

犬の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

2008 年 1 月 28 日 制定

本基準は、犬の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) 背景などに関する基準

- (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尿および血液採取が可能であること。
- (3) 病歴が明らかであること、また、発症より経過が 10 日以内であること。
- (4) 動物福祉上、問題のない年齢以上とすること。

なお、犬種、性別、年齢、体重および飼育方法は基準として特に規定しないが、症例報告書に記録する。

2) 細菌性尿路感染症の定義

細菌の増殖に起因して起こる尿路系の炎症を細菌性尿路感染症とする。臨床症状としては頻尿、血尿（血尿検査法、付記 1）もしくは不適切な排尿が認められ、尿検査で膿尿が認められ、かつ、尿の細菌培養検査で一定数以上の細菌が検出される。

3) 検査および結果の基準

原則として、注射器による膀胱穿刺で無菌的に約 10mL を採尿し、膿尿検査および細菌検査に供する。膀胱穿刺が不可能な場合、カテーテルで無菌的に採尿する方法も可とする。その場合、投薬前後の採尿は同じ方法とする。

- (1) 尿の膿尿検査が陽性であること（尿中白血球数検査法、付記 2）。

検査法には非遠心尿の計算盤鏡検法と尿沈査法があるが、どちらかの方法で検査する。それぞれの検査法における陽性の判定基準を下記に示す。

非遠心尿の計算盤鏡検法： $\geq 10\text{WBCs/mm}^3$

尿沈査法： $\geq 3\text{WBCs/hpf}$

- (2) 尿の細菌培養検査が陽性であること（尿中細菌数検査法、付記 3）。

ディプスライド法あるいは標準白金耳による定量培養法などを用いて尿中細菌数を定量する。

いずれの検査法においても陽性の判定基準は $\geq 10^3\text{CFU/mL}$ とする。

4) 除外基準

- (1) 治療に対する応答能に影響を与えるような尿路系の基礎疾患（結石、腫瘍、尿膜管開存）を有する症例

- (2) 悪性腫瘍，糖尿病など細菌性尿路感染症の治療効果に重大な影響を及ぼす基礎疾患を有する症例
- (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) 妊娠中，授乳中の症例

2. 投与期間

被験薬または対照薬を用法・用量に従い原則として上限7日間投与とする。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対照薬投与群または偽薬（プラセボ）投与群を設定する。臨床試験は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・効果が細菌性尿路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) 被験薬投与群の症例数

原則として合計60頭以上とする。

4) 対照群（対照薬投与群またはプラセボ投与群）の症例数

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

輸液剤，ビタミン剤

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，抗菌剤，抗真菌剤，抗炎症剤，ステロイド製剤，利尿剤，尿酸化剤，強心剤，止血剤

(2) 併用療法

試験開始時または投薬中の膀胱洗浄，尿路結石溶解を目的とした療法食，pH調整剤，尿量の変化を目的とした給餌

- (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) 検査項目と評価（スコア化）

症状の程度のスコア基準						
スコア	0	1	2	3	4	
頻尿で不適切な排尿	3回以下	3回以下不適切な場所で排尿することがある	4～6回	7～9回	10回以上	
	なし		同左	同左	同左	
血尿（付記1）	肉 眼	陰性	陰性	陰性	薄ピンク色	鮮血色
	試験紙	陰性	±～+	2+	3+の判定はスコア化しない	
膿尿①（付記2-1） 非遠心尿の計算鏡検法（BCs/mm ³ ）						
	0～9	10～29	30～59	60～99	≥100	
膿尿②（付記2-2） 尿沈査法（WBCs/hpf）						
	0～2	3～4	5～9	10～15	≥16	

血尿の検査は肉眼検査で陰性の場合に試験紙による検査を実施する。膿尿の検査は①あるいは②のいずれかを選択する。

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。

臨床スコア改善率 (%) = (A - B) / A × 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アおよびイに示した対照群の設定方法に従って判定する。

有効率 (%) = (著効例数 + 有効例数) / (判定可能な例数) × 100

ア. 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%以上であって、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。

イ. 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 日付に準拠）

4) 細菌学的評価

投与開始前および最終評価日に、全個体の尿中における細菌の分離・同定を行い、細菌学的評価を行うとともに、被験薬を含む関連する抗菌剤に対する感受性（付記 4）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、最終観察日の細菌検査は行わない。

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。

陰性化率 (%) = A / (A + B) × 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する。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) 5 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) 規定どおり投与されなかった症例
- (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

付表 1 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）

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) 投与開始前および最終観察日に症状の観察，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 1），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。

付記 1 血尿検査法

1. 肉眼的検査
採尿した尿の色を肉眼的に見て検査する。
2. 尿試験紙法
肉眼的検査で陰性の場合は市販の尿試験紙を使用して検査を行う。使用法および判定法は添付の説明書に従う。

付記 2 尿中白血球数検査法

1. 非遠心尿の計算盤鏡検法
 μ L 中の白血球を計測する。市販のキット製品を使用して検査を行う。使用法および判定法は添付の説明書に従う。
2. 尿沈査法
採取した尿 5 mL を 1,500 rpm で 5 分間遠心する。その沈査の 1 滴をスライドガラスの上ののせ，カバーガラスをかけて 400 倍の視野で観察し，白血数をカウントする。

付記 3 尿中細菌数検査法

ディプスライド法で検査を行う。市販の尿中細菌数測定用簡易培地を使用する。使用法および判定法は添付の説明書に従う。

付記 4 薬剤感受性試験法

1. 起因菌の分離・同定

市販の尿中細菌数測定用簡易培地を使用する。簡易培地を使用しない場合は血液寒天および DHL 寒天平板培地を使用する。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。培地上に発育したコロニーについてグラム染色および市販同定キットを用いて分離した細菌を同定する。

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）

治験成績を統計学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わかっており、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わかっているから、 χ^2 検定又は直接確率法です。
- 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ない場合は次のノンパラメトリックな検定法を使う。

2. 一定の分布様式がないデータの場合：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ないから、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学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。