能品等他の食品でも用いられている。

厚生労働省は、無菌充填豆腐の細菌汚染に関する試験検査等調査（参照 3）[2]を実施し、これまでの健康被害の報告は確認されていないという実績及び調査結果を踏まえ、豆腐の規格基準の改正について、2016 年 11 月 29 日に薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食品規格部会において審議し、了承された。

2017 年 4 月 12 日、食品安全委員会は、厚生労働大臣から、食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）第 24 条第 1 項第 1 号に基づき、豆腐の規格基準の改正に係る食品健康影響評価について意見を求められた（参照 3)。

---

1 厚生労働省は、連続流動式の加熱殺菌機で殺菌した後、無菌的に充填を行った豆腐を「無菌充填豆腐」（参照 3）と定義しているが、本評価書では、重要な工程である豆乳殺菌後に凝固剤を添加する工程を定義に追加している。

2 平成 27 年度に国立医薬品食品衛生研究所が実施し、無菌充填豆腐の最終製品において、一般細菌数、大腸菌群、好気性芽胞形成細菌、嫌気性芽胞形成細菌及び発育し得る微生物（恒温試験及び細菌試験）の試験結果が陰性であった。

2．現行の豆腐の規格基準について

現行の豆腐の製造基準及び保存基準は、以下に示すとおりである（参照 1）。

（1）豆腐の製造基準

①原料用大豆は、品質が良好できょう雑物を含まないものでなければならない。［以下「製造基準の①」という。］

②原料用大豆は、十分に水洗しなければならない。［以下「製造基準の②」という。］

③豆汁又は豆乳は、沸騰状態で 2 分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法により殺菌しなければならない。

④豆汁のろ過、凝固剤の添加及び豆腐の成型は、清潔で衛生的に行わなければならない。

⑤豆腐の水さらしは、絶えず換水をしながら行わなければならない。

⑥包装豆腐（豆乳に凝固剤を添加して容器包装に充てんした後加熱凝固させたものをいう。）は、90℃で 40 分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法により殺菌しなければならない。

⑦豆腐を製造する場合に使用する器具は、十分に洗浄し、かつ、殺菌したものでなければならない。［以下「製造基準の⑦」という。］

⑧豆腐を製造する場合に使用する水は、食品製造用水でなければならない。［以下「製造基準の⑧」という。］

（2）豆腐の保存基準

①豆腐は、冷蔵するか、又は十分に洗浄し、かつ、殺菌した水槽内において、冷水（食品製造用水に限る。）で絶えず換水をしながら保存しなければならない。ただし、移動販売に係る豆腐及び成型した後水さらしをしないで直ちに販売の用に供されることが通常である豆腐にあっては、この限りでない。

②移動販売に係る豆腐は、十分に洗浄し、かつ、殺菌した器具を用いて保冷をしなければならない。

3．評価要請の内容

（1）リスク管理機関（厚生労働省）の考え方

現在、無菌充填豆腐は、豆腐の製造基準に基づき製造され、保存基準に基づき冷蔵で保存されている。無菌充填豆腐は、主原料の大豆が土壌由来細菌に汚染されている可能性があるため、常温で流通させるには、特に耐熱性を示す細菌（バチルス属菌やクロストリジウム属菌）等の芽胞形成細菌の制御が可能な殺菌条件が求められる。このため、豆乳の殺菌に関しては、容器包装詰加圧加熱殺菌食品の殺菌条件である 120℃・4 分間加熱と

同等以上の条件を置くこととしている。

また、豆乳を固めるための凝固剤は、食品添加物として製造されているものであり、凝固剤由来の特定のハザードとなる病原体は考えられないが、豆乳の殺菌後に添加されることから、発育し得る微生物を死滅させ又は除去するのに十分な効力を有する殺菌又は除菌を行う必要がある。このため、凝固剤を除菌する場合は、適切なフィルターを用い、かつ、豆腐の製造中はフィルター性能を恒常的に確認しながら除菌する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法により、除菌することとしている。

そして、これらの原材料を無菌充填が可能な機器を用いて、あらかじめ殺菌された適切な容器包装に無菌的に充填されることが必要である。

最終製品に対しては、常温下で長期流通することを考慮して、安全性の確保のため、成分規格として、発育し得る微生物が陰性であることが必要である。

さらに、食品等事業者が実施すべき管理運営基準に関する指針（平成 26 年 10 月 14 日付け食安発 1014 第 1 号。以下「管理運営基準指針」という。）（参照 6）に基づき十分な衛生管理の下、製造することが必要不可欠である。

（２）評価要請の内容

厚生労働省からの諮問は、（１）の考え方を踏まえ、２．（１）豆腐の製造基準の①、②、⑦及び⑧並びに以下の無菌充填豆腐に必要な条件により製造された無菌充填豆腐の保存について、現行の冷蔵保存から常温保存に変更した場合のリスクの比較について、食品健康影響評価を依頼するものである。

＜無菌充填豆腐に必要な条件＞（参照 3）

①原材料等に由来して当該食品中に存在し、かつ、発育し得る微生物を死滅させ、又は除去するのに十分な効力を有する次の全てを満たす方法で殺菌又は除菌を行うこと。

・豆乳にあっては、120℃・４分間加熱と同等以上で殺菌すること。

・凝固剤にあっては、衛生度の高い凝固剤を用いた上で、殺菌又は適切なフィルターを用い、かつ、製造時にフィルター性能を恒常的に確認する方法により除菌すること、又はこれと同等以上の効力を有する方法で行うこと。

②無菌充填が可能な機器を用いて、あらかじめ殺菌された適切な容器包装を用いて、無菌的に充填されていること。

③最終製品に対する、容器包装詰加圧加熱殺菌食品の成分規格に規定する試験の結果、発育し得る微生物が陰性であること。

４．海外における無菌充填豆腐の規制状況

厚生労働省からの提出資料では、無菌充填豆腐に関して規格基準等を設定している国は確認できなかった。

なお、米国で製造・流通している無菌充填豆腐は、低酸性無菌充填食品に位置付けられ、その規制に従った製造が必要となっている。具体的には、無菌充填豆腐を製造する際には、低酸性食品の製造設備登録及び製品登録の規制（21 CFR PART108.35）に基づき食品工場登録を実施し、無菌処理工程に関する情報を FDA へ提出、登録する必要がある。さらに、加熱処理された密封容器の低酸性食品の規制（21 CFR PART 113）に基づき、コミッショナーの研修認証を受けた者の監督下での製造（Sec. 113.10）、GMP の適用(Sec. 113.5)、設備及び手段(Sec. 113.40)、Scheduled Process の設定(Sec. 113.83)並びに記録(Sec. 113.100)に関する規制に従う必要がある。（参照 7～10）

また、EU における輸入規制は、欧州議会及び理事会指令に規定されている。EU 地域の市場に提供される輸入食品は食品規制関連法に適合しているか、又は EU と輸出国との間で最低でも EU178/2002 に記載されている要求事項と同等とみなされる状態であることが求められている。（参照 10、11）

Ⅱ．評価の基本的考え方

対象食品を厚生労働省から諮問された規格基準の改正内容に基づいて製造された無菌充填豆腐とし対象者を日本に在住する全ての人とする。

評価に当たっては、無菌充填豆腐が常温下で長時間保存及び流通することを想定し、原料及び製造工程に由来し、人に健康被害を引き起こす可能性のあるハザードについて特定する。そして、特定したハザードについて、厚生労働省から諮問された改正内容に基づく殺菌、除菌等の工程におけるリスク低減効果、管理運営基準指針に基づく十分な衛生管理及び最終製品に対する安全性の確保のための成分規格（発育し得る微生物が陰性）の規定を踏まえ、現在、豆腐の規格基準に基づき冷蔵保存されている無菌充填豆腐について、冷蔵保存から常温保存に変更した場合のリスクについて評価することとする。

Ⅲ．ハザードとなり得る対象病原体について

現在、無菌充填豆腐は、豆腐の規格基準の包装豆腐として、サルモネラ属菌等の細菌を殺菌するため、90℃・40分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法で殺菌し、冷蔵保存で流通することにより安全性を担保している。

一方、今回の規格基準の改正内容は、充填後に常温で長期間保存及び流通することを前提としていることから、原料の大豆に存在する可能性があり耐熱性を示す芽胞形成細菌に対応するため、豆乳は120℃・4分間加熱と同等以上で殺菌すること、凝固剤は衛生度の高い凝固剤を用いた上で、発育し得る微生物を死滅させ又は除去するのに十分な効力を有する殺菌又は除菌すること等を条件としている。無菌充填豆腐の保存を現行の冷蔵保存から常温保存に変更した場合のリスクを評価するに当たり、ハザードとなり得る対象病原体について、以下のとおり整理した。

- 耐熱性を示す芽胞形成細菌には、クロストリジウム属菌、バチルス属菌等があるが、本評価では、以下の考えにより、その代表として、ボツリヌス菌（*Clostridium botulinum*）及びセレウス菌（*Bacillus cereus*）を対象病原体として特定することとした。

  クロストリジウム属菌については、耐熱性の高い細菌として、*Clostridium thermoaceticum*（参照 12、13）*Clostridium sporogenes*（参照 14）等があるが、食中毒細菌としては、ボツリヌス菌及びウエルシュ菌（*Clostridium perfringens*）が代表的である。ボツリヌス菌を死滅させる加熱条件にてウエルシュ菌の芽胞も死滅することから、ボツリヌス菌をハザードとなり得る対象病原体の代表と考えた。（参照 15）

バチルス属菌については、耐熱性の高い細菌として、*Bacillus circulans*、*Bacillus stearothermophilus*[3]、*Bacillus coagulans* 等があり、このような耐熱性の高い細菌は、缶・瓶詰め食品及び加熱包装食品の腐敗細菌として重要（参照 16、17）ではあるが、食中毒細菌としては、セレウス菌をハザードとなり得る対象病原体の代表と考えた。

- サルモネラ属菌等については、今回の規格基準の改正内容の条件である豆乳の 120℃・4 分間加熱と同等以上の殺菌及び凝固剤の殺菌又は除菌方法により、殺菌又は除菌できると考えられるため、ハザードとなり得る対象病原体として特定しなかった。
- なお、耐熱性が高い毒素を産生する細菌は、加熱により菌が死滅しても、食品中に残存した毒素が原因となって食中毒を起こすことがある。耐熱性が高い毒素としては、黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）の産生するエンテロトキシン及びセレウス菌の産生するおう吐毒（セレウリド）がある。

  2000 年から 2016 年までの厚生労働省の食中毒統計[4]に基づき、食中毒発生事例を調査した結果、豆腐の喫食に伴って生じた黄色ブドウ球菌及びセレウス菌による健康被害情報は報告されていない（参照 18）。また、公表されている文献・データベース検索を通じ、1990 年から 2016 年 2 月までの食中毒情報を調査した結果、豆腐の喫食に伴って生じたセレウス菌による健康被害情報は報告されていない（参照 19）。

  これらを考慮すると、これまでの豆腐の衛生管理と同様に、製造基準の①及び②並びに管理運営基準指針に基づき、適切に衛生管理することで毒素産生に必要とされる菌数まで増殖させないよう管理できると考えられる。そのため、耐熱性の高い毒素はハザードとして特定しなかった。
- ノロウイルス等のウイルスについては、今回の規格基準の改正における、無菌充填豆腐の豆乳の殺菌条件 120℃・4 分間加熱と同等以上の処理により、完全に不活化されると考えられる。

---

[3] 2001 年に、新しい属名 *Geobacillus stearothermophilus* として提案された。（Nazina TN et al.: Taxonomic study of aerobic thermophilic bacilli: descriptions of *Geobacillus subterraneus* gen. nov., sp. nov. and *Geobacillus uzenensis* sp. nov. from petroleum reservoirs and transfer of *Bacillus stearothermophilus, Bacillus thermocatenulatus, Bacillus thermoleovorans, Bacillus kaustophilus, Bacillus thermodenitrificans* to *Geobacillus* as the new combinations *G. stearothermophilus*, G. th. Int J Syst Evol Microbiol 2001; 51(Pt2): 433-446)

[4] 食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 58 条第 1 項の規定に基づき、食品等に起因して中毒した患者若しくは疑いのある者を診断した医師は保健所長への届出義務がある。届出を受けた保健所長は、疫学的調査等を実施し、食中毒か否かの判断を行う。食中毒と断定した事例は、同条第 3 項の規定に基づき、都道府県等から厚生労働省に報告される。食中毒統計は、それらの報告を取りまとめたものである。

また、豆乳殺菌後の製造過程においては、適切な衛生管理が行われている限り、ウイルスに汚染される可能性は、容器の破損等の事故を除き、ほとんどないと考えられる。

上記のことから、ウイルスについてはハザードとなり得る対象病原体として特定しなかった。

なお、食品添加物として製造された衛生的な凝固剤がウイルスに汚染されている可能性はないと考えられるが、凝固剤の除菌にあっては、ろ過膜の孔径サイズより小さいウイルスは、完全に除去できるとは限らないことに留意すべきである（参照 20)。

１．ボツリヌス菌

（１）特徴

グラム陽性及び偏性嫌気性を示す芽胞形成桿菌で、土壌、河川及び海洋に広く存在する（参照 21、22)。菌体の大きさは 0.3～0.7×3.4～7.5 μm とされている。抗原性が異なる A、B、C、D、E、F 及び G 型のうち A、B、E 及び F 型のボツリヌス毒素を産生する A、B、E 及び F 型菌が主にヒトのボツリヌス症（ボツリヌス中毒）と関連している。血清学的には 8 つの神経毒素が同定されている。(参照 21)

食品媒介性としてのボツリヌス症には、以下に示すものが知られている。(参照 23、24)

- ボツリヌス毒素に汚染された食品を摂取することにより発症するボツリヌス食中毒（食餌性ボツリヌス症）
- 生後 1 年未満の乳児がボツリヌス菌芽胞を経口的に摂取した場合、乳児の消化管内で増殖した菌により産生されたボツリヌス毒素の作用により発症する乳児ボツリヌス症
- 成人及び 1 歳以上の小児が、乳児ボツリヌス症と同様の病態で、ボツリヌス毒素産生細菌が消化管内で増殖し産生されたボツリヌス毒素により発症する（消化管に器質的又は機能的異常があるか、抗菌薬を使用している場合が多いとされる）成人腸管定着ボツリヌス症

なお、近年、乳児ボツリヌス症の患者から分離された菌株から H 型の毒素産生が認められたとする報告がある。(参照 25)

（２）増殖条件

増殖許容温度は 10～45℃で、A 型菌及び B 型菌の至適増殖温度は 37℃とされている（参照 26)。3℃未満では菌は増殖及び毒素を産生することはできない（参照 27)。真空包装辛子蓮根に A 型菌を接種した試験では、

10℃及び15℃保存では菌数の増加が見られなかったのに対し、25℃保存では最初の接種菌数に関係なく、保存7日後から菌が増殖し毒素産生が見られ、15日後では大量の毒素産生が見られた(参照26)。

ボツリヌス菌は、低pH又は低水分活性のものを除くほとんどの食品で増殖し得る。ボツリヌス菌のうち、第Ⅰ群菌に属するタンパク分解性のA、B及びF型菌のグループ(以下「第Ⅰ群菌」という。)では、pHが4.6未満、第Ⅱ群菌に属するタンパク非分解性のB、E及びF型菌のグループ(以下「第Ⅱ群菌」という。)では、pHが5.0未満の条件では増殖できないとされている。水分活性については、第Ⅰ群菌では水分活性a_w値として0.94未満及び第Ⅱ群菌ではa_w値として0.97未満の条件では増殖できないとされている。(参照15)

微生物の増殖に影響を与える環境因子は、培地の構成、pH、水分活性、酸化還元電位、温度及び大気等様々であり、ボツリヌス菌のような芽胞形成細菌に関連したハザードを理解する上で、個々の芽胞の増殖能を予測することは重要である。ボツリヌス菌の芽胞が増殖を開始する時期(誘導期間)は、発芽する間の芽胞の処理及び増殖条件に依存し、芽胞により多様であるとされている。(参照28)

(3)失活条件(加熱条件)

ボツリヌス菌の芽胞のうち、第Ⅰ群菌は、耐熱性が高く、最も強い加熱条件を必要とし、低酸性缶詰食品の加熱条件(121℃・3分間)が適用される。この条件は、ボツリヌス菌の生存菌数を1/10に減少させるのに要する時間である*D*値[5]の12倍である12*D*値[6]の条件であり、この過程によりウエルシュ菌の芽胞も死滅させられるとしている。(参照15)

ボツリヌス菌の芽胞の耐熱性については、第Ⅰ群菌が高いことが知られており、缶詰のハザードとして第Ⅰ群菌が対象となっている。

第Ⅰ群菌の芽胞の121℃の*D*値は0.1～0.2分と報告されている(参照21)。缶詰産業において、芽胞数10^{12}個を1個に減少させる12*D*の過程は、低酸性缶詰食品の最小加熱条件であり、第Ⅰ群菌の菌株では、121℃で 12×0.2分間=2.4分間となる。食品内に残存したボツリヌス菌は食品内で致死性の神経毒を産生する可能性があることから、ボツリ

---

5 *D*値:生存菌数を1/10に減少させるのに要する加熱時間を時間単位で表したもの(*D*-value: Decimal reduction time)(参照. 食品安全委員会: 生食用食肉(牛肉)における腸管出血性大腸菌及びサルモネラ属菌。微生物・ウイルス評価書2011年8月)。

6 12*D*値:D値の12倍の時間。芽胞数10^{12}個を1個に減少させ得る殺菌値。(参照. 一般社団法人日本医療機器学会:医療現場における滅菌保証のガイドライン 2015。 2015年5月25日及び参照102)

ヌス菌は重要な懸念事項として挙げられている。（参照 29）

なお、市販の豆乳（pH 7.0、加熱殺菌済みの紙容器詰製品）を材料とし、豆乳中におけるボツリヌス菌芽胞（62A: ATCC7948 の 3 株及び A90 の A 型菌計 4 株、BIG4、B Lamanna 及び 213B の B 型菌計 3 株の合計 7 株を用いた）の耐熱性を測定した結果に基づき、ボツリヌス菌の芽胞を死滅させるには、少なくとも 121℃・ 2 分間加熱の殺菌値（*F* 値 [7]）が必要と予測されている。また常温下で流通・販売される容器詰豆乳には、加熱温度 100～103℃では 121℃の F 値が 2 分間（120℃では 2.6 分間）に相当する加熱殺菌を施せば、ボツリヌス菌芽胞を死滅させることができると予測した報告がある。（参照 30）

一方、第Ⅱ群菌は耐熱性が低く、90℃・10 分間又はこれと同等の加熱条件で失活する。（参照 15、31、32）

なお、ボツリヌスの毒素はいずれも易熱性タンパクであり、80℃・20 分間又は 100℃・1～2 分間の加熱で失活する（参照 22）。

２．セレウス菌

（１）特徴

グラム陽性及び通性嫌気性を示す芽胞形成桿菌で、土壌、空気、河川水等の自然環境を始め、農産物、水産物、畜産物等の食料、飼料等に広く分布する（参照 22、33）。菌体の大きさは 1.0～1.2×3～5 µm とされている（参照 34）。セレウス食中毒の主な原因食品は、おう吐型では米飯類、麺類等による事例が多い。下痢型では肉類、野菜類、乳製品等、原因食品の種類は多様である。おう吐型食中毒の原因毒素はセレウリドであり、下痢型食中毒の原因毒素は下痢原性毒素（エンテロトキシン）である。（参照 33、34）

（２）増殖条件

10～50℃で増殖し、至適増殖温度は 28～35℃とされている。7℃以下の低温で増殖する菌株の存在も報告されている。（参照 34）

セレウス菌の増殖及び生残性は菌株により異なる。至適増殖温度は、30～40℃とされている。同様に最低増殖 pH についても菌株によって様々であり、酸性度に依存する。一般的に、塩酸により酸性化させた pH4.8 の

---

[7] *F* 値：加熱（高圧蒸気又は乾熱）滅菌処理における微生物致死量であって、定められた *z* 値（*D* 値を 10 分の 1 に低減あるいは 10 倍に増大させるのに必要な温度）を持つ微生物に関して、規定された参照温度での等価な加熱時間（参照．一般社団法人日本医療機器学会：医療現場における滅菌保証のガイドライン 2015。 2015 年 5 月 25 日）。

培地又は乳酸により酸性化させた pH5.6 の培地では増殖しない。食中毒菌株の増殖における水分活性の影響については報告が少ないが、水分活性 a_w 値として 0.92～0.93 の以下の条件下では増殖できないとされている。（参照 35）

微生物の増殖挙動における誘導期間は、その細胞の履歴、初期菌数等、複合要因が影響するとされ、完全には解明されていないが、セレウス菌の誘導期間の予測モデルを示した報告がある。この報告によれば、食塩濃度 0.5%、pH6.0 で温度を 10℃、15℃又は 20℃とした際のセレウス菌の増殖挙動を調べた結果、誘導期間は温度により変化し、温度が低いほど誘導期間は長くなることが示された。（参照 36）

（３）失活条件（加熱条件）

セレウス菌の芽胞は高い耐熱性を示し、90℃・60 分間の加熱に抵抗性を示す（参照 33）。0.067M のリン酸緩衝液（pH 7.0）で懸濁した芽胞の 121.1℃の *D* 値は培養株の違いにより 0.03～2.37 分であったとする報告がある（参照 35、37）。オイル中の芽胞は熱抵抗性が 10 倍以上高くなるとされ、使用する懸濁液の種類により *D* 値は大きく異なり（参照 34）、大豆油中における 121.1℃の *D* 値が 30 分、オリーブオイル中の 121.1℃の *D* 値は 17.5 分であったとする報告がある。（参照 35、38）

2005 年の EFSA の意見書（以下「EFSA（2005 年）」という。）では、加熱はセレウス菌の芽胞の制御に最も効果的な方法であり、105℃・3 分間の加熱により、加熱耐性の高い菌株を 5 log 減少させることができるとされ、105℃より高い温度での加熱は、ほとんどの場合において、セレウス菌の危害から食品を守ることができるとしている。また、缶詰製造に用いられる加熱条件のみがセレウス菌の芽胞を完全に殺滅できるとしている。（参照 39）

別の研究結果として、豚肉ランチョンミートを加熱調理した結果、セレウス菌の栄養細胞では菌数を 6 log 減少させるためには 70℃・12 秒間の加熱が必要とされた。また、芽胞では菌数を 6 log 減少させるためには 105℃・36 秒間の加熱が必要であったとされている。（参照 40）

なお、セレウリドは 126℃・90 分間の加熱処理でも失活しない一方で、下痢型のエンテロトキシンは熱に感受性があり、56℃・5 分間の加熱処理により不活化される（参照 35）。

Ⅳ　ハザードとなり得る対象病原体による健康被害解析

１．引き起こされる疾病の特徴

（１）ボツリヌス菌

①　ボツリヌス菌による食中毒

ボツリヌス食中毒（食餌性ボツリヌス）は、本菌が食品の保存中に産生する菌体外毒素により汚染された食品を摂取することによって起こる。原材料の芽胞汚染の機会は多いため、嫌気性下で長期保存された食品中における毒素産生が食中毒発生の必要条件とされる。主な原因食品は、野菜及び果実の缶詰・瓶詰、食肉及び食肉加工製品、魚及び魚製品（日本では、魚を用いた発酵食品のいずし[8]等）がある。（参照 21、22、41、42）

食餌性ボツリヌス症の潜伏期間は、8～36 時間とされている。神経症状の発現の前におう吐、下痢の胃腸炎症状を示すこともある。ボツリヌス症の特異症状としては、倦怠感、眼瞼下垂等の視神経麻痺及び嚥下困難等の咽頭喉麻痺があり、筋麻痺から呼吸困難となり死に至ることがある。ボツリヌス症は急性胃腸炎ではなく、神経麻痺がその主徴であり、死亡率の高い毒素型の食中毒であるとされてきた。（参照 22、32）

WHO は、食品由来疾患を対象に Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group (FERG)と称する組織を設立し、世界及び地域における疾患への食品の寄与について推定している。この FERG 内のウイルス疫学、細菌及び寄生虫感染症分野の 14 名の専門家から構成される Enteric Diseases Task Force (EDTF)により、公衆衛生上重要であること、データ入手可能なものを含むこと等を条件として 19 の細菌又はウイルス疾患及び 3 つの原虫性疾患が選択され、これらの 22 の疾患について、2010 年における食品由来疾患の発生、死亡数、障害調整生存年（Disability Adjusted Life Years: DALYs）[9]等を推定する研究が行われた。その結果、2010 年では、22 の疾患により 109 万人（95%信頼区間値は 89 万～137 万人）の死者が発生したと推定され、そのうちの 34%（95%信頼区間値は 29~38%）は 5 歳未満の子どもであったとされた。また、ボツリヌス菌による食品由来疾患の 2010 年の患者数を推定すると 475 人(95%信頼区間値は 183～990 人)、死亡者数を推定すると 24 人(95%信頼

---

[8] いずし：生魚と米飯と麹を交互に重ねて樽につめ、3～４週間自然に発酵させたすしの原型というべきもの（参照 51)。

[9] DALYs: 障害調整生存年。集団の健康状態の指標の一つ。DALYs=生命損失年数 Years of Life Lost（YLL）+障害生存年数 Years of Life Lived with Disability（YLD）の関係にある。YLL とは、ある健康リスク要因が短縮させる余命を集団で合計したもの。YLD とは、ある健康リスク要因によって生じる障害の年数を集団で合計したもの。（参照. 食品安全委員会: 食品中のリステリア・モノサイトゲネス。微生物・ウイルス評価書 2013 年 5 月）

区間値は 7~65 人)、DALYs は 1,036 DALYs[10] (95%信頼区間値は 299～2,805 DALYs)とされた。(参照 43)

なお、米国における 31 の食中毒関連病原体について、病原体ごとに致死率を推定した結果では、ボツリヌス菌を原因とする致死率は 17.3%と推定された。また、入院率は 82.6%とされた。(参照 44)

近年、国内で発生したボツリヌス症[11]には、1999 年 8 月に千葉県で発生した、要冷蔵のレトルト類似食品(ハヤシライスの具)を常温で保存したことによる食中毒事例がある(参照 45)。また、2012 年 3 月に鳥取県で発生した岩手県の業者が製造した要冷蔵のあずきばっとう[12]を常温で保存したことによる食中毒事例もある(参照 46)。

国内では、1951 年以降、2012 年 4 月までに 120 事例の食中毒の発生報告がある(患者数 542 人、死者数は 113 人)(参照 24)。

2012 年 4 月以降、厚生労働省に報告のあったボツリヌス菌による食中毒は、2017 年 2 月の東京都の 1 事例である[13] (2017 年 10 月 2 日現在)(参照 47、48)。

＜参考＞

1997～2016 年の間の人口動態統計における、死因(死因基本分類)が「ボツリズム(ボツリヌス中毒)」(A05.1)となっている死者数として、1 人報告[14]がある(2012 年、男性)(参照 49)。

---

[10] 1,036 DALYs とは、世界の推計人口において、1,036 年の健康年の損失という解釈になる(参照. United Nations : Country-level population data for 2010. World Population Prospects. The 2012 Revision. Methodology of the United Nations Population Estimates and Projections 2014 及び World Health Organization:WHO methods and data sources for global burden of disease estimates 2000-2011. November 2013)。

[11] ボツリヌス症の定義は、ボツリヌス菌(*Clostridium botulinum*)が産生する毒素、又は *Clostridium butyricum* 及び *Clostridium baratii* 等が産生するボツリヌス毒素により発症する神経、筋の麻痺性疾患とされている(参照. 厚生労働省　ボツリヌス症)。2014 年 2 月に宮崎県で発生したボツリヌス症例では、患者(19 歳 男性)の便からは、報告の少ない E 型ボツリヌス毒素産生性の *C. butyricum* が分離された。感染源は特定できなかった。患者は後遺症もなく軽快退院となった。(参照. 田代研之, 他: *Clostridium butyricum* によるボツリヌス症について。IASR 2014; 35: 159-160)。

[12] あずきばっとう:ぜんざいの餅の代わりに平打ちのうどんが入った食品(参照.厚生労働省:ボツリヌス食中毒の発生について。平成 24 年 3 月 26 日　厚生労働省資料)。

[13] 本事例は、蜂蜜を原因食品とする乳児ボツリヌス症による死亡事例(参照 48)。

[14] 人口動態統計の死者とは、戸籍法(昭和 22 年法律第 224 号)第 86 条に基づく死亡の届書に添附する医師等の死亡診断書の死因に「ボツリズム(ボツリヌス中毒)」と記載されたもの。食中毒統計と収集方法が異なり、数値等が異なる場合がある。なお、感染症発生動向調査によると、2012 年には、食餌性ボツリヌス症が 2 人、不明のボツリヌス症が 1 人発生している。(参照. 厚生労働省:国立感染症研究所: 感染症発生動向調査年別報告数一覧(全数把握　四類)

国内で発生したボツリヌス菌による食中毒の主な報告事例を表１に示した。

表１．国内で発生したボツリヌス菌による食中毒の主な報告事例

発生年月	発生場所	原因食品	毒素型	患者数/喫食者数	死者数	食品中の毒素量
1951 年 5 月	北海道	ニシンのいずし	E 型	14/24	4	
1953 年 10 月	秋田県	小鯛のいずし	E 型	4/6	2	
1955 年 9 月	青森県	サンマのいずし	E 型	7/12	3	
1969 年 8 月	宮崎県	瓶入り輸入キャビア	B 型	21/65	3	
1973 年 7 月	滋賀県	ハス（淡水魚）のいずし	E 型	3/3	2	
1976 年 8 月	東京都	さつまあげ	A 型	2/4	1	
1981 年 3 月	福島県	アユのいずし	E 型	2/3	0	
1984 年 6 月	熊本県*	カラシレンコン（真空包装）	A 型	36/不明	11	原因食品 1 g 当たり 24～21,844 マウス LD_{50} [15] (ip) **
1984 年 12 月	北海道	ハタハタ・サケのいずし	E 型	6/34	0	

[15] マウス LD_{50}：ボツリヌス毒素の検出検査法のうち、マウスバイオアッセイにおいて測定された毒素濃度を表す単位で、マウスの腹腔内または尾静脈内に希釈した毒素液を注射した場合、半数（50%）を死亡させると推定される量（参照．公益社団法人日本食品衛生協会：食品衛生検査指針．微生物編 2004 及び参照 42）。

発生年月	発生場所	原因食品	毒素型	患者数/喫食者数	死者数	食品中の毒素量
1993年1月	秋田県	里芋の缶詰	A型	4/4	0	
1995年10月	北海道	サケのいずし	E型	6/8	0	
1997年2月	福島県	いわなのいずし	E型	1/1	0	
1998年7月	東京都	輸入グリーンオリーブ(瓶詰)	B型	18/50	0	
1999年8月	千葉県	ハヤシライスの具（レトルト類似品****)	A型	1/1	0	
2007年4月	岩手県	アユのいずし	E型	1/1	0	
2012年3月	鳥取県	あずきばっとう	A型	2/2	0	原因食品1g当たり約75,000マウスLD_{50}(iv)***

*1984年の熊本県の報告事例では、患者の発生は14都府県にまで広がった。

**検体の毒素量（マウスLD_{50}）は、製造日及び検査検体の部位（中央部又は端部）によって幅がある。本検査の毒素量（マウスLD_{50}）は、毒素をマウス腹腔内に投与する方法で算定されたものである。

***本検査の食品中の毒素量（マウスLD_{50}）は、毒素をマウス静脈内に投与する方法で算定されたものである。

****原因食品として、気密性のある容器包装に入れられた要冷蔵食品が疑われた。本事例により、「気密性のある容器包装詰めの要冷蔵食品に係る取扱いについて」が発出された。（参照50）

*****菌数又は毒素量について参照中に情報の無いものは記載していない。

参照24、45、46、51～62から引用、作成。

② 発症に必要なボツリヌス菌数及び毒素量

発症に必要なボツリヌス菌数は 10^5 個以上とされ（参照 63）、一般的に毒素を産生する菌数は食品 1 g 当たり 10^4～10^5 個とされている(参照 41)。

また、少なくとも 30 ng の毒素の摂取により、ヒトが発症及び致死となるとされている（参照 64)。別の報告では、ヒトにおける A 型毒素の致死量は 0.1～1.0 μg と推定されている（参照 21)。あずきばっとうの事例では食品中の毒素量（マウス LD_{50}）の推定結果として、あずきばっとう 1 g 当たり約 75,000 マウス LD_{50} の毒素が検出された（参照 46)。

（2）セレウス菌

① セレウス菌による食中毒

セレウス菌は環境に広く分布しているため、食品への汚染の機会が多く、食料・食材・調理加工食品の衛生的な取扱いがなされなかった場合、それらの腐敗・変敗や食中毒をもたらすことがあり、食品衛生上重要視される。セレウス菌による食中毒は、しばしば世界各国で発生している。原因食品としては穀類及びその加工品が多い。国内では、欧米諸国と比較して、セレウス菌による食中毒発生事例は必ずしも多くないとされ、1978～2005 年の 28 年間のセレウス菌による食中毒事例は 337 件、患者数は 10,242 人で、日本の全食中毒発生事例数に対するセレウス菌による食中毒発生件数の占める割合は 0.3～2.3 %とされている。(参照 65)

さらに、2005 年以降の食中毒統計の調査では、食中毒発生件数総数に占めるセレウス菌食中毒の件数の割合は、1 %程度とされている(参照 47、66)。

FERG 内の EDTF の研究結果によれば、セレウス菌による食品由来疾患の 2010 年の患者数を推定すると 256,775 人（95%信頼区間値は 43,875– 807,547 人）、死亡者数を推定すると 0 人(95%信頼区間値は 0~0 人)、DALYs は 45DALYs[16]（95%信頼区間値は 7～171DALYs)とされた（参照 43)。

また、米国における 31 の食中毒関連病原体について、病原体ごとに致死率を推定した結果では、セレウス菌を原因とする致死率は 0 %と推定されており、入院率は 0.4%と推定された（参照 44)。

---

16 45 DALYs とは、世界の推計人口において、45 年の健康年の損失という解釈になる（参照. United Nations: Country-level population data for 2010. World Population Prospects. The 2012 Revision. Methodology of the United Nations Population Estimates and Projections 2014 及び World Health Organization:WHO methods and data sources for global burden of disease estimates 2000-2011. November 2013)。

セレウス菌食中毒はその臨床症状から、以下に示すような a.おう吐型又はｂ. 下痢型の 2 つに分けられる。セレウス菌による食中毒は、日本国内においては、そのほとんどがおう吐型であるとされている。1975～1981 年に東京都内で発生したセレウス菌によると推定された食中毒の 15 事例及びその後に東京都で発生した 24 事例のセレウス菌による食中毒は、いずれもおう吐型であったとする 1992 年の報告がある（参照 67、68)。セレウス菌食中毒は臨床症状、潜伏期間、関係検体からの原因菌検出頻度などによって診断され、通常は下痢及びおう吐に対する水分・栄養補給等の対症療法が行われる程度であり、特別な治療は行われない。（参照 34、66、69)

a. おう吐型食中毒

おう吐型食中毒の場合には、セレウス菌が増殖する際に食品中で生成されたセレウリドを摂取した後、潜伏期間 0.5～6 時間を経て悪心及びおう吐を主症状として発症する。まれに下痢を併発することもあるが、発熱はほとんどない。症状持続時間は 6～24 時間とされている。（参照 34)

国内で発生したおう吐型食中毒のうち、食品中の菌数又はセレウリド量が確認できた主な報告事例を表 2 に示した。

表 2. 国内で発生したセレウス菌によるおう吐型食中毒の主な報告事例

発生年月	発生場所	原因食品	患者数/喫食者数	死者数	食品中の菌数又は毒素量
1977 年 9 月	大阪府	給食弁当	9/ 13	0	食品中の菌数：2.0×10^{6} CFU* / g 及び 2.6×10^{7} CFU* / g
1977 年 10 月	大阪府	パック弁当	211/ 1,809	0	食品中の菌数: おにぎり弁当（5 検体） 7.5×10^{7}～9.0×10^{8}/ g 巻ずし弁当（2 検体） 8.0×10^{3}/ g 及び 1.7×10^{4} / g いなりずし弁当（3 検体） 1.1×10^{3}～9.5×10^{4}/ g

発生年月	発生場所	原因食品	患者数/喫食者数	死者数	食品中の菌数又は毒素量
1981年7月	千葉県	豆腐のおから	172/338	0	食品中の菌数:4.5×10^9/ g
2001年12月	熊本県	あん入り餅	346/441	0	食品中の菌数:4.4×10^4～1.6×10^6 CFU*/ g（参考）食品中のセレウリド量:160 ng/ g
2005年7月	東京都	学童クラブのおにぎり弁当	67/110	0	食品中の菌数:3.3×10^8～6.0×10^8 CFU*/ g 食品中のセレウリド量:520～557 ng/ g
2008年10月	大阪府	家庭での昼食調理品	3/3	1**	食品中の菌数：食品残品***から検出されたセレウリド合成酵素遺伝子陽性のセレウス菌は1.0×10^8/ g又は5.7×10^8 / g 食品中のセレウリド量：詳細不明。
2009年6月	福岡県	学生寮で提供された炒飯	8/11	0	食品中の菌数:実際に喫食された食品は保存されておらず、検査は実施できなかった。炒飯の具材（加熱済み）から検出された菌数:4.2×10^3 CFU*/ g
2010年8月	東京都	みたらし団子	5/6	0	食品中の菌数:残品の生団子から 6.9×10^7 / g, 参考品の生団子2点からは7.1×10^7 / g 又は5.6×10^7 / g 食品中のセレウリド量：残品の生団子から150 ng/ g, 参考品の生団子2点からは130 ng/ g 又は74 ng/ g

*菌数を計数しているものの中で、参照中にCFUと記載のあったものにはCFUを付記した。

**患者３人のうち、成人の患者は輸液療法後速やかに回復し、２歳の女児は血清交換及び血液透析後速やかに回復したが、１歳の男児が死亡した。なお、死亡した男児は、数日前より風邪をひき、体力的にも弱っていた状態であったとされている。

***本事例の食品残品は、患者宅キッチンの流しの残渣入れ及びゴミ箱から採取されたものを示す。

参照 70～79 から引用、作成。

b．下痢型食中毒

下痢型食中毒の場合には、食品中で増殖したセレウス菌を摂取し、腸管内で増殖してエンテロトキシンが産生される（参照 19）。潜伏期間 8～16 時間を経て腹痛及び水様下痢を発症するが、おう吐及び発熱はほとんどないとされ、症状持続期間は 12～24 時間、まれに数日とされている。（参照 34）

2007 年から 2016 年までの間に、地方公共団体から厚生労働省へ報告されたセレウス菌食中毒の事例のうち、エンテロトキシン産生又は下痢型のセレウス菌と記載のあった事例は７件（うち混合型の事例[17]は４件）である（参照 80）。

国内では、2006 年８月に喫食者数 25 人、患者数 17 人が発症した食中毒事例の調査結果において、事例の食材とされた大葉から、エンテロトキシン が陽性でセレウリドが陰性とされたセレウス菌が検出されたとする報告がある（参照 81）。

＜参考＞

セレウス菌食中毒は、いずれの型の食中毒でも、症状は一両日中に回復することが多く（参照 34）、セレウス菌は通常、食中毒の原因菌としてよく知られている。

しかし、非常にまれな例として、国内では、2005 年にセレウス菌食中毒に合併した脳症を発症した５歳の男児の事例報告がある（参照 82）。

セレウス菌食中毒による死亡例の報告は、非常にまれな例として、おう吐型食中毒では、国外において、劇症肝不全と脳浮腫により死亡したスイスの事例及び代謝性アシドーシス[18]及び肝不全を併発して喫食後 13 時間

---

[17] セレウリド産生及びエンテロトキシン産生又はおう吐型及び下痢型のセレウス菌の事例を示す。

[18] 代謝性アシドーシス：酸塩基平衡を酸性側にしようとする状態をアシドーシスという。代謝性アシドーシスは、固定酸（不揮発性の酸）が増加する乳酸アシドーシス、糖尿病性ケトアシドーシス、腎不全、サリチル酸中毒等及び重炭酸イオン（HCO_3^-）が過剰に排泄されて生じる下痢、腎尿細管アシドーシス等がある。（参照．日本救急医学会：医学用語解説集）

で急死したベルギーの事例の報告がある（参照 83、84）。下痢型食中毒では、国外において、老人ホーム等施設に入居していた虚弱であったとされる高齢者 6 人が血性下痢を発症し、そのうち 3 人が死亡した 1998 年のフランスの事例がある。フランス国立食品環境労働衛生安全庁（ANSES）は、特記すべき事項として、本事例では、これまでに観察されたことのない、極めてまれなセレウス菌株（NVH391-98)が分離され、この菌株が産生した毒素[19]を原因とした事例であったとしている。（参照 34、85、86）

セレウス菌により引き起こされる疾病は、ほとんどが食中毒であるが、消耗性疾患にり患した患者又は外傷を負った後の患者でセレウス菌による感染症の事例が発生することがあり[20]、免疫機能が未熟又は低下した状態での日和見感染の場合には、敗血症、髄膜炎等の重篤な病態を起こすことがある。（参照 87、88、89、90）

1997～2016 年の間の人口動態統計における、死因（死因基本分類）が「セレウス菌食中毒[21]」（A05.4）となっている死者数として、計 2 人報告がある（2013 年に女性 1 人及び 2014 年に男性 1 人）（参照 49）。

② 発症に必要なセレウス菌数及び毒素量

諸外国のリスク管理機関及びリスク評価機関は、多くの事例の情報から、発症に必要なセレウス菌数は、食品 1g 当たり 10^5 ～ 10^8 個の細胞又は芽胞であるとしている（参照 19、39、91、92）。香港の食物安全センター（Centre for food Safety）の食品中の微生物のガイドラインでも同様に、ヒトの健康に影響を引き起こすと考えられる食品中のセレウス菌数は、食品 1g 当たり 10^6 個の細胞又は芽胞より多いと位置付け、ヒトの疾病に関連するような菌数は、大部分は食品 1g 当たり 10^5 ～ 10^8 個の細胞又は芽胞であるとしている（参照 93）。

一方、ニュージーランドの第一次産業省（MPI）による乳製品中のセレウス菌に係るリスクプロファイル（2016 年）では、ほとんどの事例におけるセレウス菌数は、食品 1g 当たり 10^5 ～ 10^8 個の細胞又は芽胞であ

---

[19] サイトトキシン K（CytK)が本菌株から分離された。CytK は壊死性及び溶血性を示すとされている。（参照 85）

[20] 敗血症、肺炎、壊死性筋膜炎、骨髄炎、全眼球炎、髄膜炎、心内膜炎及び外傷等を含むとされている（参照 87、88）。

[21] 戸籍法第 86 条に基づく死亡の届書に添附する医師等の死亡診断書の死因に「セレウス菌食中毒」と記載されたもの。なお、食中毒統計と収集方法が異なり、数値等が異なる場合がある。

るとするEFSA（2005年）に対して、以下の理由によりその解釈は単純ではないとしている。（参照94）

a. 毒素産生量は菌株により異なり、同じ毒素量でもいくつかの菌株では、大量の菌数が必要となること。
b. セレウリドは耐熱性が高いため、加熱処理された食品中セレウス菌自体は存在しない、又はわずかしか残っていない場合であってもヒトに健康影響を引き起こすレベルのセレウリドが存在し得ること。

発症に必要な毒素量については、菌株、食品及び条件に依存するとされている。様々な論文の情報に基づいたまとめとして、セレウリドの摂取量が10 μg/kg 体重であると例示している報告がある（参照95）。

また、セレウリドによる食中毒事例の原因食品とされたパスタ料理に含まれていたセレウリド量を、*in vitro* の精子運動抑制試験[22]及び液体クロマトグラフィー質量分析法（LC/MS）により測定及び分析した結果からは、事例の原因食品中には、約1.6 μg/g のセレウリドが含まれていたとされ、患者が喫食したパスタの量を300 g と推定した場合、400～500 μg のセレウリドを摂取したことになり、体重を60 kg と仮定すると、ヒトの発症に必要な毒素量は8 μg/kg 体重以下であるとされた（参照96）。

国内では、1974～1999年に日本で発生したおう吐型食中毒とみなされた14の事例の原因食品中のセレウリド量を調べた報告がある。本報告では、ヒトの上皮細胞 HEp-2 細胞（ヒト喉頭がん由来細胞株）を用いて、セレウリドによる細胞の空胞化活性を指標としてセレウリド量を測定している。その結果、事例の原因とされた焼き飯、焼きそば、カレーライス、スパゲッティ、麺類、ご飯といった食品 1 g 当たりに含まれていたセレウリド量は、0.01～1.28 μg であった。（参照97）

また、別の報告では、9つのおう吐型食中毒事例の原因食品中のセレウリド量は、食品1 g 当たり0.02～1.28 μg であったとする結果を基に、一般的な喫食量からヒトにおけるセレウリドの最少発症毒素量を、およそ1 μg 程度と推定している（参照98、99）。

---

[22] 精子運動抑制試験：Andersson らが1998年に発表した、ブタの精子をセレウス菌株又はセレウス菌に汚染された食品の抽出物に24時間ばく露させ、精子運動の抑制を調べる方法。精製セレウリドを用いた試験において、50%影響濃度は、ブタの精子1 ml 当たり0.5 ng のセレウリドとされている。（参照. Andersson MA et al : A Novel Sensitive Bioassay for Detection of *Bacillus cereus* Emetic Toxin and Related Depsipeptide Ionophores. Applied And Environmental Microbiology 1998 ; 64(4): 1338-1343）
本研究では、Andersson らの方法を改変した方法を用いている。

２． 無菌充填豆腐による国内外における食中毒の発生状況

欧州等諸外国への輸出は、過去 10 年間で合計約 5,995 トンであり、常温で流通している。また、米国での現地製造は、過去 10 年間で約 52,000 トンであり、常温で流通している。どちらも食中毒等の健康被害の報告は確認されていない。（参照 4、5）

Ⅴ． ばく露評価

１．無菌充填豆腐の細菌検出状況

厚生労働省から提出された国内で製造されている無菌充填豆腐 2 製品 240 検体についての細菌検出状況の調査結果では、一般細菌数、大腸菌群、好気性芽胞形成細菌及び嫌気性芽胞形成細菌が全て陰性であり、かつ容器包装詰加圧加熱殺菌食品の成分規格である発育し得る微生物の試験が全て陰性であったと報告されている（別添資料）。

なお、豆類加工品及び豆腐におけるセレウス菌の汚染状況には、以下のような報告がある。

・1998～2006 年に東京都内の市場に流通する各種食材、加工食品、調理食品等を対象に、セレウリド産生性セレウス菌の汚染状況を調査した結果の中で、豆類の加工品として、豆乳 1 検体からセレウリド産生株が検出され、その菌数は 50 CFU/g であった（参照 100）。

・種々の食品からのセレウス菌の検出状況を調べた報告の中で、野菜、果実及びその加工品（豆腐、果実、ナッツ及び野菜）からは 51～56%の率で検出され、特に豆腐の汚染率が高かった（参照 65）。

・豆腐は一般的にセレウス菌の汚染率が高いと考えられているが、細菌の増殖は製品によって異なるとともに、毒素の産生性は低いとされ、研究に用いられた大部分の製品は陰性であった（参照 97）。

２．製造工程ごとのハザード制御

（１）豆乳の製造工程

① 原料大豆の選別、洗浄及び浸漬工程

これまでの豆腐と同様に、原料大豆について、品質が良好できょう雑物を含まないものを使用し、十分に水洗いすることにより、土壌由来細菌による汚染が低減されると考えられる。

さらに、ボツリヌス菌及びセレウス菌の増殖についての既往の科学的知見に照らし合わせて考えると、浸漬工程においても、管理運営基準指針に基づき適切に管理された場合、偏性嫌気性細菌であるボツリヌス菌の増殖は考えにくい。また、浸漬工程におけるセレウス菌にとっての培地は低栄

養成分とみなせる水であること、及び芽胞が発芽し、増殖を開始するまでに一定の時間を要することから、セレウス菌の増殖の程度は限られると考えられる。なお、加熱処理（ヒートショック）により芽胞の発芽誘導を行うことなしに培地の代わりに水中でセレウス菌の芽胞の挙動を見た結果では、3 時間経過してもほとんど芽胞の発芽は見られなかった（参照 101）。

② 豆乳の殺菌工程

豆乳の殺菌については、発育し得る微生物を死滅させるのに十分な効力を有する方法として、厚生労働省は、豆乳の殺菌条件を 120℃・4 分間加熱又はこれと同等以上としている。

a. ボツリヌス菌の失活条件（加熱条件）

ボツリヌス菌を加熱殺菌の対象とする場合の失活条件は、芽胞数 10^{12} 個を 1 個に減少させ得る殺菌値に相当する加熱処理であるとされている。なお、A 及び B 型ボツリヌス菌 8 株の芽胞を用いてリン酸緩衝液（pH7.0）中におけるボツリヌス菌の芽胞の耐熱性を調べ、得られた耐熱性値に基づき 120℃における 12*D* 値を算出した結果は、1.2～2.7 分であり、4 分を超えるものはなかったとする報告がある。（参照 102）

b. セレウス菌の失活条件（加熱条件）

セレウス菌芽胞の加熱耐性については、ばらつきが報告されている。EFSA（2005）の意見では、セレウス菌の加熱耐性の幅は広いとされている（参照 39）。EFSA（2005）の意見では、低酸性食品の缶詰に用いられるボツリヌス菌を不活化する加熱処理 121°C・3 分間という条件は、セレウス菌 の芽胞も死滅させることができるとした（参照 39）。そして、EFSA（2016）の意見においても、EFSA（2005）の意見を支持している。（参照 91）

EFSA（2005）に引用されているセレウス菌株の失活条件（加熱条件）についての情報は以下のとおりである。

(a) 種々の起源の菌株の芽胞を用いた、pH 7.0 のリン酸緩衝液中の 90℃における *D* 値は、4.6～200 分未満と幅があり、中央値は 9.2 分であった（参照 103）。

(b) 米国（菌株の分離源は不明）、ロシア（菌株の分離源は不明）、ベルギー（菌株の分離源は不明）、ベルギー（豆のスープから分離された菌株）、英国（調理米から分離された菌株）、米国（缶詰のスープから分離された菌株）といった種々のセレウス菌株を pH8.3 のイオン交換水に入れて加熱した試験の結果では、これらの菌株の 100℃の *D* 値は、0.6～27 分であった。一番高い耐熱性を示した菌株は、Bradshaw らが米国の缶詰のスープ

から分離した菌株（Brad 2 株）であり、115℃の D 値は 1.8 分であった。（参照 104）

(c) 腐敗した野菜の缶詰（缶詰のスープ）から分離された菌株の 130℃の D 値は、およそ 0.3 分であった（参照 39)。分離した菌株の中で耐熱性の高い菌株（Culture 2, 上記 Brad 2 株と同じ）について、0.067 M のリン酸緩衝液に懸濁して加熱した試験では、115.6℃の D 値は 11.44 分、121.1℃における D 値は 2.37 分、129.4℃における D 値は 0.28 分であった。（参照 37）

(d) 調理済みチルド食品に含まれていた野菜から分離された菌株の芽胞の 105℃の D 値は 0.63 分であったと報告されている。（参照 105）

(e) セレウス菌の芽胞の加熱耐性は pH により変化し、95℃におけるセレウス菌の芽胞の生残性は、pH を 6.2 から 4.7 に減少させると、3 倍減少するという報告（参照 106）及び pH7 から pH4 に酸性化させた場合には、103℃の D 値が 5 倍減少したという報告（参照 107）がある。

食品安全委員会では、以下の理由から、2017 年時点で再現可能な科学的知見に基づいて考えると、殺菌前の製造工程が適切に管理された豆乳を 120℃・4 分間で加熱殺菌することにより、セレウス菌についても死滅させることができると判断した。

・(c)は、1975 年の Bradshaw らの報告であり、極めて高い耐熱性が報告されているが（参照 37)、この報告以降、近年の水系（aw=0.999）における報告では、最大でも、115℃の D 値が 0.25 分である。121℃の D 値が 0.44 分の報告もあるが、これは高食塩水濃度環境下（aw=0.750）の特異な環境下であり、それ以外の報告は確認できなかった。（参照 108）

・また、(b)は、1987 年の報告であり、(c)で、Bradshaw らが分離した菌株（Brad 2 株）を用いて 0.067 M のリン酸緩衝液に懸濁して加熱した知見も含まれている。一番高い耐熱性を示した菌株は、米国（缶詰のスープから分離された菌株）の Brad 2 株であり、115℃の D 値は 1.8 分と、(c)で報告された耐熱性より低かった。（参照 104）

・セレウス菌の耐熱性は、菌株間の差異のほか、調整方法によっても大きく異なるとされ、芽胞形成（実験的調整）時の温度や、芽胞のコア[23]の構成イオン量（Ca^{2+}、K^{+}等）も耐熱性の影響因子として重要であると報告さ

[23] 芽胞のコア：芽胞の中心部分のコア（core）は細胞質に相当し、核酸及び種々の酵素等が含まれている（参照. 渡部一仁：細菌芽胞（胞子）—その特徴と調製法, 抵抗性試験法, 第 14 改正日本薬局方での関連記載項目および芽胞形成菌管理の意義。PDA　Journal of GMP and Validation in Japan 2001；3(2): 67-73)。

れている。さらに、他の環境因子も耐熱性に関連していると考えられる。（参照 109、110）

・種々の菌株のセレウス菌を用いた上述の(a)、(d)及び(e)のような失活条件（加熱条件）の報告があり、これらの結果から、120℃・4 分間の加熱処理で豆乳中に残存し得るセレウス菌を死滅させることが可能である。（参照 103、105、106、107）

（２）凝固剤の添加工程

豆乳の殺菌後に添加する凝固剤については、無菌充填豆腐に必要な条件（参照 3）にある、発育し得る微生物を死滅させ又は除去するのに十分な効力を有する方法により適切な殺菌又は除菌が行われることが確保されることを前提とすれば、凝固剤の添加工程でハザードが混入することは考えにくい。

（３）無菌充填工程等

殺菌された豆乳に殺菌又は除菌された凝固剤を添加し、容器包装に無菌的に充填する工程については、既に牛乳等の常温保存可能品等他の食品でも多くの使用実態のある技術である。厚生労働省が諮問内で規定する無菌充填が可能な機器を用いて、あらかじめ殺菌された適切な容器包装を用いて無菌的に充填されることが確保されることを前提にすれば、無菌充填工程において、ハザードが混入することは考えにくい。

充填後、無菌充填技術を用いて製造され常温保存で長期間保存及び流通している牛乳等の常温保存可能品等の他の食品と同様に、流通・販売過程等における荷積等の運搬に伴う外圧等の種々の物理的影響に耐え、破損等による微生物の汚染を防止できる容器包装を用いることを前提にすれば、無菌充填工程後の保管、流通、小売及び消費者の保管中に、ハザードが混入することは考えにくい。

３．　成分規格の設定について

厚生労働省が示す無菌充填豆腐に必要な条件では、最終製品に対して、容器包装詰加圧加熱殺菌食品の成分規格に規定する試験の結果、発育し得る微生物が陰性であることとされている。（参照 3）

容器包装詰加圧加熱食品の規格基準を規定した「食品衛生法施行規則及び食品、添加物等の規格基準の一部改正について」（昭和 52 年 3 月 23 日付け環食第 52 号）では、成分規格について、常温下で長期流通する食品であることを考慮して定められたものであるとし、「発育し得る微生物が

陰性」であることとは、恒温試験を 14 日間行った結果、容器包装の膨張又は漏えいを認めず、かつ、その検体について細菌試験を行った結果、培養基のいずれにも菌の増殖を認めないこととしている。(参照 111)

ハザードとなり得る対象病原体として特定したボツリヌス菌及びセレウス菌は、当該試験で検出されることから、発育し得る微生物が陰性であることという条件を成分規格で規定することは、適切な管理の下に製造されたことを検証するのに有効であると考えられる。

Ⅵ. リスク特性解析

無菌充填豆腐が常温下で長期間保存及び流通することを想定すると、ハザードとなり得る対象病原体として特定したボツリヌス菌及びセレウス菌が当該食品の最終製品に残存した場合、人に健康被害を引き起こす可能性がある。

そのため、管理運営基準指針に基づき十分に衛生管理されることを前提として、厚生労働省が条件として示す無菌充填豆腐の製造工程及び最終製品に対する成分規格による管理に基づき製造された無菌充填豆腐の保存を現行の冷蔵保存から常温保存に変更した場合のボツリヌス菌及びセレウス菌によるリスクの差について検討する。

豆乳の製造工程については、以下の知見等により、ボツリヌス菌及びセレウス菌が残存するリスクは、十分に低減すると考えられる。

・原料大豆は、品質が良好できょう雑物を含まないものが使われること。
・原料大豆は、十分に水洗いされること。
・ボツリヌス菌及びセレウス菌の増殖について、既往の科学的知見に照らし合わせて考えると、浸漬工程において、管理運営基準指針に基づき適切に管理されることにより、偏性嫌気性細菌であるボツリヌス菌の増殖は考えにくく、また、セレウス菌の増殖の程度は限られると考えられること。
・ボツリヌス菌は、豆乳の殺菌条件（120℃・4 分間加熱又はこれと同等以上）により、死滅すること。
・セレウス菌は、豆乳の殺菌条件（120℃・4 分間加熱又はこれと同等以上）により、死滅すること。

豆乳殺菌後の凝固剤の添加工程及び無菌充填工程については、規格基準及び管理運営基準指針に基づき適切に管理されていることを前提とした場合、ボツリヌス菌及びセレウス菌に汚染され、リスクが高まるとは考えられない。

また、既に常温で流通している欧州等諸外国への輸出又は米国での現地製造については、食中毒等の健康被害の報告はこれまで確認されていない（参照 4、5）。

以上のことから、無菌充填豆腐の保存を現行の冷蔵保存から常温保存に変更した場合のリスクに差があるとは考えられない。

Ⅶ. 食品健康影響評価

上記のリスク特性解析を踏まえ、食品安全委員会としては、以下のように結論付ける。

1　原料の大豆に存在する可能性があり、耐熱性を示す芽胞形成細菌には、クロストリジウム属菌、バチルス属菌等がある。評価対象の無菌充填豆腐は、常温下で長期間保存及び流通することが想定されることから、厚生労働省が条件として示す製造工程を踏まえ、ハザードとなり得る対象病原体として特定したボツリヌス菌及びセレウス菌が当該食品の最終製品に残存した場合、人に健康被害を引き起こす可能性がある。

2　管理運営基準指針に基づき十分に衛生管理されることを前提として、厚生労働省が条件として示す殺菌、除菌等の製造工程を取った場合、本評価でハザードとなり得る対象病原体として特定したボツリヌス菌及びセレウス菌は死滅し、最終製品に残存しないと考えられる。なお、発育し得る微生物が陰性であることという条件を成分規格で規定することは、当該食品が適切な管理の下で製造されたことの検証に有効であると考えられる。

3　したがって、現在は豆腐の規格基準に基づき冷蔵保存されている無菌充填豆腐について、冷蔵保存から常温保存に変更した場合のリスクに差があるとは考えられない。

なお、大豆の浸漬工程で耐熱性が高い毒素を産生する細菌が増殖し、毒素を産生した場合、その後の殺菌工程で除去することができないため、現行の豆腐の衛生管理と同様、管理運営基準指針を踏まえ、毒素産生に必要とされる菌数まで増殖させないように適切に管理することが必要である。

また、120℃ 4 分間加熱又はこれと同等以上の殺菌条件を確保するための工程管理は、その実施状況の連続的又は相当の頻度のモニタリングが必要であり、当該モニタリングにより管理措置が適切に講じられていないと認められたときには、速やかに改善措置を実施することが必要である。

また、無菌充填豆腐に使用する容器包装については、以下の点に留意する必要がある。

・無菌充填豆腐が常温下で長期間保存及び流通することを考慮し、既に無菌充填技術を用いて製造され常温下で長期間保存及び流通している牛

乳等の常温保存可能品等他の食品と同様に、流通・販売過程における荷積等の運搬に伴う外圧等の種々の物理的影響に耐え、破損等による微生物の汚染を防止できる容器包装を用いること。

・消費者等が保存方法を誤解しないように、冷蔵保存が必要な豆腐には冷蔵が必要である旨及び常温で保存できる豆腐には常温保存ができる旨を消費者等が明確にわかるように、容器包装に表示すること。

＜略語一覧＞

略語	名称
ANSES	Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail （フランス国立食品環境労働衛生安全庁）
DALYs	Disability Adjusted Life Years (障害調整生存年)
EDTF	Enteric Diseases Task Force
EFSA	European Food Safety Authority (欧州食品安全機関)
EU	European Union (欧州連合)
FDA	Food and Drug Administration （米国食品医薬品庁）
FERG	Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group
LC/MS	Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (液体クロマトグラフィー質量分析法)
LD_{50}	50% Lethal Dose (半数致死量)
MPI	Ministry for Primary Industries （ニュージーランド第一次産業省）
WHO	World Health Organization （世界保健機関）

＜参照＞
1. 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年 12 月 28 日付け厚生省告示第 370 号）厚生省
2. 中岡愛子：店頭露出飲食品の細菌学的研究 第一報 特に「豆腐漬水」の細菌学的考察。食物学会誌 1958. 5: 50-59
3. 食品健康影響評価について. 別添 豆腐の規格基準の改正について（平成 29 年 4 月 12 日付け厚生労働省発生食 0412 第 1 号）
4. 海外輸出品出荷実績について（2017 年 7 月 14 日）厚生労働省資料
5. 無菌充填豆腐に係る施設からの報告事項（2017 年 7 月 11 日）厚生労働省資料
6. 食品等事業者が実施すべき管理運営基準に関する指針（ガイドライン）の改正について（平成 26 年 10 月 14 日付け 食安発 1014 第 1 号）厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知
7. FDA: CFR-Code of Federal Regulations Title 21. PART 108 EMERGENCY PERMIT CONTROL
8. FDA: CFR-Code of Federal Regulations Title 21. PART 113. THERMALLY PROCESSED LOW-ACID FOODS PACKAGED IN HERMETICALLY SEALED CONTAINERS
9. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition: Submitting Form FDA 2541 (Food Canning Establishment Registration) and Forms FDA 2541d, FDA 2541e, FDA 2541f, and FDA 2541g (Food Process Filing Forms) to FDA in Electronic or Paper Format: Guidance for Industry. 2016
10. 欧州への輸出及び米国での生産に関する無菌充填豆腐の規制状況（2017 年 5 月 19 日）厚生労働省資料
11. REGULATION (EC) No 178/2002 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL. 28 January 2002. laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety
12. 山本和則, 神谷隆久, 小室道彦, 掛札しげ子, 村上りつ子, 高井勝美: フラットサワー変敗しるこ缶詰から分離した好熱性, 偏性嫌気性有芽胞細菌の性状について。食品衛生学雑誌 1984；25(3): 233-240
13. 山本和則, 神谷隆久, 小室道彦, 掛札しげ子, 村上りつ子, 一条悟朗: フラットサワー変敗原因クロストリジウムの亜硫酸塩及び熱に対する耐性について。食品衛生学雑誌 1988；29(4): 256-261

14. 蜂須賀養悦：芽胞（細菌胞子）の耐熱性の機構。化学と生物；18(11): 731-739
15. EFSA: Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on the request from the Commission related to *Clostridium* spp in foodstuffs. The EFSA Journal. 2005. 199: 1-65
16. 宮本敬久：食品における耐熱性芽胞形成菌の生育特性と制御。日本食品微生物学会雑誌 2009；26(2): 92-97
17. 中條均紀, 森山裕子：*Bacillus coagulans*：選択培地ならびに耐熱性胞子検出法の開発。日本食品工業学会誌 1994；41(4): 281-286
18. 厚生労働省: 食中毒統計資料 平成 12 年 (2000 年) ～平成 28 年 (2016 年) http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/syokuchu/04.html#j4-2
19. FOOD STANDARDS Australia New Zealand (FSANZ): Imported food risk statement. Bean curd and *Bacillus cereus* 2016；1-4
20. WHO: Annex 6. WHO good manufacturing practices for sterile pharmaceutical products. WHO Technical Report Series 2011; No. 961: 261-284
21. ICMSF: MICROORGANISMS IN FOODS 5 1996.5; *Clostridium botulinum*
22. 花岡正季: 細菌性食中毒とその予防（2）。 生活衛生 1991；35(4): 301-307
23. 国立感染症研究所：ボツリヌス症をひきおこす細菌について（2017 年 5 月 19 日改訂）
24. 国立感染症研究所：レファレンス委員会地方衛生研究所全国協議会：ボツリヌス症 2012 年 12 月 07 日
25. Barash JR, Arnon SS: A Novel Strain of *Clostridium botulinum* That Produces Type B and Type H Botulinum Toxins. The Journal of Infectious Diseases 2014; 209: 183-191
26. 伊藤武, 坂井千三: 主な食中毒起因細菌の食品中における増殖について。食品衛生学雑誌 1989；30(2): 123-137
27. CODEX STAN 311-2013：Standard for Smoked Fish, Smoke-Flavoured Fish and Smoke-Dried Fish. P. 8-9
28. Stringer SC, Webb MD, Peck MW: Lag time variability in individual spores of *Clostridium botulinum*. Food Microbiology 2011；28: 228-23528. FAO. Assessment and management of seafood safety and quality 2014；1-432

29. FAO : Assessment and management of seafood safety and quality 2014 ; 1-432
30. 松田典彦, 駒木勝, 市川良子 : 豆乳中における A 及び B 型ボツリヌス菌芽胞の耐熱性。食品衛生学雑誌 1988 ; 29(2): 151-155
31. Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food. Report on Vacuum Packaging and Associated Processes 1992; 1-69
32. 阪口玄二:ボツリヌス症ー病因、病形、発病機構、診断と治療 - IASR 2008;29: 37-38
33. 熊谷進 編集代表, 小久保彌太郎, 小沼博隆, 豊田正武編:HACCP:衛生管理計画の作成と実践。改訂データ編.中央法規.8.セレウス菌 2003; p.122-141
34. 仲西寿夫, 丸山 務 監修. 食品由来感染症と食品微生物. 中央法規. 2009 年
35. ICMSF. MICROORGANISMS IN FOODS 5. 1996. 2. *Bacillus cereus*
36. Koseki S, Nonaka J:Alternative Approach To Modeling Bacterial Lag Time, Using Logistic Regression as a Function of Time, Temperature, pH, and Sodium Chloride Concentration. Applied and Environmental Microbiology 2012; 78(17): 6103-6112
37. Bradshaw JG, Peeler JT, Twedt RM: Heat Resistance of Ileal Loop Reactive *Bacillus cereus* Strains Isolated from Commercially Canned Food. Applied Microbiology 1975; 30(6): 943-945
38. Molin N, Snygg BG: Effect of lipid materials on heat resistance of bacterial spores. Applied Microbiology 1967; 15(6): 1422-1426
39. EFSA: Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on *Bacillus cereus* and other *Bacillus spp* in foodstuffs. The EFSA Journal 2005; 175:1-48
40. Byrne B, Dunne G, Bolton DJ. Thermal inactivation of *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* vegetative cells and spores in pork lucheon roll. Food Microbiology 2006; 23: 803-808
41. 熊谷進 編集代表, 小久保彌太郎, 小沼博隆, 豊田正武編. HACCP:衛生管理計画の作成と実践。 改訂データ編. 中央法規. 6. ボツリヌス菌 2003; p. 100-111
42. 公益社団法人日本食品衛生協会: 食品衛生検査指針。微生物編 2015
43. Kirk MD, Pires SM, Black RE, Caipo M, Crump JA, Devleesschauwer B et al: World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 22 Foodborne Bacterial, Protozoal, and

Viral Diseases, 2010: A Data Synthesis. PLOS Medicine 2015; 12(12): e1001921: 1-21
44. Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson M-A, Roy SL et al: Foodborne Illness Acquired in the United States-Major Pathogens. Emerging Infectious Diseases 2011; 17(1): 7-15
45. 内村眞佐子, 小岩井健司, 門間千枝, 柳川義勢: 千葉県柏市で発生したボツリヌス食中毒事例。IASR 1999 ; 20(12)
46. 鳥取県衛生環境研究所上田裕, 花原悠太郎, 独立行政法人国立病院機構米子医療センター阪本智宏, 鳥取県西部総合事務所生活環境局松村毅, 国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部北村勝, 百瀬愛佳, 他:鳥取県で発生した国内 5 年ぶりとなる食餌性ボツリヌス症。IASR 2012. vol. 33: 218-219
47. 厚生労働省. 年次別病因物質別食中毒発生状況.
48. 厚生労働省. 平成 29 年食中毒発生事例（速報：平成 29 年 10 月 2 日までに厚生労働省に報告のあった事例）
49. 厚生労働省. 政府統計の総合窓口. 人口動態調査. 人口動態統計
50. 気密性のある容器包装詰めの要冷蔵食品に係る取扱いについて（平成 11 年 8 月 30 日付け厚生労働省発衛食第 120 号）厚生省生活衛生局食品保健課長通知
51. 阪口玄二: ボツリスムと私。食品と微生物 1990 ; 7(1): 43-46
52. 北海道立衛生研究所 三田村弘, 小笠原和夫, 砂川紘之, 中根正行, 衛生部環境衛生課 竹村恒男：16 昭和 42 年北海道に発生した「いずし」によるボツリヌス E 型の食中毒例について。北海道立衛生研究所報 1968 ; 第 18 集：104-107
53. 大友良光, 豊川安延：1991 年青森県内で発生した 2 事例の E 型ボツリヌス食中毒. 1992。食品と微生物 1992 ; 9(3): 177-181
54. 東京都立衛生研究所 坂井千三：東京都内に発生したボツリヌス A 型菌による食中毒（昭和 51 年）。食品衛生学雑誌 1982 ; 23(2): 204-205
55. 福島県衛生公害研究所宇寿山満：福島県におけるボツリヌス菌食中毒とその疫学背景の考察(昭和 56 年)。食品衛生学雑誌 1982 ; 23(6): 497-498
56. 国立感染症研究所感染症情報センター, 熊本県衛生公害研究所 道家直, 熊本市保健衛生研究所 竹田哲郎,他:からしれんこんによるボツリヌス中毒事件の概要。IASR 1984 ; 5: 1-3
57. 熊本県衛生公害研究所 道家直：からし蓮根を原因食とするボツリヌス中毒。食品衛生学雑誌 1985 ; 26(5): 536-537
58. 北海道立衛生研究所：相川孝史, 三田村弘, 武士甲一, 亀山邦男, 北海道

衛生部食品衛生課：北海道釧路保健所：いずしによるボツリヌス中毒. 食品衛生学雑誌 1985; 26(5): 545-546

59. 秋田県湯沢保健所 白井一: 缶詰の里芋によるA型ボツリヌス食中毒。食品衛生学雑誌 1994 ; 35(5): 551-552
60. 北海道保健環境部食品衛生課 高橋俊幸: サケのいずしによるボツリヌス菌中毒。食品衛生学雑誌 1996 ; 37(5): 246
61. 渡部勝彦: 3. いわなのいずしによるボツリヌス中毒. 食品衛生学雑誌. 1998. 39(2): 196-197
62. 岩手県環境保健センター 岩渕香織, 松舘宏樹, 高橋雅輝, 高橋朱実, 藤井伸一郎, 蛇口哲夫, 他: 岩手県で発生したボツリヌス食中毒事例について。IASR 2008 ; 29: 38
63. 伊藤武：厨房をおびやかす病原菌ー食品から施設までー。生活衛生 2001 ; 45(1): 3-13
64. Peck MW, Goodburn KE, Betts RP, Stringer SC : *Clostridium botulinum* in vacuum packed (VP) and modified atmosphere packed (MAP) chilled foods. Institute of Food Research (IFR). Final Project report (B13006) ; JULY 2006
65. 上田成子：食品の微生物検査法と食中毒発生時の疫学調査法 12 セレウス菌。防菌防黴 2007 ; Vol. 35(11): 761-777
66. 研究代表者 鎌田洋一, 研究分担者 山本茂貴: 厚生労働省科学研究補助金 食品の安全確保推進研究事業 食品中の毒素産生微生物及び試験法に関する研究。 平成 24 年度分担研究報告書 セレウス菌のリスクプロファイル; 2013 年 3 月
67. 伊藤武, 甲斐明美, 斎藤香彦, 柳川義勢, 稲葉美佐子, 高橋正樹, 他: 1975～1981 年の 7 年間に東京都内で発生した *Bacillus cereus* による食中毒 15 事例の疫学的・細菌学的検討。東京衛研年報 1982 ; 33: 9-18
68. 新井輝義, 池島伸至, 平田一郎, 柳川義勢, 新垣正夫, 伊藤武, 他: 嘔吐型食中毒および市販食品由来セレウス菌の各種培地における HEp-2 培養細胞空胞化活性の産生性。食品と微生物 1992; 9(3): 159-164
69. 東京都立衛生研究所 柳川義勢: セレウス菌感染症とは。国立感染症研究所公開情報
70. 安川章, 岡田陽一, 宮本三郎, 吉村陽, 福島猛, 種村昌城, 他: 大阪市内で発生した *Bacillus cereus* によると推定される嘔吐型食中毒例について。食品衛生学雑誌 1979; 20(8): 186-191
71. Shinagawa K, Matsusaka N, Konnuma H, Kurata H: The Relation Between the Diarrheal and other Biological Activities of *Bacillus*

cereus Involved in Food Poisoning Outbreaks. Jpn. J. Vet. Sci 1985; 47(4): 557-565

72. 千葉県衛生研究所 三瓶憲一, 小岩井健司, 内村真佐子, 七山悠三, 他: *Bacillus cereus* による食中毒。食品衛生学雑誌 1982 ; 23(6): 505-507
73. 熊本市環境総合研究所 松岡由美子, 新屋拓郎, 藤井幸三: あん入り餅を原因とする嘔吐型セレウス菌による食中毒事例-熊本市 - 初めての健康危機管理対策部設置 - 。IASR 2002 ; 23:93-94
74. 門間千枝, 石﨑直人, 小西典子, 下島優香子, 尾畑浩魅, 仲真晶子, 他: 関連資料:「おにぎり」から嘔吐毒素が検出された *Bacillus cereus* 集団食中毒事例。 第 26 回日本食品微生物学会学術総会 2005 年。国立保健医療科学院 健康被害危機管理事例データベース H・CRISIS No. 1280 「おにぎり弁当を原因とするセレウス菌食中毒」
75. 厚生労働省：平成 20 年食中毒発生事例、抜粋
76. Shiota M, Saitou K, Mizumoto H, Matsusaka M, Agata N, Nakayama M et al. Rapid Detoxification of Cereulide in *Bacillus cereus* Food Poisoning. PEDIATRICS. 2010. 125(4): e951-e955
77. 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課: 平成 20 年全国食中毒事件録. 第二編 主な食中毒事例. 9. 家庭調理食品を原因とするセレウス菌による食中毒事例。
78. 麻生嶋七美, 吉澤千尋, 江渕寿美, 宮基良子, 樋脇弘：学生寮で発生したセレウス菌食中毒。平成 21 年度福岡市保健環境研究所所報 35: 69-71
79. 東京都：2 食中毒事件の詳報. 事件番号 No. 93. 平成 22 年東京都の食中毒概要; 2012
80. 厚生労働省医薬生活衛生局食品安全部監視安全課：全国食中毒事件録. 平成 19 年～平成 28 年、 抜粋
81. 今川快恵, 小林祥子, 岡本利洋, 藤村紳一郎, 後藤孝一, 中原繁, 他: 大葉の汚染実態調査 - 下痢型セレウス菌食中毒事例による一考察 - 。食品衛生研究 2008 ; 58(7): 49-52
82. 吉本 昭, 有元秀樹, 松浦康司, 宮市功典, 林下浩士, 韓正則, 他: 症例報告. 持続脳圧センサーにより管理を行ったセレウス菌による脳症の一例。日集中医誌 2011 ; 18: 105-109
83. Mahler H, Pasi A, Kramer JM, Schulte P, Scoging AC, Bär W et al : Fulminant liver failure in association with the emetic toxin of *Bacillus cereus*. The New England Journal of Medicine 1997 ; 1142-1148
84. Dierick K, Van Coillie E, Swiecicka I, Meyfroidt G, Devlieger H, Meulemans A : Fatal Family Outbreak of *Bacillus cereus* -Associated

Food Poisoning. Journal of Clinical Microbiology 2005 ; 43(8): 4277-4279

85. Lund T, De Buyser M-L, Granum PE: A new cytotoxin from *Bacillus cereus* that may cause necrotic enteritis. Molecular Microbiology 2000; 38(2): 254-261
86. ANSES: French agency for food, environmental and occupational health & safety. *Bacillus cereus*. Data sheet on foodborne biological hazards; 2011
87. Orrett FA: Fatal *Bacillus cereus* bacteremia in a patient with diabetes. Journal of the National Medical Association 2000; 92(4): 206-208
88. Bottone EJ: *Bacillus cereus*, a Volatile Human Pathogen. Clinical Microbiology reviews 2010; 23 (2): 382-398
89. 寺島英一，土屋俊夫，奥山清子，堀越昶，高橋好一，武尾宏，他：急性骨髄性白血病に合併した *Bacillus cereus* による敗血症の 1 例。感染症学雑誌 1977 ; 51(8):438-442
90. 数川久恵，荻田純子，牧野巧，石和田稔彦，大塚春美，黒崎知道，他：当院 NICU における新生児敗血症の検討 - B 群溶連菌，緑膿菌を中心に - 。小児感染免疫 2007 ; 19(1): 3-8
91. EFSA: Risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. The EFSA Journal 2016; 14(7):4524
92. BfR: *Bacillus cereus* ; 2017
93. Centre for Food Safety : Microbiological Guidelines for Food. For ready-to-eat food in general and specific food items 2014 ; 1-38
94. New Zealand Government : Ministry for Primary Industries. RISK PROFILE: *BACILLUS CEREUS* IN DAIRY PRODUCTS. MPI Technical Paper 2016; No. 2016/58: 1-98
95. Rajkovic A: Microbial toxins and low level of foodborne exposure. Trends in Food Science & Technology 2014; 38: 149-157
96. Jääskeläinen EL, Teplova V, Andersson MA, Andersson LC, Tammela P, Andersson MC et al: In vitro assay for human toxicity of cereulide, the emetic mitochondrial toxin produced by food poisoning *Bacillus cereus*. Toxicology in Vitro 2003; 17(5-6): 737-744
97. Agata N , Ohta M, Yokoyama K: Production of *Bacillus cereus* emetic toxin (cereulide) in various foods. Int J Food Microbiol 2002; 73(1):23-27

98. 安形則雄, 太田美智男: *Bacillus cereus* の食中毒毒素。日本細菌学雑誌 1996; 51(4): 993-1002
99. 梶田弘子, 岩渕香織, 藤井伸一郎, 畠山えり子：LC/MS/MS による嘔吐毒セレウリドの分析。岩手県環境保健研究センター年報 2007；7: 75-78
100. 新井輝義, 千葉隆司, 秋場哲哉, 門間千枝, 仲間晶子, 甲斐明美：各種食品のセレウス菌汚染状況と分離菌株の嘔吐毒産生性。東京都健康安全研究センター年報 2012；63: 173-179
101. Løvdal IS, Hovda MB, Granum PE, Rosnes JT：Promoting *Bacillus cereus* Spore Germination for Subsequent Inactivation by Mild Heat Treatment. Journal of Food Protection 2011；74(12): 2079-2089
102. 松田典彦, 駒木勝, 松縄桂子：A および B 型ボツリヌス標準菌株の芽胞の耐熱性。食品衛生学雑誌 1980；21(5): 398-404
103. Dufrenne J, Soentoro P, Tatini S, Day T, Notermans S：Characteristics of *Bacillus cereus* related to safe food production. International Journal of Food Microbiology 1994；23: 99-109
104. Rajkowski KT, Mikolajcik EM：Characteristics of selected strains of *Bacillus cereus.* Journal of Food Protection 1987；50(3): 199-205
105. Fernández A, Ocio MJ, Fernández PS, Rodrigo M, Martínez A：Application of nonlinear regression analysis to the estimation of kinetic parameters for two enterotoxigenic strains of *Bacillus cereus* spores. Food Microbiology 1999；16: 607-613
106. Fernández A, Collado J, Cunha LM, Ocio MJ, Martínez A：Empirical model building based on Weibull distribution to describe the joint effect of pH and temperature on the thermal resistance of *Bacillus cereus* in vegetable substrate. Int J Food Microbiol 2002; 77(1-2): 147-153
107. Mazas M, López M, González I, González J, Bernardo A, Martin R: Effects of the heating medium pH on heat resistance of *Bacillus cereus* spores. Journal of Food Safety 1998; 18: 25-36
108. Mazas M, Martínez S, López M, Alvarez AB, Martin R: Thermal inactivation of *Bacillus cereus* spores affected by the solutes used to control water activity of the heating medium. International Journal of Food Microbiology 1999; 53:61–67
109. González I, López M, Martínez S, Bernardo A, González J. Thermal inactivation of *Bacillus cereus* spores formed at different temperatures. International Journal of Food Microbiology 1999; 51: 81-84
110. Setlow P: Spores of *Bacillus subtilis*: their resistance to and killing by

radiation, heat and chemicals. Journal of Applied Microbiology 2006; 101: 514-525
111. 食品衛生法施行規則及び食品、添加物等の規格基準の一部改正について(昭和 52 年 3 月 23 日付け環食第 52 号) 厚生省環境衛生局長通知

別添資料
朝倉 宏:「無菌充填豆腐中の微生物に関する試験検査」(平成29年5月24日 食品安全委員会第69回微生物・ウイルス専門調査会資料)

平成29年5月24日
内閣府食品安全委員会
微生物･ウイルス専門調査会　資料

別添資料

無菌充填豆腐中の微生物に関する試験検査

国立医薬品食品衛生研究所
食品衛生管理部
朝倉　宏

豆腐の種類（1）

・木綿豆腐

純木綿または普通豆腐と呼ばれていたもので、日本古来の豆腐を指す。原料に対し、約10倍量の水を加え、豆乳濃度6～8%、塩化マグネシウム（にがり）の凝固剤、硫酸カリウム（すまし粉）等を使用して凝固熟成後、荒し（崩し）と湯取りを行い成形、水切り、カット、水晒し、冷却したもので、製造設備が十分整備されていなかった時代には理想的な加工方法とされた。現在は、凝固後の湯取りをせず、成型、水切り、カット、水晒し、冷却したものが主体となっている。

・絹ごし豆腐

グルコノデルタラクトンの使用と同時に普及した豆腐で硫酸カルシウムを併用し製造されていた。豆乳濃度10%以上の豆乳と凝固剤を同時に容器内で短時間に凝固させ、熟成後、カット、水晒し、包装したもの。

出典：豆腐入門（日本食糧新聞社）

豆腐の種類(2)

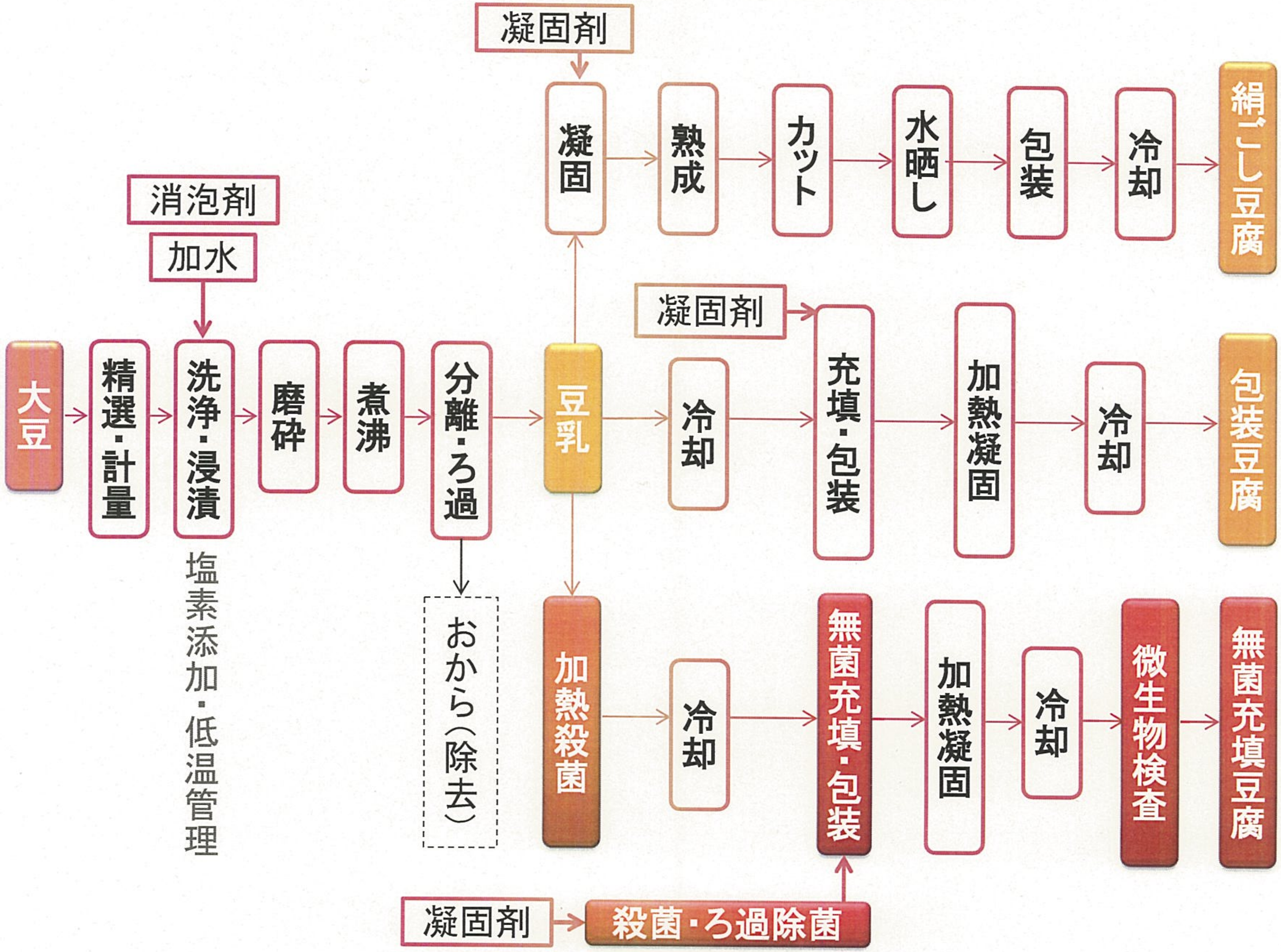
- 包装豆腐

　豆乳に凝固剤を添加して、容器包装に充填した後加熱凝固させたもの(殺菌方法は90℃・40分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法)。

- 無菌充填豆腐

　120℃・4分と同等以上の加熱殺菌条件にて製造した豆乳を冷却し、殺菌又はろ過除菌した凝固剤を無菌充填装置を用いて充填した後、凝固させることで無菌性を担保したもの。

豆腐の製造工程概要


大豆
精選・計量
消泡剤
加水
洗浄・浸漬
塩素添加・低温管理
磨砕
煮沸
分離・ろ過
おから（除去）
豆乳
凝固剤
凝固
熟成
カット
水晒し
包装
冷却
絹ごし豆腐
冷却
凝固剤
充填・包装
加熱凝固
冷却
包装豆腐
加熱殺菌
冷却
凝固剤
殺菌・ろ過除菌
無菌充填・包装
加熱凝固
冷却
微生物検査
無菌充填豆腐

豆腐製品の細菌検出状況

絹ごし豆腐製品（8製品・24検体）

- 一般細菌数は、平均2.5 x 10^3 CFU/g （7製品・15検体で陽性）
- 大腸菌群は、1検体から検出 （1.0 x 10^3 CFU/g）

包装豆腐製品（8製品・24検体）

- 一般細菌数は、平均3.4 x 10^{-1} CFU/g （5製品・13検体で陽性）
- 大腸菌群は検出されず
- バチルス属菌が5製品13検体より検出（特に*B. licheniformis*）

無菌充填豆腐（2製品・240検体）

- 一般細菌数、大腸菌群、好気性芽胞形成菌、嫌気性芽胞形成菌（全て陰性）
- 発育し得る微生物（恒温試験・細菌試験） （全て陰性）

無菌充填豆腐の製造工程（例）

<仕込み工程>

大豆の選別
▼
前処理（粗選・研磨・石抜等）
▼
洗殻・水浸漬　塩素添加・低温管理
▼
摩砕・蒸煮・分離脱水

<豆乳製造・殺菌工程>

ヒートショック
▼
加熱殺菌　120℃・4分間と同等以上
▼
脱気冷却

<無菌充填工程>

凝固剤の殺菌・ろ過除菌（圧力による性能確認）→ 凝固剤添加

包材殺菌（過酸化水素水）

HEPA

無菌充填・シール・容器成型（アルミ層を含む合成樹脂加工紙）

<加熱凝固工程>

加熱凝固
▼
冷却

<貯蔵・出荷工程>

金属探知機
▼
外包装
▼
貯蔵・出荷

発育し得る微生物が陰性

凝固剤：受入れ検査+ろ過性能確認+従業員指導及び健康管理等によりハザードを除外

無菌充填豆腐に必要な条件

<仕込工程>

○原料用大豆は、品質が良好できょう雑物を含まないものでなければならない。

○原料用大豆は、十分に水洗しなければならない。

<豆乳製造・殺菌工程>

○原材料等に由来して当該食品中に存在し、かつ、発育し得る微生物を死滅させ、又は除去するのに十分な効力を有する、次の全てを満たす方法で殺菌又は除菌を行うこと。

・豆乳にあっては、120℃で4分間と同等以上で殺菌すること

・凝固剤にあっては、衛生度の高い凝固剤を用いた上で、殺菌又は適切なフィルターを用い、かつ、製造時にフィルター性能を恒常的に確認する方法により除菌すること又はこれと同等以上の効力を有する方法で行うこと。

<無菌充填工程>

○無菌充填が可能な機器を用いて、あらかじめ殺菌した適切な容器包装を用いて、無菌的に充填されていること

<貯蔵・出荷工程>

○最終製品に対する、容器包装詰加圧加熱殺菌食品の成分規格に規定する試験の結果、発育し得る微生物が陰性であること

<工程全体>

・豆腐を製造する場合に使用する器具は、十分に洗浄し、かつ、殺菌したもの。

・豆腐を製造する場合に使用する水は、食品製造用水でなければならない。

現行の製造基準も重要な事項と考えられる。(黄色ブドウ球菌等の汚染リスクの除外に有効)

無菌充填豆腐の製造工程で想定される微生物危害要因

- 仕込み工程（原材料及びその取扱い時）
  耐熱性芽胞形成菌（ボツリヌス菌等）の混入
  黄色ブドウ球菌等の混入

- 豆乳製造、加熱凝固、充填、貯蔵・出荷工程
  耐熱性芽胞菌（ボツリヌス菌等）の生残
  ろ過不備等による微生物汚染

無菌充填豆腐の製造工程を通じた細菌汚染動態

施設	検体	検体数	衛生指標菌数（平均値・CFU/g）			
			一般細菌	大腸菌群	好気性芽胞形成菌	嫌気性芽胞形成菌
A	原料大豆	3	7.9E+03	ND	3.5E+03	ND
	浸漬大豆	3	4.3E+06	ND	3.4E+05	ND
	加熱殺菌後凝固剤添加前の豆乳	3	ND	ND	ND	ND
	最終製品	63	ND	ND	ND	ND
B	原料大豆	4	8.2E+03	3.8E+03	9.1E+03	ND
	浸漬大豆	4	7.3E+04	2.5E+04	4.9E+04	ND
	加熱殺菌前凝固剤添加前の豆乳	4	1.25E-01	ND	1.25E-01	ND
	加熱殺菌後凝固剤添加前の豆乳	4	ND	ND	ND	ND
	最終製品	64	ND	ND	ND	ND

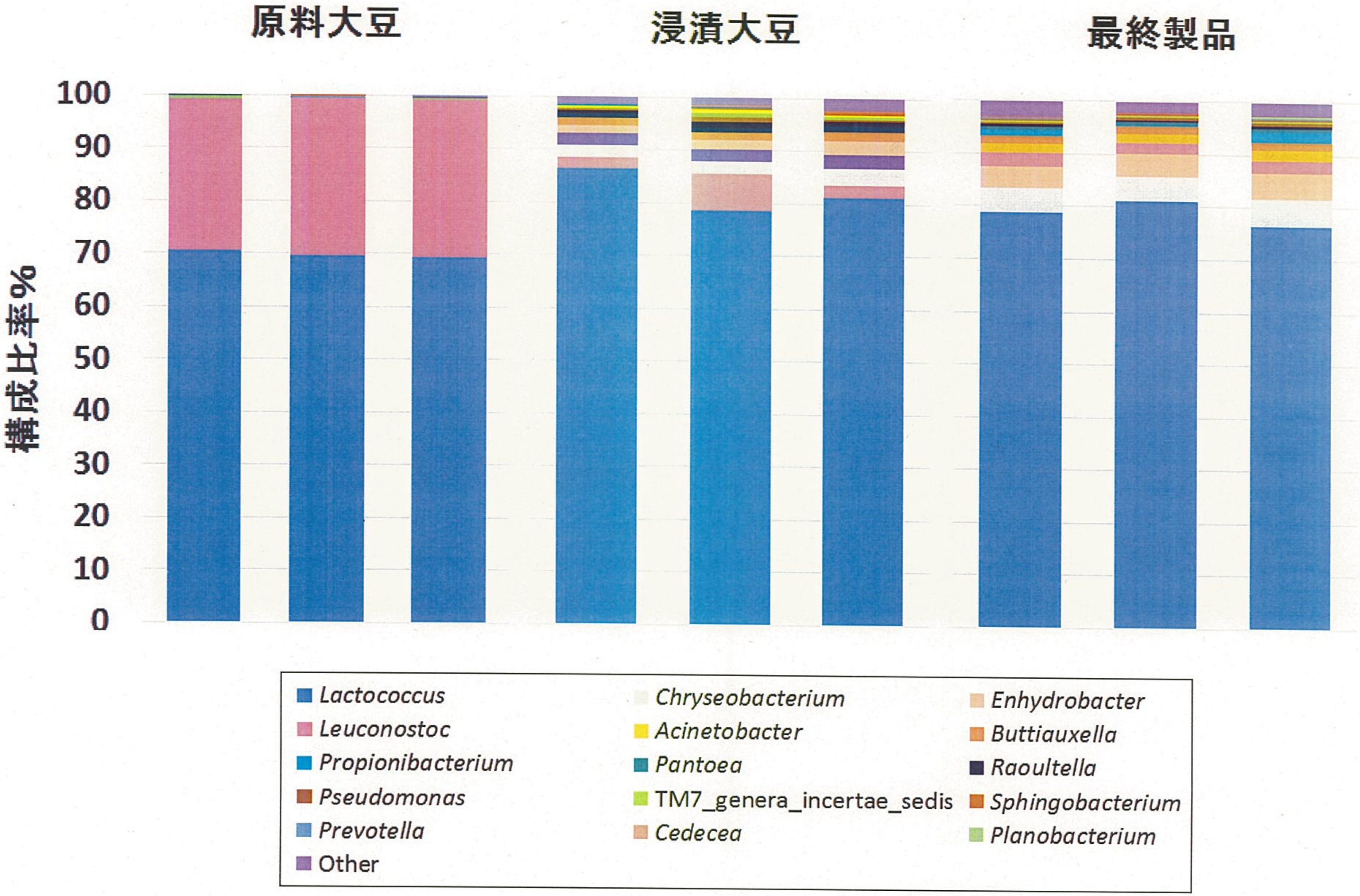
（ND, 検出されず）

無菌充填豆腐の製造環境における細菌検出状況

施設	検体	検体数	衛生指標菌数（平均値・CFU/g）			
			一般細菌	大腸菌群	好気性芽胞形成菌	嫌気性芽胞形成菌
A	大豆秤量槽内壁	4	9.8E+01	ND	ND	ND
	大豆浸漬槽内壁	4	3.9E+05	4.0E+01	3.8E+05	1.5E+03
	床（豆乳製造殺菌）	2	1.0E+05	ND	1.8E+05	ND
	床（充填）	2	1.2E+02	ND	6.0E+02	ND
B	大豆秤量槽内壁	4	7.0E+02	ND	2.0E+02	2.5E+00
	大豆浸漬槽内壁	4	2.7E+07	5.0E+05	9.4E+06	2.9E+04
	床（豆乳製造・殺菌）	2	1.1E+04	2.5E+01	5.2E+03	ND
	床（充填）	4	8.8E+03	5.0E+01	1.8E+03	ND

（ND, 検出されず）

無菌充填豆腐の製造工程（A社）における構成菌叢動態



*Staphylococcus*属菌の検出状況

単位（%）

区分	工程	*Staphylococcus*	*Escherichia/Shigella*
環境	大豆秤量槽内部	2.4028	0.5222
		3.7045	0.0219
		1.0865	0.0873
	大豆浸漬槽内部	0.0000	0.0021
		0.0064	0.0000
		0.0000	0.0000
製品	原料大豆	0.0000	0.0000
		0.0000	0.0000
		0.0000	0.0000
	浸漬大豆	0.0000	0.0000
		0.0000	0.0044
		0.0000	0.0052
	加熱凝固前	0.0000	0.0000
		0.0000	0.0000
		0.0000	0.0000
	最終製品	0.0000	0.0000
		0.0000	0.0000
		0.0000	0.0000

原材料取扱い時の汚染は想定されるが、その後の洗浄等で十分に低減可能

容器包装詰加圧加熱殺菌食品の微生物規格基準
～危害要因、保存流通形態等の共通性を踏まえて～

- 加熱殺菌基準：ボツリヌス菌を5D減少させることのできる工程管理基準（例：120℃・4分間）
- 成分規格：発育し得る微生物が検出されないこと

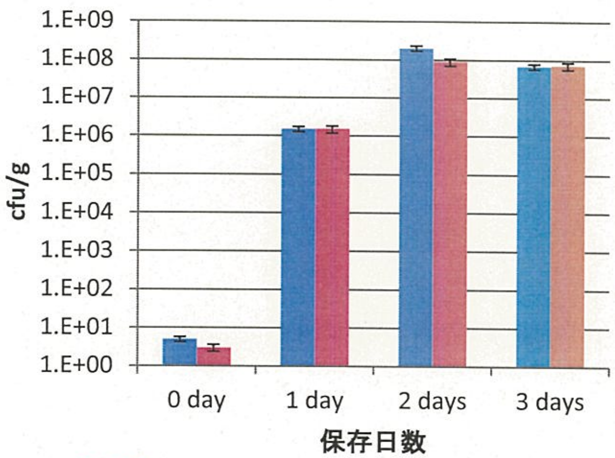
試験項目	操作概要	確認事項	対応
恒温試験	35℃で14日間保持	容器包装の膨張、内容物の漏えいの有無を確認	陰性の場合、細菌試験を実施
細菌試験	10倍乳剤をチオグリコール酸塩培養基にて、35℃で48時間培養	培養基の肉眼観察により、細菌増殖の有無を確認	培養基の何れかに細菌の増殖を認めたものを陽性とする

- 製造施設では、一般細菌を対象とした自主検査を実施
- 各製品につき、計120検体を供試
  - 一般細菌は検出されず（混釈法、60検体）
  - 上記無菌試験において、発育し得る微生物は陰性（60検体）
（好気性・嫌気性細菌の両者を含む）

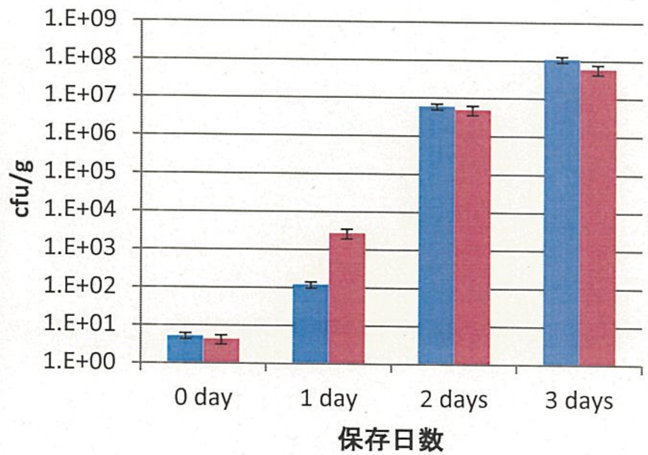
添加回収試験による無菌充填豆腐中での芽胞の増殖挙動

B. licheniformis 芽胞

37°C

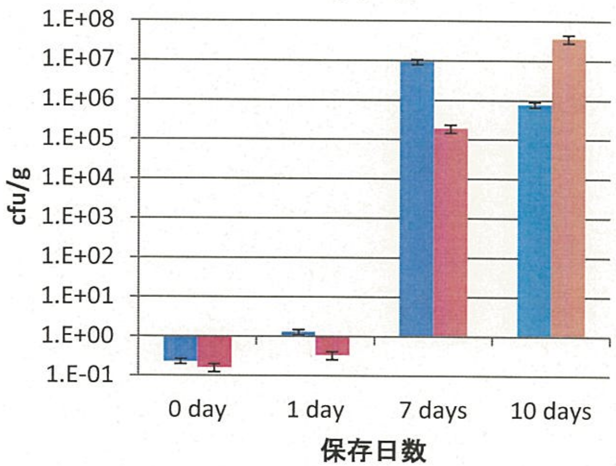


25°C

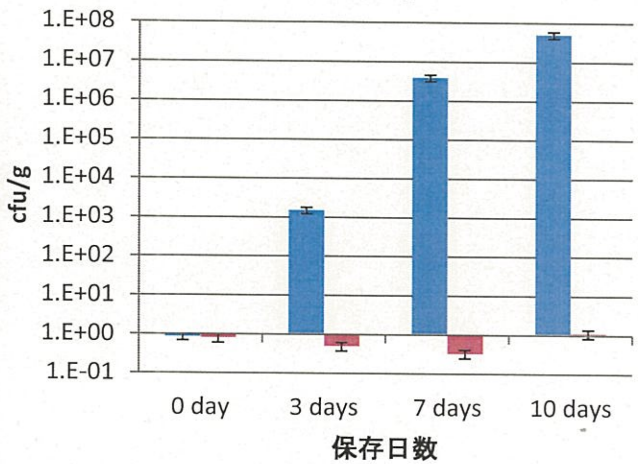


C. sporogenes 芽胞

37°C



25°C



製品によらず、工程管理の不備により当該食品中で増殖する恐れがありうる

豆乳中での耐熱性試験等より

無菌充填豆腐の殺菌工程は、容器包装詰加圧加熱殺菌食品と同等のボツリヌス菌制御効果を有することが示された。

無菌充填豆腐の長期保存試験

- 2製品 x 60検体 x 2ロット
  ※賞味期限の各1.1～1.2倍の期間、25℃下で保存
  ⇒ 一般細菌の検出試験（混釈法による）
  ⇒ 容器包装詰加圧加熱殺菌食品の成分規格
- 上記2法において、陽性検体は認められず
- 保存後の理化学性状にも顕変は認められず
  （pHおよび酸化還元電位）

まとめ

- 今般、厚生労働省から諮問した豆腐の規格基準の改正に記載のある、「無菌充填豆腐に必要な条件」の遵守により製造される豆腐について、微生物学的安全性は確保されることが示された。
- 又、食品取扱設備等の衛生管理として、各施設で実施する一般衛生管理の適切な実施（管理運営基準の遵守）により、十分な衛生管理が必要不可欠である。
- なお、最終製品において、微生物的危害を適切に除去されていることの検証として、成分規格を設定することが有効であると考えられる。

参考１

豆腐の規格基準の改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果（案）についての意見・情報の募集結果について

１．実施期間　平成２９年１１月２２日～平成２９年１２月２１日

２．提出方法　インターネット、ファックス、郵送

３．提出状況　３通

４．頂いた意見・情報及び食品安全委員会の回答

	頂いた意見・情報	食品安全委員会の回答
1	無菌充填豆腐は常温で販売しなければならないのでしょうか？無菌充填豆腐では冷奴は食べられなくなりますか？	無菌充填豆腐の販売の規制に関してご意見を頂きましたが、リスク管理に係る事項のため、リスク管理機関である厚生労働省へ情報提供します。 なお、本評価では、現在は豆腐の規格基準に基づき冷蔵保存されている無菌充填豆腐について、冷蔵保存から常温保存に変更した場合のリスクに差があるとは考えられないと結論づけています。(評価書31、32ページ)
2	・目次（本文）のローマ数字４、５、６には他の数字と同様に「.」を付記すべき。 ・８ページの１５行目「以下「管理	御指摘いただいた内容につきましては、御趣旨を踏まえ評価書を修正・反映させていただきました。

	運営基準指針」という。」は削除すべき。５ページで記載済みだから。 ・９ページの７行目「part」と３５ページの文献名の「PART」は、どちらの字句が正しいのか？ ・２５ページの１行目の「あたり」と最下行から上に２行目の「当たり」とは、文言の統一が必要。 ・２５ページの２行目等の「EFSA (2005)」は、１５ページで定義した「「EFSA (2005 年)」とは別のものを指しているのか？ ・３４ページの略語として「WHO」「FDA」も追記したほうが適当。 ・３４ページの ANSES の名称欄の「国立」は、「フランス国立」のほうが適当。 ・３４ページの DALYs の名称欄の「障害調整生存年」と１６ページの脚注８の「障害調整生存年数」とは、どちらの用語が正しいのか？ ・３４ページの「LC-MS」と２５ページの「LC/MS」とは、どちらの用語が正しいのか？ ・３４ページの「液体クロマトグラフ質量分析」と２５ページの「液体クロマトグラフィー/質量分析法」とは、どちらの用語が正しいのか？	

3	○タンパク質、炭水化物、脂質の摂取量の数値化について ○炭水化物の多量摂取による糖尿病リスクの増加について ○炭水化物の多量摂取による糖尿病リスクの検討の必要性について	いただきました政策提案は、本食品健康影響評価の審議結果案に関係しないと考えられましたので、一般的な食品安全委員会に対するご意見として承りました。

参考２

微生物・ウイルス評価書
豆腐の規格基準の改正に係る食品健康影響評価の変更点

修正箇所	食品安全委員会第681回会合資料 （変更後）	食品安全委員会第674回会合資料 （変更前）
P16 脚注9	DALYs: 障害調整生存年。集団の健康状態の指標の一つ。DALYs=生命損失年数 Years of Life Lost (YLL) +障害生存年数 Years of Life Lived with Disability (YLD) の関係にある。YLLとは、ある健康リスク要因が短縮させる余命を集団で合計したもの。YLDとは、ある健康リスク要因によって生じる障害の年数を集団で合計したもの。(参照. 食品安全委員会: 食品中のリステリア・モノサイトゲネス。微生物・ウイルス評価書2013年5月)	DALYs: 障害調整生存年数。集団の健康状態の指標の一つ。DALYs=生命損失年数 Years of Life Lost (YLL) +障害生存年数 Years of Life Lived with Disability (YLD)、の関係にある。YLL とは、ある健康リスク要因が短縮させる余命を集団で合計したもの。YLD とは、ある健康リスク要因によって生じる障害の年数を集団で合計したもの。(参照. 食品安全委員会: 食品中のリステリア・モノサイトゲネス。微生物・ウイルス評価書2013年5月)
P23 L↓11	2007年から2016年までの間に、地方公共団体から厚生労働省へ報告されたセレウス菌食中毒の事例のうち、エンテロトキシン産生又は下痢型のセレウス菌と記載のあった事例は7件(うち混合型の事例 は4件)である(参照80)。	2007年から2015年までの間に、地方公共団体から厚生労働省へ報告されたセレウス菌食中毒の事例のうち、エンテロトキシン産生又は下痢型のセレウス菌と記載のあった事例は 5 件(うち混合型の事例 は3件)である(参照80)。
P34	＜略語一覧＞ ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l’ alimentation, de l’ environment et du travail (フランス国立食品環境労働衛生安全庁) FDA : Food and Drug Administration (米国食品医薬品庁) WHO : World Health Organization (世界保健機関) LC/MS : Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (液体クロマトグラフィー質量分析法)	＜略語一覧＞ ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l’ alimentation, de l’ environment et du travail (国立食品環境労働衛生安全庁) 記載なし 記載なし LC-MS : Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (液体クロマトグラフ質量分析)

※修正箇所は、第681回会合資料におけるページ数、行数。
P；ページ数、L↓；当該ページの上から数えた行数