

犬の細菌性膿皮症および細菌性尿路感染症を適応症とする動物用 抗菌性物質製剤の臨床試験実施基準の設定について

2008年1月28日

動物用抗菌剤研究会 臨床評価（小動物）検討委員会
委員長 岩崎利郎（東京農工大学）
委員 浅井鉄夫（農林水産省動物医薬品検査所）
内田幸治（ファイザー株式会社）
片岡 康（日本獣医生命科学大学）
桑野 昭（ハムリー株式会社）
澤田拓士（日本獣医生命科学大学）
中田勝久（元 千寿製薬株式会社）
深田恒夫（岐阜大学）

まえがき

動物用抗菌剤研究会では、これまで牛・豚の細菌性呼吸器病、細菌性下痢症および牛乳房炎に対する抗菌剤の臨床試験実施基準を設定した（1997,1998. 動物抗菌会報）。その後、小動物用抗菌剤の臨床試験実施基準についても、設定が要望されたため、研究会の新規事業として臨床評価（小動物）検討委員会を設置し、2003年9月より検討を開始した。委員会は2007年まで12回にわたり開催され、犬の細菌性膿皮症および細菌性尿路感染症における臨床試験実施基準の設定について検討した。その際、牛・豚の臨床試験実施基準と同様、賛助会員の製薬会社から提供されたこれらの疾病に効能を有する抗菌剤の申請に用いた臨床試

験の方法も貴重な情報として活用させていただいた。そして、最終案の段階で、委員の岩崎農工大教授および深田岐阜大教授が実際の罹患犬に試用した結果、これらが基準として活用可能であることを確認した。今後、本基準を参考に、小動物用抗菌剤の臨床試験を実施いただければ幸いである。

なお、本基準の設定にあたり、慎重に検討を重ね、また臨床現場で活用可能であることを検証しているが、本基準に沿って臨床試験を実施していく中で、問題点あるいは改善点等があれば、本研究会にご意見を寄せていただきたい。本会では寄せられた意見について、公正な立場から検討の上、改訂を要すると判断すれば、機会を捉えて改訂案を提示したい。

犬の細菌性膿皮症を適応症とする動物用抗菌性物質製剤の 臨床試験実施基準

2008年1月28日 制定

目的

この基準は、犬の細菌性膿皮症を適応症とする動物用抗菌性物質製剤の製造販売承認申請などの目的で実施される臨床試験において、科学的根拠に基づく設定が必要とされる有効性評価基準などに関し、その各論的方法の概略を試行的に示すものである。

しかし、本来、動物用抗菌性物質製剤の臨床試験について、一律的な試験方法および有効性評価基準を定めることは合理的ではなく、学問の進歩および世界動向に応じて、その見直しが必要となってくる場合も想定される。したがって、得られた成績がその適正評価に資することができるものである限り、ここに示した方法にこだわらない。

なお、基準に基づいた治験を実施するに当たっては、動物用医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令（平成9年農林水産省令第75号。以下「GCP省令」）および関係ガイドライン（「動物用抗菌性物質製剤の臨床試験における有効性の評価指針について」）などの規制要件を遵守しなければならない。

1. 試験群（対照群を含む）の選定

1) 背景等に関する基準

- (1) 被験動物所有者の同意が得られていること
- (2) 薬剤の投与および臨床検査のための血液採取が可能であること
- (3) 病歴が明らかであること
- (4) 動物福祉上、問題のない年齢以上とすること
選定基準として犬種、性別、年齢、体重お

よび飼育方法は問わないが、症例報告書に記録する。

2) 臨床徴候に関する基準

細菌性膿皮症定義：細菌の増殖に起因して起こる炎症を膿皮症とし、表皮から真皮中層の表在性に起こる疾患を表在性膿皮症、真皮深部までおよびものを深在性膿皮症とする。

ア. 表在性膿皮症：毛包炎（毛包一致性の丘疹あるいは膿疱）、毛包炎が次第に癒合して発生するいわゆる表皮小環（環状に痂皮を伴わずに隆起する発赤で中心部は治癒傾向がみられ、中心部の色調は正常皮膚色あるいは色素沈着しており、紅斑は環状に周囲へ拡大する）、あるいは膿疱、膿痂疹を伴う発赤である。痒みおよび脱毛が認められることがある。

イ. 深在性膿皮症：発赤、腫脹がみられ、浸潤を触れることがあり、膿様あるいは血様物質を排出することがある。瘻管形成のみられることがある。痒み、疼痛がみられることがある。

3) 検査および結果の基準

- (1) 外部寄生虫および皮膚糸状菌症が陰性であること

外部寄生虫および皮膚糸状菌症の原因を除外するためにスクレーピング（皮膚搔爬試験）を行う。

- (2) マラセチアの検査が陰性であること

マラセチア性の疾患を除外するために病変部の細胞診を行なう。対物100倍の油浸レンズで観察して1視野に5個以上のマラセチアが観察されればマラセチアの増殖が疑われる。

- (3) 細菌が認められること
細菌を確認するため細胞診（塗抹細胞診）を行う。皮膚患部のぬぐい液をスライドガラスに塗抹し、染色し（付記1）、対物100倍の油浸レンズで観察して1視野に少なくとも数個以上の細菌が観察される必要があり、個数を記録する。
- (4) 細菌培養が陽性であること
病変部の細菌培養を行う。皮膚患部から材料を採取し、適切な培地を用いて培養する（付記1）。表在性膿皮症では *Staphylococcus* 属あるいは *Streptococcus* 属が分離されなかった症例は有効性評価を行わない。

4) 除外基準

- (1) 外部寄生虫症、皮膚糸状菌症、マラセチア皮膚炎など他の皮膚感染症を有する症例
- (2) 細菌感染症以外の疾患によると判断される症例
- (3) 治験薬投与開始前7日以内に剤型、投与経路を問わず他の抗菌剤（長期間、体内で有効濃度が維持される剤を除く）を投与している症例
- (4) 副腎皮質ホルモン剤を14日以内、抗炎症剤を7日以内に投与していた症例
- (5) 悪性腫瘍など皮膚感染症の治療効果に重大な影響を及ぼす合併症がある症例
- (6) 妊娠中、授乳中の症例

2. 投与期間

表在性および深在性膿皮症とも、被験薬又は対照薬を用法・用量に従い原則として7日間投与とする。7日間の投与後、動物の症状を観察した上で追加投与による症状の改善が期待されると判断された場合は、投与開始から14日を上限として投与を継続するが、可能な限り症状の観察を密に行い最少投与期間を明らかにする。

3. 群の設定方法

1) 試験群の構成

被験薬投与群の他に対照群として偽薬（プラセ

ボ）又は対照薬投与群を設定し、試験群と対照群を用いた盲検試験を原則とするが、妥当な理由がある場合はオープン試験でも可とする。対照薬は日本において承認された薬剤であって、効能・効果が膿皮症あるいは細菌性皮膚感染症を有するものとする。入症症例は、試験群および対照群に無作為に割り付ける。

2) 実施施設

2施設以上を設定する。

3) 被験薬投与群

原則として合計60頭以上とする。

4) プラセボ投与群または対照薬投与群（対照群）

原則として合計20頭以上とする。

（（社）日本動物用医薬品協会，2000. 犬・猫用ワクチン臨床試験ガイドライン案，動物用ワクチン臨床試験ガイドライン案，動物用医薬品承認基準国際化対応研究委託事業報告書，日本動物用医薬品協会，90～98に準拠した）

4. 併用薬剤の制限事項

併用薬剤を使用した場合は薬剤名、投与方法、投与量および投与期間を症例報告書に記録する。

1) 併用可能な薬剤および療法

ノミアアレルギー性皮膚炎を合併している症例については、試験開始前から継続使用している場合に限り、その動物および環境に対するノミ駆除剤の使用、洗浄用シャンプーの継続使用は可とする。但し、それらの用法・用量は変更しないこと。

2) 併用禁止薬剤および療法

以下の併用薬剤および併用療法を禁止する。

- (1) 剤型、投与経路に拘わらず、殺菌消毒剤、抗菌剤、抗真菌剤および抗炎症剤の使用（シャンプーやローションなどの外用抗菌剤を含む）
- (2) 皮膚洗浄剤による患部の洗浄。ただし、深在性膿皮症では投薬前に生理食塩水による洗

浄は認める。

- (3) その他、試験に影響を及ぼすと考えられる薬剤。

5. 臨床徴候の評価方法

1) 観察と評価

観察は投与開始前(0日)と投与開始後7(±1), 14(±2)日目あるいは投与終了時に行い、症状を観察して記録する。臨床観察は皮疹の程度と、その症状の範囲を評価する。

皮疹の程度は「発赤」、「膿疱あるいは丘疹」、「痂皮」、「脱毛」、「腫脹、熱感(深在性のみ)」、「疼痛(深在性のみ)」、「膿汁(深在性のみ)」を観察項目とし、各項目について0(症状なし)から4(最重度)の間のスコアでその程度を評価する(付表1)。また、症状の範囲は皮疹の各観察項目について病変の面積等を計測し、0(なし)から4(最重度)の間のスコアでその程度を評価する(付表2)。

各症例の有効性判定では各観察項目における(皮疹の程度×病変の範囲)の積値の合計スコアを用いる。

2) 各個体における有効性

個体の有効性は次の式により、スコアの改善率を求め判定する。

$$\text{臨床スコア改善率 (\%)} = (A - B) / A \times 100$$

A: 開始時スコアの合計点

B: 終了時あるいは中間時スコアの合計点

個々の症例の有効性判定基準

判定	判定基準
著効	改善率 85%以上
有効	改善率 70%以上, 85%未満
無効	改善率 70%未満

3) 被験薬の有効性の判定

下式により、群ごとの有効率を算出する。被験薬投与群の最終的な有効性は次の(1)および(2)に示した対照群の設定方法に従って判定する。

$$\text{有効率 (\%)} = (\text{著効例数} + \text{有効例数}) / (\text{判定可能な例数}) \times 100$$

- (1) 対照薬投与群が設定されている場合
被験薬投与群の有効率が70%以上であつて、かつ被験薬投与群が対照薬投与群に比べ同等以上である場合は有効と判定する。
- (2) プラセボ投与群が設定されている場合
プラセボ投与群との間で統計学的手法を用いて検定し、有意差が認められる場合は有効と判定する(有意水準は5%とする)。

なお、上記以外の方法で有効性を評価する場合は、科学的根拠に基づき実証することとする。

(農林水産省、動物用抗菌性物質製剤の臨床試験における有効性評価指針について、2002. 14 生畜第 2447 号衛生課長通知、平成 14 年 7 月 26 日付)

4) 細菌学的評価

投与開始前および最終評価日に、全個体の患部における細菌の分離・同定(方法、付記1)を行い、細菌学的評価を行なうとともに、被験薬を含む関連する抗菌剤に対する感受性(方法、付記2)を調べる。ただし、症状が消失して臨床スコアが「0」となった場合には、菌消失と判断し、最終評価日の細菌検査は行わない。

細菌学的評価基準

判定	判定基準
陰性化	①起因菌が検出されなくなった場合 ②症状が消失(スコア0)した場合
不変・菌交代	①最終評価日においても起因菌が検出された場合(起因菌が複数でもその一部が検出された場合も含む) ②新たな菌が出現した場合

下式により、群ごとの陰性化率を算出する。

$$\text{陰性化率 (\%)} = A / (A + B) \times 100$$

A: 陰性化した例数

B: 不変・菌交代の例数

5) 中止

途中中止した症例では、最終観察日を試験終了日とする。次の理由のときに中止とする。

途中中止した場合は症例報告書にその理由を記録する。

- (1) 治癒したとき (治癒中止)
- (2) 症状が悪化し、他の治療を必要としたとき (悪化中止)
- (3) 7日間投与して症状の改善が認められないとき (無効中止)
- (4) 有害事象が発生し、治験薬投与の継続が好ましくないと判断されたとき (副作用中止)
- (5) 飼い主の意向により中止したとき (飼い主意向中止, 飼い主同意撤回中止)
- (6) 死亡したとき (死亡中止)

6) 脱落

次の症例は脱落症例とし、有効性判定から除外する。

- (1) 検査実施日の規定に反する症例
- (2) 抗菌薬等の薬効に影響ありと認められる薬

剤または処置を併用した症例

- (3) 規定どおり投薬されなかった症例
- (4) 臨床効果判定不能の症例

6. 有害事象の記録と安全性の評価

1) 試験期間中に異常な症状がみられたときは、症状、投与から症状発現までの時間、症状の持続時間をすべて記録し、薬剤との関連性について「関連あり」、「関連なし」、「関連性不明」のいずれかを記録する。

2) 投与開始前および投与開始終了時に症状の観察、血液学検査および血液化学検査を実施し、記録する。検査項目については別に定めるが(付表3)、薬剤の特性によっては検査項目を追加する。

臨床検査値が投与開始前から終了時に、正常値範囲から異常値範囲に120%以上変動した場合、また異常値間で200%以上値が変動した場合は「臨床検査異常値」として扱う。

3) 安全性の評価は1回でも投与した場合は行う。

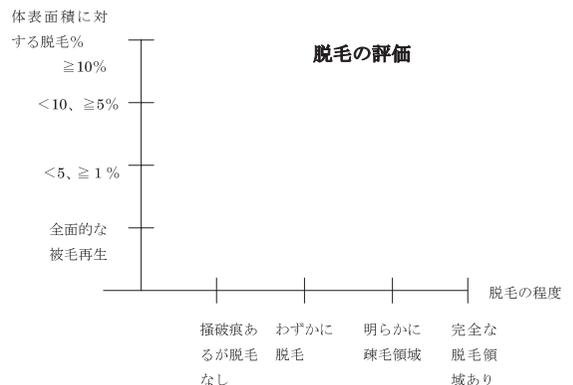
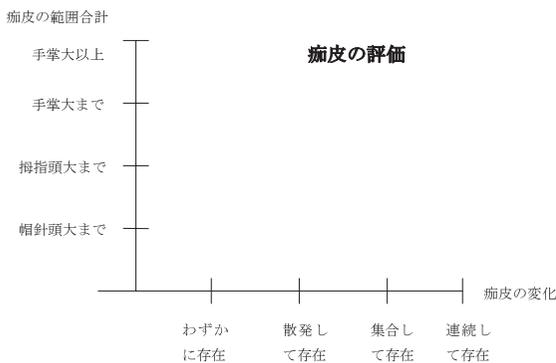
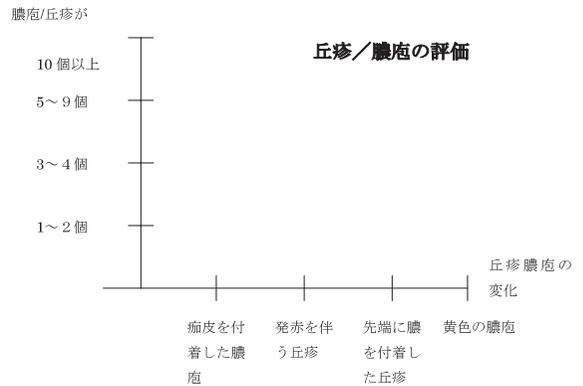
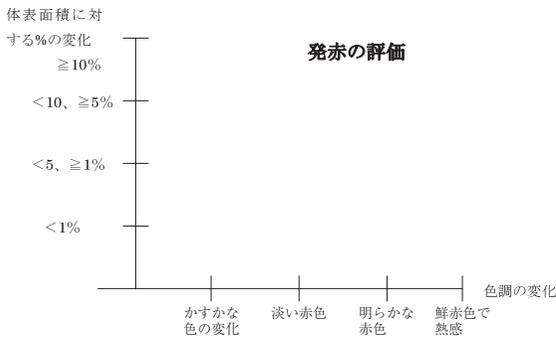
付表1 皮疹の程度の基準

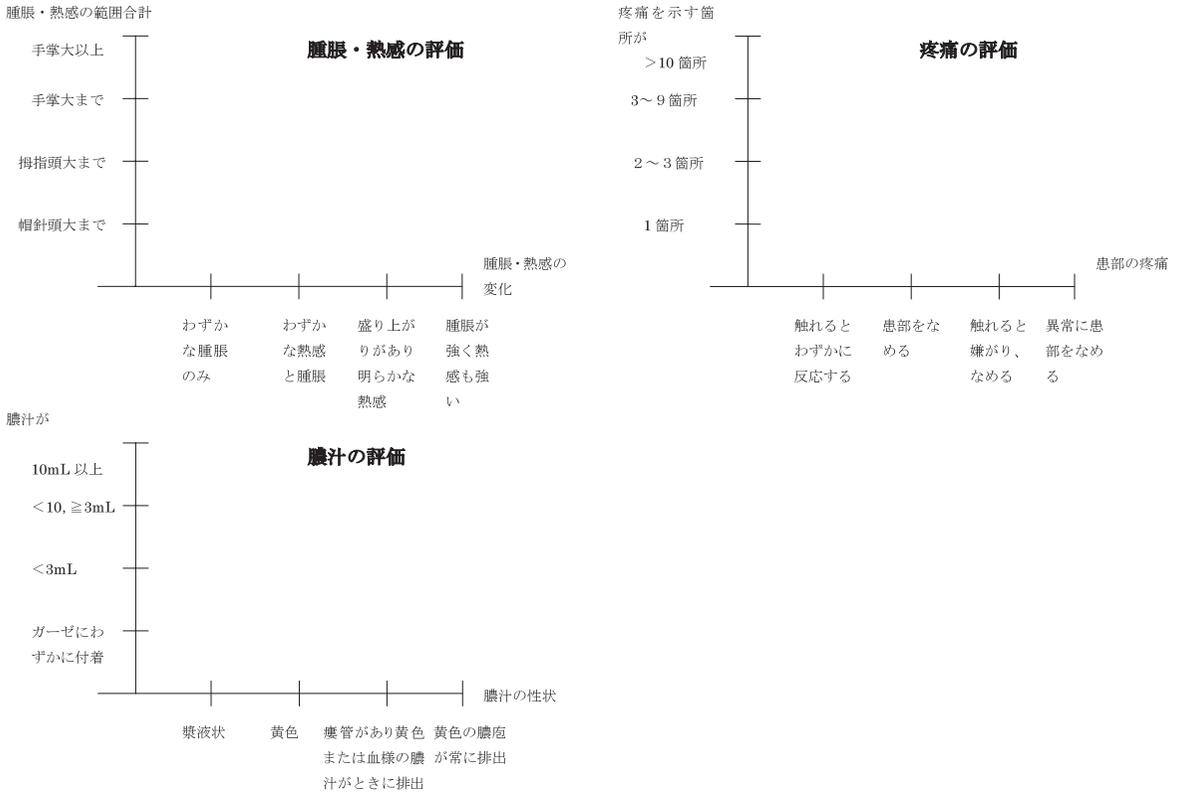
	0	1	2	3	4
発赤	通常の色調	発赤があるとわずかに認識できる	淡い赤色	明らかな赤色	鮮やかな赤色で熱感がある
丘疹/膿疱	なし	痂皮を付着した膿疱	発赤を伴う丘疹	先端に膿を付着した丘疹	黄色の膿疱
痂皮	なし	わずかに痂皮がみられる	痂皮が散発してみられる部分がある	痂皮が集合してみられる部分がある	痂皮が連続的にみられる
脱毛	なし	搔破痕がみられるが被毛は抜けていない	近接して観察すると脱毛が認識できる	完全な脱毛はないが近接せずに脱毛が認識できる	完全な脱毛領域がある
腫脹/熱感	なし	わずかに腫脹がある	触れてわずかに熱感がある	腫脹と熱感はあるが強くない	腫脹が強く、触れて熱感がある
疼痛	患部に触れても反応がない	患部に触れるとわずかに反応がある	患部を舐める	患部に触れると嫌がり、舐める	常に患部を気にして舐める
膿汁	なし	漿液様の膿汁	黄色の膿汁	瘻管があり黄色または血様の膿汁がときに排出される	瘻管から血様の膿汁が常に排出される

付表 2 症状の範囲の基準

	0	1	2	3	4
発赤	なし	1%未満	体表面積 ¹⁾ の1%以上, 5%未満	体表面積の5%以上, 10%未満	体表面積の10%以上
丘疹/膿疱	なし	1, 2個	3, 4個	5個以上, 9個以下	10個以上
痂皮	なし	帽針頭大まで	拇指頭大まで	合計して手掌大まで	合計して手掌大以上
脱毛	なし	全面的な被毛の再生	体表面積の1%以上, 5%未満	体表面積の5%以上, 10%未満	体表面積の10%以上
腫脹/熱感	なし	帽針頭大まで	拇指頭大まで	合計して手掌大まで	合計して手掌大以上
疼痛	なし	1箇所	2箇所	3箇所から9箇所	10箇所以上
膿汁	なし	ガーゼにわずかに付着する	3 m L 未満	3 から 10 m L 未満	10 m L 以上

1) 体表面積は 10kg の犬で約 0.4m²





付表3 血液および血液化学検査項目

血液検査項目
赤血球系：赤血球数，ヘマトクリット値，ヘモグロビン量，赤血球恒数（計算による）
白血球系：総白血球数，白血球百分比
血液化学検査項目
肝臓：ALT，AST，ALP，Bilirubin，Total cholesterol
腎臓：Creatinine，BUN
蛋白：Total protein，albumin，A/G ratio（計算による）

付記1 起因菌の分離法

主な起因菌は *Staphylococcus intermedius*，*Streptococcus* 属であるが時には *S. aureus*，*S. epidermidis*，*S. hyicus*，*Pseudomonas aeruginosa*，*Proteus mirabilis*，*Escherichia coli* が分離されることがある。

慎重に膿胞，膿痂疹の表面をアルコールなどで消毒し，あるいは表皮小環を剥がした後のびらん面を拭った滅菌綿棒をスライドグラス上で塗布し，ギムザ染色あるいは簡易染色を行い鏡検で菌が確認された場合，新たに皮膚患部を拭った滅菌

綿棒を培地表面に塗布し，好気性培養，37℃，20から24時間培養を行う。材料採取場所と検査場所が異なっている場合は，輸送用培地を用いる。

球菌の場合，血液寒天培地を用い，寒天培地上でのコロニー形態とグラム染色から，*Staphylococcus* 属あるいは *Streptococcus* 属と思われる菌株が分離された場合は，市販同定キットにて同定を行う。

桿菌の場合は，DHL寒天培地を用いて培養し，*Escherichia coli* の判定を行う。*Pseudomonas aeruginosa* あるいは *Proteus mirabilis* と推定される場合には，市販同定キットにて同定を行う。

付記 2 薬剤感受性試験法

分離株のうち各個体あたり 1 菌種 2～3 株ずつについて薬剤感受性試験を行う。最小発育阻止濃度 (MIC) の測定は動物用抗菌剤研究会標準法で行う。

(動物用抗菌剤研究会 MIC 測定法標準化委員会, 2004. 動物由来細菌に対する抗菌性物質の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法 (動物用抗菌剤研究会 2003 年改定標準法), 動物抗菌会報, 26, 52～74)

統計学的検定法 (参考)

治験成績を統計的に解析する場合は, 検定対象の母集団の分布様式を推定し, 適切な統計検定法を選択しなければならない。

1. 標準分布が特定できるデータの場合: パラメトリックな統計検定

1) 正規分布: 体重, 体温, 血清や尿の生化学値, 採食量 (飼養効率), 糞尿排泄量などは正規分布することが分っており, 平均と標準偏差というパラメーターで標本の分布を表せる。このような場合には, パラメトリックな統計検定法で検定する。

t 検定, f 検定, ANOVA 検定などが代表的なパラメトリックな検定法である。

2) 二項分布: 疾病の発生, 処置による治癒, 生死など all or nothing なデータは二項分布することが分っているから, χ^2 検定又は直接確率法とする。

3) その他特殊な分布が知られている試験データについては, そのための統計検定法があればそれを採用し, 知られていない場合には次のノンパラメトリックな検定法を使う。

2. 一定の分布様式が無いデータの場合: ノンパラメトリックな統計検定

病状の重篤度, 症状の改善の程度, 副作用症状の強さ, 脱水の程度の臨床判断, 下痢便の外

見上の流動性など, 数値で表せない現象を +++, ++, +, ±, - とか, 著効, 有効, 無効などのカテゴリー分類でその程度を表す場合, それらは何らかの方法で数値化して平均値や標準偏差を出しても, 元になる母集団の分布に一定の分布様式が無いことから, 無意味である。このような場合には, ノンパラメトリックな統計検定法を使う。

ノンパラメトリックな統計処理の代表は, Wilcoxon 検定と Mann-Whitney 検定である。同一個体で処理前と処理後のデータ (対応のあるデータ) がある場合は, Wilcoxon 検定, 動物を試験群と対照群に分けて試験した時のデータのように, 対応のないデータの処理には Mann-Whitney 検定が適切である。

3. 分布様式が判断できないデータの統計検定

データによっては分布様式が判断できない場合がある。このような時にはノンパラメトリックな処理法で検定する。また, 本来パラメトリックな標本集団でも, ノンパラメトリックな統計検定法で検定することは統計的に間違いではないし, 試験そのものの価値を損なうものでもない。

4. 以上の記載はあくまで指針であって, 臨床試験項目と統計検定法を対にしているのではない。例えば, 2つの群の体温や血清抗体価を比較する場合, 単純に集団の体温や抗体価の高低を t 検定するのが適当な場合もあるし, 体温や抗体価が一定値を越えたことに臨床的な意味を見だし, 一定値を越えた個体数の率を比較するために χ^2 検定するのが適切な場合もある。また, ノンパラメトリックな検定の方がより試験内容を的確に表すと判断できれば, パラメトリックな検定結果とノンパラメトリックな検定結果を併記するのも一考である。大切なことは, 統計検定することによって, データにより客観的な説得力を持たせることである。