

動物用抗菌剤の臨床試験実施基準（試案）（II）

動物用抗菌剤研究会臨床評価検討委員会

まえがき

本会では、昨年発行した会報第18号に掲載した通り、牛と豚の細菌性呼吸器病及び細菌性下痢症に対する抗菌剤の臨床試験実施基準（試案）を設定した。その際に「まえがき」でも述べたが、その設定にあたっては、検討委員会（委員は各領域の専門家12名、ほかに臨時委員2名が参加）を結成し、平成6年から約2年半を費して成案を得たものである。

国内では、これまでこのような基準が皆無であったため、製薬関係者はもとより、臨床関係者、行政関係の関心と呼び、この試案を歓迎する旨の意向がいくつか本会に寄せられている。あわせて要望として、牛の乳房炎の臨床試験実施基準を設定して欲しい旨の意向もあった。

そこで、本会では、これを受けて前回の臨床評価委員会の委員の方々に再度のお骨折りを願うこととし、「牛の乳房炎に対する抗菌剤の臨床試験実施基準」を設定するため、平成8年9月から5回にわたり委員会を開催し、学問的な面や実際面を考慮しつつ十二分に検討を加え、原案を作成した。さらにこの案を参考資料の提供をお願いした各製薬会社にも送付して意見を求めた。その上で委員会で再検討を行って、下記のような試案を設定し、公表することとした次第である。

今後、抗菌剤の臨床試験を行う場合には、前回の分とともにこの試案に沿って実施して頂ければ幸いである。

なお、これらの実施基準（試案）の設定にあたっては、いずれも慎重を期して十分な検討を重ねたつもりであるが、決して万全なものとは思っていない。今後、これらの基準に沿って臨床試験を

実施した場合、必ずしも実情に適合しない点が生ずる可能性もあろう。その場合には、本会事務局宛に、試験成績とともに意見をお寄せいただきたい。本会では寄せられたご意見について、公正な立場から検討の上、改訂を要すると判断されれば、機会をみて改正案を提示したい。

最後に、今回の基準の設定にあたり、ご多忙中をご協力いただいた各委員の方々に深く感謝し、あわせて参考資料を提供して頂いた各製薬会社に厚く御礼を申し上げます。

なお、今回の検討委員会の委員も昨年発行の本会会報18号（p.42～43）に掲載した方々と同一なので、割愛させて頂くこととした。ご諒承をお願いしたい。

平成9年10月1日
動物用抗菌剤研究会理事長
高橋 勇

動物用抗菌剤の臨床試験実施基準

この基準は、動物用抗菌剤の製造（輸入）承認申請に必要な臨床試験を実施する際のガイドラインとして設定した。

供試する抗菌剤は、基礎的な試験により有効菌種及び動物に対する催奇形性、発癌性を含めた安全性が確認され、畜産物に対する安全性が明らかにされた薬剤で、すでにこれらに基づいて用法、用量、休薬期間が設定された薬剤を想定して作成した。

臨床試験の実施基準は、このような抗菌剤を用いて実際の飼育環境において治験を実施し、対象疾病に対する供試薬剤の有効性を検討するものとした。

なお、動物用抗菌剤としての有効性を評価するための十分な試験成績が得られるならば、この基準以外の方法によることもできる。その場合は十分な科学的根拠をもって、その試験の妥当性を主張することが必要と思われる。

牛の細菌性乳房炎に対する抗菌剤 （泌乳期用乳房注入剤）の 臨床試験実施基準

1. 診断基準

「家畜共済の診療指針」（農林水産省経済局長通達、平成5年3月、5農経B第233号）に準じて全身症状、乳房の所見、乳汁の所見及び細菌学的検査により診断する。これにより急性乳房炎、慢性乳房炎、潜在性乳房炎と診断された症例のうち、全身治療を必要とせず、乳房局所の治療で対応できる泌乳牛の症例を治験の対象とする。

2. 臨床症状の評価法

全身症状、乳房所見及び乳汁所見の下記の項目を検査し、異常を認める場合は陽性、異常を認めない場合は陰性と評価する。

全身症状：体温、食欲、活力

乳房所見：熱感、疼痛、腫脹、硬結

乳汁所見：凝固物、色調、体細胞数又はCMT変法

ただし、体温は38.0～39.5℃未満を異常なしとする。また、体細胞数は50万個/ml未満を異常なしとする。CMT変法では凝集・色調共に陰性を異常なしとする。

3. 細菌学的検査成績の評価法

生菌数を検査する。生菌1菌種当たり250個/ml以上を陽性と評価する。なお、起因菌の薬剤感受性試験を行うことが望ましい。

4. 群の設定法

試験群と対照群を設定し、両群間に臨床症状、乳期等片寄りのないように群の設定を行う。

1) 試験群

2施設以上を設定し、合計40頭60分房以上

を用いる。

2) 対照群

各施設毎に薬剤無投与、偽薬剤投与又は対照薬剤を投与する群を対照群とし、試験群と同分房数を用いることが望ましい。ただし、対照薬剤は対象疾病に対する効能を有し、かつ使用頻度の高い薬剤、又は試験薬剤と同系統の抗菌剤を用いる。

5. 薬剤の投与方法

試験薬剤は、予め設定した用量、間隔、回数で、搾乳直後に罹患乳房の乳頭口から注入する。対照薬剤は定められた用法・用量で投与する。

6. 併用薬剤の使用制限

効果判定に影響を及ぼす他の医薬品を併用してはならない。

7. 効果判定法

1) 判定時期

最終薬剤注入後7～10日目とする。

2) 臨床所見及び細菌学的検査所見による判定

全身症状では3項目中3項目共に陰性、乳房所見では4項目中3項目以上が陰性、乳汁所見では3項目中3項目共に陰性、細菌学的検査所見では注入前の起因菌が陰性の条件をすべて満たすものを有効とする。ただし、治験中に臨床所見の改善が認められず、治療薬を変更した場合は無効と判定する。次に、試験群、対照群間の有効率の差を統計学的手法を用いて検定し、有効性を判定する。

有効率＝(有効分房数／判定可能な分房数)×100

8. 副作用の観察

試験期間中は、副作用の有無、その種類及び程度を観察し、記録する。

9. 参考となる検討事項

1) 細菌の同定

起因菌の同定を行い、菌種別に治療成績の検討を行う。また、菌交代の有無を検討する。

2) 薬剤感受性試験

分離株について、他の抗菌剤との比較を行う。
3) 最終薬剤注入後 21 日目に再発の有無を確認する。

10. 治験実施計画書の作成

臨床試験の実施に当たっては、動物用医薬品の臨床試験の実施に関する基準 (GCP) に準拠し、治験実施施設ごとの診断基準・効果判定法・副作用の観察などの統一性を考慮して、治験実施計画書を作成する。なお、治験実施計画書には、除外・脱落例の取扱い及び他の病原体の関与する症例の取扱いについて規定することが望ましい。

付記

1. 牛乳房炎起因菌の分離・同定法
2. 牛乳房炎起因菌の薬剤感受性試験法
3. 統計学的検定法

牛の細菌性乳房炎に対する抗菌剤 (乾乳期用乳房注入剤) の 臨床試験実施基準

1. 診断基準

「家畜共済の診療指針」(農林水産省経済局長通達, 平成 5 年 3 月, 5 農経 B 第 233 号) に準じて全身症状、乳房の所見、乳汁の所見及び細菌学的検査により診断する。これにより潜在性乳房炎と診断された乾乳期の牛の症例を治験の対象とする。さらに、異常なしと診断された分房について、乾乳期間中の感染を予防する目的で治験の対象とする。

2. 臨床症状の評価法

全身症状、乳房所見及び乳汁所見の下記の項目を検査し、異常を認める場合は陽性、異常を認めない場合は陰性と評価する。

全身症状: 体温, 食欲, 活力

乳房所見: 熱感, 疼痛, 腫脹, 硬結

乳汁所見: 凝固物, 色調, 体細胞数又は CMT 変法

ただし、体温は 38.0~39.5°C 未満を異常なしとする。また、体細胞数は 50 万個/ml 未満を異常な

しとする。CMT 変法では凝集・色調共に陰性を異常なしとする。

3. 細菌学的検査成績の評価法

生菌数を検査する。生菌 1 菌種当たり 250 個/ml 以上を陽性とする。なお、起因菌の薬剤感受性試験を行うことが望ましい。

4. 群の設定法

試験群と対照群を設定し、両群間に臨床症状等片寄りのないように群の設定を行う。

1) 試験群

2 施設以上を設定し、合計 40 頭以上を用いる。

2) 対照群

各施設毎に薬剤無投与、偽薬剤投与又は対照薬剤を投与する群を対照群とし、試験群と同分房数を用いることが望ましい。ただし、対照薬剤は対象疾病に対する効能を有し、かつ使用頻度の高い薬剤、又は試験薬剤と同系統の抗菌剤を用いる。

5. 薬剤の投与法

乾乳のための最終搾乳の直後に、予め設定した用量を 1 回のみ、すべての分房の乳頭から注入した後乾乳する。対照薬剤は定められた用法・用量で投与する。

6. 併用薬剤の使用制限

効果判定に影響を及ぼす他の医薬品を併用してはならない。

7. 効果判定法

1) 判定時期

分娩後 5 日目とする。

2) 臨床所見及び細菌学的検査所見による判定

全身症状では 3 項目中 3 項目共に陰性、乳房所見では 4 項目中 3 項目以上が陰性、乳汁所見では 3 項目中 3 項目共に陰性、細菌学的検査所見では注入前の起因菌が陰性 (予防を目的とする治験例では生菌数が陰性) の条件をすべて満たすものを有効とする。ただし、治験中に臨床

所見が悪化した場合は無効と判定する。次に、治療群、予防群別に試験群、対照群間の有効率の差を統計学的手法を用いて検定し、有効性を判定する。

有効率 = (有効分房数 / 判定可能な分房数) × 100

8. 副作用の観察

試験期間中は、副作用の有無、その種類及び程度を観察し、記録する。

9. 参考となる検討事項

1) 細菌の同定

起因菌の同定を行い、菌種別に治療成績及び予防成績の検討を行う。また、菌交代の有無を検討する。

2) 薬剤感受性試験

分離株について、他の抗菌剤との比較を行う。

10. 治験実施計画書の作成

臨床試験の実施に当たっては、動物用医薬品の臨床試験の実施に関する基準（GCP）に準拠し、治験実施施設ごとの診断基準・効果判定法・副作用の観察などの統一性を考慮して、治験実施計画書を作成する。なお、治験実施計画書には、除外・脱落例の取扱い及び他の病原体の関与する症例の取扱いについて規定することが望ましい。

付記

1. 牛乳房炎起因菌の分離・同定法
2. 牛乳房炎起因菌の薬剤感受性試験法
3. 統計学的検定法

付記 1. 牛乳房炎起因菌の分離・同定法

試験開始前および治療後に供試乳房の乳汁を培養し、起因菌の分離同定を行う。採材は消毒用アルコールで乳頭をよく拭き、2～3搾り後の乳汁を採取する。遠隔地で分離を行う場合、冷蔵下（4℃）で輸送する。

培養は、材料を血液寒天培地などに0.1 ml ずつ接種し、定量培養を行う。37℃で24時間培養する。

分離菌の同定は、各培地上に25個以上発育した同一集落について、それぞれの集落形態およびグラム染色所見から菌種を推定し、生物学的性状検査^{1,2)}により行う。

菌の保存はトリプトソイブイオンに5%馬血清（他種の動物の血清でもよい）を加えた培地に、できるだけ多数懸濁させ、密栓後、-80℃で行う。

参考文献

- 1) 全国農業共済協会. 1993. 乳房炎, 3 細菌学的検査, 家畜共済の診療指針(II). 平成5年5月, 188-202.
- 2) 鎌田信一・松永敏幸・内田幸治・内田和夫. 1990. ウシ乳房炎からの検出菌種とβ-ラクタム系抗菌剤に対する感受性. Jpn. J. Antib., 43, 1698-1712.

付記 2. 牛乳房炎起因菌の薬剤感受性試験法

分離株のうち各分房の各分離菌種から2～3株ずつについて、薬剤感受性試験を行う。参照菌株としてすでに感受性試験成績が報告されている株を用いる。特殊な栄養要求性をもたない菌の最小発育阻止濃度（MIC）の測定は動物用抗菌剤研究会の標準法¹⁾で行う。*Streptococcus* 属, *Corynebacterium* 属, *Actinomyces* 属の菌株については、感受性測定用に、Mueller-Hinton agar (Difco, 栄研) に馬（又は羊）血液を5%添加した培地を用いる。

参考文献

- 1) 動物用抗菌剤研究会. 1997. 動物由来の細菌に対する薬剤の最小発育阻止濃度（MIC）測定法（動物用抗菌剤研究会標準法）. 動物用抗菌研報, 18, 40-41.

付記 3. 統計学的検定法

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. 標本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検定する。

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、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。同一個体で処置前と処置後のデータ (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、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も指針であって、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いだし、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。

「本基準(試案)の無断転載並びに複写を禁じます。なお、この基準の別刷を前号掲載のIとともに本会で準備しているので、必要な場合にはお申し出頂きたい(有料)。」