

別添 8 動物用医薬品等の承認申請資料のためのガイドライン等

目 次

- 1 分析法バリデーションに関するテキスト
 - (1) 分析法バリデーション：定義及び用語に関するテキスト (VICH GL1)
 - (2) 分析法バリデーション：方法論に関するテキスト (VICH GL2)
- 2 動物用医薬品の不純物等に関するガイドライン
 - 2-1 新動物用医薬品の原薬中の不純物 (VICH GL10R)
 - 2-2 新動物用医薬品の製剤中の不純物 (VICH GL11R)
 - 2-3 不純物：新動物用医薬品、有効成分及び添加物中の残留溶媒 (VICH GL18)
- 3 規格及び検査方法の設定に関するガイドライン
 - 3-1 新動物用医薬品の原薬及び製剤の規格及び試験方法の設定：化学物質に関するガイドライン (VICH GL39)
 - 3-2 新動物用生物薬品(バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品)の規格及び試験方法の設定 (VICH GL40)
- 4 食用動物に使用する新動物用医薬品の承認に必要な抗菌剤耐性に関する承認前試験指針 (VICH GL27)
- 5 動物用生物学的製剤の検査法に関するガイドライン
 - 5-1 ホルムアルデヒド定量試験 (VICH GL25)
 - 5-2 含湿度試験 (VICH GL26)
- 6 動物用生物学的製剤基準一般試験法の異常毒性否定試験法及び毒性限度確認試験法の取扱いについて
- 7 ワクチン接種対象動物における動物用生ワクチンの病原性復帰否定試験について
- 8 安定性に関する試験
 - 8-1 動物用新原薬及び製剤の安定性試験 (VICH GL3R)
 - 8-2 新剤型動物用医薬品の安定性試験 (VICH GL4)
 - 8-3 新動物用医薬品の原薬及び製剤の光安定性試験 (VICH GL5)
 - 8-4 動物用飼料添加剤の安定性試験 (VICH GL8)
 - 8-5 新動物用生物薬品(バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品)の安定性試験 (VICH GL17)
- 9 動物用医薬品のための毒性試験法ガイドライン
 - (1) 急性毒性試験、亜急性毒性試験及び慢性毒性試験
 - (2) 生殖・発生毒性試験
 - (3) 変異原性試験
 - (4) がん原性試験
 - 9-1 ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を評価する試験
 - (1) 試験への一般的アプローチ (VICH GL33)
 - (2) 反復投与(90日)毒性試験 (VICH GL31)

- (3) 反復投与（慢性）毒性試験（VICH GL37）
- (4) 生殖毒性試験（VICH GL22）
- (5) 発生毒性試験（VICH GL32）
- (6) 遺伝毒性試験（VICH GL23）
- (7) がん原性試験（VICH GL28R）
- (8) 微生物学的一日許容摂取量（ADI）設定の一般的アプローチ（VICH GL36）
- 10 動物用医薬品のための安全性試験法ガイドライン
- 11 動物用医薬品溶出試験法ガイドライン
- 12 動物用医薬品の臨床評価に関する一般指針
 - 12-1 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
- 13 駆虫薬有効性評価ガイドライン
 - 13-1 駆虫剤の有効性評価基準：一般ガイドライン（VICH GL7）
 - 13-2 駆虫剤の有効性評価基準：牛ガイドライン（VICH GL12）
 - 13-3 駆虫剤の有効性評価基準：羊ガイドライン（VICH GL13）
 - 13-4 駆虫剤の有効性評価基準：山羊ガイドライン（VICH GL14）
 - 13-5 駆虫剤の有効性評価基準：馬ガイドライン（VICH GL15）
 - 13-6 駆虫剤の有効性評価基準：豚ガイドライン（VICH GL16）
 - 13-7 駆虫剤の有効性評価基準：犬ガイドライン（VICH GL19）
 - 13-8 駆虫剤の有効性評価基準：猫ガイドライン（VICH GL20）
 - 13-9 駆虫剤の有効性評価基準：鶏ガイドライン（VICH GL21）
- 14 動物用医薬品のための残留試験法ガイドライン
- 15 内因性感染症に適用するワクチンの製造販売承認申請に際して添付すべき資料について
- 16 水産動物への使用を目的とする動物用医薬品の製造販売承認申請のための各試験の実施細則

1 分析法バリデーションに関するテキスト

(1) 分析法バリデーション：定義及び用語に関するテキスト（VICH GL1）

ア はじめに

本テキストは、日本、アメリカ合衆国（以下「米国」という。）及び欧州連合（以下「EU」という。）の三極内における動物用医薬品（体外診断用医薬品を除く。以下同じ。）の承認申請に含まれる分析法について、バリデーションを行う際に検討が必要な分析能パラメータについて記載したものである。三極以外の地域における動物用医薬品の承認又はそれらの地域への動物用医薬品の輸出に必要とされる試験には、必ずしも本テキストの適用を求めるものではない。また、本テキストは、用語及び定義集であり、分析法バリデーションを行う方法を示唆するものではない。ここに示した用語及び定義によって、日本、米国及び EU の種々の公式文書や規制の間にしばしば存在する相違が埋められることが期待される。

分析法バリデーションの目的は、動物用医薬品の試験に用いる分析法が、使用される意図にふさわしいことを立証することにある。確認試験、純度試験及び定量法において評価が必要な分析能パラメータは、表にまとめられている。本テキストに上記以外の分析法を追加することについては今後の課題である。

イ バリデーションを行うべき分析法のタイプ

本テキストでは、通常最もよく行われる次の四つのタイプの試験法に用いられる分析法を対象としている。

- ① 確認試験
- ② 純度試験における不純物の定量試験
- ③ 純度試験における不純物の限度試験
- ④ 動物用医薬品原薬若しくは動物用医薬品製剤中の有効成分又は動物用医薬品製剤中の特定成分の定量法

上記以外にも、例えば、動物用医薬品製剤の溶出試験や動物用医薬品原薬の粒子径の測定等のような試験があるが、分析法バリデーションに関する最初のテキストである本テキストではこれらの試験は扱われていない。これらは、本テキストに収められた試験に劣らず重要なものであり、将来考慮の対象となると考えられる。

本テキストで対象としている各タイプの試験法について、その目的などを簡単に次に示す。

- ① 確認試験は、試料中の分析対象物をその特性に基づいて確認することを目的としている。通常、試料の特性（スペクトル、クロマトグラフィーにおける挙動、化学的反応性等）を標準物質のそれと比較することにより行われる。
- ② 純度試験は、試料中の不純物の存在の程度を正しく把握することを目的としており、定量試験と限度試験がある。定量試験と限度試験では評価に必要な分析能パラメータが異なる。

③ 定量法は、試料中に存在する分析対象物の量を正確に測定することを目的としており、動物用医薬品原薬の場合には主要成分を、また、動物用医薬品製剤の場合には有効成分又は特定成分を定量することを意味する。両者とも評価に必要な分析能パラメータは同じである。

その他の定量的試験法（例えば、溶出試験）に用いられる分析法についても評価に必要な分析能パラメータは同じとして差し支えない。

評価に必要な分析能パラメータを決定するためには、分析法の目的が十分に理解されていなければならない。典型的な分析能パラメータは、次のとおりである。

真度 (Accuracy)

精度 (Precision)

併行精度 (Repeatability)

室内再現精度 (Intermediate Precision)

特異性 (Specificity)

検出限界 (Detection Limit)

定量限界 (Quantitation Limit)

直線性 (Linearity)

範囲 (Range)

各分析能パラメータは、「ウ 用語解説」の中で定義されている。それぞれのタイプの試験法に用いられる分析法のバリデーションにとって最も重要な分析能パラメータが表に示されている。この表は、典型的な場合について示したものであり、一律に適用することを求めるものではなく、必要に応じて変更しても差し支えない。

表1には頑健性 (Robustness) が記載されていないが、頑健性は、分析法の開発段階で検討する必要がある。

次のような場合には再バリデーションが必要である。

① 動物用医薬品原薬の製造方法を変更する場合

② 動物用医薬品製剤の組成を変更する場合

③ 分析法を変更する場合

再バリデーションの方法は、どのような変更を行うかで決められる。上記以外の変更でも再バリデーションが必要な場合もある。

ウ 用語解説

(ア) 分析法 (Analytical Procedure)

分析法とは、分析を行うために必要な、詳細に記述された一連の手順のことである。手順の中には、例えば次のようなものが挙げられる：試料、試薬及び標準物質の調製法、機器の使用、検量線の作成法、測定値を得るための計算式等

(イ) 特異性 (Specificity)

特異性とは、共存が予想される不純物、分解物、配合成分等の存在下で、分析対象物を正確に測定できる能力のことである。

個々の分析法が特異性に欠ける場合には、関連する他の分析法によって補うことができる。

各試験法において、特異性とは、次のようなことを意味する。

確認試験：分析対象物を誤りなく確認できる能力

純度試験：試料中の不純物、即ち、類縁物質、重金属、残留溶媒等の含量を正確に示す能力

定量法（含量又は力価）：試料中の分析対象物の含量又は力価を正確に示す能力

(ウ) 真度 (Accuracy)

分析法の真度は、真値として認証又は合意された値と実測値との間の一致の程度のことである。Trueness ともいう。

(エ) 精度 (Precision)

分析法の精度は、均質な検体から多数回採取して得られた複数の試料について、記載された条件に従って測定して得られた一連の測定値間の一致の程度（又はばらつきの程度）のことである。精度には、併行精度、室内再現精度及び室間再現精度の三つのレベルがある。

精度は、信頼できる均質な検体を用いて評価されなければならない。均質な検体が入手困難な場合には、均質とみなせるように調製した検体（訳注：例えば、大量の錠剤を粉碎し均質とみなせるまで混合して調製した検体）又は溶液を用いても差し支えない。

精度は、通常、一連の測定値の分散、標準偏差又は変動係数（相対標準偏差）で表わされる。

① 併行精度 (Repeatability)

併行精度とは、短時間の間に同一条件下で測定する場合の精度のことである。Intra-assay precision ともいう。

② 室内再現精度 (Intermediate precision)

室内再現精度とは、同一施設内において、試験日、試験実施者、器具、機器等を変えて測定する場合の精度のことである。

③ 室間再現精度 (Reproducibility)

室間再現精度とは、異なった施設間で測定する場合の精度のことである（通常、分析法を標準化する際の共同研究において評価が必要とされる。）。

(オ) 検出限界 (Detection Limit)

分析法の検出限界とは、試料中に存在する分析対象物の検出可能な最低の量のことである。ただし、このとき必ずしも定量できる必要はない。

(カ) 定量限界 (Quantitation Limit)

分析法の定量限界とは、適切な精度と真度を伴って定量できる、試料中に存在する分析対象物の最低の量のことである。定量限界は、試料中に存在する低濃度の物質を定量する場合の分析能パラメータであり、特に、不純物や分解生成物の定量において評価される。

(キ) 直線性 (Linearity)

分析法の直線性とは、(一定の範囲内で) 試料中の分析対象物の濃度(量)と直線関係にある測定値を与える能力のことである。

(ク) 範囲 (Range)

分析法の範囲とは、分析法が適切な精度、真度及び直線性を与える試料中の分析対象物の上限及び下限の濃度(量)の間隔のことである(上限値及び下限値は、範囲に含まれる。)

(ケ) 頑健性 (Robustness)

分析法の頑健性とは、分析法の条件を小さい範囲で故意に変動させたときに、測定値が影響を受けにくい能力のことであり、通常の作業状態における分析法の信頼性の指標となる。

(2) 分析法バリデーション：方法論に関するテキスト (VICH GL2)

ア はじめに

本テキストは、分析法のバリデーションを行うときに検討が必要となる分析法の諸特性について記載した「(1) 分析法バリデーション：定義及び用語に関するテキスト(以下「基本テキスト」という。)(VICH GL1)を補完するものである。このテキストの目的は、個々の分析法に関連する様々な分析法パラメータを検討する方法について、その指針を示すことにある。場合によっては、例えば、特異性を立証するときなどのように、動物用医薬品の原薬又は製剤の品質を保証するために組み合わせた幾つかの分析法について、その総合的な能力を検討することもある。また、このテキストでは、新動物用医薬品の承認申請書の添付資料(以下「添付資料」という。)に記載が必要なデータについても示すこととする。

バリデーションの過程で得られたすべての関連データ及び分析能パラメータを算出するために用いた計算式を添付資料に記載し、適当な考察を加えることが求められる。

このテキストに示すバリデーションの手法とは異なる方法を用いてもよい。対象となる動物用医薬品に最も適したバリデーションの方法とプロトコールを選択することは、承認申請者の責任である。しかしながら、このとき、動物用医薬品の試験に用いる分析法が意図した目的にかなう方法であることを立証するという分析法バリデーションの目的を念頭に置いておくことが重要である。動物用生物学的製剤及びバイオテクノロジー応用動物用医薬品に用いられる分析法に対しては、動物用医薬品の性質が複雑であるために、このテキストに示す手法とは異なる手法が適用されることもある。

バリデーションにおいては、添付の書類に純度が明記されており、十分に特性が明らかな標準物質を用いる必要がある。どの程度の純度の標準物質が必要であるかは、分析法の使用目的による。

このテキストでは、理解しやすいように、基本テキストに合わせて分析能パラメータごとに項目を分けて論じることとする。各項目は、分析法が開発され、評価される過程を考慮して配列されている。

通常、例えば、特異性、直線性、範囲、真度及び精度のような、幾つかの適

当な分析能パラメータを同時に検討し、分析法の能力に関する総合的で信頼性の高い情報が得られるような実験計画を組むことができる。

イ 特異性 (Specificity)

確認試験、不純物の定量試験及び有効成分の定量法に用いる分析法のバリデーションでは、特異性の検討を行う。特異性を立証するための手法は、分析法が適用される目的に依存するであろう。

ある分析法が特定の分析対象物に対して特異的であり、完璧な識別性を有することを立証することは、必ずしも可能とは限らない。このような場合には、二つ以上の分析法を組み合わせることによって、動物用医薬品の試験に必要な識別能力の水準を達成することが推奨される。

(ア) 確認試験 (Identification)

確認試験としては、共存する可能性のある構造的に類似した化合物どうしを識別できる方法が適している。分析法の識別能力は、分析対象物を含む試料を用いて（多くの場合には、既知の標準物質についての結果と比較することにより）求めた陽性の結果と分析対象物を含まない試料を用いて求めた陰性の結果とを得、比較することによって確認できる。分析対象物と構造的に類似する物質又は分析対象物に密接に関連する物質に確認試験を適用して、陽性の反応が得られないことを確認してもよい。特異性を検討するときには、分析法を実施する上で起こり得る妨害について考察し、適切な科学的判断に基づいて、上記のような妨害を引き起こす可能性のある物質を選択する必要がある。

(イ) 定量法と純度試験

クロマトグラフィーでは、代表的なクロマトグラムを示すことによって、特異性を立証する。クロマトグラムの個々のピークには、識別しやすいように適切な表示を施しておく。他の分離分析法についても、同様の配慮が必要である。

クロマトグラフィーでは、成分が互いに分離されていることを示す分離限界 (Critical Separation) について、適当な濃度の試料を用いて検討する。特異性を示すために、互いに最も近接して溶離する二つの成分の分離度を用いて分離限界を表してもよい。

非特異的な定量法が分析対象物のみを定量していることを支持するような他の分析法のデータを添えて、総合的に特異性を立証する。例えば、動物用医薬品原薬の出荷試験で行う定量法に滴定法を採用する場合には、その定量法に適当な純度試験を組み合わせることによって、特異性が証明できよう。

特異性を立証するための手法は、定量法と純度試験とで同じである。

① 不純物を入手できるとき

定量法では、不純物又は医薬品添加物が存在する下で、分析対象物を識別できることを立証する。実際には、動物用医薬品の原薬又は製剤に適当な濃度の不純物や医薬品添加物を添加したときの定量結果をこれらの物質が添加されていないときに得られる定量結果と比較し、これらの

物質が共存していても定量結果が影響されないことを示すことによって特異性を立証できる。

純度試験では、動物用医薬品の原薬又は製剤に適当な濃度の不純物を添加し、これらの不純物が互いに分離していること、又はこれらの不純物が試料中に存在する他の成分から分離していることを示すことによって識別能力を立証できる。

② 不純物が入手できないとき

不純物又は分解生成物の標準品が入手できない場合には、不純物又は分解生成物を含む試料をバリデートしようとする分析法で測定した結果と別の分析能パラメータ既知の分析法で測定した結果とを比較することによって、特異性が立証できることもある。分析能パラメータ既知の分析法とは、例えば、薬局方に記載された方法又はそれ以外の既にバリデートされている分析法のことをいい、バリデートしようとする分析法とは全く別の分析法のことである。必要に応じて、不純物を含む試料として、起こり得る苛酷条件（光、熱、湿度、酸又は塩基加水分解及び酸化）の下でばく露した試料を検討に用いる。

- ・ 定量法では、二つの定量結果を比較する。
- ・ 純度試験では、不純物プロファイルを比較する。

クロマトグラム上の分析対象物のピークが複数の成分に由来していないことを示すためには、ダイオードアレイや質量分析計などを検出器として用いるクロマトグラフィーのピーク純度試験（ピーク単一性試験）が有用である。

ウ 直線性（Linearity）

「エ 範囲」に示す分析法の範囲の全域にわたって、直線性を確認する必要がある。希釈した標準液の系列を用いて動物用医薬品原薬の濃度に対して直接的に直線性を証明してもよいし、また、動物用医薬品製剤成分の混合物の重量に対して直接的に直線性を証明してもよい。後者は、範囲を検討する際に検討することができる。

シグナルを分析対象物の濃度又は含量の関数としてプロットした図を用いて視覚的に直線性を評価する。直線関係が認められる場合には、最小二乗法による回帰直線の計算などの統計学的手法を用いて測定結果を評価する。分析値と試料濃度との間の直線関係を得るために、回帰分析を行う前に、測定データを数学的に変換する必要があることもある。回帰直線から得られる情報は、直線性の程度を数学的に評価するとき役に立つ。

相関係数、 y -切片、回帰直線の傾き及び残差平方和を添付資料に記載する。データをプロットした図も添付資料に含める。実測値と回帰直線上の予測値との差を濃度に対してプロットした図を解析することも直線性を評価する上で有用である。

イムノアッセイのような分析法は、いかなる変換を行っても直線性を示さない。このような場合にも、可能な限り、レスポンスを試料中の分析対象物の濃

度（量）の適当な関数（理論式又は近似式）で表す。

直線性を立証するときには、少なくとも5水準の濃度を用いる。別の手法を用いるときには、その手法の妥当性の根拠を示す。

エ 範囲（Range）

規定すべき範囲は、通常、直線性を検討することによって導かれ、分析法が適用される目的に依存する。規定する範囲内又は範囲の両端の量の分析対象物を含む試料を用いて分析を行い、分析法の直線性、真度及び精度が容認できる程度であることを確認することによって、範囲を立証する。

規定すべき範囲として、少なくとも次に示す範囲を検討する。

（ア）動物用医薬品の原薬又は製剤の定量法

通常、試験濃度の80～120%

（イ）含量均一性試験

剤型の特性に基づいてもっと広い範囲を規定するのが適当である場合を除いて、試験濃度の少なくとも70～130%

（ウ）溶出試験

規格の全範囲の±20%

例えば、もし、放出制御製剤の規格の限度値が1時間後に20%、24時間後に90%と規定されているならば、バリデートすべき範囲は表示量の0～110%となるであろう。

（エ）不純物の定量試験

不純物の報告の閾値～規格の限度値の120%（不純物の報告の閾値については、「2-1 新動物用医薬品の原薬中の不純物」（VICH GL10R）及び「2-2 新動物用医薬品の製剤中の不純物」（VICH GL11R）を参照）。

作用が異常に強いことが知られている不純物又は毒性や予期せぬ薬理作用を示した不純物については、検出／定量限界は、その不純物が制御されるべき限度に見合っている必要がある（動物用医薬品の開発段階で行われる純度試験において用いられる分析法をバリデートする場合には、予測される限度値の周辺を範囲として検討しておく必要がある。）。

（オ）有効成分の定量法と純度試験が一つの試験で行われ、有効成分の表示量の100%を含む試料のみが標準として用いられる場合

不純物の報告の閾値～表示量の120%

オ 真度（Accuracy）

真度は、分析法の規定する範囲全域にわたって、立証される必要がある。

（ア）定量法

① 動物用医薬品原薬

真度を決定するために、幾つかの方法が利用できる。

a 真の値が既知の場合

純度既知の分析対象物（例えば、標準物質）に対してバリデートしようとする分析法を適用する。

b 真度既知の分析法が存在する場合

バリデートしようとする分析法による結果と真度既知の分析法（イ（イ）参照）による結果とを比較する。

c 真度は、精度、直線性及び特異性を立証することによって、推論できることがある。

② 動物用医薬品製剤

真度を決定するために、幾つかの方法が利用できる。

a 動物用医薬品製剤成分の混合物に分析しようとする動物用医薬品原薬の既知量を添加し、これにバリデートしようとする分析法を適用する。

b 入手するのが不可能な動物用医薬品製剤成分がある場合には、次のいずれの方法を用いても差し支えない。

(a) 動物用医薬品製剤に既知量の分析対象物を添加する方法

(b) 動物用医薬品製剤をバリデートしようとする分析法で測定した結果と真度既知の分析法（イ（イ）参照）で測定した結果とを比較する方法

c 真度は、精度、直線性及び特異性を立証することによって、推論できることがある。

(イ) 不純物（定量試験）

真度は、既知量の不純物を添加した動物用医薬品の原薬又は製剤などの試料を定量することにより評価される。

特定の不純物又は分解生成物を得るのが不可能な場合には、バリデートしようとする分析法による結果を真度既知の分析法（イ（イ）参照）による結果と比較してもよい。動物用医薬品原薬の感度係数（response factor）を用いてもよい。

主要な分析対象物のすべてにおいて、例えば、重量百分率による、あるいは面積百分率によるなど、個々の不純物の量又は不純物の総量の決め方を明記しておく必要がある。

(ウ) 必要とされるデータ

真度は、規定する範囲を含む最低3濃度について、分析法の全操作を少なくとも9回繰り返して測定（例えば、3濃度について分析法の全操作を各濃度3回ずつ繰り返して測定）した結果から評価される。

真度は、既知量の分析対象物を添加した試料を定量する場合には回収率として表され、一方、真の値又は真の値として認証又は合意された値と比較する場合にはこれらの値と平均値との差として表される。いずれかの形で表した真度及び真度の信頼区間を添付資料に記載する。

カ 精度（Precision）

定量法及び不純物の定量試験のバリデーションを行うときは、精度の検討を行う。

(ア) 併行精度（Repeatability）

併行精度は、次のいずれかの方法で評価する。

- ① 規定する範囲を含む濃度について、分析法の全操作を少なくとも9回繰り返して測定する（例えば、3濃度について分析法の全操作を各濃度3回ずつ繰り返して測定する。）。
- ② 試験濃度の100%に相当する濃度で、分析法の全操作を少なくとも6回繰り返して測定する。

(イ) 室内再現精度 (Intermediate precision)

室内再現精度の検討範囲は、分析法が使用される状況に応じて定まる。承認申請者は、分析法の精度に及ぼすランダムな事象の影響を確認する必要がある。検討が必要な代表的な変動要因は、試験日、試験者、装置などである。これらの影響を別々に検討する必要はなく、実験計画法を利用することを奨励する。

(ウ) 室間再現精度 (Reproducibility)

室間再現精度は、試験室間の共同実験によって評価される。例えば、薬局方に分析法を収載するなど、分析法を標準化する必要が生じた際に室間再現精度の検討が必要となる。室間再現精度に関するデータを添付資料に記載する必要はない。

(エ) 必要とされるデータ

添付資料に、各タイプの精度ごとに、標準偏差、相対標準偏差（変動係数）及び標準偏差の信頼区間を記載する。

キ 検出限界 (Detection limit)

検出限界を求めるためには幾つかの手法を利用でき、分析法が機器分析であるか否かによって異なる。ここに示す手法とは異なる手法を用いても差し支えない。

(ア) 視覚的評価に基づく方法

機器を使わない分析法では、視覚的に評価を行うが、機器分析法についても視覚的に評価を行ってもよい。

検出限界は、既知濃度の分析対象物を含有する試料を分析し、分析対象物が確実に検出できる最低の濃度を確認することによって決められる。

(イ) シグナル対ノイズに基づく方法

この手法は、ベースラインノイズを伴う分析法にのみ適用できる。シグナル対ノイズ比は、分析対象物を既知の低濃度で含有する試料のシグナルをブランク試料のシグナルと比較することによって求めることができる。これを用いて分析対象物が確実に検出できる最低の濃度を求める。検出限界設定には、3～2：1のシグナル対ノイズ比が一般的に許容されている。

(ウ) レスポンスの標準偏差と検量線の傾きに基づく方法

検出限界 (DL) を次式により決定することもできる。

$$DL = 3.3\sigma / S$$

ここで、 σ はレスポンスの標準偏差を、 S は検量線の傾きを表す。

傾き S は、分析対象物（不純物）の検量線から推定できる。標準偏差 σ については、種々の推定方法があるが、以下はその例である。

① ブランクの標準偏差に基づく方法

適当な数のブランク試料を分析し、そのレスポンスの標準偏差を計算することによって、分析法のバックグラウンドの標準偏差の大きさを見積もる。

② 検量線に基づく方法

検出限界付近の濃度の分析対象物を含む試料を用いて、検量線を作成する。回帰直線の残差の標準偏差又は回帰直線から推定した濃度ゼロにおけるシグナルの標準偏差を標準偏差 σ として利用できる。

(エ) 必要とされるデータ

検出限界及びそれを求めるときに用いた方法を添付資料に記載する。視覚的評価又はシグナル対ノイズ比によって検出限界を決定した場合には、その妥当性を示すために、関連するクロマトグラムを提示する。

計算又は外挿によって検出限界の推定値を得た場合には、更に、検出限界の濃度となるように調製した適当な数の試料又は濃度が検出限界付近であることが知られている適当な数の試料について、別途分析を行い、この推定値が妥当であることを示す。

ク 定量限界 (Quantitation limit)

定量限界を求めるには幾つかの手法があり、分析法が機器分析であるか否かによって手法が異なる。ここに示す手法とは異なる手法を用いても差し支えない。

(ア) 視覚的評価に基づく方法

機器を使わない分析法では、視覚的に評価を行うが、機器分析法についても視覚的に評価を行ってもよい。

定量限界は、既知濃度の分析対象物を含有する試料を分析し、分析対象物が許容できる真度と精度で定量できる最低の濃度を確認することによって決められる。

(イ) シグナル対ノイズに基づく方法

この手法は、ベースラインノイズを伴う分析法にのみ適用できる。シグナル対ノイズ比は、分析対象物を既知の低濃度で含有す試料のシグナルをブランク試料のシグナルと比較することによって求めることができる。これを用いて分析対象物が確実に定量できる最低の濃度を求める。定量限界設定のための標準的なシグナル対ノイズ比は、10 : 1 である。

(ウ) レスポンスの標準偏差と検量線の傾きに基づく方法

定量限界 (QL) を次式によって決定することもできる。

$$QL = 10\sigma / S$$

ここで、 σ はレスポンスの標準偏差を、 S は検量線の傾きを表す。

傾き S は、分析対象物の検量線から推定できる。標準偏差 σ については、種々の推定方法があるが、以下はその例である。

① ブランクの標準偏差に基づく方法

適当な数のブランク試料を分析し、そのレスポンスの標準偏差を計算

することによって、分析法のバックグラウンドの標準偏差の大きさを見積もる。

② 検量線に基づく方法

定量限界付近の濃度の分析対象物を含む試料を用いて、検量線を検討する。回帰直線の残差の標準偏差又は回帰直線から推定した濃度ゼロにおけるシグナルの標準偏差を標準偏差 σ として利用できる。

(エ) 必要とされるデータ

定量限界及びそれを求めるときに用いた方法を添付資料に記載する。

更に、定量限界の濃度となるように調製した適当な数の試料又は濃度が定量限界付近であることが知られている適当な数の試料について、別途分析することによって定量限界が妥当であることを示す。

ケ 頑健性 (Robustness)

頑健性は、分析法を開発する段階において検討しておくべきであり、その評価方法は開発しようとする分析法のタイプに依存する。頑健性は、分析条件を故意に変動させたときの分析法の信頼性を表す。

もし、測定値が分析条件の変動の影響を受け易いようであれば、分析条件を適切に制御する方法を考慮するか、あるいは、そのことを分析法の中に注意事項として盛り込む必要がある。頑健性を評価することによってシステム適合性に関する一連のパラメータ（例えば、分離度）を確立することができよう。これらのパラメータを確認することによって、日常の分析において分析法の妥当性が維持されていることを保証できる。

代表的な変動因子は、次のとおりである。

(ア) 種々の分析法に共通する変動因子

- ・試験溶液の安定性
- ・抽出時間

(イ) 液体クロマトグラフィーの代表的な変動因子

- ・移動相の pH の変動の影響
- ・移動相の組成の変動の影響
- ・カラムの変更（異なるロット又は異なる銘柄）
- ・温度
- ・流速

(ウ) ガスクロマトグラフィーの代表的な変動因子

- ・カラムの変更（異なるロット又は異なる銘柄）
- ・温度
- ・流速

表1 分析法バリデーションで重要なパラメータ

試験法のタイプ 分析能パラメータ	確認試験	純度試験		定量法 ○含量/力価 ○溶出試験 (分析のみ)
		定量試験	限度試験	
真度	—	+	—	+
精度	—	+	—	+
併行精度	—	+	—	+
室内再現精度	—	+(1)	—	+(1)
特異性(2)	+	+	+	+
検出限界	—	—(3)	+	—
定量限界	—	+	—	—
直線性	—	+	—	+
範囲	—	+	—	+

— このパラメータは通常評価する必要がない。

+ このパラメータは通常評価する必要がある。

(1) 室間再現精度（用語解説を参照のこと。）を評価する場合には、室内再現精度の評価は必要ない。

(2) 分析法が特異性に欠ける場合には、関連する他の分析法によって補うことができる。

(3) 評価が必要な場合もある。

2 動物用医薬品の不純物等に関するガイドライン

2-1 新動物用医薬品の原薬中の不純物 (VICH GL10R)

(1) はじめに

本ガイドラインは、化学的合成法で製造される新有効成分含有動物用医薬品の原薬（以下、「新原薬」という。）中の不純物の量及びその安全性の確認に関する承認申請に際しての指針を示している。適正な状況、規制又は両方を満たす方法（profile）であれば、代替法も可能である。本ガイドラインは、臨床試験段階で使用する新原薬の規制に適用することを意図したものではない。次に掲げるタイプの原薬は本ガイドラインの対象としない。：生物学的製剤／バイオテクノロジー応用医薬品、ペプチド、オリゴヌクレオチド、放射性医薬品、醗酵生成物、醗酵生成物を原料とした半合成医薬品、生薬（herbal products）及び動植物由来の医薬品。

新原薬中の不純物は、次の二つの観点から取り扱われる。

化学的観点には、不純物の分類と構造決定、申請資料の作成、規格の設定及び分析法の検討が含まれる。

安全性の観点には、安全性試験及び臨床試験に用いた新原薬のロット中に存在しなかったか、あるいはかなり低いレベルでしか存在しなかった不純物の安全性を確認するための指針が含まれる。

(2) 不純物の分類

不純物は、次のように分類される：

◎ 有機不純物（製造工程に由来する不純物及び原薬の保存中に生成する分解生成物）

◎ 無機不純物

◎ 残留溶媒

有機不純物は、新原薬の製造工程中や保存中に生じるものであり、構造既知のものもあれば未知のものもあるし、揮発性のものもあれば不揮発性のものもある。次に挙げるものが含まれる

◎ 出発原料

◎ 副生成物

◎ 中間体

◎ 分解生成物

◎ 試薬、配位子及び触媒

無機不純物は次に挙げるような、製造工程に由来するものであり、通常構造のよく知られた物質である。

◎ 試薬、配位子及び触媒

◎ 重金属又は他の残留金属

◎ 無機塩類

◎ その他の物質（例えば、ろ過助剤、活性炭等）

溶媒は、新原薬の合成の際に溶液あるいは懸濁液を調製するための媒体とし

で使用される有機又は無機の液体である。通常、その毒性は既知であるので、これを適正に管理することは容易である（「2-3 不純物：新動物用医薬品、有効成分及び添加物中の残留溶媒」（VICH GL18））。

新原薬中に本来含まれるはずのない外部からの混入物質で GMP の問題として扱う方がより適切なもの、結晶多形、原薬の対掌体（エナンチオマー）である不純物は本ガイドラインの対象としない。

（3）不純物管理の根拠となるデータの記載

ア 有機不純物

新原薬の合成、精製及び保存中に実際に生成するか生成する可能性が高い不純物について承認申請用添付資料（以下「添付資料」という。）に記載する。記載に際しては、合成過程の化学反応、新原薬の不純物プロファイルに影響を与える原料由来の不純物、及び生成する可能性のある分解生成物についての科学的な評価に基づいて要約を行う。化学反応及びその条件に関する知見から存在が予測される不純物について考察すればよい。

さらに、新原薬中の不純物を検出するために実施した試験研究の要約を添付資料に記載する。この要約には、開発段階で製造したロット及び実生産を反映した工程で製造されたロットの試験結果、並びに保存中に生じる可能性のある不純物を明らかにするために行われた苛酷試験（「動物用新原薬及び製剤の安定性試験」（VICH GL3R））の結果を含むものとする。開発段階のロットの不純物プロファイルと、実生産を反映した工程で製造されたロットの不純物プロファイルを比較し、その相違について考察する。

新原薬中に別紙 1 に示す構造決定の必要な閾値を超える（>）レベルで（例えば、原薬の感度係数を用いて計算した値として）存在する不純物の構造決定について添付資料に記載する。実生産を反映した工程で製造されたロット中に構造決定の必要な閾値を超えて（>）存在する不純物については、構造決定を行う。安定性試験ガイドラインに記載された保存条件で行われた安定性試験において構造決定の必要な閾値を超えて（>）認められた分解生成物についても同様に構造決定を行う。構造決定ができなかった不純物については、不成功に終わった研究の要約を添付資料に記載する。構造決定の必要な閾値以下（ \leq ）のレベルの不純物の構造決定を試みた場合には、その結果を記載することも有用である。

見かけ上のレベルが構造決定の必要な閾値以下（ \leq ）の不純物については、通例、構造決定を行う必要はない。しかし、作用が強く、構造決定の必要な閾値以下（ \leq ）のレベルでも毒性又は薬理作用を示すと予測される不純物は、その不純物を分析し得る方法を開発する必要がある。すべての不純物について、後述の記載に従って安全性を確認する。

イ 無機不純物

無機不純物は、通常、日本薬局方等公定書（以下、「薬局方」という）収載の方法又は他の適切な方法で検出され、定量される。新原薬中への触媒の残留については、開発段階で評価する。新原薬の規格中に無機不純物を含めるか含

めないかの必要性について考察する。判定基準は、薬局方の基準値又は既知の安全性データに基づいて設定する。

ウ 残留溶媒

新原薬の製造工程で使用される溶媒の残留の管理について考察し、VICH GL 18に従って添付資料に記載する。

(4) 分析法

用いた分析法がバリデートされたものであり、不純物の検出や定量に適切であることを示すデータを添付資料に記載する（「1の(1)分析法バリデーション：定義と用語に関するテキスト」(VICH GL1)及び「1の(2)分析法バリデーション：方法論に関するテキスト」(VICH GL2))。技術的な要因（例えば、製造工程の能力や管理の手法）も、実生産を反映した工程における製造の実績に基づいて妥当性を示すことができる場合には、別紙1と異なる閾値を採用する理由となり得る。閾値を小数第2位までの数値で示しているが、これは必ずしも日常の品質管理に用いられる分析法にこのレベルまでの精度を求めらることを意味するものではない。妥当な理由があり、適切なバリデーションがなされている場合には、より精度の低い手法（例えば、薄層クロマトグラフ法）を用いることが可能である。開発段階で用いた分析法と承認申請書記載の分析法とが異なる場合は、その相違点について考察し、記載する。

分析法の定量限界は、報告の必要な閾値以下（ \leq ）である必要がある（別紙1参照）。

有機不純物の含量は、種々の方法で測定することができるが、その一つとして、ある分析法における不純物のレスポンスを適切な標準物質又は新原薬自身のレスポンスと比較する方法がある。不純物の分析に用いる標準物質には、その使用目的に適していることを確認しておく。不純物の含量を見積もるために原薬を標準として用いてもよい。不純物の感度係数が原薬の感度係数に近い値を示さない場合であっても、補正係数が適用できるか、あるいは不純物が実際に存在する量よりも多めに見積もられるようであれば、原薬を標準として用いて不純物の含量を見積もってもよい。構造既知又は未知の不純物の判断基準及び分析法では、例えば、感度係数が等しい等の仮定をする場合が少なくないが、その場合にはその仮定の妥当性に関する考察を添付資料に記載する。

(5) ロット中の不純物量の報告

臨床試験、安全性試験及び安定性試験に使用された新原薬のすべてのロット及び実生産を反映した工程で製造された代表的なロット中の不純物の分析結果を添付資料に記載する。定量的な試験の結果は数値で記載し、「適合」、「限度値以下」などのような一般的な表記により記載すべきではない。これらのロット中に報告の必要な閾値（別紙1参照）を超える（ $>$ ）レベルで認められたすべての不純物について、それぞれの量及びその合計量を用いた分析法とともに報告する。1.0 %未満の場合、結果は小数第2位まで（例えば、0.06 %、0.13 % のように）報告する；1.0 %以上の場合、結果は小数第1位まで（例えば、1.3 % のように）報告する。結果は通常の数値の丸め方のルールにより四捨五入す

る（別紙2参照）。これらのデータは表形式で示すことが望ましい。不純物は、コード番号あるいは保持時間等の適切な識別名を使って区別する。別紙1の報告の必要な閾値よりも高い閾値を用いる場合には、その妥当性を十分に説明する必要がある。報告の必要な閾値を超える（>）レベルにあるすべての不純物の量を合計し、不純物の総量として示す。

開発中に分析法を変更した場合は、試験結果を用いた分析法と関連づけて記載するとともに、用いた分析法が妥当な結果を与えるものであることを説明する。代表的なクロマトグラムを添付資料に添付する（例えば、不純物を添加した試料を用いて。）。不純物の分離能力や検出能力を実証する分析法バリデーションの試験やロットごとに行われる不純物試験で得られた代表的なロットのクロマトグラムは、その原薬の代表的な不純物プロファイルとして用いることができる。申請者は、個々のロットの不純物プロファイル（すなわち、クロマトグラム）を、要求されれば、提出できるようにしておく。

新原薬のどのロットがどの安全性試験や臨床試験に用いられたかを示す対照表を添付資料に記載する。

新原薬の各ロットについて、次に掲げる項目を添付資料に記載する。

- ◎ ロット番号及びその製造スケール
- ◎ 製造年月日
- ◎ 製造場所
- ◎ 製造工程
- ◎ 不純物含量（個々の不純物の含量及び不純物の総量）
- ◎ ロットの用途
- ◎ 使用した分析法への参照

（6）規格に設定すべき不純物

新原薬の規格には個別の判断基準を設定する不純物をリストアップする。安定性試験、開発過程での化学的研究、及びロットごとに行われる分析などに基づいて、市販製品中に存在する可能性のある不純物を予測する。新原薬の規格に個別に判定基準を設定する不純物は、実生産工程を反映したロットにおいて認められた不純物に基づいて選択する。これらの個別に判定基準を設定する不純物を、本ガイドラインでは構造既知のものも未知のものも含め、「個別規格設定不純物」という。

各不純物を規格に設定するか否かの判断根拠を示す。この根拠には、安全性試験及び臨床試験に用いられた開発段階のロットの不純物プロファイルについての考察とともに、実生産を反映した工程で製造されたロットの不純物プロファイルについての考察も記載する。別紙1に示す構造決定の必要な閾値を超える（>）レベルで存在すると見積られる構造未知の不純物も、構造既知の不純物と同様に個別規格設定不純物として規格に設定する。異常に作用が強いのか、又は毒性若しくは予期せぬ薬理作用のあることが知られている不純物については、その不純物をコントロールすべきレベルまで分析可能な定量限界／検出限界を持つ分析法を用いる必要がある。構造未知の不純物については、不純物の

含量を見積もるために用いた分析法及び仮定を明記する。個別規格を設定する構造未知の不純物は、定性的な特性に基づく適切な識別名（例えば、「未知物質 A」、「相対保持時間 0.9 の未知物質」等）を用いて記載する。個別規格を設定しない不純物については、その一般的な判定基準を構造決定の必要な閾値（別紙 1）以下（ \leq ）とする。不純物の総量についても判定基準を設定する。

判定基準は、安全性のデータから見て許容されるレベル以下で、かつ、製造工程や分析法の性能により達成できるレベルと相応のレベルに設定する。安全性について懸念がない場合には、不純物の判定基準は、実生産を反映した工程で製造されたロットで得られるデータに基づいて、通常の製造上及び分析上の変動、並びに保存中における変化に対応し得るような幅で設定する。製造工程においても通常一定の変動は起こり得るが、ロット間で不純物の含量にかなり大きな変動が起こる場合には、新原薬の製造工程が適切に管理運用されており、バリデートされていない可能性がある（「3-1 新動物用医薬品の原薬及び製剤の規格及び試験方法の設定：化学物質に関するガイドライン」（VICH GL39）のフローチャート # 1：新原薬中の不純物の判定基準の設定を参照。）。閾値を小数第 2 位までの数値で示しているが、これは必ずしも個別規格設定不純物及び不純物総量に関して適否の判定を行う際にこのレベルまでの精度を求めることを意味するものではない。

以上をまとめると、新原薬の規格には、次の項目のうちの該当するものについて判定基準を設定する。

有機不純物

- ◎ 構造既知の個別規格設定不純物
- ◎ 構造未知の個別規格設定不純物
- ◎ 個別規格を設定しない他のあらゆる不純物（それぞれの不純物の判定基準は構造決定の必要な閾値以下（ \leq ）とする）
- ◎ 不純物の総量

残留溶媒

無機不純物

(7) 不純物の安全性の確認

安全性の確認とは、規格に設定された限度値のレベルでの個々の不純物又は不純物全体の安全性を立証するために必要なデータを集めて評価する作業のことである。不純物の判定基準の妥当性に関する安全性の側面からの考察を添付資料に記載する。既に安全性試験や臨床試験で十分安全であることが確かめられている新原薬中に存在しているすべての不純物については、試験に用いられた試料中に存在するレベルまでは安全性が確認されたものと考えることができる。不純物が動物やヒトでの試験で認められた主要な代謝物と同一である場合についても、一般に安全性が確認されたものと考えることができる。安全性試験や臨床試験に用いられた新原薬のロット中に存在するよりも高いレベルの不純物を含む場合についても、既に行った安全性試験において実際に投与された不純物の量を求めこれに基づいて考察することにより安全性の確認を行うこと

ができる。

ある不純物について、規格に設定しようとする判定基準のレベルにおける安全性を確認できるデータがなく、かつ、その判定基準が別紙1に示す安全性確認の必要な閾値を超える場合には、安全性を確認するための試験を行う必要がある。

医薬品によっては、薬効分類別の薬理作用に関する知識や臨床経験を含む科学的な根拠及び安全性に関する懸念の度合いに基づいて、安全性の確認の必要な閾値をより高くしたり低くしたりするのが適切な場合もある。例えば、安全性の確認の対象となる不純物がある医薬品群又は類似薬効群の医薬品中に含まれていて、これまで動物の副作用に関与したという事実がある場合には、安全性の確認は特に重要であり、安全性の確認の必要な閾値をさらに低くするのが適切である。逆に、同様な考察（例えば投薬の対象となる動物種、薬効分類別の薬理作用に関する知識、臨床経験）から、安全性に関する懸念が通常の医薬品より低い場合には、安全性の確認の必要な閾値はより高くてもよい。技術的な要因（製造工程の性能や管理方法）も上記と異なる閾値を用いる理由となりうる。別紙1と異なる閾値を採用する場合には、その妥当性はケースバイケースで判断される。

「不純物の構造決定及び安全性確認のためのフローチャート」（別紙3）は、不純物の量が別紙1の閾値を超えた場合にその不純物の安全性の確認をどう行うかを示している。場合によっては、不純物の量を閾値以下に減らす方が、安全性データを作成するよりも簡単なこともある。あるいは、不純物の安全性を確認するために十分なデータが科学文献から得られることもある。いずれの方法によっても安全性の確認ができない場合には、安全性試験を追加して行うことを考慮する。不純物の安全性を確認するのにどのような試験が適切かは、投薬の対象となる動物種、一日当たりの投薬量、投与経路及び投与期間等、多くの要因に依存する。試験は、対象とする不純物を含む原薬を用いて行うが、単離した不純物を用いてもよい。

本ガイドラインは、臨床試験段階で使用する新原薬に適用することを意図したものではないが、本ガイドラインに示した閾値は、開発の後期の段階において実生産を反映した工程で製造された原薬ロット中に認められた新たな不純物を評価する上でも有用である。開発の後期の段階において認められた新たな不純物についても、別紙1の構造決定が必要な閾値を超える（>）レベルのものについてはすべて構造決定を行う必要がある（別紙3の不純物の構造決定及び安全性確認のためのフローチャート参照）。同様に、新たに認められた不純物のレベルが別紙1の安全性の確認が必要な閾値を超える（>）場合には安全性の確認を行う必要がある。不純物の安全性を確認するための試験は、通常、代表的なレベルの新たな不純物を含んだロットと既に安全性が確認されたロットとを比較する形で行う。単離した不純物を用いて試験を行ってもよい。

（8）用語の定義

安全性確認の必要な閾値（Qualification Threshold）：不純物量はその値を超え

ると安全性の確認が必要とされる限度値

安全性の確認 (Qualification) : 規格に設定された限度値のレベルでの個々の不純物又は不純物全体の安全性を立証するために必要なデータを集めて評価する作業

開発過程での化学的研究 (Chemical Development Studies) : 新原薬の製造工程をスケールアップ、最適化及びバリデートするために実施される研究

外部からの混入物質 (Extraneous Contaminant) : 製造工程以外の源から発生する不純物

結晶多形 (Polymorphic Forms) : 同一の原薬に異なる結晶形が存在すること。溶媒和物あるいは水和物 (偽結晶多形とも言われる) 及び無晶形も含まれることがある。

構造既知の不純物 (Identified Impurity) : 構造決定された不純物

構造決定の必要な閾値 (Identification Threshold) : 不純物はその閾値を超える (>) と構造決定が必要とされる限度値

構造未知の不純物 (Unidentified Impurity) : 構造決定されておらず、クロマトグラフィーの相対保持時間のような定性的特性によってのみ特定される不純物

個別規格を設定しない不純物 (Unspecified Impurity) : 新原薬の規格において、個別の判定基準が設定されず、一般的な判定基準により規制される不純物

個別規格設定不純物 (Specified Impurity) : 新原薬の規格において、個別に判定基準が設定されて規制される不純物。個別規格設定不純物には構造既知のものも構造未知のものもある。

試薬 (Reagent) : 新原薬の製造において使用される、出発原料、中間体又は溶媒以外の物質

新原薬 (New Drug Substance) : ある地域又は国において以前に動物用医薬品として承認されたことがない動物の医療用の物質 (new molecular entity 又は new chemical entity ともいう)。以前に承認された原薬の錯体、簡単なエステル体又は塩類であることもある。

出発原料 (Starting Material) : 新原薬の合成に使用され、中間体や原薬の構造に組み込まれる物質。出発原料は、通例、市販されており、化学的及び物理的性質及び構造が明らかなものである。

生薬 (Herbal Products) : 有効成分として、植物原料や植物性医薬品製剤のみを含む医薬品。伝統的に、無機物又は動物由来のものを含む場合もある。

存在する可能性のある不純物 (Potential Impurity) : 理論的に考えて、原薬の合成中あるいは保存中に生成する可能性のある不純物。これらは、新原薬中に実際に現れることもあるし、現れないこともある。

原薬の対掌体である不純物 (Enantiomeric Impurity) : 原薬と同じ分子式であるが、分子内の原子の立体配置が異なり、重なることのない鏡像体である化合物

中間体 (Intermediate) : 新原薬の合成過程で生成し、さらに化学変化を起こ

して新原薬になる物質

配位子 (Ligand) : 金属イオンに強い親和性のある化学物質

不純物 (Impurity) : 新原薬中に含まれる新医薬品として定義された化合物以外の成分

不純物プロファイル (Impurity Profile) : 新原薬中に存在する構造既知又は未知の不純物の全体像

分解生成物 (Degradation Product) : 原薬の製造中あるいは保存中に、例えば光、温度、pH 又は水などの作用により化学変化を起こして生成した不純物

報告の必要な閾値 (Reporting Threshold) : 不純物量はその値を超えると報告が必要とされる限度値。Reporting threshold は、VICH GL 2における reporting level と同じ意味をもつ用語である。

溶媒 (Solvent) : 新原薬の合成過程において、溶液又は懸濁液の調製のために使用される無機又は有機の液体

別紙 1

新原薬中に含まれる不純物の閾値の要約

構造決定が必要とされる閾値 ²⁾	ICH と同じ* 0.20 %**
報告が必要とされる閾値 ^{1), 2)}	ICH と同じ* 0.10 %**
安全性の確認が必要とされる閾値 ²⁾	0.50 %

* 動物と人に用いられる医薬品の新原薬

** 動物にのみ用いられる医薬品の新原薬

これらの閾値は人用医薬品の新原薬には適用されない。

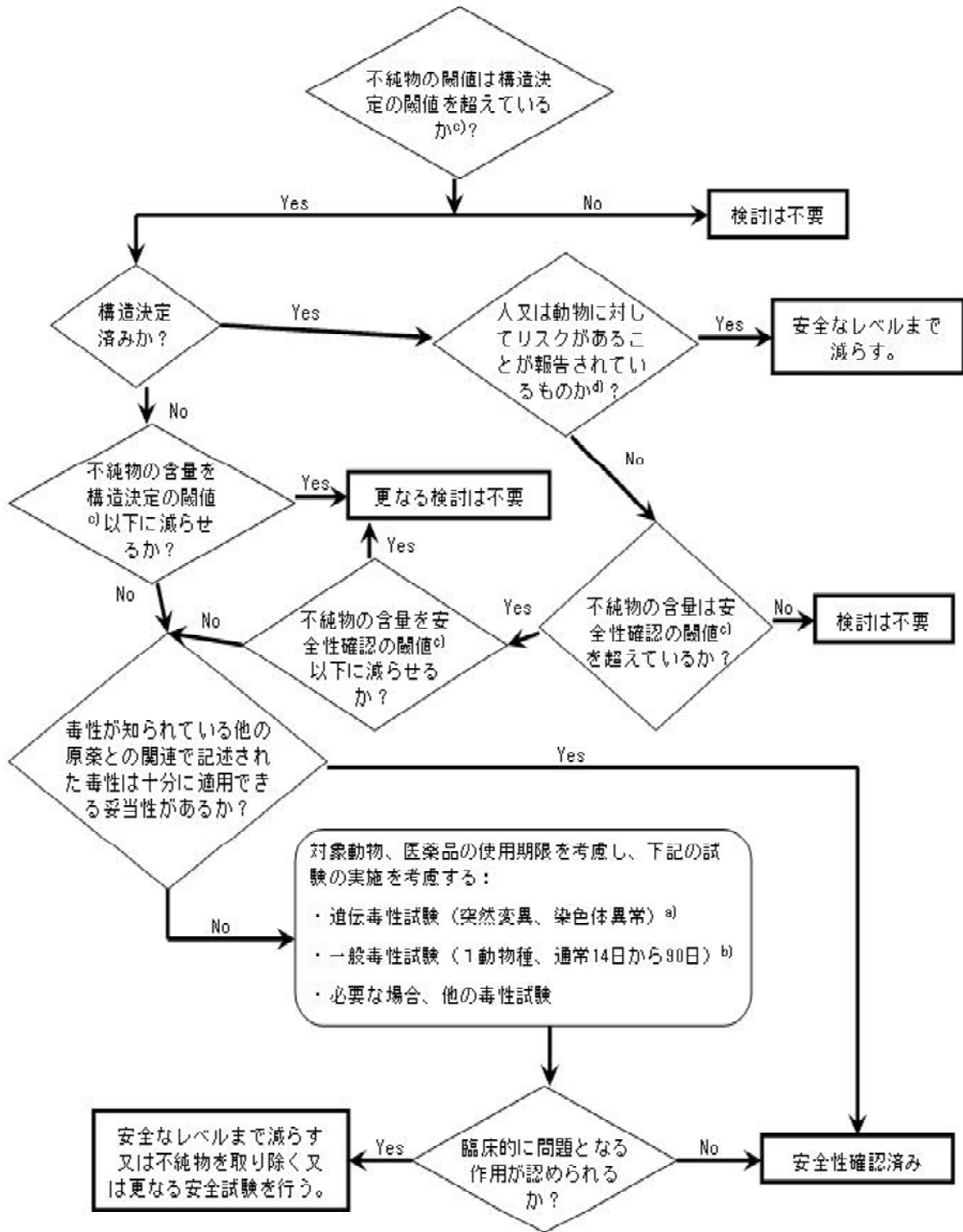
- 1) これより高い閾値を用いる場合は、科学的妥当性を示すこと。
- 2) 毒性の非常に強い不純物については、これよりも低い閾値が適当な場合もある。

別紙2：添付資料において構造決定及び安全性確認が必要かどうかを判断するために不純物量をどのように報告したかを示した例（動物用医薬品のみのための原薬（別紙1参照）；人用医薬品及び動物用医薬品のための原薬は対応するICHガイドラインも参照）

"生"データ (%)	報告データ (%)	判 定	
		構造決定 (閾値：0.20%)	安全性の確認 (閾値：0.5%)
0.166	0.17	不要	不要
0.1963	0.20	不要	不要
0.22	0.22 *	要	不要
0.649	0.65 *	要	要*

*構造決定後に、その不純物の感度係数を求めたとき、その値が仮定した値とかなり違っている場合には、実際に存在する不純物の量を求め直し、安全性の確認が必要かどうかの判断をやり直すのが適切と考えられる（別紙1参照）。

別紙3 不純物の構造決定及び安全性確認のためのフローチャート



別紙3の注

- a) 必要に応じ、最小限のスクリーニング試験（例えば、遺伝毒性のための試験）を実施する。突然変異を検出する試験及び染色体異常を検出する試験は、いずれも *in vitro* の試験であるが、最小限のスクリーニング試験として差し支えない。
- b) 一般毒性試験を実施する場合には、安全性未確認のものと安全性の確認済みのものの比較ができるような一つあるいはそれ以上の試験の計画を立てる。試験期間は入手できる関連情報に基づいて決定し、分解生成物の毒性を最も検出しやすいと考えられる動物種で試験を実施する。ケースバイケースではあるが、特に単回投与医薬品の試験を行う場合には、単回投与試験も許容されよう。通例、最短 14 日間、最長 90 日間の試験期間が適切と考えられる。
- c) 毒性の非常に強い不純物については、これよりも低い閾値が適当な場合もある。
- d) 例えば、この不純物は、既知の安全性データあるいは化学構造から見て存在する濃度ではヒトや動物への安全性が懸念されることのないようなものかどうかを調べる。

2-2 新動物用医薬品の製剤中の不純物 (VICH GL11R)

(1) はじめに

ア ガイドラインの目的

本ガイドラインは、新有効成分含有動物用医薬品のうち、化学的合成法により製造される原薬（以下「新原薬」という。）を用いて製造される動物用医薬品の製剤（以下「新動物用医薬品製剤」という。）中の不純物の量及びその安全性の確認に関する承認申請に際しての指針を示している。適正な状況、規制又は両方の要件を満たす方法（profile）であれば、代替法も可能である。

イ 背景

本ガイドラインは、「2-1 新動物用医薬品の原薬中の不純物」(VICH GL10R)を補完するものであり、基本的な考え方に関しては同ガイドラインを参照すること。必要に応じて、「2-3 不純物：新動物用医薬品、有効成分及び添加物中の残留溶媒」(VICH GL18)も参照すること。

ウ ガイドラインの適用範囲

本ガイドラインは、動物用医薬品製剤中の不純物のうち原薬の分解生成物又は有効成分と医薬品添加物若しくは直接容器／施栓系との反応による生成物（以下、両者を合わせて「分解生成物」という。）のみを対象としている。新原薬中に存在する不純物は、その不純物が分解生成物でなければ本ガイドラインの対象として個別規格を設定する必要はない（「3-1 新動物用原薬及び製剤の規格及び試験方法の設定：化学物質に関するガイドライン」(VICH GL39)）。

新動物用医薬品製剤中に認められる医薬品添加物由来の不純物、あるいは容器／施栓系から溶出する不純物については、本ガイドラインの対象とはしない。また、本ガイドラインは、臨床試験段階で使用する新動物用医薬品製剤に適用することを意図したものではない。以下に挙げるタイプの製剤も本ガイドラインの対象としない：生物学的製剤、バイオテクノロジー応用医薬品、ペプチド、オリゴヌクレオチド、放射性医薬品、醗酵生成物、醗酵生成物を原料とした半合成医薬品、生薬及び動植物由来の医薬品。さらに、①新動物用医薬品製剤中に本来含まれるはずのない外部からの混入物質で GMP の問題として扱う方がより適切なもの、②結晶多形及び③原薬の対掌体（エナンチオマー）である不純物も本ガイドラインの対象としない。

(2) 分解生成物管理の根拠となるデータの記載

動物用製剤の製造中あるいは安定性試験中に認められた分解生成物に関する要約を添付資料に記載する。記載に際しては、動物用医薬品製剤中での原薬の推定される分解経路及び医薬品添加物や直接容器／施栓系との相互作用から生じる不純物についての科学的な評価に基づいて要約を行う。さらに、動物用医薬品製剤中の分解生成物を検出するために実施した試験研究の要約を添付資料に記載する。この要約には、開発段階で製造されたロット及び実生産を反映した工程で製造された代表的ロットの試験結果を含むものとする。分解生成物で

ない不純物、例えば、原薬に由来する不純物並びに医薬品添加物に起因する不純物をこの報告の対象から除外する場合は、その根拠を記載する。開発段階のロットの不純物プロファイルと実生産を反映した工程で製造された代表的ロットのプロファイルとを比較し、それらの相違について考察する。

承認申請書に貯蔵方法として記載される保存条件で行われた安定性試験において認められた分解生成物が、別紙1に示す1.0%の構造決定が必要な閾値を超えて(>)存在する場合は、その構造決定を行う。構造決定ができなかった分解生成物については、不成功に終わった研究の要約を添付資料に記載する。

構造決定が必要な1.0%の閾値以下(\leq)のレベルの分解生成物については、通例、構造決定する必要はない。しかしながら、作用が異常に強く、別紙1に示された1.0%の閾値以下(\leq)のレベルでも毒性又は薬理作用を示すことが懸念される分解生成物については、その分解生成物を分析し得る方法を開発する必要がある。技術的な要因(例えば、製造能力の高さ、医薬品添加物に対する原薬の比率が低い場合、又は動物若しくは植物基原の未精製の物質を医薬品添加物として使用している場合)も、実生産を反映した工程での製造の経験を基にして別紙1と異なる閾値を選択する理由となりうる。

(3) 分析法

承認申請書に記載する分析法がバリデートされたものであり、分解生成物の検出や定量に適切であることを示すデータを添付資料に記載する(「1の(1)分析法バリデーション：定義と用語に関するテキスト」及び「1の(2)分析法バリデーション：方法論に関するテキスト」(VICH GL1及び2)を参照のこと。)。分析法のバリデーションにおいては、特に、分解生成物を、個別規格を設定するものも個別規格を設定しないものも、特異的に分析できることを示す必要がある。このバリデーションには、光、熱、湿度、酸/塩基による加水分解及び酸化のうち、その製剤に適切な苛酷条件に曝した試料を用いる。分析の結果、分解生成物のピーク以外にもピーク(例えば、原薬、原薬の合成の際に生じた不純物、医薬品添加物とそれに由来する不純物のピーク)が認められたときには、クロマトグラム中においてそのピークに識別名を付けるとともに、添付資料の分析法バリデーションに関する記載の中でその由来について考察する必要がある。

分析法の定量限界は、報告の必要な閾値以下(\leq)である必要がある(別紙1参照)。

分解生成物の含量は、種々の方法で測定することができるが、その一つとして、ある分析法における分解生成物のレスポンスを適切な標準物質又は新原薬自身のレスポンスと比較する方法がある。分解生成物の分析に用いる標準物質には、その使用目的に適していることを確認しておく。分解生成物の含量を見積もるために原薬を標準として用いてもよい。分解生成物の感度係数が原薬の感度係数に近い値を示さない場合であっても、補正係数が適用できるか、あるいは分解生成物が実際に存在する量よりも多めに見積もられるようであれば、原薬を標準として用いて分解生成物の含量を見積もってもよい。構造既知又は

未知の分解生成物の判定基準及び分析法では、例えば、感度係数が等しい等の仮定をする場合が少なくないが、その場合にはそうした仮定の妥当性に関する考察を添付資料に記載する。

開発段階で用いた分析法と承認申請書に記載される分析法とが異なる場合は、その相違点について考察し、記載する。

(4) ロット中の分解生成物量の報告

臨床試験、安全性試験及び安定性試験に使用された新動物用製剤の関連するすべてのロット及び実生産工程を反映した代表的なロットについての分析結果を添付資料に記載する。定量的な試験の結果は数値で記載し、「適合」、「限度値以下」などのような一般的な表記により記載すべきではない。これらのロット中に報告の必要な 0.3 %の閾値（別紙1参照）を超える（>）レベルで認められたすべての分解生成物について、それぞれの量及びその総量を、用いた分析法とともに報告する。結果は小数第1位まで（例えば、0.4 %、1.3 % のように）報告する。結果は通常の数値の丸め方のルールにより四捨五入する。これらのデータは表形式で示すことが望ましい。分解生成物は、コード番号あるいは保持時間等の適切な識別名を使って区別する。別紙1の報告の必要な閾値よりも高い閾値を用いる場合には、その妥当性を十分に説明する必要がある。報告の必要な 0.3 %の閾値を超える（>）レベルにあるすべての分解生成物の量を合計し、分解生成物総量として示す。

各ピークに識別名を付けた代表的なロットのクロマトグラム（クロマトグラフィ以外の分析法が用いられた場合には、これと同等のデータ）を分析法バリデーションを行った際の試験や長期保存試験及び加速試験のクロマトグラムとともに、添付資料に記載する。申請者は、個々のロットの分解生成物プロファイル（例えば、クロマトグラム）を、要求されれば、提出できるようにしておく。

添付資料で取り上げた新動物用医薬品製剤の各ロットについて、次に掲げる項目を記載する。

- ア ロット番号、有効成分の配合量及び製造スケール
- イ 製造年月日
- ウ 製造場所
- エ 製造工程
- オ 直接容器／施栓系
- カ 分解生成物含量（個々の分解生成物含量及び分解生成物の総量）
- キ ロットの用途（例えば、臨床試験、安定性試験）
- ク 使用した分析法への参照
- ケ 新動物用製剤の製造に用いた原薬のロット番号
- コ 安定性試験の保存条件

(5) 規格に設定すべき分解生成物

新動物用製剤の規格には、市販製品の製造中及び承認申請書に貯蔵方法として記載された保存条件において生成すると考えられる分解生成物をリストアッ

プする。安定性試験、分解経路に関する知見、製剤の開発研究及びロット分析の結果などに基づいて、分解生成物のプロファイルを明らかにする。新動物用医薬品製剤の規格に個別に判定基準を設定する分解生成物は、実生産を反映した工程で製造されたロットにおいて認められた分解生成物に基づいて選択する。これらの個別に判定基準を設定する分解生成物を、本ガイドラインでは構造既知のものも未知のものも含め、「個別規格設定分解生成物」という。各分解生成物に個別規格を設定するか否かの判断根拠を示す。この根拠には、安全性試験及び臨床試験に用いられた開発段階のロット並びに安定性試験において認められた分解生成物プロファイルに関する考察とともに、実生産を反映した工程で製造されたロットの分解生成物プロファイルに関する考察も記載する。別紙1に示す構造決定の必要な1.0%の閾値を超える(>)レベルで存在すると見積もられる構造未知の分解生成物も、構造既知の分解生成物と同様に、個別規格設定分解生成物として規格に設定する。作用が異常に強い、あるいは毒性又は予期せぬ薬理作用のあることが知られている分解生成物については、その分解生成物をコントロールすべきレベルまで分析可能な定量限界/検出限界を持つ分析法を用いる必要がある。構造未知の分解生成物については、分解生成物の含量を見積もるためにどのような分析法を用いたか、また、どのような仮定を置いたかを明確に示す。個別規格を設定する構造未知の分解生成物は、定性的な特性に基づく適切な識別名(例えば、「未知物質A」、「相対保持時間0.9の未知物質」等)を用いて記載する。個別規格を設定しない分解生成物については、その一般的な判定基準を構造決定の必要な1.0%の閾値(別紙1)以下(\leq)とする。分解生成物の総量についても判定基準を設定する。分解生成物の判定基準は、原薬中における当該物質の判定基準(該当する場合)、安全性が確認されたレベル、安定性試験中における増加量、並びに新動物用製剤の承認申請において設定しようとしている保存条件及び有効期間を考慮に入れて設定する。また、各判定基準はその分解生成物に関して安全性が確認されたレベルよりも高く設定することがあってはならない。安全性について懸念がない場合には、分解生成物の判定基準は、実生産を反映した工程で製造された新動物用製剤のロットについて得られるデータに基づいて、通常の変動及び分析上の変動、並びに保存中における変化に対応し得るような幅で設定する。製造工程においても、通常、一定の変動は起こり得るが、ロット間で分解生成物の含量にかなり大きな変動が起こる場合には、新動物用製剤の製造工程が適切に管理運用されておらず、バリデートされていない可能性がある(3-1 新動物用医薬品の原薬及び製剤の規格及び試験方法の設定: 化学物質に関するガイドライン(VICH GL39)の“フローチャート#2: 新製剤中の分解生成物の判定基準の設定”を参照のこと)。

以上をまとめると、新動物用製剤の規格には、次に掲げる項目のうちの該当するものについて判定基準を設定する。

- ◎ 構造既知の各個別規格設定分解生成物
- ◎ 構造未知の各個別規格設定分解生成物

◎ 個別規格を設定しない他のあらゆる分解生成物（それぞれの分解生成物の判定基準は構造決定の必要な 1.0 %（別紙 1 参照）の閾値以下（ \leq ）とする。）

◎ 分解生成物の総量

（6）分解生成物の安全性の確認

安全性の確認とは、規格に設定された限度値のレベルでの個々の分解生成物又は分解生成物全体の安全性を立証するために必要なデータを集めて評価する作業のことである。設定した分解生成物の判定基準の妥当性について、安全性の側面からの考察を含めて、添付資料に記載する。既に安全性試験や臨床試験で十分安全であることが確かめられている新動物用医薬品製剤に関しては、その中に存在しているすべての分解生成物について、試験に用いられた試料中に存在するレベルまでは安全性が確認されたものと考えることができる。このため、安全性試験や臨床試験に用いられた時点における当該ロット中の分解生成物の実際の含量に関する情報が得られているような場合には、その情報を添付資料に記載することは分解生成物の安全性を確認する上で有用である。分解生成物が、動物やヒトの試験で認められた主要な代謝物と同一である場合についても、一般に安全性が確認されたものと考えることができる。安全性試験や臨床試験に用いられた新動物用医薬品製剤のロット中に存在するよりも高いレベルの分解生成物を含む場合についても、その安全性試験において実際に投与された分解生成物の量と新動物用製剤の規定された用量において実際に投与される分解生成物の量との比較に基づいて考察することにより、安全性を確認することが可能である。そうした高いレベルの分解生成物を含んでいても問題がないことを論証する際には、次のような諸要因を踏まえて考察を行う必要がある：①既に行われた安全性試験や臨床試験で投与され、安全であることが確かめられている分解生成物の量；②分解生成物の増加量；及び③その他の安全性に関連する要因（該当する場合）。ある分解生成物について、その判定基準が別紙 1 に示す安全性確認の必要な 1.0 % の閾値を超えているにもかかわらず、規格に設定しようとする判定基準のレベルにおける安全性を確認できるデータがない場合には、安全性を確認するための追加の試験を行う必要がある（別紙 2 参照）。動物用医薬品製剤によっては、薬効分類別の薬理作用に関する知識や臨床経験を含む科学的な根拠及び安全性に関する懸念の度合いに基づいて、安全性の確認の必要な閾値をより高くしたり低くしたりするのが適切な場合もある。例えば、安全性確認の対象となる分解生成物が、ある動物用医薬品群あるいは類似薬効群の製剤中に含まれていて、これまでに動物あるいは人に副作用を引き起こしたことがある場合には、安全性の確認は特に重要であり、安全性の確認の必要な閾値をより低くするのが適切である。逆に、同様な考察（例えば、投薬の対象となる動物種、薬効分類別の薬理作用に関する知識、及び臨床経験）から安全性に関する懸念が通常の医薬品より低い場合には、安全性確認の必要な閾値はより高くてもよい。別紙 1 と異なる閾値が用いられる場合には、その妥当性はケースバイケースで判断される。

「分解生成物の構造決定及び安全性確認のためのフローチャート」(別紙2)は、分解生成物の量が別紙1の閾値以上の場合に、その分解生成物の安全性の確認をどう行うかを示している。場合によっては、分解生成物の量を閾値以下(≦)に減らすこと(例えば、より保護的な容器/施栓系を用いる、あるいは保存条件を変更することによって)の方が、安全性データを作成するよりも簡単なこともある。あるいは、分解生成物の安全性を確認するために十分なデータが科学文献から得られることもある。いずれの方法によっても安全性の確認ができない場合は、安全性試験を追加して行うことを考慮する。分解生成物の安全性を確認するのにどのような試験が適切かは、投薬の対象となる動物種、一日当たりの投薬量、投与経路及び投与期間など、多くの要因に依存する。試験は、通常、対象となる分解生成物を含む新動物用医薬品製剤(あるいは新動物用医薬品原薬)を用いて行うが、単離した分解生成物を用いて行うのが適切な場合もある。

本ガイドラインは、臨床試験段階で使用する新動物用製剤に適用することを意図したものではないが、本ガイドラインに示した閾値は、開発の後期の段階において実生産を反映した工程で製造された新製剤のロット中に認められた新たな分解生成物を評価する上でも有用である。開発の後期の段階において認められた新たな分解生成物についても、別紙1の構造決定が必要な1.0%の閾値を超える(>)レベルのものについてはすべて構造決定を行う必要がある(別紙2の「分解生成物の構造決定及び安全性確認のためのフローチャート」を参照のこと)。同様に、新たに認められた分解生成物のレベルが別紙1の安全性の確認が必要な1.0%の閾値を超える(>)場合には安全性の確認を行う必要がある。

分解生成物の安全性を確認するための試験は、通常、代表的なレベルの新たな分解生成物を含んだ新動物用製剤(あるいは新原薬)のロットと既に安全性が確認されたロットとを比較する形で行う。単離した分解生成物を用いて試験を行ってもよい。

(7) 用語の定義

安全性確認の必要な閾値 (Qualification Threshold) : 分解生成物の量がその値を超える (>) と安全性の確認が必要とされる限度値

安全性の確認 (Qualification) : 規格に設定された限度値のレベルでの個々の分解生成物又は分解生成物全体の安全性を立証するために必要なデータを集めて評価する作業

構造既知の分解生成物 (Identified Degradation Product) : 構造決定された分解生成物

構造決定の必要な閾値 (Identification Threshold) : 分解生成物の量がその値を超える (>) と構造の決定が必要とされる限度値

構造未知の分解生成物 (Unidentified Degradation Product) : 構造決定できず、クロマトグラフィーの相対保持時間のような定性的特性によってのみ特定される分解生成物

個別規格を設定しない分解生成物 (Unspecified Degradation Product) : 新動物用医薬品製剤の規格において、独自の判定基準が設定されて個別にリストアップされるのではなく、一般的な判定基準により規制される分解生成物

個別規格設定分解生成物 (Specified Degradation Product) : 新動物用医薬品製剤の規格において、独自の判定基準が設定されて個別にリストアップされ、規制される分解生成物。規格設定分解生成物には、構造が既知のものも、未知のものもある。

新原薬 (New Drug Substance) : ある地域又は国において以前に動物用医薬品として承認されたことがない動物の医療用の物質。new molecular entity 又は new chemical entity ともいう。以前に承認された原薬の錯体、簡単なエステル体又は塩類であることもある。

新製剤の開発研究 (Development Studies) : 動物用医薬品製剤の製造工程をスケールアップし、最適化し、バリデートするために行われる研究

不純物 (Impurity) : 新動物用医薬品製剤に含まれる物質のうち、原薬又は医薬品添加物以外の成分

不純物プロファイル (Impurity Profile) : 動物用医薬品製剤中に存在する構造既知又は未知の不純物の全体像

分解生成物 (Degradation Product) : 光、熱、pH 及び水の作用により、あるいは添加物や直接容器/施栓系との反応により、新動物用医薬品製剤の製造中あるいは保存中に原薬が化学変化を起こして精製した不純物

分解生成物のプロファイル (Degradation Profile) : 原薬又は動物用医薬品製剤中に認められる分解生成物の全体像

報告の必要な閾値 (Reporting Threshold) : 分解生成物の量はその値を超える (>) と報告が必要とされる限度値

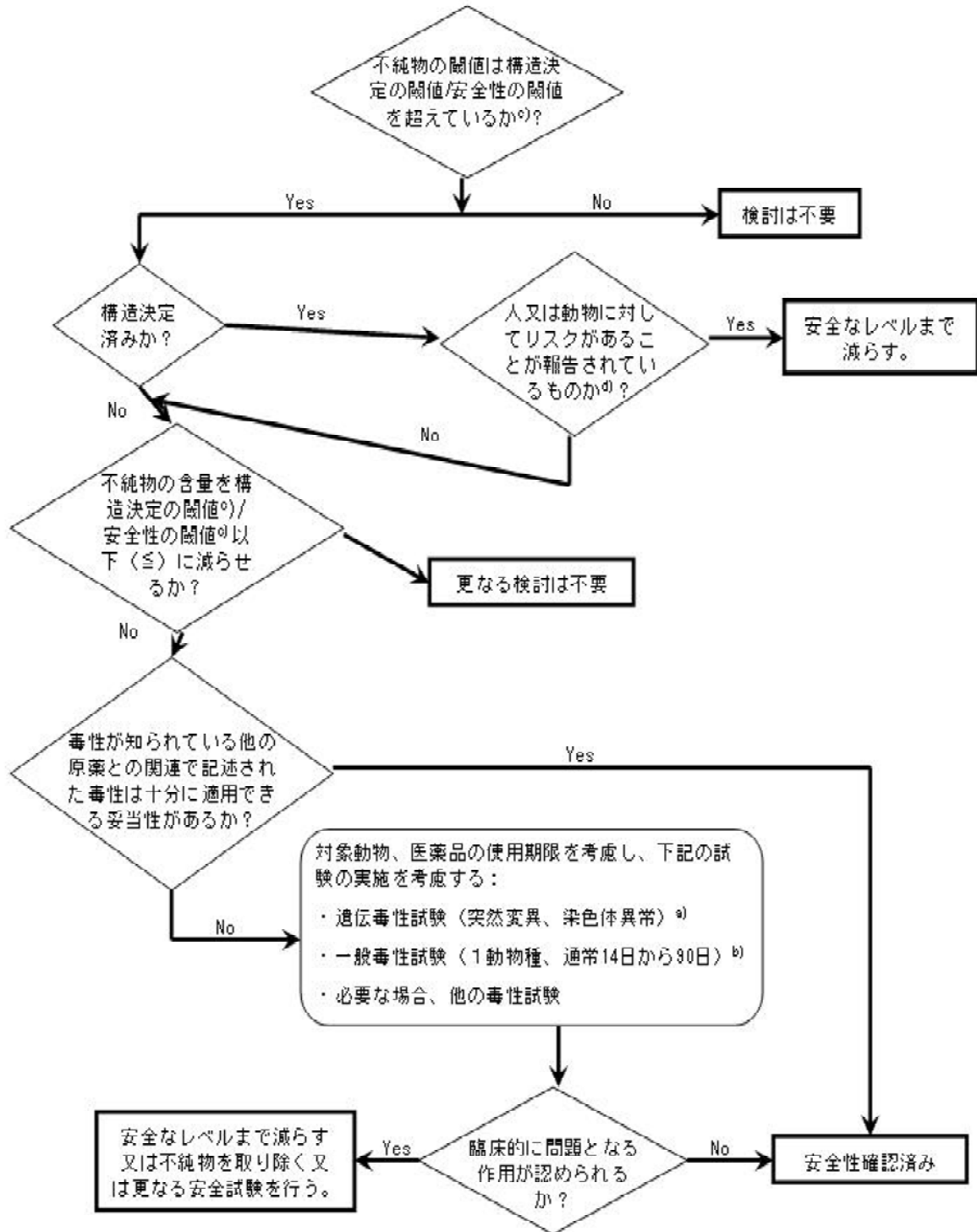
別紙 1

新動物用医薬品製剤中の分解生成物の閾値

構造決定が必要とされる閾値 ¹	1.0 %
報告が必要とされる閾値 ¹	0.3 %
安全性の確認が必要とされる閾値 ¹	1.0 %

注 1 : これより高い閾値を用いる場合は、その科学的妥当性を示すこと。

別紙2 不純物の構造決定及び安全性確認のためのフローチャート



別紙2の注

- a) 必要に応じ、最小限のスクリーニング試験（例えば、遺伝毒性のための試験）を実施する。突然変異を検出する試験及び染色体異常を検出する試験は、いずれも *in vitro* の試験であるが、最小限のスクリーニング試験として差し支えない。
- b) 一般毒性試験を実施する場合には、安全性未確認のものと安全性の確認済みのものの比較ができるような一つあるいはそれ以上の試験の計画を立てる。試験期間は入手できる関連情報に基づいて決定し、分解生成物の毒性を最も検出しやすいと考えられる動物種で試験を実施する。ケースバイケースではあるが、特に単回投与医薬品の試験を行う場合には、単回投与試験も許容されよう。通例、最短 14 日間、最長 90 日間の試験期間が適切と考えられる。
- c) 毒性の非常に強い不純物については、これよりも低い閾値が適当な場合もある。
- d) 例えば、この不純物は、既知の安全性データあるいは化学構造から見て存在する濃度ではヒト又は動物への安全性が懸念されることのないようなものかどうかを調べる。

2-3 不純物：新動物用医薬品、有効成分及び添加物中の残留溶媒 (VICH GL18)

(1) 序文

本ガイドラインの目的は、対象動物の安全と同じように食品生産動物由来の生産物中の残留物の安全のために医薬品中の残留溶媒の許容量を勧告することにある。本ガイドラインは、低毒性溶媒の使用を推奨し、毒性学上許容できると考えられる残留溶媒の限度値を記述するものである。

医薬品中の残留溶媒は、原薬又は添加剤の製造若しくは製剤の製造において使用又は生成される発揮性有機化学物質、と定義付けられる。それらの溶媒は、実生産工程で用いられている技術では完全に除去されない。原薬の製造において適切な溶媒を選定することにより、収率の向上又は結晶形、純度、溶解性といった物性の決定が成され得る。したがって、溶媒は、時として製造工程における決定的なパラメータであるといえる。本ガイドラインは、添加剤として用いられる溶媒及び溶媒和物は対象としない。しかし、そのような製剤では、製剤中の溶媒の含量を、評価し、正当化すべきである。

残留溶媒から治療上の恩恵を受けることは全くないため、すべての残留溶媒は、製品規格や GMP 又は他の品質上の要求に適合するよう、可能な限り除去すべきである。製剤中においては、安全性データによって保証されるレベルよりも高いレベルの残留溶媒を含んではならない。許容できない種類の毒性を引き起こすことが知られている幾つかの溶媒（クラス1、表1）は、リスクベネフィットの観点から評価し、強く正当化されない限り、原薬、添加剤又は製剤の製造においては使用を避けるべきである。あまり重篤でない毒性に関する溶媒（クラス2、表2）については、潜在する副作用から対象動物及び消費者を守るために制限すべきである。理想的には、低毒性溶媒（クラス3、表3）を実用の場で用いるべきである。本ガイドラインに含まれるすべての溶媒のリストを付属書1に示す。

このリストは、完全なものではなく、これ以外の溶媒を使用することは可能であり、後で本リストに追加されることもあり得る。クラス1及び2に属する溶媒の勧告限度値あるいは溶媒のクラス分けについては、新しい安全性データの入手に伴い変更の可能性もあり得る。新しい溶媒を含む新製剤の申請における安全性のサポーティングデータは、本ガイドライン又は原薬ガイドライン（「2-1 新動物用医薬品の原薬中の不純物」(VICH GL10R)）、製剤ガイドライン（「2-2 新動物用医薬品の製剤中の不純物」(VICH GL11R)）、あるいはそれら3ガイドラインすべてに表現されている不純物の安全性の確認に関する概念に基づくものである。

(2) ガイドラインの範囲

原薬、添加剤及び製剤中の残留溶媒は、本ガイドラインの範囲に含まれる。したがって、製造又は精製工程においてそれらの溶媒が結果として含有され得る場合には、残留溶媒の試験を行うべきである。原薬、添加剤若しくは製剤の製造又は精製で使用された又は生じた溶媒のみの試験が必要である。医薬品メ

一カーは、製剤での試験を選択してもよいが、製剤の製造に用いた各成分中の値から製剤中の残留溶媒レベルを累積的に計算する方法を用いることもできる。もし計算値が本ガイドラインで勧告した値以下の場合には製剤中の残留溶媒の試験は一切考慮する必要はない。しかしながら、もし計算値が勧告値以上である場合には、溶媒のレベルが製剤工程で許容量以内に減少したかどうかを確認するために、製剤の試験を行うべきである。また溶媒が、製剤の製造中に用いられている場合にも試験を行わなければならない。

本ガイドラインは、新原薬、新添加剤又は新製剤として開発中のもので、臨床研究段階で使用されるものには適用しない。既存の製剤にも適用しない。

本ガイドラインは、すべての剤型及び投与経路に適用される。短期間投与（30日以下）あるいは局所投与のような一定のケースでは、より高い残留溶媒のレベルが許容され得る。これらのレベルの正当性は、ケースバイケースで判断されるべきである。

残留溶媒に関するその他の背景・情報を付属書2に示す。

(3) 一般原則

ア リスクアセスメントによる残留溶媒の分類

“耐容一日摂取量、tolerable daily intake (TDI) という用語は国際化学物質安全性計画 (IPCS) において毒性化学物質のばく露限度値を表すために用いられており、また“一日許容摂取量、acceptable daily intake (ADI) は、世界保健機関 (WHO) 及び他の国内的、国際的保健当局・団体などによって用いられている。新しい用語である“一日ばく露許容量、permitted daily exposure (PDE) は、同じ物質であるにもかかわらず ADI 値が異なるというような混乱を避けるため、本ガイドラインにおいて残留溶媒の医薬上の摂取許容量を表現するものとして定義されている。

本ガイドラインにおいて評価された残留溶媒の一般名と構造式を付属書1に列挙する。これらの溶媒はヒトの健康に対して起こりうるリスクの評価を行った上で、以下の様に三つのクラスのいずれかにあてはめた。

クラス1 溶媒：避けるべき溶媒

ヒトにおける発がん性が知られているもの、ヒトにおける発がん性が強く疑われるもの、及び環境有害物質。

クラス2 溶媒：制限すべき溶媒

遺伝毒性の無い動物実験での発がん性物質、又は神経毒性や催奇形性など他の不可逆的毒性の原因となる可能性を有する物質。

他の重大ではあるが可逆的である毒性の疑われる溶媒。

クラス3 溶媒：低毒性溶媒

ヒトに対して低毒性であると考えられる溶媒：健康上の理由からはばく露限度値を設定する必要のないもの。クラス3 溶媒は一日当たり 50mg 以上の PDE 値を有する。

イ ばく露限度値の設定法

残留溶媒の一日ばく露許容量の評価に用いられる方法は、付属書3に示され

ている。限度値の評価に用いられた毒性データの要約は、Pharmeuropa、Vol.9、No.1、Supplement、April 1997 で公表されている。

ウ クラス 2 溶媒の限度値記述のためのオプション

クラス 2 溶媒の限度値を設定する場合には三つのオプションが利用できる。

オプション 1：表 2 中の ppm で表された濃度限度値を用いることができる。それらの値は 1 日の製剤投与量を 10g と仮定して式 (1) を用いて計算された。

$$\text{濃度 (ppm)} = \frac{1,000 \times \text{PDE}}{\text{用量}} \quad (1)$$

式中、PDE は mg/day で表され、用量は g/day で示される。

これらの限度値は、すべての原薬、添加剤又は製剤中の残留溶媒として受け入れられる。したがって、1 日用量が不明であるか未定の場合にはこのオプションが適用し得る。製剤中のすべての添加剤及び原薬が、オプション 1 で与えられた限度値に適合する場合には、各成分はどのような比率でも使用できる。1 日用量が 10g を超えなければ、それ以上の計算は必要ない。1 日に 10g を超えて投与される製剤は、オプション 2 に基づいて考慮されるべきである。

オプション 2：オプション 1 で得られる限度値に適合する製剤中の残留溶媒は、考慮する必要はない。表 2 に示された mg/day で表される PDE 値と実際の 1 日最大用量から、上式 (1) を用いて製剤中に許容される残留溶媒の濃度が算出できる。もし、残留溶媒を実用上最小限にまで減じてきたことが実証されるならば、それらの限度値は許容されるであろう。その限度値は、分析の精度、製造上の能力、製造工程における妥当な変動に関して現実的なものであり、かつ、現代の製造基準を反映しているべきである。

オプション 2 は、製剤の各成分中に存在する残留溶媒量を加算することによって適用されうる。1 日当たりの溶媒量の合計は PDE 値以下でなければならない。

オプション 1 とオプション 2 の使用例として、製剤中のアセトニトリルへの適用を考慮してみる。アセトニトリルの 1 日ばく露許容量は 4.1mg/day、即ちオプション 1 の限度値は 410ppm である。この製剤の 1 日最大投与量は 5.0g であり、2 種の添加剤を含んでいる。製剤の組成と計算上の最大残留アセトニトリル量を以下の表に記す。

成分	組成	アセトニトリル含量	一日ばく露量
原薬	0.3g	800ppm	0.24mg
添加剤	0.9g	400ppm	0.36mg
添加剤	3.8g	800ppm	3.04mg
製剤	5.0g	728ppm	3.64mg

添加剤 1 はオプション 1 の限度値に適合しているが、原薬、添加剤 2 及び製

剤は適合していない。しかしながら、この製剤はオプション2の限度値 4.1mgには適合しており、したがって本ガイドラインの勧告値に適合していることになる。

残留溶媒としてアセトニトリルを用いた他の例を挙げる。この製剤の1日最大投与量は 5.0g であり、二種の添加剤を含んでいる。製剤の組成と計算上の最大残留アセトニトリル量を以下の表に記す。

成分	組成	アセトニトリル含量	一日ばく露量
原薬	0.3g	800ppm	0.24mg
添加剤	0.9g	2,000ppm	1.80mg
添加剤	3.8g	800ppm	3.04mg
製剤	5.0g	1,016ppm	5.08mg

この例においては、この製剤はオプション1及びオプション2双方の限度値に適合していない。もし製剤化工程でアセトニトリルが減少するのであれば、製造者は製剤中の定量試験を試みることができる。もしアセトニトリルのレベルが製剤化工程中に許容限度値まで減少しないならば、製剤の製造者は製剤中のアセトニトリルを減ずるための他の工程を考慮するか又はオプション3を考慮すべきである。

オプション3：申請者は、実際の1日投与量、実際の対象動物種並びに関連した毒性データ及び考慮すべき消費者の安全性の期待に基づいて、より高いPDE値及び濃度限度値を正当化してもよい。このオプションは、次のように適用されるだろう。

3 a – 申請者は、適切な実際の対象動物種のための体重及び／又は実際の投与量を用意し、ICHの式及びICHがサポートする毒性データからPDE値及び／又は濃度限度値を再計算することができる。

3 b – 申請者は、新しい毒性データ（実際の対象動物及び／又は投与量の情報）を用意し、ICHの式からPDE値及び濃度限度値を再計算することができる。

これらすべての方法を試みても、残留溶媒量の減少に失敗した場合には、例外的取扱いとして、製造者はガイドライン値に適合させるべく溶媒量を減じる努力をしてきたことについての要約と、本製剤がガイドライン値以上の残留溶媒を含むことが認められることをサポートするリスクベネフィットの観点からの分析内容を提出することができる。

エ 分析方法

残留溶媒の測定法としては、ガスクロマトグラフィーのようなクロマトグラフィーが典型的に用いられる。もし実行できるのであれば、薬局方に記述されている、残留溶媒レベルの測定に関するいずれかのハーモナイズされた方法を

用いるべきである。その他、特殊な場合においては、製造者は最も適切なバリデートされた分析方法を自由に選択できよう。もしクラス3溶媒しか存在しない場合には、乾燥減量等の非特定的方法を用いればよい。

残留溶媒の分析方法のバリデーションは「1の(1)分析法バリデーション：定義及び用語に関するテキスト」(VICH GL1)及び「1の(2)分析法バリデーション：方法論に関するテキスト」(VICH GL2)に従うべきである。

オ 残留溶媒の報告限度値

製剤の製造業者は、本ガイドラインの基準に適合させるために、添加剤又は原薬の残留溶媒の含量について、正確な情報を必要としている。以下の記述は、添加剤又は原薬の供給者が、製剤の製造業者に提供する認められる情報の例である。供給者は、以下から適切な一つを選択することができる。:

- ・ クラス3の溶媒のみが存在するような場合 乾燥減量が0.5%未満
- ・ クラス2溶媒X、Y ... のみが存在するような場合 すべてが、オプション1の限度値未満（ここでは、供給者は、X、Y ... で表されたクラス2溶媒に名前を入れる。）
- ・ クラス2溶媒X、Y ... 及びクラス3の溶媒のみが存在するような場合 クラス2溶媒のすべてが、オプション1の限度値未満、かつ、クラス3溶媒の残量が0.5%未満

クラス1溶媒が存在する場合には、それらは、同定され、定量されるべきである。

「存在するような」とは、最終製造工程で用いた溶媒及び初期の製造工程で用いられ、バリデートされた工程で一貫して取り除けない溶媒をさす。

もし、クラス2又はクラス3の溶媒が、オプション1の限度値又は0.5%を超えて存在する場合、それらは、同定され、定量されるべきである。

(4) 残留溶媒の限度値

ア 避けるべき溶媒

クラス1の溶媒は、許容できない毒性あるいは環境への有害効果などの理由から、原薬や添加剤及び製剤の製造には用いるべきでない。しかしながら、もし著しい治療上の利点をもたらす製剤の製造のために使用が避けられない場合には、特に正当な理由がない限り、表1に示したレベルに制限されるべきである。1,1,1-トリクロロエタンについては環境有害物質であるため、表1に含めておく。提示された限度値1,500ppmは、安全性データの検討を基にしている。

表1 医薬品中のクラス1溶媒（避けるべき溶媒）

溶媒	濃度限度値 (ppm)	事柄
ベンゼン	2	発がん性物質
四塩化炭素	4	毒性物質、環境有害物質
1,2-ジクロロエタン	5	毒性物質
1,1-ジクロロエタン	8	毒性物質

イ 制限すべき溶媒

表2に示した溶媒は、それら固有の毒性のため、医薬品中において制限すべき溶媒である。PDE 値を 0.1mg/day 単位で、濃度を 10ppm 単位で表す。示された値は、測定時に必要な分析精度を反映するものではない。精度は、方法のバリデーションの部分で決定されるべきである。

表2 医薬品中のクラス2溶媒

溶媒	PDE (mg/day)	濃度限度値 (ppm)
アセトニトリル	4.1	410
クロロベンゼン	3.6	360
クロロフォルム	0.6	60
シクロヘキサン	38.8	3,880
1,2-ジクロロエテン	18.7	1,870
ジクロロエタン	6.0	600
1,2-ジメトキシエタン	1.0	100
N,N-ジメチルアセタミド	10.9	1,090
N,N-ジメチルホルムアミド	8.8	880
1,4-ジオキサン	3.8	380
2-エトキシエタノール	1.6	160
エチレングリコール	6.2	620
フォルムアミド	2.2	220
ヘキサン	2.9	290
メタノール	30.0	3,000
2-メトキシエタノール	0.5	50
メチルブチルケトン	0.5	50
メチルシクロヘキサン	11.8	1,180
N-メチルピロリドン	48.4	4,840
ニトロメタン	0.5	50
ピリジン	2.0	200
スルフオラン	1.6	160
テトラリン	1.0	100
トルエン	8.9	890
1,1,2-トリクロロエタン	0.8	80
キシレン*	21.7	2,170

* 通常 60 % m-キシレン、14 %の p-キシレン、9 %の o-キシレン及び 17 %のエチルベンゼンの混合物

ウ 低毒性溶媒

クラス3の溶媒（表3に示す）は、低毒性であり、対象動物及び消費者の健康に及ぼすリスクもより低いとみなされる。通常許容される医薬品中のレベルにおいて、ヒトの健康に対する有害物質となることが知られている溶媒は、クラス3には全く含まれない。しかしながら、多くのクラス3溶媒に関する長期毒性又は発がん性試験は全く行われていない。実際に入手可能なデータによれば、これらの溶媒は、急性試験又は短期間投与試験において低毒性であり、遺伝毒性試験も陰性であることが示されている。これらの残留溶媒の量が 50mg/day（オプション1で 5,000ppm、即ち 0.5 %に相当）以下であるならば、なんら正当化することなく許容されると考えられる。これより多い量については、製造上の能力あるいは GMP に関して現実的であるならば許容されるであろう。

表3 GMP 又は他の品質上の要求により制限されるクラス3溶媒

酢酸	ヘプタン
アセトン	酢酸イソブチル
アニソール	酢酸イソプロピル
1-ブタノール	酢酸メチル
2-ブタノール	3-メチル-1-ブタノール
酢酸ブチル	メチルエチルケトン
t-ブチルメチルエーテル	メチルイソブチルケトン
クメン	2-メチル-1-プロパノール
ジメチルスルフォキシド	ペンタン
エタノール	1-ペンタノール
酢酸エチル	1-プロパノール
エチルエーテル	2-プロパノール
蟻酸エチル	酢酸プロピル
蟻酸	テトラヒドロフラン

エ 適切な毒性データがない溶媒

以下の溶媒（表4）は、添加剤、原薬あるいは製剤の製造者にとって関心のある溶媒である。しかしながら、PDE 算出の基本となるべき適切な毒性データは見当たらない。製造者は、医薬品中のこれらの溶媒及び製剤に用いられるために PDE が評価されていない他の溶媒の残留レベルが規定できるような理由付けを供給すべきである。

表4 適切な毒性データが見いだされていない溶媒

1,1-ジエトキシプロパン	メチルイソプロピルケトン
1,1-ジメトキシエタン	メチルテトラヒドロフラン
2,2-ジエトキシプロパン	石油エーテル
イソオクタン	トリクロロ酢酸

(5) 用語の定義

genotoxic carcinogens : 遺伝子又は染色体に作用してがんを発生させる発がん物質

LOEL : lowest-observed effect level (最低作用量) の略

lowest-observed effect level (最低作用量) : ばく露を受けた母集団において何らかの作用の頻度又は重篤度が、統計学上あるいは生物学上有意に増加する試験(群)での最低作用量

modifying factor (修正係数) : 毒性学者の専門的判断により決定され、生物試験データを安全にヒトに関連づけるよう適用された安全係数

neurotoxicity (神経毒性) : 神経系に副作用を引き起こす能力

NOEL : no-observed-effect level (最大無作用量) の略

no-observed-effect level (最大無作用量) : ばく露を受けた母集団における何らかの作用の頻度又は重篤度の、統計学上あるいは生物学上有意な増加が全く見られない最大用量

PDE : Permitted daily exposure (一日ばく露許容量) の略

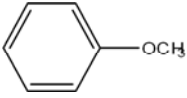

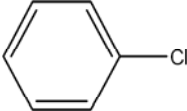
Permitted daily exposure (一日ばく露許容量) : 医薬品中に残留する溶媒の一日当たりに許容される最大摂取量

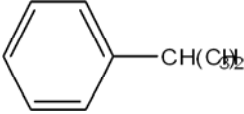

reversible toxicity (可逆的毒性) : その物質によって引き起こされ、ばく露の終了とともに消失してしまうような有害作用の発生

strongly suspected human carcinogen : 人での発がんの疫学的証拠は無いものの、変異原性が陽性であり、げっ歯類(又は他の動物種)において発がんの明らかな証拠があるような物質

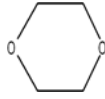
teratogenicity : 妊娠中に物質が投与された場合の胎子の発生における組織上の奇形の発生

付属書 1: 本ガイドラインに含まれる溶媒のリスト

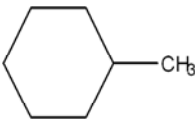
溶媒名	別名	化学構造	クラス
Acetic acid (酢酸)	Ethanoic acid	CH ₃ COOH	Class 3
Acetone (アセトン)	2-Propanone Propan-2-one	CH ₃ COCH ₃	Class 3
Acetonitrile (アセトニトリル)		CH ₃ CN	Class 2
Anisole (アニソール)	Methoxybenzene		Class 3
Benzene (ベンゼン)	Benzol		Class 1
1-Butanol (1-ブタノール)	<i>n</i> -Butyl alcohol Butan-1-ol	CH ₃ (CH ₂) ₃ OH	Class 3
2-Butanol (2-ブタノール)	<i>sec</i> -Butyl alcohol Butan-2-ol	CH ₃ CH ₂ CH(OH)CH ₃	Class 3
Butyl acetate (酢酸ブチル)	Acetic acid butyl ester	CH ₃ COO(CH ₂) ₃ CH ₃	Class 3
<i>tert</i> -Butylmethyl ether (<i>tert</i> -ブチルメチルエーテル)	2-Methoxy-2-methyl-propane	(CH ₃) ₃ COCH ₃	Class 3
Carbon tetrachloride (四塩化炭素)	Tetrachloromethane	CCl ₄	Class 1
Chlorobenzene (クロロベンゼン)			Class 2

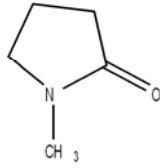
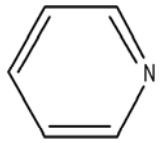
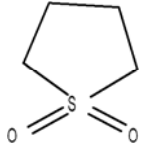
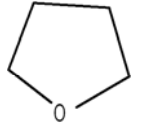
Chloroform(クロロホルム)	Trichloromethane	CHCl_3	Class 2
Cumene (クメン)	Isopropylbenzene (1-Methyl)ethylbenzene		Class 3
Cyclohexane (シクロヘキサン)	Hexamethylene		Class 2
1,2-Dichloroethane (1,2-ジクロロエタン)	<i>sym</i> -Dichloroethane Ethylene dichloride Ethylene chloride	$\text{CH}_2\text{ClCH}_2\text{Cl}$	Class 1
1,1-Dichloroethene (1,1-ジクロロエテン)	1,1-Dichloroethylene Vinylidene chloride	$\text{H}_2\text{C}=\text{CCl}_2$	Class 1
1,2-Dichloroethene (1,2-ジクロロエテン)	1,2-Dichloroethylene Acetylene dichloride	$\text{ClHC}=\text{CHCl}$	Class 2
Dichloromethane (ジクロロメタン)	Methylene chloride	CH_2Cl_2	Class 2
1,2-Dimethoxyethane (1,2-ジメトキシエタン)	Ethyleneglycol dimethyl ether Monoglyme Dimethyl Cellosolve	$\text{H}_3\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$	Class 2
N,N-Dimethylacetamide (N, N-ジメチルアセトアミド)	DMA	$\text{CH}_3\text{CON}(\text{CH}_3)_2$	Class 2
N,N-Dimethylformamide (N, N-ジメチルホルムアミド)	DMF	$\text{HCON}(\text{CH}_3)_2$	Class 2
Dimethyl sulfoxide (ジメチルスルホキシド)	Methylsulfinylmethane Methyl sulfoxide	$(\text{CH}_3)_2\text{SO}$	Class 3

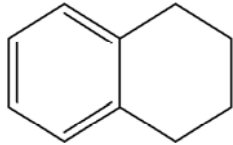
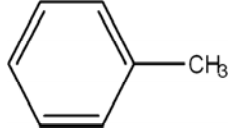
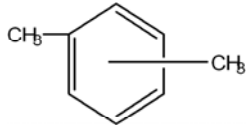
DMSO

1,4-Dioxane (1,4-ジ ^o キサソ)	p-Dioxane [1,4]Dioxane		Class 2
Ethanol (エタノール)	Ethyl alcohol	CH ₃ CH ₂ OH	Class 3
2-Ethoxyethanol (2-エトキシエタノール)	Cellosolve	CH ₃ CH ₂ OCH ₂ CH ₂ OH	Class 2
Ethyl acetate (酢 ^o 酸エチル)	Acetic acid ethyl ester	CH ₃ COOCH ₂ CH ₃	Class 3
Ethylene glycol (エチレング ^o リコール)	1,2-Dihydroxyethane 1,2-Ethanediol	HOCH ₂ CH ₂ OH	Class 2
Ethyl ether (エチルエーテル)	Diethyl ether Ethoxyethane 1,1'-Oxybisethane	CH ₃ CH ₂ OCH ₂ CH ₃	Class 3
Ethyl formate (蟻 ^o 酸エチル)	Formic acid ethyl ester	HCOOCH ₂ CH ₃	Class 3
Formamide (ホルムアミド ^o)	Methanamide	HCONH ₂	Class 2
Formic acid (蟻 ^o 酸)		HCOOH	Class 3
Heptane (ヘプ ^o タン)	n-Heptane	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH ₃	Class 3
Hexane (ヘキサソ)	n-Hexane	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₃	Class 2
Isobutyl acetate (酢 ^o 酸イソブ ^o チル)	Acetic acid isobutyl ester	CH ₃ COOCH ₂ CH(CH ₃) ₂	Class 3
Isopropyl acetate	Acetic acid isopropyl ester	CH ₃ COOCH(CH ₃) ₂	Class 3

(酢酸イソプロピル)

Methanol (メタノール)	Methyl alcohol	CH ₃ OH	Class 2
2-Methoxyethanol (2-メロキシエタノール)	Methyl Cellosolve	CH ₃ OCH ₂ CH ₂ OH	Class 2
Methyl acetate (酢酸メチル)	Acetic acid methyl ester	CH ₃ COOCH ₃	Class 3
3-Methyl-1-butanol (3-メチル-1-ブタノール)	Isoamyl alcohol Isopentyl alcohol 3-Methylbutan-1-ol	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ CH ₂ OH	Class 3
Methylbutyl ketone (メチルブチルケトン)	2-Hexanone Hexan-2-one	CH ₃ (CH ₂) ₃ COCH ₃	Class 2
Methylcyclohexane (メチルシクロヘキサン)	Cyclohexylmethane		Class 2
Methylethyl ketone (メチルエチルケトン)	2-Butanone MEK Butan-2-one	CH ₃ CH ₂ COCH ₃	Class 3
Methylisobutyl ketone (メチルイソブチルケトン)	4-Methylpentan-2-one 4-Methyl-2-pentanone MIBK	CH ₃ COCH ₂ CH(CH ₃) ₂	Class 3
2-Methyl-1-propanol (2-メチル-1-プロパノール)	Isobutyl alcohol 2-Methylpropan-1-ol	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ OH	Class 3

N-Methylpyrrolidone (N-メチルピロリドン)	1-Methylpyrrolidin-2-one 1-Methyl-2-pyrrolidinone		Class 2
Nitromethane (ニトロメタン)		CH_3NO_2	Class 2
Pentane (ペンタン)	<i>n</i> -Pentane	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	Class 3
1-Pentanol (1-ペンタノール)	Amyl alcohol Pentan-1-ol Pentyl alcohol	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{OH}$	Class 3
1-Propanol (1-プロパノール)	Propan-1-ol Propyl alcohol	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	Class 3
2-Propanol (2-プロパノール)	Propan-2-ol Isopropyl alcohol	$(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$	Class 3
Propyl acetate (酢酸プロピル)	Acetic acid propyl ester	$\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	Class 3
Pyridine (ピリジン)			Class 2
Sulfonane (スルホラン)	Tetrahydrothiophene 1,1-dioxide		Class 2
Tetrahydrofuran (テトラヒドロフラン)	Tetramethylene oxide Oxacyclopentane		Class 3

Tetralin (テトラリン)	1,2,3,4-Tetrahydro-naphthalene		Class 2
Toluene (トルエン)	Methylbenzene		Class 2
1,1,1-Trichloroethane (1, 1, 1-トリクロロエタン)	Methylchloroform	CH_3CCl_3	Class 1
1,1,2-Trichloroethene (1, 1, 2-トリクロロエテン)	Trichloroethene	$\text{HC}(\text{Cl})=\text{CCl}_2$	Class 2
Xylene* (キシレン)	Dimethylbenzene Xylol		Class 2

* 通常、m-キシレン 60 %、p-キシレン 14 %、o-キシレン 9 %、エチルベンゼン 17 %

付属書2 背景 (付属ガイダンス)

A2-1 揮発性有機溶媒の環境規制

医薬品製造にしばしば用いられる残留溶媒の幾つかは、環境保健クライテリア (ECH) モノグラフや総合リスク情報システム (IRIS) 中に毒性化学物質としてリストアップされている。国際化学物質安全性計画 (IPCS)、米国環境保護庁 (USEPA)、米国食品医薬品局 (USFDA) などのグループの目的の中には、許容ばく露レベルを決定することも含まれている。その最終目標は、化学物質の長期間に渡るばく露環境によって引き起こされる有害作用からヒトの健康を守り、環境保全を維持することにある。最大安全ばく露限度値の評価方法は通常長期試験の結果に基づいている。長期試験のデータがない場合には、より大きな安全係数を用いるなど、方法に修正を加えた上で、より短い期間の毒性試験データを用いることができる。それらのモノグラフ中に記述されているアプローチ方法は、主として環境は、すなわち、大気、食品、飲料水並びに他の媒体における一般人の長期間又は一生のばく露に関係している。

A2-2 医薬品中の残留溶媒

本ガイドラインにおけるばく露限度値は、EHC 及び IRIS モノグラフに記述されている方法論と毒性データにより設定されている。しかしながら、医薬品の合成又は製剤化で用いられている残留溶媒に関する幾つかの特殊な仮定は、ばく露限度値を設定する上で考慮しなければならない。すなわち、

- 1) 患畜 (通常の動物集団以上) は医薬品を、病気の治療あるいは感染や疾病の予防のために与えられる。しかし、動物集団中の感染や疾病の存在とは関係なく農業生産を助けるために用いられるような製剤もある。
- 2) 患畜への一生のばく露という仮定は大部分の医薬品にとっての必要条件ではなく、製剤が投与された食用動物の可食部位を消費するヒトの一生のばく露としてヒトの健康に対するリスクを低減させるための作業仮説として適当なものである。
- 3) 残留溶媒は、医薬品の製造プロセスにおいて避け難い成分であり、しばしば製剤の一部となりうるものである。
- 4) 残留溶媒は例外的な状況の場合を除き、勧告されたレベルを超えてはならず、それは正当化されるべきである。
- 5) 残留溶媒の許容レベルを決定する毒性試験データは、OECD、EPA あるいは FDA Red Book に記述されているものに限定する必要はないが、それらを含む適切なプロトコルを用いて出されるべきである。

付属書3 ばく露限度値の設定法

クラス1の発がん性溶媒のリスク評価方法としては、Gaylor-Kodellの方法が適当である（Gaylor, D. W. and Kodell, R. L. Linear Interpolation algorithm for low dose assessment of toxic substance. J. Environ. Pathology, 4305, 1980）。信頼すべき発がん性データがある場合にのみ、数学的モデルを用いた外挿を、ばく露限度値の設定に適用すべきである。クラス1溶媒のばく露限度値は、最大無作用量（NOEL）に関して大きな安全係数（即ち、10,000 ないし 100,000）を用いることにより決定され得る。これらの溶媒の検出・定量は、最新の分析技術によるべきである。

本ガイドラインにおけるクラス2溶媒の許容ばく露レベルは、医薬品中のばく露限度値設定の手順（Pharmacopeial Forum, Nov-Dec 1989）及び、有害化学物質評価のための国際化学物質安全性計画（IPCS）（環境保健クライテリア 170、WHO、1994）において採用された方法に従い、PDE 値を計算することによって設定された。これらの方法はUSEPA（IRIS）やUSFDA（Red Book）他で用いられているものと同様の方法である。PDE 値の由来をよりよく理解するために、ここで本方法の概略を述べる。本文中、（4）の表にある PDE 値を使用する場合には、これらの計算を実施する必要はない。

PDE 値は、以下のとおり、最も信頼性の高い動物試験における最大無作用量（NOEL）又は最低作用量（LOEL）から導かれる。

$$PDE = \frac{NOEL \times \text{標準体重}}{F1 \times F2 \times F3 \times F4 \times F5} \quad (1)$$

PDE 値は NOEL から求める方が好ましい。もし、NOEL が無い場合には LOEL を用いても構わない。ここに提示された修正係数は、データをヒトに関連づけるためのものであり、環境保健クライテリア（Environmental Health Criteria 170, World Health Organization, Geneva, 1994）で用いられている“不確定係数”や薬局方フォーラム中の“修正係数”又は“安全係数”と同種のものである。100 %全身ばく露されるという仮定は、投与ルートにかかわらず、すべての計算において用いられる。

修正係数は、以下のとおりである。

F 1 = 種間の外挿を説明するための係数

F 1 = ラットからヒトへの外挿には 5

F 1 = マウスからヒトへの外挿には 12

F 1 = イヌからヒトへの外挿には 2

F 1 = ウサギからヒトへの外挿には 2.5

F 1 = 他の動物からヒトへの外挿には 10

F 1 は、相対的な表面積：関与する種及び人の体重比、を考慮している。表面積（S）は、次のように計算される。

$$S = kM^{0.67}$$

式中、M = 体重、定数 k は 10 をとる。式で用いられた体重は、表A3-1 に示す。

F 2 = 個々の変動を説明するための係数 10

係数 10 は、通常、すべての有機溶媒に適用し、本ガイドラインでは、常に用

いる。

F 3 = 短期間ばく露の毒性試験を説明するための変数

F 3 = 寿命の 1/2 (げっ歯類又はウサギでは 1 年：猫、犬及び猿では 7 年)
以上の期間の試験には 1

F 3 = 発がん性試験 (organogenesis) すべての期間をカバーする生殖毒性試験には 1

F 3 = げっ歯類で 6 か月の試験又は非げっ歯類で 3.5 年の試験には 2

F 3 = げっ歯類で 3 か月の試験又は非げっ歯類で 2 年の試験には 5

F 3 = 短期間の試験には 10

すべての事例において、中間の期間での試験には、より高い係数が用いられる。

例えば、げっ歯類で 9 か月の試験には 2

F 4 = 重篤な毒性の場合に適用される係数。生殖毒性試験の場合には以下の係数が用いられる。

F 4 = 母体毒性を伴う胎児毒性には 1

F 4 = 母体毒性を伴わない胎児毒性には 5

F 4 = 母体毒性を伴う催奇形効果には 5

F 4 = 母体毒性を伴わない催奇形効果には 10

F 5 = 最大無作用量が確立していない場合に適用される変数

LOEL のみが利用できる場合、毒性試験の結果により、最大 10 の係数が用いられる。

体重補正では、男女とも成人の体重は、50 kg と仮定している。この比較的低い体重は、この手の計算によく用いられる 60 kg 又は 70 kg の標準体重に、付加的な安全性係数を与える。50 kg 以下の成人患者がいることは認められている。：これらの患者は、PDE を決定するために用いられたもともと含まれている安全係数によって適合すると考えられる。

この方程式の適用例として、Pharmeuropa、Vol.9、No.1、Supplement、April 1997、page S24 に要約されているアセトニトリルのマウスの毒性試験について考察する。NOEL は計算の結果 $50.7 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ である。この試験におけるアセトニトリルの PDE 値は以下のように計算される。

$$\text{PDE} = \frac{50.7 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1} \times 50 \text{ kg}}{12 \times 10 \times 5 \times 1 \times 1} = 4.22 \text{ mg day}^{-1}$$

この例においては、

F 1 = マウスからヒトへの外挿を説明するため 12

F 2 = 個々のヒトの間の相違を説明するため 10

F 3 = 試験期間が 13 週間であるため 5

F 4 = 重篤な毒性が見られないため 1

F 5 = 最大無作用量が計算されていないため 1

表 A3-1 本文中の計算において用いられている値

ラットの体重

425g

マウスの呼吸量

43L/day

妊娠ラットの体重	330g	ウサギの呼吸量	1,440L/day
マウスの体重	28g	モルモットの呼吸量	430L/day
妊娠マウスの体重	30g	ヒトの呼吸量	28,800L/day
モルモットの体重	500g	イヌの呼吸量	9,000L/day
アカゲザルの体重	2.5 kg	サルの呼吸量	1,150L/day
ウサギの体重 (妊娠・非妊娠)	4 kg	マウスの摂水量	5mL/day
ビーグル犬の体重	11.5 kg	ラットの摂水量	30mL/day
ラットの呼吸量	290L/day	ラットの摂餌量	30g/day

吸入試験におけるガスの濃度を ppm の単位から mg/L 又は mg/m³ 単位へ変換するために、理想気体の常態方程式 (PV = nRT) が用いられる。Phanneuropa、Vol.9、No.1、Supplement、April 1997、page S9 に要約されている四塩化炭素 (分子量 153.84) の吸入による生殖毒性試験を例として以下に考察する。

$$\frac{n}{V} = \frac{P}{RT} = \frac{300 \times 10^{-6} \text{ atm} \times 153840 \text{ mg mol}^{-1}}{0.082 \text{ L atm K}^{-1} \text{ mol}^{-1} \times 298 \text{ K}} = \frac{46.15 \text{ mg}}{24.45 \text{ L}} = 1.89 \text{ mg/L}$$

1000L = 1 m³ の関係が mg/m³ への変換に用いられている。

3 規格及び検査方法の設定に関するガイドライン

3-1 新動物用医薬品の原薬及び製剤の規格及び検査方法の設定：化学物質に関するガイドライン (VICH GL39)

(1) 序文

ア 本ガイドラインの目的

本ガイドラインは、新動物用原薬と新製剤について、世界規模での単一の規格及び検査方法（以下、「規格」という。）の設定を促進することを目的としている。本ガイドラインは、米国、EU 又は日本においてこれまでに承認されていない化学合成の新原薬とそれを用いて製造される新製剤に関して、規格値／判定基準（以下、「判定基準」という。）の設定、その妥当性の立証並びに試験方法の選択のための指針を与えるものである。

イ 背景

規格とは、試験方法、その試験に用いる分析法に関する記載、並びにその方法で試験したときの適否の判定基準（限度値、許容範囲あるいはその他の基準）から成るリストと定義される。原薬又は製剤が意図した用途にふさわしいものであるために適合すべき一組の基準である。また、「規格に適合する」とは、規定された方法に従って試験するとき、原薬や製剤がリストにあるすべての判定基準に適合することを意味する。規格は、医薬品の製造業者がその妥当性を示す資料を添付して申請し、行政当局によりその医薬品を製造するための条件として承認された遵守すべき（critical）品質の基準である。

規格は、製品の品質並びに恒常性を確保するために用いられる原薬や製剤を管理するための方策の一つである。この方策としては、この他にも規格を設定する際の基礎とすべき開発段階における徹底的な製品特性の解析、GMP の遵守（例えば、適切な施設、バリデートされた製造工程、バリデートされた試験方法、原料の試験、工程内試験、安定性試験など）がある。

規格の各項目は、原薬及び製剤の特性を遍く示すことよりも、それらの品質が適切なことを確認するために選ばれるものであり、原薬及び製剤の安全性や有効性を確保する上で有用な特性に焦点を絞るべきである。

ウ 本ガイドラインの適用範囲

原薬及び製剤の品質は、その設計、開発、工程内管理、GMP 管理及び製造工程のバリデーションにより、また、開発から実際に製造されるまでの間に設定される規格により決まる。本ガイドラインは、出荷時並びに有効期間中の新動物用原薬及び新製剤の品質を保証するのに主要な役割を果たす規格、すなわち、試験方法、分析法並びにその判定基準を対象としている。規格は、品質保証の重要な要素ではあるが、その唯一の要素というわけではない。前述のすべての要素が、品質の高い原薬や製剤の恒常的な製造を保証していくのに必要である。

本ガイドラインは、新製剤（配合剤を含む）及び、適用が必要な地域では、新原薬の製造承認を対象としたものであり、医薬品開発の臨床試験段階にある

原薬及び製剤は対象としない。本ガイドラインは、合成並びに半合成の抗生物質及び低分子量の合成ペプチドにも適用可能である。しかしながら、高分子量のペプチド、ポリペプチド及びバイオテクノロジー応用医薬品／生物学的製剤の規格を適切に取り扱うのには十分とは言えない。新動物用生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）の規格及び検査方法については、他の VICH ガイドラインで取り扱われている。放射性医薬品、醗酵製品、オリゴヌクレオチド、植物製剤（herbal product）及び動植物由来の生薬製剤も対象としない。

すべての新原薬及び新製剤に設定すべき試験方法と判定基準、並びに原薬や製剤の各剤形の特性に依拠して設定すべき試験方法と判定基準に関する指針が示されている。本ガイドラインは、作成された時点での技術のレベルを反映したものであり、すべてを網羅したものと考えべきではない。新しい分析技術の開発や既存の分析技術の改良は絶えず行われており、妥当性が示されるならば、そうした技術を採用してもよい。

本ガイドラインでは、経口固形製剤、粉末、経口液状製剤及び注射剤（小容量及び大容量）の三つの剤形について触れている。このことは、本ガイドラインの適用をこれらの剤形だけに限定することを意味するものではない。これらの剤形はモデルとして示したものであり、触れなかった他の剤形、例えば、局所適用の製剤（プアオン、スポットオン、クリーム、軟膏剤、ゲル）に対しても、本ガイドラインの考え方を拡張して適用することが推奨される。

（2）一般的な概念

調和された規格の開発と設定においては、下記のような概念が重要である。これらの概念は、どこにでも適用できるというのではなく、それぞれ特定の状況において考慮されるべきものである。本ガイドラインでは、各概念の簡単な定義及びそれらがどのような状況の下で適用され得るかを示す。これらの概念の適用に当たっては、申請者は、その妥当性を示した資料を関係する行政当局に提出し、その承認を得なければならない。

ア 定期的試験／スキップ試験（Periodic/skip testing）

定期的試験やスキップ試験は、試験されなかったロットであっても、その製品について設定されたすべての判定基準に適合していなければならないことをよく理解した上で、出荷時の特定の試験を、ロットごとではなく、あらかじめ定められたロット数ごとにあるいはあらかじめ定められた期間ごとに行うことである。この概念を適用した場合には、すべてのロットについて試験する場合よりも試験する数が少なく済むが、事前に行政当局にその妥当性を示し承認を受ける必要がある。この概念は、例えば、経口固形製剤における残留溶媒の試験及び微生物学的試験に適用できるであろう。承認申請時には限られたデータだけしか得られていないこともある（（2）のオ参照）ので、この概念は、通常、承認後に適用されるものである。試験を行った場合に、定期的試験を行うに当たって設定された判定基準に適合しないようなことがあれば、どのような不適合であっても、それを適切な形で行政当局に報告する必要がある。これ

らのデータから、ルーチン試験に戻すことが必要と判断される場合には、ロットごとの出荷試験を再開すべきである。

イ 出荷のための判定基準と有効期間を考慮した判定基準 (Release vs. shelf-life acceptance criteria)

出荷時の規格と有効期間を考慮した規格とでは異なった判定基準を適用すべきであるという概念で、製剤だけに適用される。この概念によれば、製剤の出荷のための規格には、有効期間を考慮した規格よりも厳しい判定基準を設定するのが適切とされる。この概念は、例えば、定量値や不純物（分解生成物）の限度値に適用し得る。ある国／地域においては、行政当局は、出荷のための規格を承認申請に必要な規格として設定することを要求しておらず、各製薬企業がそれぞれ社内規格として設定している。したがって、これらの地域においては、承認申請に必要な判定基準は有効期間を考慮した判定基準のみであり、出荷の時点から有効期間の終わりまでずっと同じ判定基準が適用されることになる。しかしながら、申請者は、自社の製品が有効期間を通して承認された判定基準に適合することをよりよく保証するために、より厳しい判定基準を有する社内規格を出荷の際に適用する道を選んでもよい。一方、EU においては、行政当局は、出荷時と有効期間を考慮した場合とで異なった規格の設定が適切な場合、両者を承認申請に必要な規格として設定することを要求している。

ウ 工程内試験 (In-process tests)

工程内試験は、本ガイドラインに示されたように、出荷の際に行われる一連の正式な試験の一部としてではなく、原薬や製剤の製造工程において実施される試験のことである。製造工程の作動状態の指標となるパラメータ群を適切な範囲内に収めることを目的としてのみ行われる工程内試験、例えば、コーティングを施される前の素錠の段階での硬度や摩損度の試験並びに個々の錠剤の質量の試験は規格に含めない。

ある試験項目について出荷の際に要求されるのと同等あるいはそれより厳しい判定基準の下で製造工程中に行われるある種の試験（例えば、溶液の pH の試験）のデータは、その試験項目が規格に含まれている場合には、出荷の際に規格要件を満たしているかどうかを判定するのに用いてもよいであろう。しかしながら、このアプローチを採用するには、試験結果や製剤の機能特性が工程内の段階から最終製品に至るまで変化しないことを示すバリデーションデータが必要である。

エ 設計時及び開発段階のデータの考慮 (Design and development considerations)

新原薬あるいは新製剤の開発段階で蓄積された経験とデータは、規格を設定するための基礎とすべきものである。これらに基づいて、ある種の試験を削除したり、別の試験に代えたりすることが可能である。次のような例が挙げられている：

- ・ 開発段階において微生物の増殖や成長がないことが示された原薬や固形製剤の微生物学的試験（フローチャート#6 及び#8 参照）
- ・ 製剤中に容器からの溶出物が認められないか、認められたとしても安全性

の基準値以下にあることが再現性良く示されている場合の製剤容器からの溶出物の試験

- ・ 粒子径の試験もこの範疇に入ると考えられるが、製品の機能との関連により、工程内試験として行われることもあるし、出荷試験として行われることもある。
- ・ 非常に水に溶解易い原薬から成る即放性の経口固形製剤の場合、常に速やかな溶出を示すことが開発段階において確かめられていれば、溶出試験を崩壊試験に代えてもよい（フローチャート#7 (1) と#7 (2) 参照）。

オ 承認申請時に得られているデータには限りがあること (Limited data available at filing)

承認申請時に得られているデータには限りがあり、それが判定基準を設定するのに影響を及ぼし得ることを考慮する必要がある。このため、その原薬や製剤が実生産されるようになって、多くのデータが得られるようになったときには、判定基準の変更が必要となることがある(例：特定の不純物の許容限度値)。承認申請時の判定基準は、基本的には安全性と有効性に焦点を当てて設定する必要がある。

当初に限られたデータしか得られなかった場合には、より多くの経験やデータが得られた時点で、当初に承認された試験方法と判定基準について可能な変更を行うという観点で見直す必要がある。この見直しには、状況に応じて、判定基準を厳しくすることも、緩くすることも含まれる。

カ パラメトリックリリース (Parametric release)

製剤については、行政当局により承認された場合には、出荷試験を型にはまった形で行う代わりに、パラメトリックリリースを行ってもよい。最終段階で滅菌を行う製剤の無菌試験がその一つの例である。この場合、各ロットの出荷は、製剤製造の最終滅菌段階での特定のパラメータ、例えば、温度、圧力及び時間が満足しうる値を示していることを確認した上で行う。これらのパラメータは、一般に、正確に測定し管理することができるので、製品の無菌性を保証する上では、限られた数の最終製品について無菌試験を行うよりも、これらのパラメータを用いたパラメトリックリリースの方が信頼性が高い。パラメトリックリリースによる出荷のプログラムには、適切な試験（例えば、化学的あるいは物理的指標を用いるもの）が含まれることもあろう。パラメトリックリリースの採用を申請するには、製品の滅菌工程が適切にバリデートされていることが前提となること、並びに定められた期間ごとに再バリデーションを行って、バリデートされた状態が維持されていることを示す必要があることに留意しなければならない。パラメトリックリリースが実施される場合にも、それによって間接的に管理されている属性（例えば、無菌性）については、その試験方法とともに、規格に設定されている必要がある。

キ 代替法 (Alternative procedures)

別の測定法によって、原薬又は製剤のある属性を承認申請書記載の方法と同等あるいはそれ以上によく管理できるようであれば、その方法を代替法として

用いてもよい。

ク 薬局方の一般試験法とその判定基準 (Pharmacopoeial tests and acceptance criteria)

日、米及び EU の薬局方には、種々の一般試験法が収載されている。適切なものがあれば、新医薬品の承認申請においても薬局方の一般試験法を利用すべきである。日、米及び EU の薬局方の間には、規定されている一般試験法やその判定基準に違いがあるため、承認申請書に記載された試験方法と判定基準を三極の行政当局がいずれも受け入れる場合にだけ、調和した規格となる。

本ガイドラインが十分に活用されるものとなるかどうかは、新原薬又は新製剤の規格に設定されることの多い幾つかの属性に関連する薬局方の一般試験法の調和がうまく行くかどうかにかかっている。欧州薬局方 (EP)、日本薬局方 (JP) 及び米国薬局方 (USP) の三者から構成される薬局方検討会議 (PDG) は、時宜にかなった形で一般試験法の調和を成し遂げることを公約した。

調和が達成された一般試験法とその判定基準については、それを用いることを適切な形で示すことにより、三極のいずれにおいても受け入れられるであろう。例えば、無菌試験法の調和が達成された後には、日本薬局方の方法を用いて得られたデータは、日本薬局方の方法それ自体及びその判定基準と同様に、三極のいずれにおける承認申請においても受け入れられるであろう。一般試験法の調和が達成されたことを示すため、各薬局方は、日、米及び EU の三薬局方に収載された当該一般試験法とその判定基準は同等であり、したがって、そのいずれを用いてもよい旨の記載をそれぞれの薬局方に適切な形で取り入れることに合意した。

本ガイドラインの全体としての価値は、日、米及び EU 三薬局方の一般試験法とその判定基準の調和の度合いと結びついたものであるため、三薬局方のいずれであろうとも調和が達成された各条や一般試験法を勝手に変更すべきでない。調和の達成された各条並びに一般試験法の改定に関する薬局方検討会議 (PDG) の取決めにおいても、「調和した旨の署名がなされた後、あるいは調和した各条や一般試験法が公布された後には、いかなる薬局方も各条や一般試験法を勝手に変更してはならない」とされている。

ケ 技術の進展 (Evolving technologies)

新しい分析技術の開発や既存の分析技術の改良は絶え間なく行われている。そうした技術の導入によって品質がこれまでよりもよく保証できると考えられる場合やその他の理由で妥当性が示される場合には、それらの技術を用いてもよい。

コ 製剤の規格に対する原薬の影響 (Impact of drug substance on medicinal product specifications)

一般に、原薬に特に関係する属性については、製剤では試験を行う必要はない。例えば、原薬で管理されており、分解生成物でないことが示された化学合成医薬品中の不純物については、通常、製剤で試験を行う必要はないと考えられる。詳細については、「2-2 新動物用医薬品の製剤中の不純物」(VICH

GL11R) を参照のこと。

サ 標準品 (Reference standard)

標準品あるいは標準物質は、定量、確認試験又は純度試験において基準として用いるために調製された物質であり、その用途に適した品質を有する必要がある。標準品は、しばしばルーチンの試験においてはあまり使われないような試験法をも用いて、その特性が解析され、意図した目的に適ったものかどうかの評価される。定量法において使用される新原薬の標準品については、どのような不純物が含まれるかが明らかにされ、それらの不純物が管理されている必要がある。また、その純度については、定量的方法により測定される必要がある。

(3) ガイドライン

ア 規格：その定義と妥当性の立証

(ア) 規格の定義

規格とは、試験方法、その試験に用いる分析法に関する記載、並びに規定した方法で試験したときの適否の判定基準（限度値、許容範囲あるいはその他の基準）から成るリストと定義される。原薬又は製剤が意図した用途にふさわしいものであるために適合すべき一組の基準である。また、「規格に適合する」とは、規定された方法に従って試験するとき、原薬や製剤がリストにあるすべての判定基準に適合することを意味する。規格は、医薬品の製造業者がその妥当性を示す資料を添付して申請し、行政当局によりその医薬品を製造するための条件として承認された遵守すべき (critical) 品質の基準である。

規格には、出荷試験として行う試験に加えて、(2) のウに規定された工程内試験、定期的試験あるいはスキップ試験並びにロットごとにいつも行うわけではないその他の試験を規定してもよい。このような場合には、申請者は、どの試験はロットごとに実施し、どの試験はロットごとには実施しないのかを、後者の場合に実際に行う試験の頻度とそうした頻度で行うことの妥当性に関する考察とともに、承認申請書添付資料に示す必要がある。なお、そのような場合にも、原薬や製剤は、試験を行えば、規定された判定基準に適合するものでなければならない。承認後の規格の変更には、行政当局の承認が必要なことに留意すべきである。

(イ) 規格の妥当性の立証

規格に設定する試験方法と判定基準については、その妥当性を示す必要がある。この妥当性は、開発段階における関連するデータ、薬局方記載の基準、毒性試験や残留試験（適切な場合）や臨床試験に用いられた原薬及び製剤のロットの試験データ、加速試験及び長期安定性試験の結果などに基づいて立証する必要がある。更に、分析並びに製造の際に起こり得るばらつきについて、その妥当な範囲を考察すべきである。上記の点のすべてについて考察することが重要である。

本ガイドラインに記載されている以外のアプローチを行ってもよい。そう

したアプローチを採用したときには、申請者はその妥当性を示す必要がある。そのような場合にも、新原薬の合成工程や新製剤の製造工程において得られたデータに基づいて、妥当性を立証する必要がある。その際には、申請された判定基準について理論的な許容幅を考察してもよいが、どのようなアプローチを用いようとも、実測データをまず第一の基本におくべきである。

申請書に記載の保存条件で行われた安定性試験やスケールアップ/バリデーションに用いられたロット、特に、基本となる安定性試験に用いたロット (primary stability batches) の試験結果についても、規格の設定とその妥当性の立証の際に考慮に入れるべきである。多数の工場での製造が計画されている場合には、当初に試験方法と判定基準を設定する際に、それらの工場でのデータを考慮に入れるようにするとよい。この点は、初期の原薬や製剤の製造の経験がどの工場においてもまだ少ないときには、特に重要である。また、代表的な一つの工場でのデータだけに基づいて試験方法と判定基準が設定される場合でも、設定された判定基準にはすべての工場で製造された原薬や製剤が適合する必要がある。

試験結果をグラフに表わすのは、特に定量値や不純物含量に関する判定基準の妥当性を示すのに役立つであろう。開発段階でのデータは、実生産工程を反映した新原薬及び新製剤のロットに関する安定性試験のデータとともに、そうした形式により記載するとよい。ある試験を規格から除外することを提案する場合には、開発段階のデータ及びプロセスバリデーションのデータに基づいて、その妥当性を示す必要がある。

イ 規格に必ず設定すべき試験方法と判定基準

以下の2項 ((3) のイとウ) に記載された勧告の実施に当たっては、「1の(1) 分析法バリデーション：定義と用語に関するガイドライン」(VICH GL1) 及び「1の(2) 分析法バリデーション：方法論に関するガイドライン」(VICH GL2) を考慮に入れる必要がある。

(ア) 新原薬

次に挙げる試験方法と判定基準は、概ねすべての新原薬に適用し得ると考えられる。

a) 性状 (Description)

新原薬の形状 (例えば、固体、液体) 及び色についての定性的な記述が必要である。保存中にこれらの特性が変化する場合には、その変化について検討を行い、適切な規格を設定すべきである。

b) 確認試験 (Identification)

確認試験は、存在すると考えられる非常に類似した構造をもつ化合物同士を識別できるようなものであることが望ましい。赤外吸収スペクトル法 (IR 法) のように、その原薬を特異的に確認できる方法とすべきである。単一条件のクロマトグラフィーの相対保持時間だけで確認する方法は特異的とはみなせないが、異なった原理に基づいて成分の分離を行う二つの条件のクロマトグラフィーを用いるものや HPLC/UV-diode array、HPLC/MS

あるいは GC/MS のように複数の方法を組み合わせて単一の分析法として
いるものは、一般的に用いてもよいであろう。確認すべき新原薬が塩であ
る場合には、個々のイオンに特異的な確認試験を設定する必要がある。塩
そのものに特異的な確認試験でもよい。確認試験は規格及び試験方法には
記載されるべきだが、安定性試験の間における検査は、確認試験が安定性
を示す指標でないのであれば、不要である。

光学活性な新原薬についても、光学特異的な確認試験を設定するか、あ
るいは光学特異的な定量法を用いる必要がある。この点に関する詳細な議
論は、本ガイドラインの（3）のウの（ア）の d）を参照のこと。

c) 定量法 (Assay)

新原薬の定量法には、保存中に出現する分解生成物によって妨害される
ことのない特異的な分析法 (specific, stability-indicating assay) を設定する
必要がある。多くの場合、原薬の定量と不純物の含量測定に同じ方法 (例
えば、HPLC 法) を採用することができる。他の試験により補完されて、
規格全体としてその原薬に特異的なものとなっている場合には、非特異的
な定量法を用いてもよい。例えば、滴定法を定量法に採用するには、適切
な不純物の試験を併せて設定する必要がある。

d) 純度試験 (Impurities)

有機・無機不純物及び残留溶媒がこの範疇に含まれる。詳しくは、「2
- 1 新動物用医薬品の原薬中の不純物」(VICH GL10R) 及び「2 - 3
不純物：新動物用医薬品、有効成分及び添加物中の残留溶媒」(VICH
GL18) を参照のこと。

フローチャート#1 は、開発段階で得られたデータに基づいて、不純物
について適切な限度値を設定するための指針を示したものである。承認申
請時には、製造工程の恒常性を評価するのに十分なだけのデータが得られ
ていることはあまりない。したがって、承認申請時のロットの実測値から
厳しい判定基準を設定するのは不適切と考えられる ((2) のオ参照)。

(イ) 新製剤 (New medicinal products)

次に挙げる試験方法と判定基準は、概ねすべての新製剤に適用し得ると考
えられる。

a) 性状 (Description)

剤形についての定性的な記述 (例えば、大きさ、形状、及び色) が必要
である。製造工程で又は保存中にこれらの特性が変化する場合には、その
変化について検討を行い、適切な措置を取るべきである。どのような性状
であれば許容し得るかを、判定基準として設定する必要がある。保存中に
色が変化する場合には、定量的な方法を用いて設定するのが適切であろう。

b) 確認試験 (Identification)

確認試験は、新製剤中の原薬を確認するものであり、存在すると考えら
れる非常に類似した構造をもつ化合物同士を識別できるようなものとすべ
きである。赤外吸収スペクトル法 (IR 法) のように、原薬を特異的に確

認できる方法とすべきである。単一条件のクロマトグラフィーの相対保持時間だけを用いて確認する方法は特異的とは見なせないが、異なった原理に基づいて成分の分離を行う二つの条件のクロマトグラフィーを用いるものや HPLC/UV- diode array、HPLC/MS あるいは GC/MS のように複数の方法を組み合わせて単一の分析法としているものは一般的に用いてもよいであろう。確認試験は規格及び試験方法には記載されるべきだが、安定性試験の間における検査は、確認試験が安定性を示す指標でないのであれば、不要である。

c) 定量法 (Assay)

新製剤の定量法には、保存中に出現する分解生成物によって妨害されることのない特異的な原薬含量の測定法 (specific, stability-indicating assay) を設定する必要がある。多くの場合、原薬の定量と不純物の含量測定に同じ方法 (例えば、HPLC 法) を採用することができる。含量均一性試験に用いられる方法が定量法としても適切な場合には、含量均一性試験の結果から製剤中の原薬の含量を求めてもよい。

他の試験により補完されて、規格全体として原薬に特異的なものとなっている場合には、非特異的な定量法を用いてもよい。例えば、適切な不純物の試験を併せて設定することにより、滴定法を出荷の際の原薬含量の測定に採用することが可能である。非特異的な定量法が医薬品添加剤による妨害を受ける場合には、特異的な方法を用いる必要がある。

d) 純度試験 (Impurities)

有機・無機不純物 (分解生成物) 及び残留溶媒がこの範疇に含まれる。詳しくは、「2-2 新動物用医薬品の製剤中の不純物」(VICH GL11R) 並びに「2-3 不純物: 新動物用医薬品、有効成分及び添加物中の残留溶媒」(VICH GL18) を参照のこと。

新原薬が分解して生成する有機不純物や製剤の製造過程において生成する不純物については、新製剤において管理されるべきである。個別規格を設定する分解生成物 (構造が既知のものも未知のものもある) の量並びに分解生成物総量について、判定基準を設定する必要がある。新原薬の合成工程に由来する不純物については、通常、原薬を試験することにより管理されているので、新製剤の規格には不純物総量の限度値を設定する必要はない。しかしながら、合成工程由来の不純物であっても、それが分解生成物でもある場合には、その存在レベルを把握し、分解生成物総量に加える必要がある。適切な分析法を用いることにより、承認申請書記載の処方と保存条件の下で、原薬が分解を起こさないことが明確に示された場合には、行政当局の了承を得た上で、分解生成物の試験を削減あるいは削除してもよい。

フローチャート#2 は、開発段階で得られたデータに基づいて、分解生成物について適切な限度値を設定するための指針を示したものである。承認申請時には、製造工程の恒常性を評価するのに十分なだけのデータが得

られていることはあまりない。したがって、承認申請時のロットの実測値から厳しい判定基準を設定するのは不適切と考えられる((2)のオ参照)。

ウ 原薬や製剤の各剤形の特성에応じて設定すべき試験方法と判定基準

上述の規格に必ず設定すべき試験の他に、下記のような試験を規格に設定することをケースバイケースで考慮する。原薬や製剤の品質をロットごとに管理していく上で重要な試験については、その試験方法と判定基準を規格に設定する必要がある。下記以外の試験についても、場合によっては、あるいは新しい知見が得られるようになったときには、設定が必要となることがある。

(ア) 新原薬 (New Drug Substances)

a) 物理的・化学的性質 (Physicochemical properties)

水溶液の pH、融点又は融解範囲、屈折率のような性質を指す。これらの性質の測定に用いられている方法は、通常、独特のものではあるが、例えば、毛細管による融点測定やアッペ屈折計などのように、その測定にはそれほど習熟を必要としない。この範疇において、どのような試験を設定するかは、新原薬の物理的性質とそれをどのような用途に使おうとしているかを考慮して、決める必要がある。

b) 粒子径 (Particle size)

固形又は懸濁形の製剤に使われる新原薬では、その粒子径が溶出率、バイオアベイラビリティ、適切な場合は残留期間 (residue depletion) 及び安定性に著しい影響を及ぼすことがある。このような場合には、適切な粒子径分布の試験方法と判定基準を規格に設定する必要がある。

フローチャート#3 は、粒子径の試験を規格に設定するかどうかを考察するときの指針を示したものである。

c) 結晶多形 (Polymorphic forms)

新原薬の中には、物理的性質の異なる二つ以上の結晶形で存在するものがある。結晶多形には、溶媒和物あるいは水和物 (擬多形とも呼ばれる) や無晶形も含まれる。こうした固体状態の違いが、新製剤の品質や機能に影響を及ぼすことがある。そうした違いが、製剤機能、バイオアベイラビリティ、適切な場合は残留期間又は安定性に影響を及ぼすような場合には、新原薬の規格に適切な存在形を規定すべきである。

結晶多形が存在するかどうかを調べるには、通常、物理化学的な測定技術が用いられる。そうした方法の例としては、ホットステージ顕微鏡法を含む融点測定、固体状態での IR 測定、粉末 X 線回折法、(DSC、TGA、DTA のような) 熱分析法、ラマンスペクトル法、光学顕微鏡法及び固体状態の NMR 測定が挙げられる。

フローチャート#4 (1) ~#4 (3) は、どういったときに、どのようにして、結晶形を規格に設定して管理する必要があるかについての指針を示したものである。

注：これらのフローチャートは、順序立てて用いるべきである。

まず、フローチャート#4 (1) と#4 (2) は、原薬に結晶多形が存在す

るかどうか、また、結晶形の違いが製剤機能に影響を与え得るかどうかを検討するものである。次に、フローチャート#4 (3)。このフローチャートは、製剤中において結晶形間で変化が起こる可能性、及びそうした変化が製剤機能に影響を与えるかどうかを検討するためのものである。

一般に、製剤中において結晶形間で変化が起こっているかどうかを調べるのは技術的に非常に難しい。ゆえに、一般に、その代替となる試験（例えば、溶出試験）（フローチャート#4 (3) 参照）が製剤機能を管理するために用いられている。代替法が使用できない場合には、結晶形の含量を直接測定する。

d) 光学活性な新原薬の試験 (Tests for chiral new drug substances)

新原薬がほぼ対掌体の一方だけから成る場合であっても、もう一方の対掌体（原薬の鏡像体）は、「2-1 新動物用医薬品の原薬中の不純物」(VICH GL10R) 及び「2-2 新動物用医薬品の製剤中の不純物」(VICH GL11R) に規定された安全性の確認並びに構造決定の閾値の対象とされていない。その理由は、それらのレベルにおけるそうした対掌体の不純物含量の測定が実際上難しいためである。しかしながら、測定が可能な場合には、光学活性な新原薬及びそれを用いて製造される新製剤中に含まれるキラルな不純物については、これら二つのガイドラインに規定された原則に従って取り扱われるべきである。

フローチャート#5 は、下記の観点に立って、どんなときにどんな光学特異的な確認試験や定量法並びにキラルな不純物の試験が必要とされるかについての指針を、新原薬と新製剤の両者についてまとめたものである。

《原薬》

純度試験（不純物）：対掌体の一方をキラルな医薬品として開発する場合には、その鏡像体を通常の不純物の場合と同様の考え方で管理する必要があるが、技術的な限界から、その含量測定や安全性の確認を通常の不純物と同じレベルで行うことができないこともある。出発物質あるいは中間について適切な試験を行うことにより、そうした不純物を管理してもよいが、そうした場合には、その妥当性を示す必要がある。

定量法：原薬である対掌体を選択的に定量できる方法を規格に設定する。それには、光学特異的な定量法を用いてもよいし、光学特異的でない定量法と原薬の鏡像体を適切に管理し得る方法とを組合せて用いてもよい。

確認試験：対掌体の一方を医薬品として開発する場合には、対掌体同士及びそのラセミ体を識別できる確認試験を設定する必要がある。原薬がラセミ体の場合でも、下記の二つのケースでは、出荷や適否判定の際の試験には立体特異的な確認試験が適切と考えられる：(1) ラセミ体に代わって対掌体が用いられようになる可能性がかなり大きい場合、又は、(2) 結晶化により、非ラセミ的な混合物が図らずもできてしまう可能性を示す証拠がある場合

《製剤》

純度試験（分解生成物）：製剤の製造過程や保存中におけるラセミ化が問題にならないことが示されない限り、製剤中に含まれる原薬の鏡像体の量を管理する必要があると考えられる。

定量法：製剤の製造過程や保存中におけるラセミ化が問題にならない場合には、光学特異的でない定量法を用いてもよいと思われる。ラセミ化が問題になる場合には、光学特異的な定量法を用いる必要があるが、光学特異的でない定量法と原薬の鏡像体を適切に管理し得るバリデートされた方法とを組合せて用いてもよい。

確認試験：製剤の出荷規格には、通常、立体特異的な確認試験は必要とされない。製剤の製造過程や保存中におけるラセミ化が問題にならない場合には、原薬の規格に光学特異的な確認試験が設定してあればよいと考えられる。また、製剤中でのラセミ化が懸念される場合にも、製剤の光学特異的な定量法、あるいはキラルな不純物試験により原薬の同一性を立証することができる。

e) 水分含量 (Water content)

新原薬が吸湿性である場合、水分により分解される場合又は原薬が化学量論的な水和物である場合には、水分含量の試験が重要である。その判定基準については、水和や水分の吸収が原薬に及ぼす影響を考慮して、妥当なレベルに設定するとよい。試験方法としては、乾燥減量試験法でもよい場合もあるが、水分を特異的に測定する方法（例えば、カールフィッシャー法）が望ましい。

f) 無機不純物 (Inorganic impurities)

無機の不純物（例えば、触媒）についての試験方法と判定基準を規格に含めるかどうかは、開発段階において、製造工程に関する知識を基に検討する。強熱残分試験の方法と判定基準については、薬局方の方法に従う。妥当性がある場合には、無機不純物は、他の適切な方法、例えば、原子吸光スペクトル法を用いて測定してもよい。

g) 微生物限度 (Microbial limits)

好気性菌の総数、かびと酵母の総数、及び特定の好ましからざる細菌（例えば、黄色ブドウ球菌、大腸菌、サルモネラ、緑膿菌）が存在しないことを規格に設定する必要がある。これらは、薬局方の方法により測定できる。どのような微生物試験法と判定基準を設定するかは、原薬の性質、製剤の製造方法、及びその製剤をどのような用途に使用しているかに基づいて決める必要がある。例えば、無菌的に製造されている原薬には、無菌試験が適当であろうし、注射剤を製造するのに用いられる原薬には、エンドトキシン試験が適当であろう。フローチャート#6 は、微生物の限度を設定する場合の指針を示したものである。

(イ) 新製剤 (New medicinal products)

新製剤には、一般に、その剤形の特性に応じて、幾つかの項目について試験方法と判定基準を追加設定する必要がある。種々の剤形の中から、経口固

形製剤、経口液状製剤並びに注射剤（小容量及び大容量）の三つの剤形を代表例として選び、それらにふさわしい項目の試験方法と判定基準を以下に示した。他の剤形に対しても、本ガイドラインの考え方を拡張して適用することが推奨される。製剤における光学活性な原薬並びに固体状態での存在形の取扱いについては、(3)のウの(ア)を参照のこと。

ア) 経口固形製剤 (Solid oral medicinal products)

下記の試験は、錠剤（素錠、コーティング錠）と硬カプセル剤に適用し得る。このうちの幾つかは軟カプセル剤、粉剤及び顆粒剤にも適用し得ると思われる。

a) 溶出性 (Dissolution)

経口固形製剤の規格には、通常、製剤からの薬物の放出性を測定する試験が含まれる。即放性製剤 (immediate-release dosage forms) には、通常、1時点での溶出率の測定が適当と考えられる。放出調節製剤 (modified-release dosage forms) には、適切な試験条件及びサンプリング法を設定する必要がある。例えば、徐放性製剤 (extended-release dosage forms) については、複数時点でサンプリングする必要があるし、放出遅延製剤 (delayed-release dosage forms) では、2段階試験（一つの試料について2種の試験液で続けて試験する、又は、二つの試料について別々の試験液で試験するのいずれか適切な方法による）が適当であろう。場合によっては、溶出試験の代わりに崩壊試験を用いてもよい（(3)のウの(イ)の(ア)のb)) 崩壊性の項並びにフローチャート#7 (1) 参照）。

溶出速度の変化がバイオアベイラビリティに著しい影響を与えることが示された即放性製剤については、許容できないバイオアベイラビリティを示すロットを識別し得る試験条件を設定することが望ましい。また、製剤処方の変化あるいは製造工程の種々の因子の変化が溶出性に著しい影響を与え、そうした変化が規格の他の項目によってコントロールし得ない場合にも、それらの変化を識別できる溶出試験の条件を採用するのが適当であろう（フローチャート#7 (2) 参照）。

溶出性がバイオアベイラビリティに著しい影響を与える場合、許容できないバイオアベイラビリティを示すロットを排除し得るような試験条件と判定基準を設定する必要がある。溶出性がバイオアベイラビリティに影響しないならば、臨床上、許容可能なロットが適合するような試験条件と判定基準を設定すべきである（フローチャート#7 (2) 参照）。

徐放性製剤については、異なった溶出速度を示す製剤のバイオアベイラビリティのデータがあれば、*in vitro/in vivo* 相関に基づいて判定基準を設定することが可能である。そうしたデータがなく、かつ、薬物の放出が *in vitro* の試験条件に依存しないとは言い切れないときには、得られている実測データに基づいて判定基準を設定する必要がある。各測定時点における平均溶出率の変動の許容範囲は、通常、特に広くても問題

がないことを示す生物学的同等性試験のデータがない限り、表示量の±10%以内（全許容範囲として20%）とすべきである（例えば、50±10%との規定は40～60%の許容範囲を意味する）（フローチャート#7（3）参照）。

b) 崩壊性 (Disintegration)

生理学的範囲の全 pH 領域で高い溶解度を示す (pH1.2 ~ 6.8 又は特殊な動物種に適切な pH の範囲で、1 回投与量/薬物の溶解度の比が 250mL 以下) 薬物を含み、速やかな溶出を示す (pH1.2、4.0、及び 6.8 又は特殊な動物種に適切な pH における 15 分後の溶出率が 80 %を超える) 製剤では、溶出試験の代わりに崩壊試験を用いてもよいと思われる。崩壊性と溶出性の間に関連が認められる場合、又は崩壊試験の方が溶出試験よりも製剤間の差の識別性が優れている場合には、崩壊試験の方が適している。こうした場合には、溶出試験を適用する必要はないと思われる。処方や製造工程の変動によって製剤からの薬物の溶出が影響を受けない場合には、溶出試験でなく崩壊試験で十分であろう。このことは、製剤の開発過程で得られた情報に基づいて決めることができよう（フローチャート#7（1）参照）。

c) 硬度/摩損度 (Hardness / friability)

硬度や摩損度の試験については、通常、工程内試験（(2) のウ参照）として実施するのが適当であり、規格に設定する必要はない。しかしながら、例えば、かみ砕き錠 (chewable tablet) の場合のように、硬度や摩損度が製剤の品質に大きな影響を及ぼす場合には、判定基準を規格に設定する必要がある。

d) 投与単位の均一性 (Uniformity of dosage units)

本項目には、製剤の質量及び製剤中の有効成分の含量の両者が含まれる。試験は、薬局方の方法を用いて行う必要がある。一般に、これらのいずれかが規格に設定されるが、両方とも設定する必要はない。これらの試験は、そうするのが適切な場合には、工程内試験として実施してもよいが、その場合にも判定基準を規格に設定しておく必要がある。含量が質量偏差試験により均一性を試験することが許容される薬局方などで定めた閾値を超えている新製剤に質量偏差試験を適用しようとする場合においても、申請者は、その医薬品の開発段階において、その製剤が十分均質であることを確かめておく必要がある。

e) 水分含量 (Water content)

水分含量の試験については、必要な場合に設定する。その判定基準については、水和や水分の吸収が製剤に及ぼす影響を考慮して、妥当なレベルに設定するとよい。試験方法としては、乾燥減量試験法でもよい場合もあるが、水分を特異的に測定する方法（例えば、カールフィッシャー法）が望ましい。

f) 微生物限度 (Microbial limits)

微生物限度試験は、品質保証にかかわる属性であるのと同時に、GMPにかかわる属性でもある。一般に、各製造原料について微生物の試験が行われており、かつ、製剤の製造工程において微生物による汚染や増殖が起きないことが確かめられている場合を除いて、最終製剤について本試験を行う必要がある。本ガイドラインは、医薬品添加剤を直接対象とするものではないが、ここで述べた原則は、新製剤だけでなく医薬品添加剤にも適用できよう。なお、許容される場合には、新製剤と医薬品添加剤のいずれにおいても、本試験をスキップ試験として取り扱うことができよう（医薬品添加剤の微生物試験については、フローチャート#6を参照のこと）。

好気性菌の総数、かびと酵母の総数、及び特定の好ましからざる細菌（例えば、大腸菌とサルモネラ；薬局方の要件（Pharmacopoeial requirements）に従って更なる微生物の試験が必要とされる場合がある）が存在しないことを判定基準として規格に設定する必要がある。試験は、薬局方の方法を用い、経験とデータを基に適切に設定された頻度あるいは時点で検体を採取することにより、適切に行われなければならない。どのような微生物試験法と判定基準を設定するかは、原薬の性質、製剤の製造方法、並びにその製剤をどのような用途に使用しているかに基づいて決める必要がある。科学的に妥当と考えられる理由があれば、経口固形製剤の微生物限度試験は設定しなくてもよい。

フローチャート#8 は、微生物の限度を設定する場合の指針を示したものである。

イ) 経口液状製剤 (Oral liquids)

通常、次の試験の幾つかは、経口液状製剤及び経口液状製剤調製用の粉末製剤に、その特性に応じて適用される。

a) 投与単位の均一性 (Uniformity of dosage units)

本項目には、製剤の質量及び製剤中の有効成分の含量の両者が含まれる。試験は、薬局方の方法を用いて行う必要がある。一般に、これらのいずれかが規格に設定されるが、両方とも設定する必要はない。含量が質量偏差試験により均一性を試験することが許容される薬局方などで定めた閾値を超えている新製剤に質量偏差試験を適用しようとする場合においても、申請者は、その医薬品の開発段階において、その製剤が十分均質であることを確かめておく必要がある。

これらの試験は、そうするのが適切な場合には、工程内試験として実施してもよいが、その場合にも判定基準を規格に設定しておく必要がある。この概念は、単回投与の包装のものにも、多回に分けて投与する包装のものにも適用されよう。

投与単位としては、投与される動物への代表的な投与量を与える。実際の投与単位が別途管理されている場合には、その量を直接測定するか、又は医薬品の総投与量（容量又は質量）を投与回数で割り、計算により

求める。点滴器や瓶に付属の点滴チップのような投薬分配用具（dispensing equipment）が使用され、それが投薬上重要な役割を果たす場合には、その分配用具を用いて投与量を測定すべきである。さもなければ、標準計量器を用いる必要がある。どのような投薬分配用具を用いるのがよいかは、通常、開発段階で検討されて決められる。

経口液状製剤調製用の粉末製剤には、一般に、質量均一性（質量偏差）試験を適用することでよいと思われる。

b) pH

必要な場合には、pH の許容範囲を設定し、その妥当性を示す必要がある。

c) 微生物限度（Microbial limits）

微生物限度試験は、品質保証にかかわる属性であるのと同時に、GMPにかかわる属性でもある。一般に、各製造原料について微生物の試験が行われており、かつ、製剤の製造工程において微生物による汚染や増殖が起きないことが確かめられている場合を除いて、最終製剤について本試験を行う必要がある。本ガイドラインは、医薬品添加剤を直接対象とするものではないが、ここで述べた原則は、新製剤だけでなく医薬品添加剤にも適用できよう。なお、許容される場合には、新製剤と医薬品添加剤のいずれにおいても、本試験をスキップ試験として取り扱うことができよう。科学的に妥当と考えられる理由があれば、経口液状製剤調製の粉末製剤の微生物限度試験は設定しなくてもよいと思われる。好気性菌の総数、かびと酵母の総数、並びに特定の好ましからざる細菌（例えば、大腸菌とサルモネラ；薬局方の要件（Pharmacopoeial requirements）に従って更なる微生物の試験が必要とされる場合がある）が存在しないことを判定基準として規格に設定する必要がある。試験は、薬局方の方法を用い、経験とデータを基に適切に設定された頻度又は時点で検体を採取することにより、適切に行われなければならない。

フローチャート#8 は、微生物の限度を設定する場合の指針を示したものである。

d) 抗菌性保存剤含量（Antimicrobial preservative content）

抗菌性保存剤の添加が必要な経口液状製剤には、保存剤含量の判定基準の設定が必要である。保存剤含量の判定基準は、申請された使用法と有効期間のいずれの段階においても製剤の微生物学的品質を維持し得る抗菌性保存剤のレベルに基づいて設定すべきである。薬局方の保存効力試験法により、抗菌性保存剤の下限值濃度においても、微生物の繁殖抑制に効果的であることを確認しておく必要がある。

抗菌性保存剤含量の試験は、通常、出荷時に行う必要があるが、場合によっては、出荷試験の代わりに工程内試験として行うことも可能である。そのような場合にも、判定基準は規格に設定しておくべきである。

通常、保存剤含量の化学試験が規格に設定されるが、開発の過程でも、

また、有効期間や使用期間を通じて（例えば、安定性試験において「8-1 動物用新原薬及び製剤の安定性試験」（VICH GL3R）参照）、微生物に対する効力があることを示す必要がある。

e) 抗酸化保存剤含量 (Antioxidant preservative content)

抗酸化剤含量の試験は、通常、出荷試験として行われるが、開発段階や安定性試験のデータから妥当と判断される場合には、有効期間中の含量を保証する試験は不必要である。また、許容される場合には、出荷試験の代わりに工程内試験として行ってもよいが、そのような場合にも、判定基準は規格に設定しておく必要がある。出荷試験だけを行うことにした場合、製造方法あるいは容器（被包）を変更しようとするときには、有効期間中の含量を保証する試験を省いたままでよいか検討し直す必要がある。

f) 溶出物 (Extractables)

一般に、開発段階や安定性試験のデータから、容器（被包）からの溶出物が安全性の観点から許容しうるレベルよりも常に低いレベルにあると評価できる場合には、本試験は、通常、規格に設定する必要はないと思われる。容器（被包）、あるいは製剤の処方を変更するときには、本試験が必要ないか検討し直す必要がある。

本試験を必要とするデータがある場合には、容器（被包）の構成物（例えば、ゴム栓、キャップの裏蓋、プラスチック瓶など）からの溶出物について、試験方法と判定基準を設定する必要がある。本試験は、ガラス以外の素材でできた容器又はガラス以外の素材でできた栓を付けたガラス製の容器に入った経口液状製剤の場合に設定を考える必要がある。容器の構成物をリストアップしておき、開発のできるだけ早い段階でこれらの構成物に関するデータをまとめておくべきである。

g) 溶出性 (Dissolution)

上記の各項目に加えて、難溶性の原薬を含む経口の懸濁剤及び懸濁用の乾燥粉末製剤には、溶出試験とその判定基準を設定する必要がある場合がある。溶出試験は出荷時に行う必要があるが、製品の開発段階でのデータによりその妥当性が示される場合には、本試験は工程内試験として行ってもよい。溶出試験の装置、試験液及び試験条件は、薬局方の方法に従うことが望ましい。それ以外の方法を用いる場合には、妥当性を示す必要がある。溶出試験の方法については、薬局方記載の装置や条件を用いた場合であれ、それ以外の装置や条件を用いた場合であれ、バリデートされる必要がある。

即放性製剤 (immediate-release dosage forms) には、通常、1時点での溶出率の測定が適切と考えられる。放出調節製剤 (modified-release dosage forms) については、適切な間隔において複数時点でサンプリングを行う必要がある。判定基準は、観測された溶出の変動範囲に基づき、*in vivo* で許容される挙動を示すロットの溶出プロファイルを考慮して、設定さ

れる必要がある。溶出試験と粒子径分布（粒度）の試験のいずれを設定すべきかは、開発段階でのデータを参考にして決めるべきである。

h) 粒子径分布（粒度）（Particle size distribution）

経口の懸濁剤には、粒子径分布（粒度）を測定する試験方法と定量的な判定基準を設定する必要がある。溶出試験と粒子径分布（粒度）の試験のいずれを設定するかは、開発段階でのデータを参考にして決めるべきである。

粒子径分布（粒度）の試験は出荷時に行う必要があるが、製品の開発段階でのデータにより妥当性が示される場合には、本試験は工程内試験として行ってもよい。開発段階において、速やかな溶出を示すことが明らかにされている製剤については、粒子径分布（粒度）の試験を規格に設定しなくてもよいであろう。粒子径分布（粒度）の試験は、妥当性が示されるならば、溶出試験の代わりに用いることができる。

判定基準には、規定された粒子径の範囲内にある粒子数の百分率として粒子径分布（粒度）の許容範囲を設定する。粒子径の平均、上限及び／又は下限について、それぞれ限度値を設定する必要がある。判定基準は、観測された変動範囲に基づき、*in vivo* で許容される挙動を示すロットの溶出プロファイルを考慮して、設定する必要がある。粒子の成長の可能性については、開発段階で検討しておき、その結果を考慮に入れて判定基準を設定する。

i) 再分散性（Redispersibility）

保存中に液が澄んでくる（粒子が沈殿する）経口の懸濁剤については、再分散性について判定基準を設定する必要がある。再分散性の試験としては、振とうするのが適していると思われるが、その方法（機械的振とう法又は手で振とうする方法）及び再分散に要する時間を規定する必要がある。開発段階のデータから妥当性が示される場合には、本試験をスキップ試験とすることや規格に設定しないことも可能である。

j) 流動学的性質（Rheological properties）

粘稠な液状製剤又は懸濁剤には、流動学的性質（粘度／比重）の試験方法とその判定基準を規格に設定する必要がある。開発段階のデータから妥当性が示される場合には、本試験をスキップ試験とすることや規格に設定しないことも可能である。

k) 再調製時間（Reconstitution time）

経口液状製剤調製用の乾燥粉末製剤には、再調製時間の判定基準を設定する必要がある。希釈剤については、その選択の妥当性を示すべきである。開発段階のデータにより妥当性があると考えられる場合には、本試験をスキップ試験とすることや規格に設定しないことも可能である。

l) 水分含量（Water content）

経口液状製剤調製用の粉末製剤には、必要に応じて水分含量の試験方法と判定基準を設定する必要がある。製品開発段階で、吸着水と水和水

の影響が明らかにされているならば、一般には乾燥減量試験法で十分と思われるが、水分を特異的に測定する方法（例えば、カールフィッシャー滴定法）が望ましい場合がある。

ウ) 注射剤 (Parenteral medicinal products)

次のような試験が注射剤に適用される。

a) 投与単位の均一性 (Uniformity of dosage units)

本項目には、製剤の質量及び製剤中の有効成分の含量の両者が含まれる。試験は、薬局方の方法を用いて行う必要がある。一般に、これらのいずれかが規格に設定されるが、両方とも設定する必要はない。本規格は、注射剤調整用の粉末に適用し得る。含量が質量偏差試験により均一性を試験することが許容される薬局方などで定めた閾値を超えている新製剤に質量偏差試験を適用しようとする場合においても、申請者は、その医薬品の開発段階において、その製剤が十分均質であることを確かめておく必要がある。

これらの試験は、そうするのが適切な場合 ((2) のウ参照) には、工程内試験として実施してもよいが、その場合にも判定基準を規格に設定しておく必要がある。この概念は、単回投与の包装のものにも、多回に分けて投与する包装のものにも適用されよう。注射剤調製用の粉末製剤には、一般に、質量均一性 (質量偏差) 試験を適用することでよいと思われる。

b) pH

必要な場合には、pH の許容範囲を設定し、その妥当性を示す必要がある。

c) 無菌性 (Sterility)

すべての注射剤には、その無菌性を評価するための試験方法と判定基準を設定する必要がある。開発段階のデータや滅菌工程のバリデーションデータにより、その妥当性が示される場合には、最終的に滅菌される製剤にパラメトリックリリースを適用することが可能である ((2) のカ参照)。

d) エンドトキシン/発熱性物質 (Endotoxins/Pyrogens)

申請する地域の要件に従って、リムルス試験のような方法を用いて、エンドトキシンの試験方法と判定基準を規格に設定する必要がある。妥当性が示されるならば、エンドトキシン試験の代わりに発熱性物質試験を設定してもよい。

e) 不溶性微粒子 (Particulate matter)

注射剤には、不溶性微粒子についての適切な判定基準を設定する必要がある。この判定基準には、通常、目に見えない微粒子 (sub-visible particulates) の判定基準とともに、目に見える微粒子 (visible particulates) や溶液の澄明度の判定基準のうちの適切なものが含まれる。

f) 水分含量 (Water content)

非水性の注射剤及び注射剤調製用の粉末製剤については、必要に応じて水分含量の試験方法と判定基準を設定する必要がある。製品開発段階で、吸着水と水和水の影響が明らかにされているならば、一般には乾燥減量試験法で十分と思われるが、水分を特異的に測定する方法（例えば、カールフィッシャー滴定法）が望ましい場合がある。

g) 抗菌性保存剤含量 (Antimicrobial preservative content)

抗菌性保存剤の添加が必要な注射剤には、保存剤含量の判定基準の設定が必要である。保存剤含量の判定基準は、申請された使用法と有効期間のいずれの段階においても製剤の微生物学的品質を維持し得る抗菌性保存剤のレベルに基づいて設定すべきである。薬局方の保存効力試験法により、抗菌性保存剤の下限值濃度においても、微生物の繁殖抑制に効果的であることを確認しておく必要がある。

抗菌性保存剤含量の試験は、通常、出荷時に行う必要があるが、場合によっては、出荷試験の代わりに工程内試験として行うことも可能である。そのような場合にも、判定基準は規格に設定しておくべきである。

通常、保存剤含量の化学試験が規格に設定されるが、開発の過程でも、また、有効期間や使用期間を通じて（例えば、安定性試験において「8-1 動物用新原薬及び製剤の安定性試験」(VICH GL3R) 参照)、微生物に対する効力があることを示す必要がある。

h) 抗酸化保存剤含量 (Antioxidant preservative content)

抗酸化保存剤含量の試験は、通常、出荷試験として行われ、開発段階や安定性試験のデータから妥当と判断される場合には、有効期間中の含量を保証する試験は不必要である。また、許容される場合には、出荷試験の代わりに工程内試験として行ってもよいが、そのような場合にも、判定基準は規格に設定しておく必要がある。出荷試験だけを行うことにした場合、製造方法あるいは容器（被包）を変更しようとするときには、有効期間中の含量を保証する試験を省いたままでよいか検討し直す必要がある。

i) 溶出物 (Extractables)

注射剤の場合、容器（被包）からの溶出物を管理することは、経口液状製剤の場合よりもずっと大切である。しかしながら、開発段階や安定性試験のデータから、容器や栓からの溶出物が安全性の観点から許容しうるレベルよりも常に低いレベルにあると評価できる場合には、本試験は、通常、規格に設定する必要はないと思われる。容器（被包）、あるいは製剤の処方を変更するときには、本試験が必要ないか検討し直す必要がある。

本試験を必要とするデータがある場合には、容器（被包）の構成物からの溶出物について、試験方法と判定基準を設定する必要がある。本試験は、ガラス以外の素材でできた容器あるいはゴム栓を付けたガラス製の容器に入った注射剤の場合に設定を考える必要がある。開発段階で得

られたデータにより妥当性が示されている場合には、出荷時にだけ試験を行えばよい。容器の構成物（例えば、ゴム栓など）をリストアップしておき、開発のできるだけ早い段階でこれらの構成物に関するデータを集めておくべきである。

j) 投与システムの機能性試験 (Functionality testing of delivery system)

あらかじめ薬液を入れた注射筒、自己注射用カートリッジ、又はそれらと同等のものに充填された注射剤には、投与システムの機能性についての試験方法と判定基準を設定する必要がある。この判定基準には、注射筒の操作性、圧力、密閉性（漏れ）とともに **tip cap removal force**（チップとキャップの脱離強度）、**piston release force**（ピストンの初動抵抗）、**piston travel force**（ピストンの摺動抵抗）及び **power injector function force** のようなパラメータの管理も含まれる。場合によっては、これらの試験は工程内試験として行うことができる。開発段階のデータから妥当性が示される場合には、本試験をスキップ試験とすることや幾つかあるいはすべての項目を規格に設定しないことも可能である。

k) 浸透圧 (Osmolality)

等張性をラベルに表示する製品には、その浸透圧を適切に管理する必要がある。開発段階のデータにより妥当性があると考えられる場合には、試験を工程内試験、スキップ試験又は直接計算により本属性を求めることにより行うことが可能である。

l) 粒子径分布 (粒度) (Particle size distribution)

注射用の懸濁剤には、粒子径分布 (粒度) を測定する試験方法と定量的な判定基準を設定する必要がある。溶出試験と粒子径分布 (粒度) の試験のいずれを設定するかは、開発段階でのデータを参考にして決めるべきである。粒子径分布 (粒度) の試験は出荷時に行う必要があるが、製品の開発段階でのデータにより妥当性が示される場合には、本試験は工程内試験として行ってもよい。開発段階において、速やかな溶出を示すことが明らかにされている製剤については、粒子径分布 (粒度) の試験を規格に設定しなくてもよいであろう。

開発段階において、粒子径が薬物放出性に影響を与える重要な因子であることが明らかにされている場合には、その妥当性を示した上で、粒子径分布 (粒度) の試験を溶出試験の代わりに用いることができる。判定基準には、規定された粒子径の範囲内にある粒子数の百分率として粒子径分布 (粒度) の許容範囲を設定する。粒子径の平均、上限及び／又は下限について、それぞれ限度値を設定する必要がある。

判定基準は、観測された変動範囲に基づき、*in vivo* で許容される挙動を示すロットの溶出プロファイル及びその製剤をどのような用途に使用しているかを考慮して設定する必要がある。粒子の成長の可能性については、開発段階で検討しておき、その結果を考慮に入れて判定基準を設定する。

m) 再分散性 (Redispersibility)

保存中に液が澄んでくる（粒子が沈殿する）注射用の懸濁剤については、再分散性について判定基準を設定する必要がある。再分散性の試験としては、振とうするのが適していると思われるが、その方法（機械的振とう法又は手で振とうする方法）並びに再分散に要する時間を規定する必要がある。開発段階のデータから妥当性が示される場合には、本試験をスキップ試験とすることや規格に設定しないことも可能である。

n) 再調製時間 (Reconstitution time)

すべての注射剤調製用の乾燥粉末製剤には、再調製時間の判定基準を設定する必要がある。希釈剤については、その選択の妥当性を示すべきである。製品開発並びに製造工程のバリデーションの段階のデータから妥当性があると考えられる場合には、本試験をスキップ試験とすることや速やかな溶出を示す製剤については、規格に設定しないことが可能である。

(4) 用語集

規格値／判定基準 (Acceptance criteria) : 試験の結果が受け入れられるかどうかを判定するための限度値、許容範囲、その他の適切な基準

キラル (Chiral) : 分子、立体配位、あるいは（結晶のような）巨視的物体において、自身の鏡像と重ね合わせられないこと。この用語は、キラルな分子構造をもつものには、それがラセミ体となっても拡張して使われている。

配合剤 (Combination product) : 2種以上の原薬を含む製剤

分解生成物 (Degradation product) : 経時的に、又は光、熱、pH、水分などの作用により、又は医薬品添加剤や直接容器（被包）との反応により、引き起こされた薬物分子の化学的変化から生じる分子のこと。Decomposition product とも呼ばれる。

放出遅延 (Delayed release) : 経口投与の直後ではなく、時間が経ってから薬物の放出を示すこと。

対掌体 (Enantiomers) : 同じ分子式をもつが、分子内の原子の空間的配列が異なっていて、重ね合わせることのできない鏡像関係にある二つの化合物を指す。

徐放性 (Extended release) : 製剤的な工夫により、投与後、長時間にわたって薬物が体内で利用されるような放出性

非常に水に溶解しやすい薬物 (Highly water soluble drugs) : pH1.2 ~ 6.8 又は特殊な動物種に適切な pH を含む全 pH 領域で、1回投与量／薬物の溶解度の比が 250mL 以下の薬物（例：化合物 A は、pH6.8、 37 ± 0.5 °C において 1.0mg /mL という最も低い溶解度を示し、100mg、200mg、400mg の含量の製剤があるとする。この薬物は、1回投与量／薬物の溶解度の比が $400\text{mg}/1.0\text{mg}/\text{mL} = 400\text{mL}$ となって、250mL よりも大となるため、溶解度の低い薬物とみなされる。）

即放性 (Immediate release) : 薬物の溶出や吸収を意図的に遅延させたり延長させたりしていない製剤からの消化管内における薬物の放出性

不純物 (Impurity) :

- 1 新原薬として規定された化学物質以外の新原薬の構成成分
- 2 原薬として規定された化学物質あるいは医薬品添加剤以外の製剤の構成成分

構造決定された不純物 (Identified impurity) : 化学構造を決定することができた不純物

工程内試験 (In-process tests) : 出荷の際に行われる一連の正式な試験の一部としてではなく、原薬や製剤の製造工程において実施される試験のこと。

放出調節 (Modified release) : 溶液や即放性製剤のような通常の剤形では得られない治療上又は利便上の目的が達成できるように、製剤からの薬物の放出—時間プロファイル及び/又は放出部位を制御すること。放出調節経口固形製剤には、放出遅延製剤と徐放性製剤が含まれる。

新動物用製剤 (New veterinary medicinal product) : これまである地域又はメンバーとなっている国で承認されたことがない医薬品製剤 (錠剤、カプセル、液状製剤、クリームなど)、これは新又は既存医薬品成分を含有しており、一般的には1種の医薬品成分を含有している。医薬品添加剤は含まれないこともある。

新動物用原薬 (New veterinary drug substance) : これまである地域又はメンバーとなっている国で承認されたことがなく、新しく承認されるに当たって適応症の定められた動物のための疾病治療用の物質で、new molecular entity 又は new chemical entity とも呼ばれる。既に承認された原薬の錯体、エステル、塩である場合もある。

結晶多形 (Polymorphism) : 同じ原薬に異なった結晶形が存在すること。本ガイドラインでは、溶媒和物や水和物 (擬多形とも呼ばれる) や無晶形も含めて取り扱う。

品質 (Quality) : 原薬又は製剤の意図した用途への適切さのこと。同一性、含量、物質の純度のような特性を指すこともある。

ラセミ体 (Racemate) : 対掌体分子同士の間モルの複合物 (固体、液体、気体の状態で、あるいは溶液中において) のこと。光学活性を示さない。

速やかな溶出を示す製剤 (Rapidly dissolving products) : 原薬の表示量の 80 %以上が、(1) pH1.2、(2) pH4.0、(3) pH6.8 又は特殊な動物種の適切な pH のいずれの試験液中においても 15 分以内に溶出するとき、即放性の経口固形製剤は速やかな溶出を示す製剤とみなされる。

試薬 (Reagent) : 新原薬の製造に使用された出発物質及び溶媒以外の物質

溶媒 (Solvent) : 新原薬の合成又は新製剤の製造において、溶液又は懸濁液を調製するための媒体として使用される無機又は有機の液体

規格及び検査方法 (Specification) : 試験方法、その試験に用いる分析法に関する記載、並びにその方法で試験したときの適否の判定基準 (限度値、許

容範囲あるいはその他の基準) から成るリスト。原薬又は製剤が意図した用途にふさわしいものであるために適合すべき一組の基準である。また、規格に適合するとは、規定された方法に従って試験するとき、原薬や製剤がリストにあるすべての判定基準に適合することを意味する。規格は、医薬品の製造業者がその妥当性を示す資料を添付して申請し、行政当局によりその医薬品を製造するための条件として承認された遵守すべき (critical) 品質の基準である。

原薬や製剤の各剤形の特性に応じて設定すべき試験 (Specific test) : 新原薬又は新製剤の各剤形に、その特性や用途に応じて適用し得ると考えられる試験のこと。

個別規格設定不純物 (Specified impurity) : 新原薬又は新製剤の品質を保証するために、その限度値が個別に規格に設定された構造既知あるいは構造未知の不純物のこと。

構造未知の不純物 (Unidentified impurity) : 定性的な分析的指標、例えば、クロマトグラフィーの相対保持時間によってのみ規定される不純物

規格に必ず設定すべき試験 (Universal test) : すべての新原薬又はすべての新製剤の規格に設定すべき試験、例えば、性状、確認試験、定量法及び純度試験のこと。

(5) 参考 (() 内は本通知における番号)

VICH GL10R : 「新動物用医薬品の原薬中の不純物」 (2-1)

VICH GL11R : 「新動物用医薬品の製剤中の不純物」 (2-2)

VICH GL3R : 「動物用新原薬及び製剤の安定性試験」 (8-1)

VICH GL1 : 「分析法バリデーション : 定義と用語に関するガイドライン」 (1の(1))

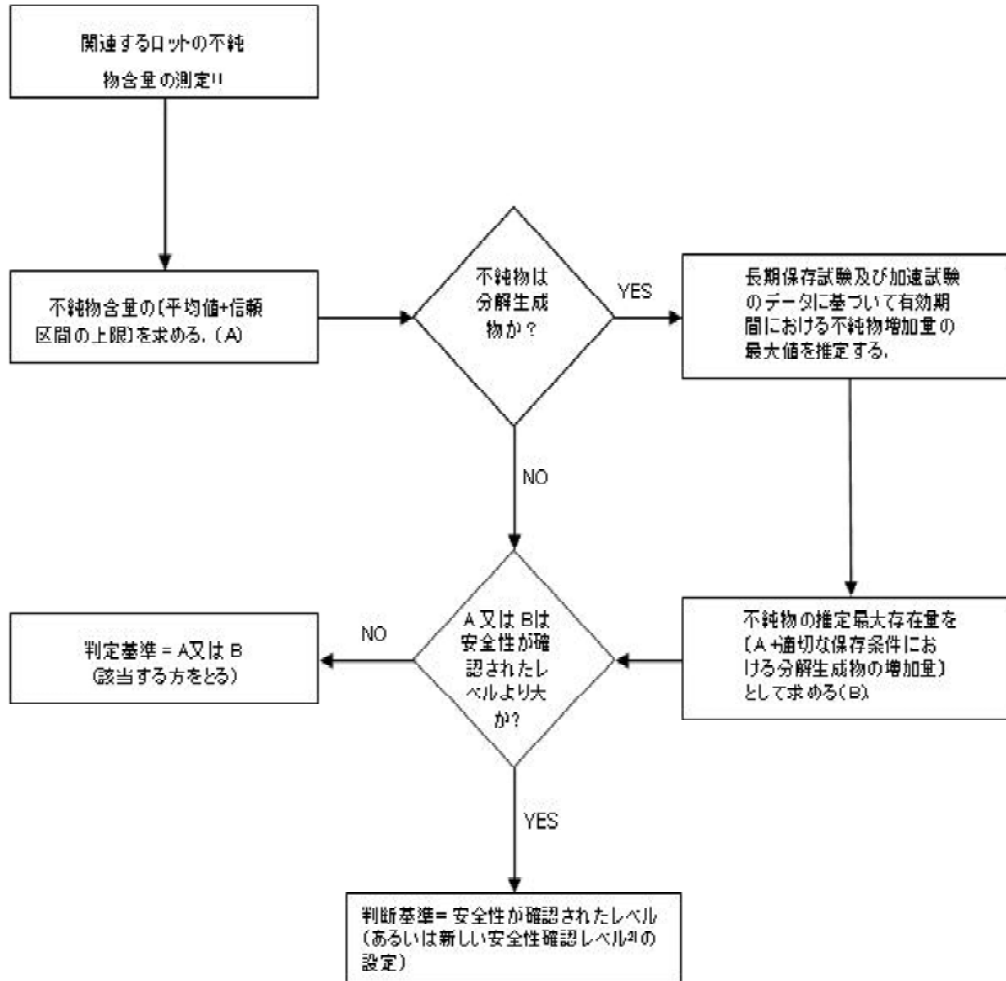
VICH GL2 : 「分析法バリデーション : 方法論に関するガイドライン」 (1の(2))

VICH GL18 : 「不純物 : 新動物用医薬品、有効成分及び添加物中の残留溶媒」 (2-3)

(6) 添付文書 : フローチャート#1 ~#8

本ガイドライン中で引用したフローチャートについては、以下のページを参照のこと。

フローチャート #1: 新原薬中の不純物の判定基準の設定

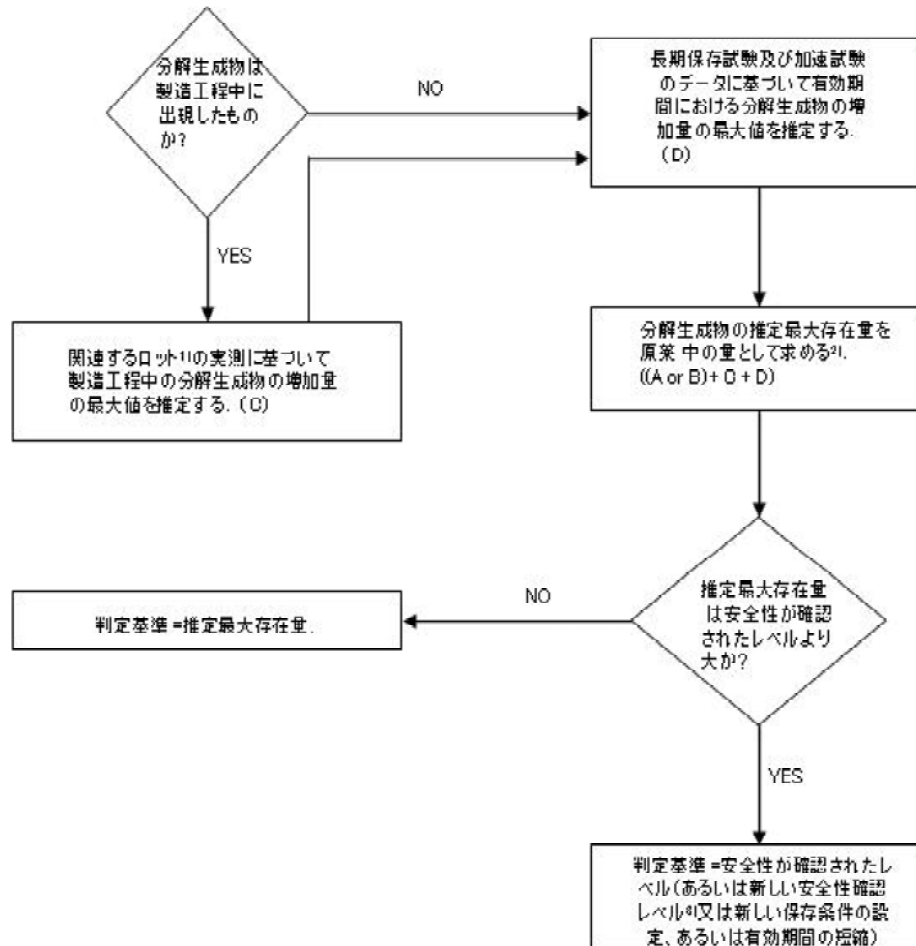


¹⁾関連するロットとは、開発段階、パイロットスケールの段階、ならびにスケールアップの段階のロットのことである。

²⁾新原薬の不純物のための VICH ガイドライン(10)を参照のこと。

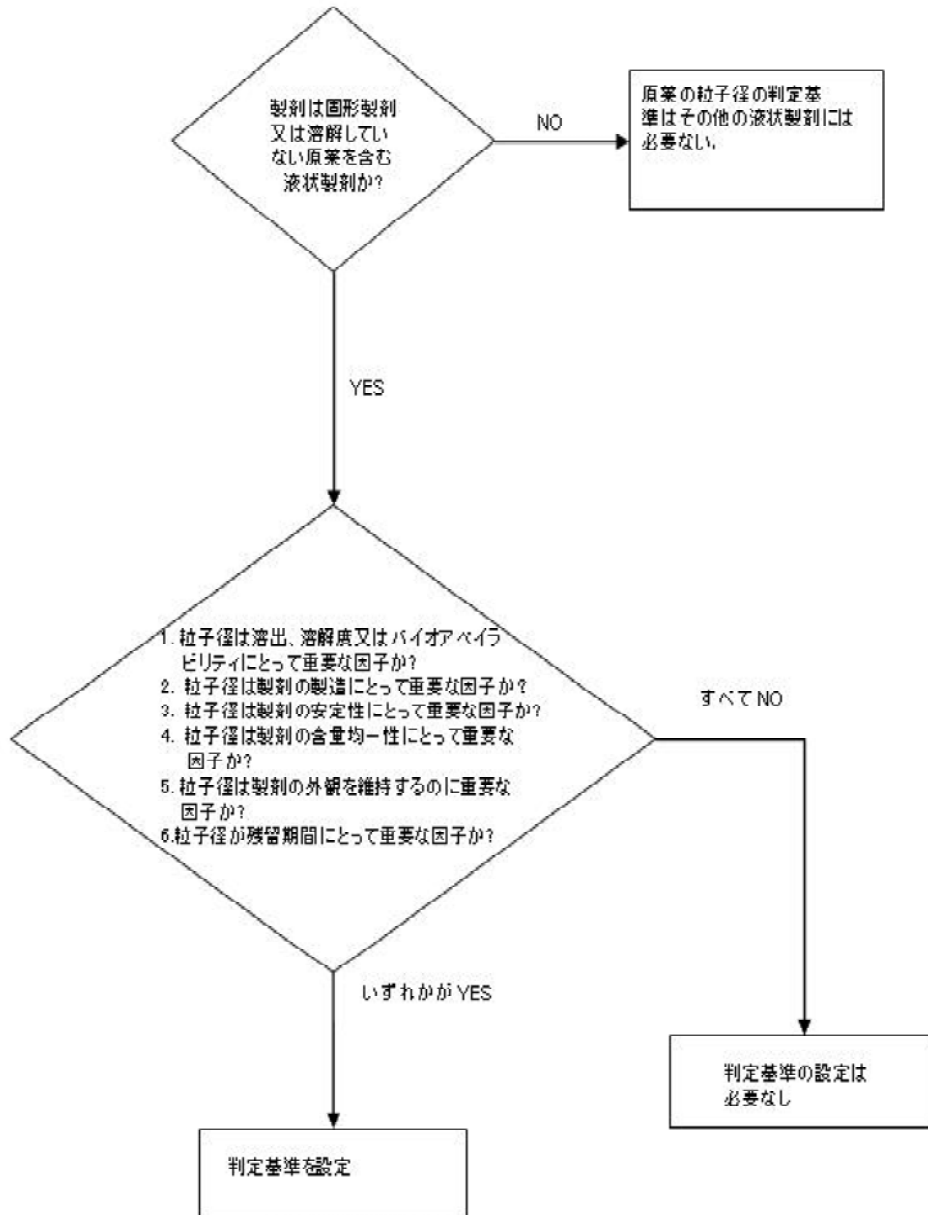
定義: 信頼区間の上限 = ロット分析データの標準偏差の3倍

フローチャート #2.新製剤中の分解生成物の判定基準の設定



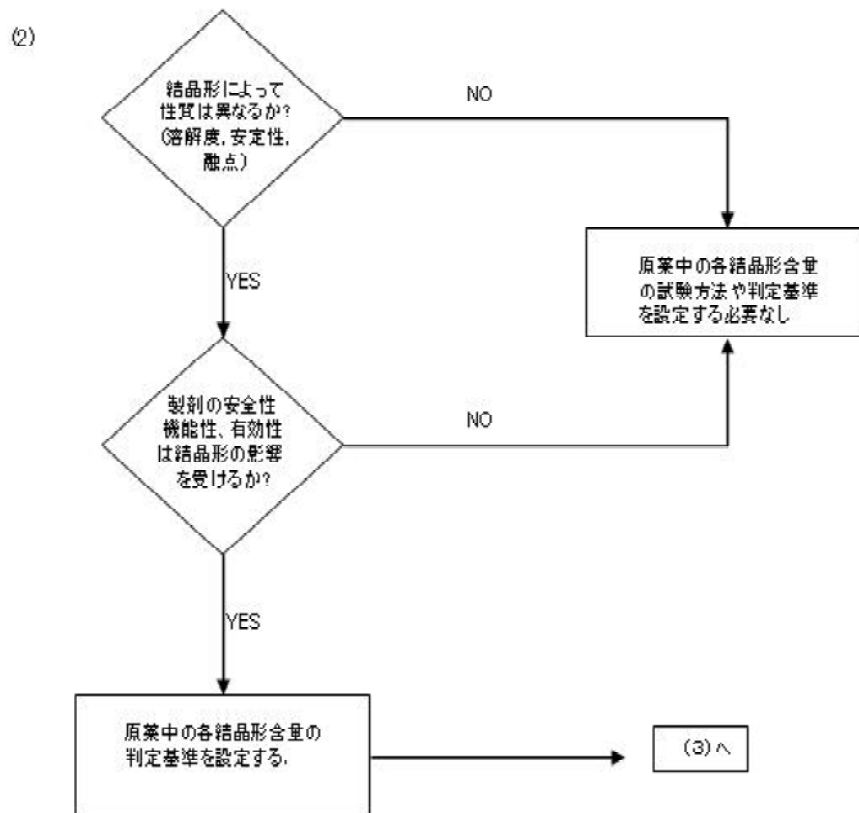
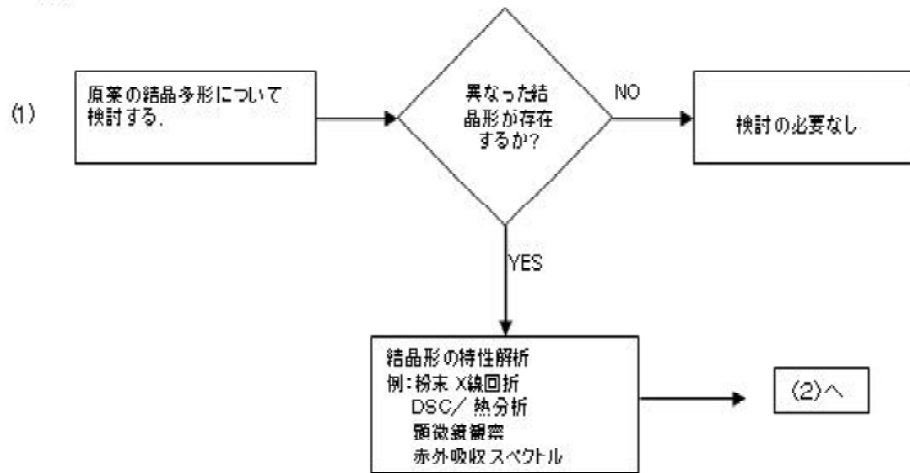
- ¹⁾ 関連するロットとは、開発段階、パイロットスケールの段階、ならびにスケールアップの段階のロットのことである。
²⁾ A と B に関する情報については、フローチャート # 1 を参照のこと。
³⁾ 新製剤の不純物のための VICH ガイドライン (11R) を参照のこと。

フローチャート #3: 原薬の粒子径分布の判定基準の設定



フローチャート #4: 原薬および製剤における結晶多形の判定基準の設定の必要性の検討

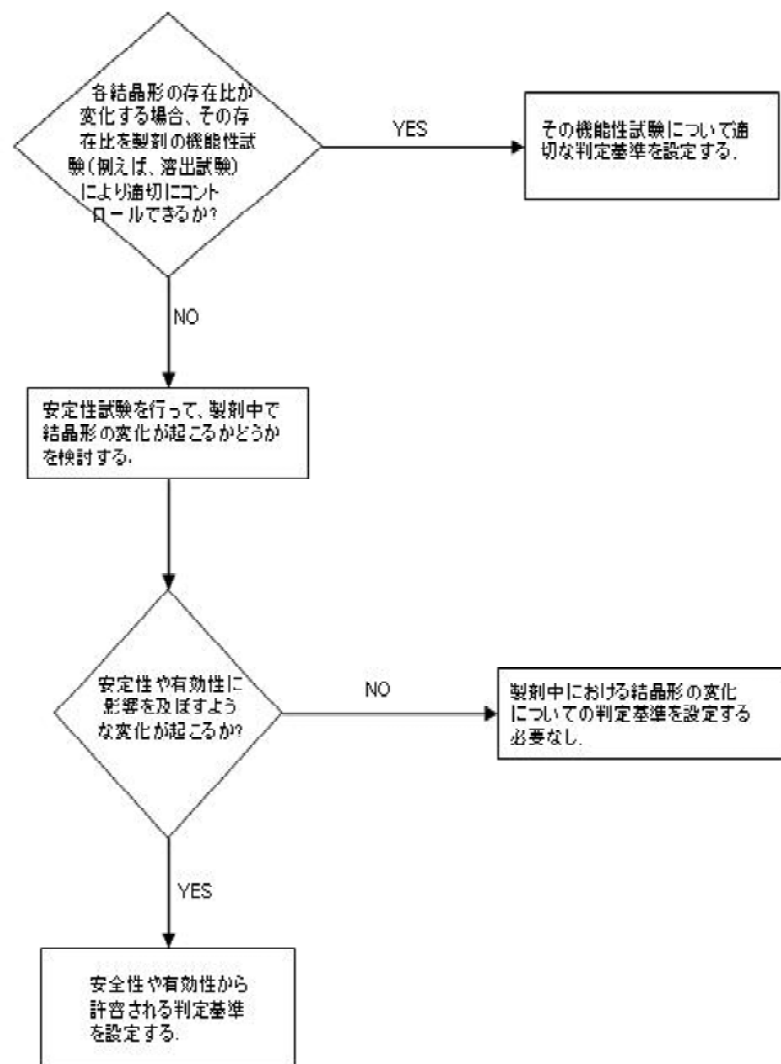
原薬



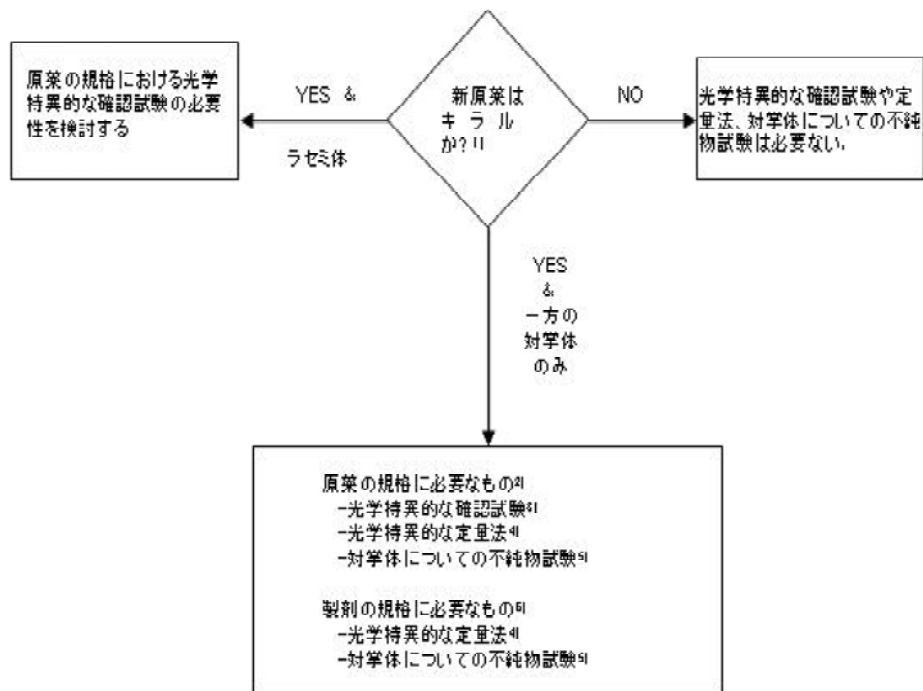
製剤-固形製剤又は溶解していない原薬を含む液状製剤

注意: 製剤中の各結晶形の量を測定することが技術的に可能な場合にのみ、次の検討を行う。

(3)



フローチャート #5.キラルな原薬及びキラルな原薬を含む新製剤における確認試験、定量法ならびに対掌体についての不純物試験の設定



1) 天然物由来のキラルな化合物はこのガイドラインの対象としない。

2) 原薬の合成工程で使用された原料に由来する他の不純物と同様、開発段階での検討により妥当性が示されている場合には、原薬に対してではなく、適切な出発物質又は中間体に対して限度値を設定することによって、キラルな品質を管理することが可能である。これにあてはまるのは、多数の不斉中心(例えば、三つあるいはそれ以上)を持つものの場合や原薬生産の最終ステップよりも前の段階で管理することが望ましい場合である。

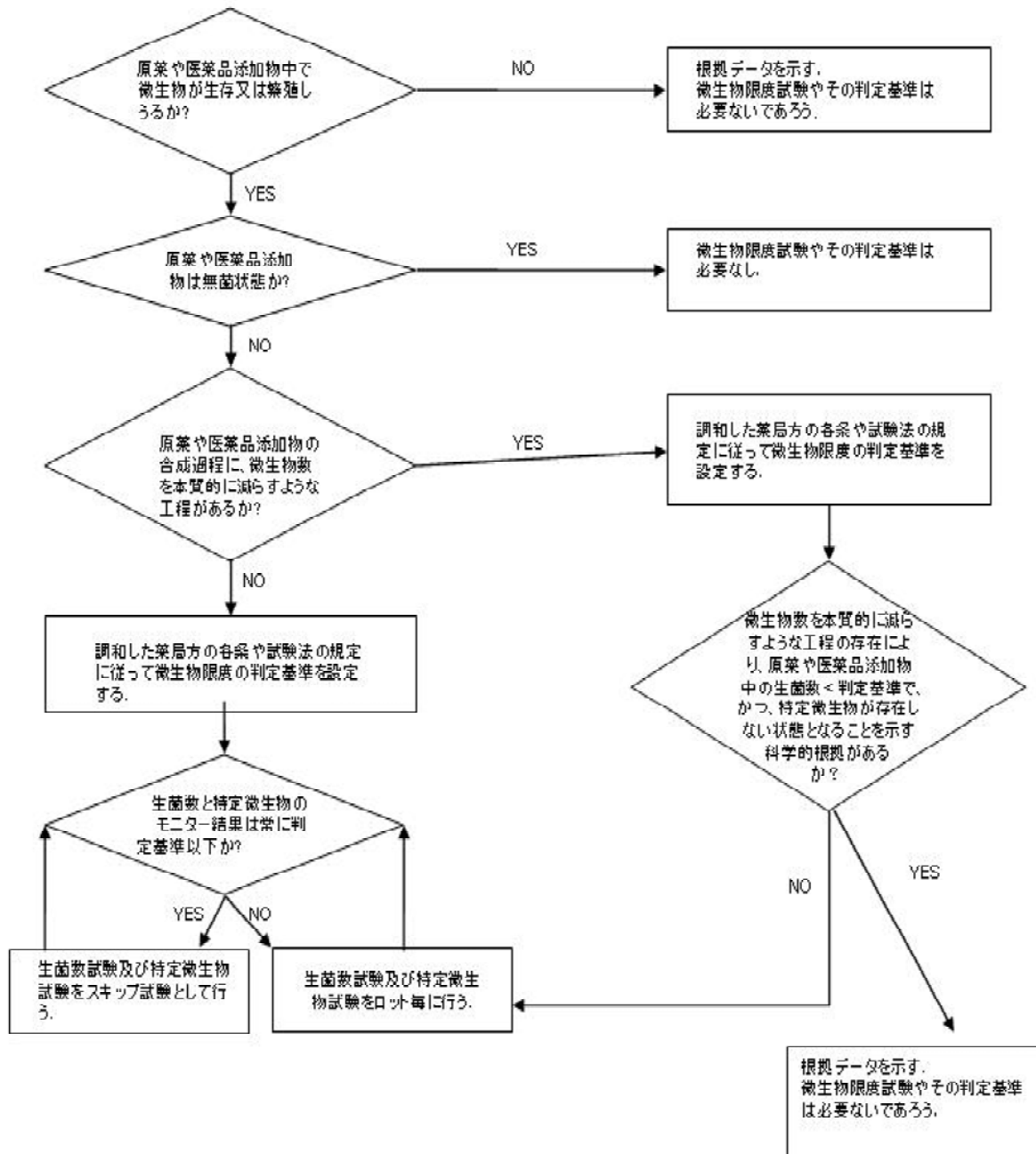
3) 光学特異的な定量法や対掌体についての不純物試験は、光学特異的な確認試験の代わりに用いてもよいであろう。

4) 光学特異的でない定量法であっても、原薬でない方の対掌体を管理する方法と一緒に用いる場合には、光学特異的な定量法の代わりに用いてもよいであろう。

5) 原薬でない方の対掌体の存在レベルは、光学特異的な定量法のデータを利用して求めることもできるし、それとは別個に対掌体についての不純物試験を行って求めることもできる。

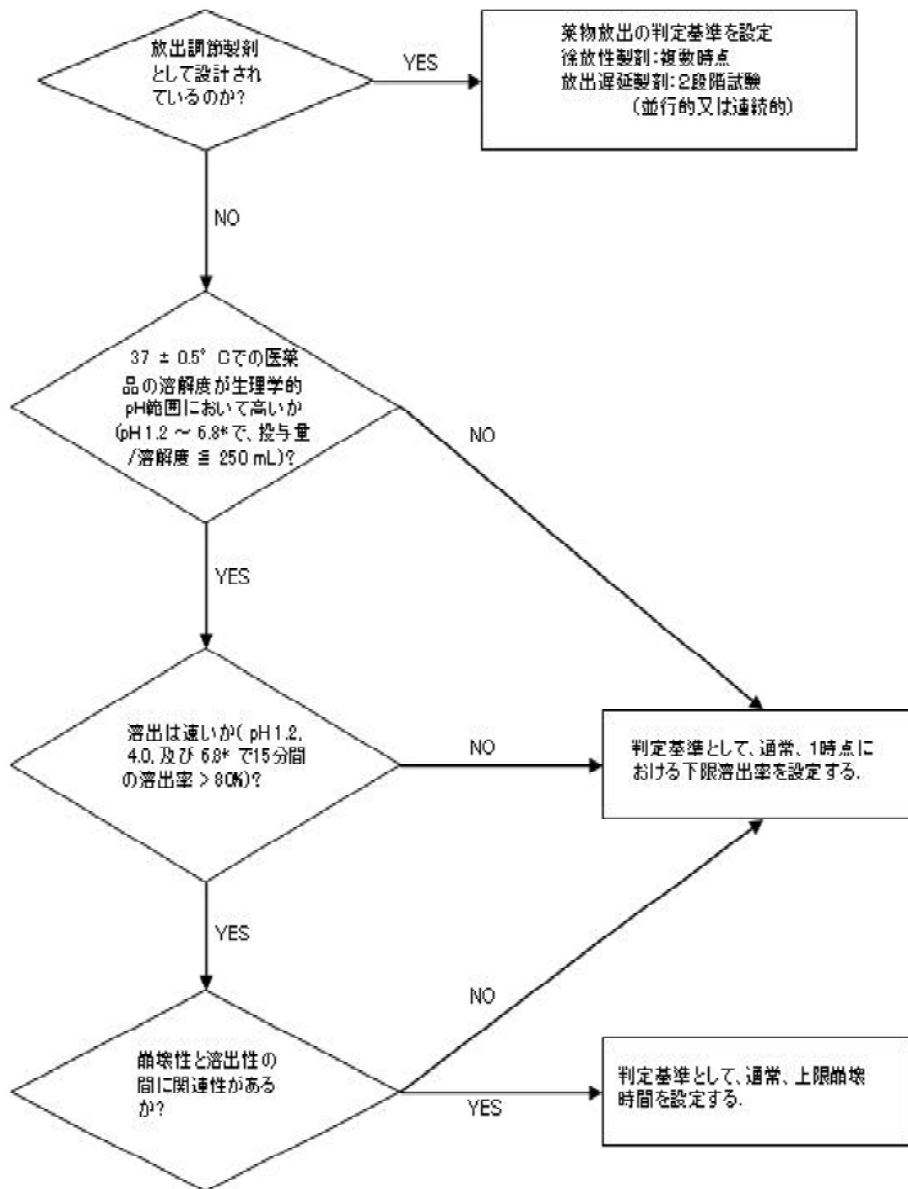
6) 製剤の製造中あるいは保存中にラセミ化がほとんど起こらないというデータが得られている場合には、製剤については立体特異的な試験を行う必要はないであろう。

フローチャート#6:原薬及び医薬品添加物の微生物学的試験



フローチャート #7 製剤の溶出試験の設定

(1) どのタイプの判定基準を設定すべきか?

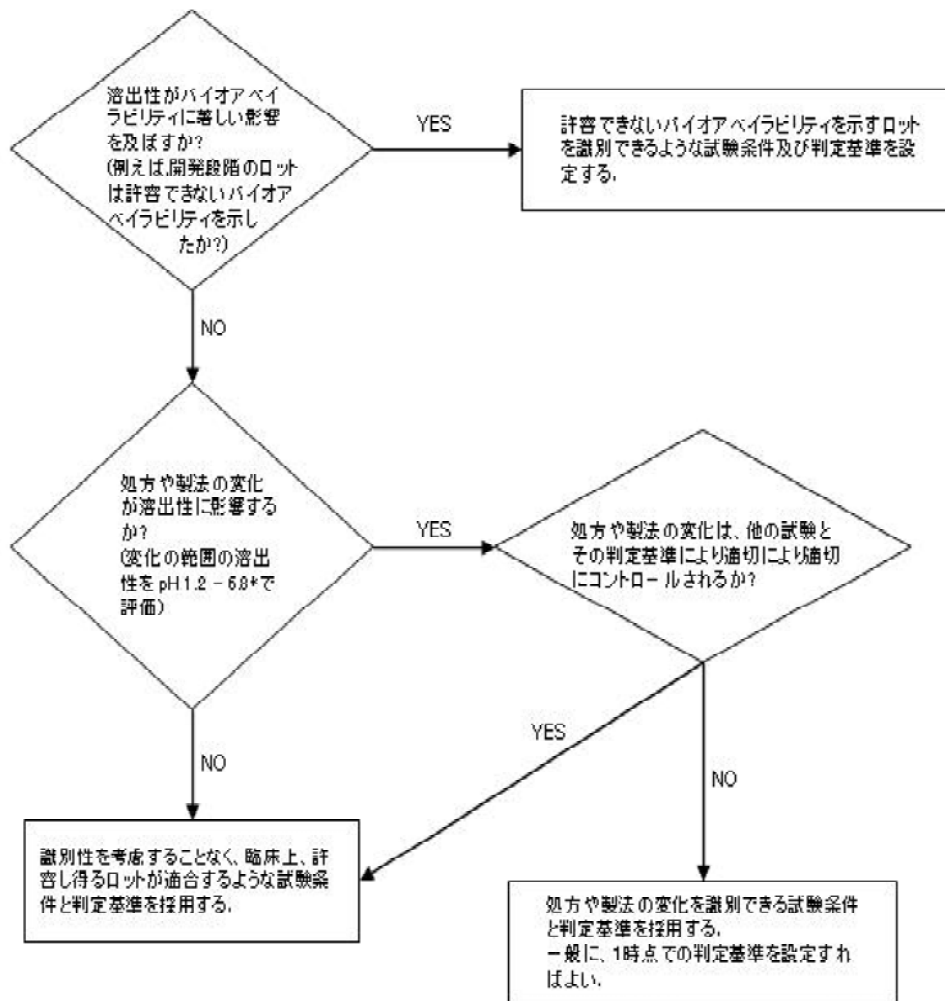


* - 動物種に適した pH を選択する。

次頁へ続く

フローチャート #7 製剤の溶出試験の判定基準の設定

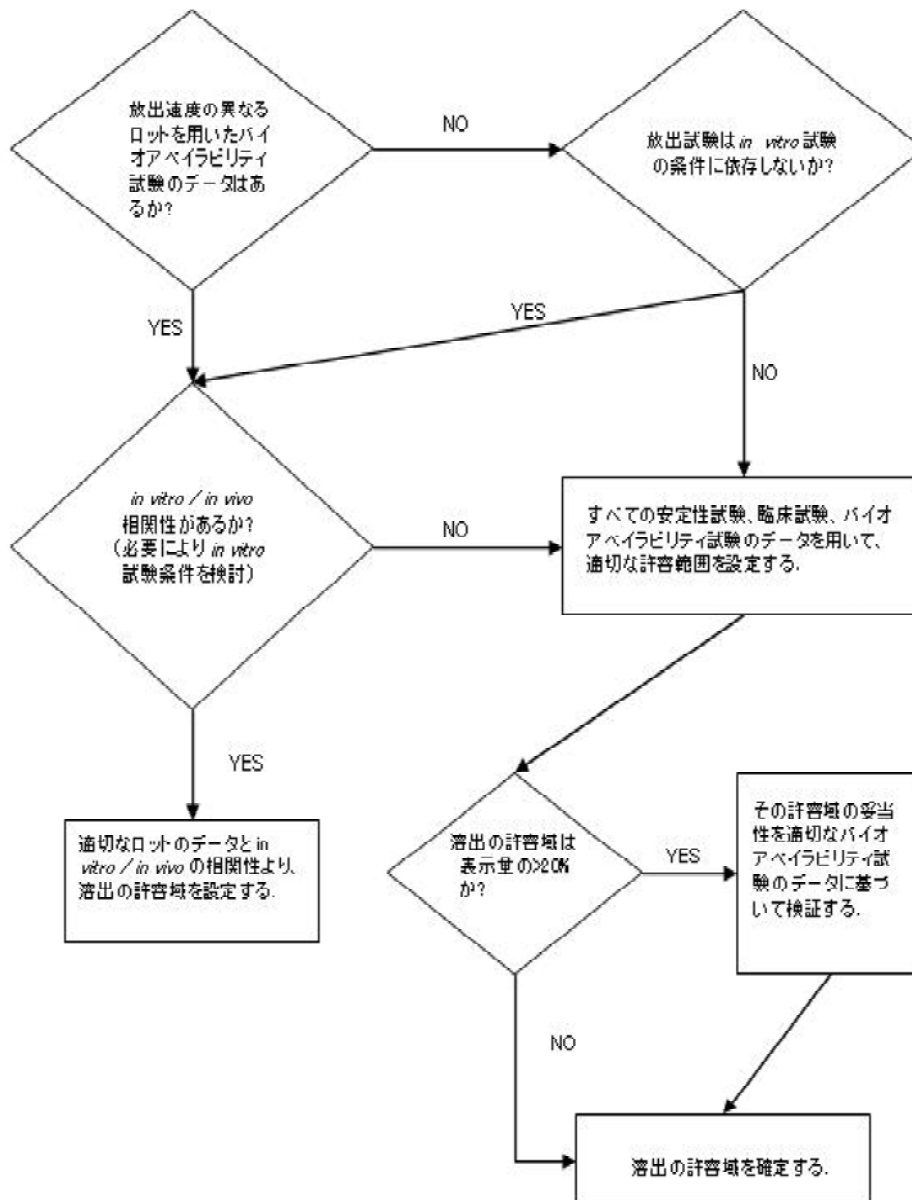
(2) 即放性製剤の試験条件と判定基準



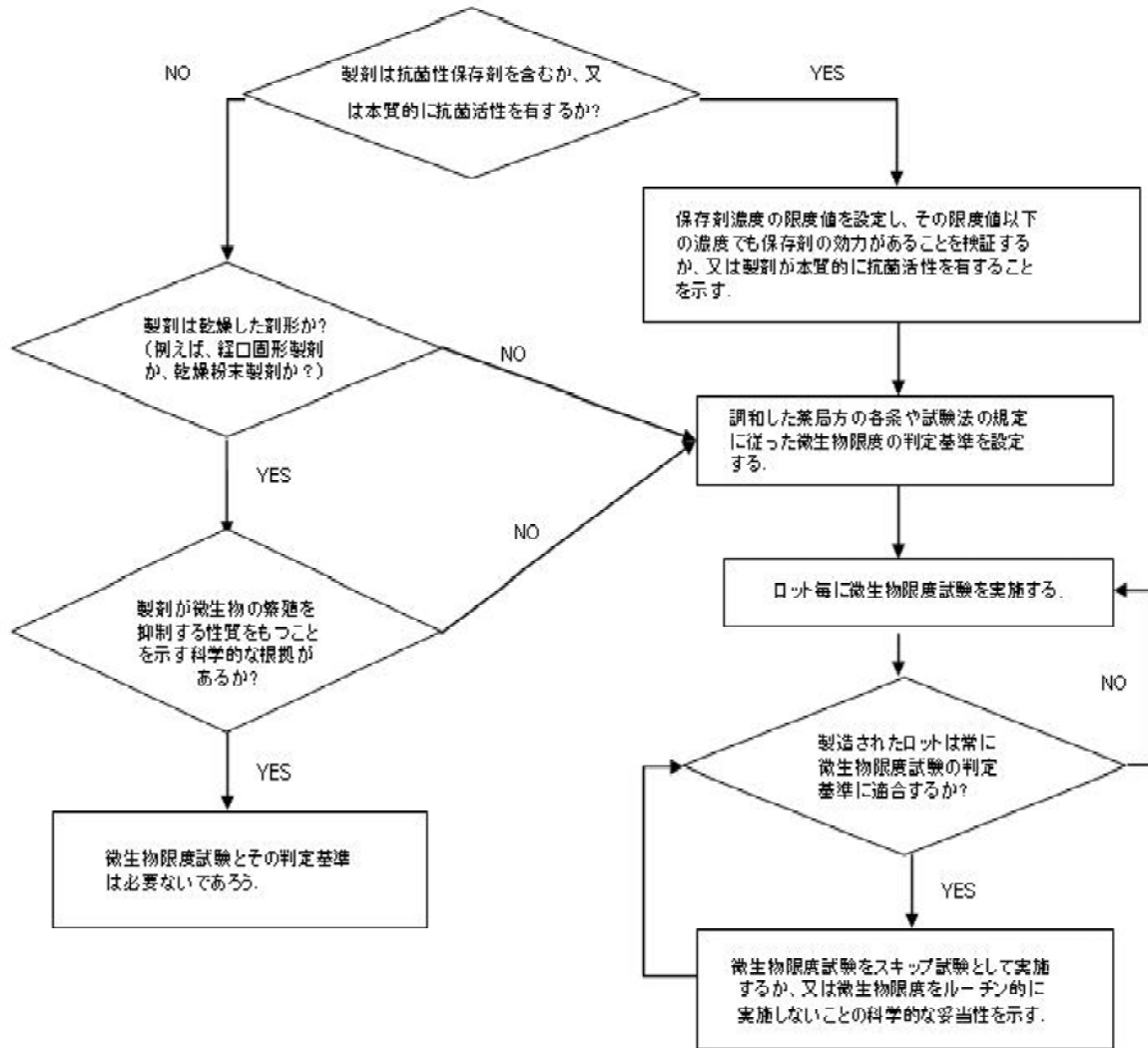
* - 動物種に適した pHを選択する。

フローチャート #7: 製剤の溶出試験の判定基準の設定

(3) 徐放性製剤の判定基準(許容域)



フローチャート #8:非無菌製剤の微生物学的試験



3-2 新動物用生物薬品(バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品)の規格及び検査方法の設定 (VICH GL40)

(1) 緒言

ア 目的

本ガイドラインは、新動物用生物薬品(バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品)を新たに承認申請し、上市を目指すに当たって、規格及び検査方法の設定並びにその根拠を可能な限り国際的に整合性のあるものとするための一般的な原則について、明らかにしたものである。

イ 背景

「規格及び検査方法」とは、試験項目、用いる分析方法、及びその方法で試験したときの規格値/適否の判定基準(数値で表した限度値又は範囲、あるいはその他の基準)を示したものとして定義される。規格及び検査方法は、原薬、製剤又はこれらの製造工程における中間体が、それぞれの使用目的にかなっていると判定するために必要な要素をセットにして定めたものである。「規格及び検査方法に適合する」とは、原薬及び製剤について、示された各分析方法に従って試験するときすべての規格値/適否の判定基準に適合するということである。規格及び検査方法は、承認申請時に、その設定理由とともに製造業者から提示され、規制当局により承認のための必須条件とされるもので、医薬品の品質確保上、極めて重要な規制基準である。

規格及び検査方法は、医薬品の品質及びその恒常性の確保を図ろうとする方策全体の要素の一つである。他の要素としては、開発段階での医薬品の十分な特性解析(規格及び検査方法の多くは、これが基盤になる)、GMPの遵守、製造工程の評価/検証、原材料の試験、工程内管理試験及び安定性試験等が挙げられる。

規格及び検査方法では、原薬及び製剤の特性を徹底的に解析することを目的とするというより、むしろ品質を確認することを目的として、試験項目、試験方法及び規格値/適否の判定基準を選択する。また、医薬品の安全性及び有効性を確保するために有用な分子特性及び生物学的な特性に焦点を当てる必要がある。

ウ 適用対象

本文書において取り扱い、解説する指針は、組織、体液、細胞培養から単離され、又は組換えデオキシリボ核酸(r-DNA)技術により生産され、十分に特性解析がなされたタンパク質、ポリペプチド類及びそれらの誘導体に適用する。したがって、本文書は、サイトカイン類、成長ホルモン類及び成長因子類、インスリン類及びモノクローナル抗体等の製剤のための規格の作成と承認申請について書かれている。本文書は、抗生物質類、ヘパリン類、ビタミン類、細胞の代謝産物類、DNA産物類、アレルゲン抽出物類、ワクチン類、細胞類、並びに全血及び血液の細胞成分には適用されない。

化学合成薬品については、「3-1 新動物用医薬品の原薬及び製剤の規格

及び検査方法の設定：化学物質に関するガイドライン」(VICH GL39)で、規格及び試験方法並びにその他の基準を示す。

本文書は、特定の試験方法や特定の規格値／適否の判定基準を推奨するものではなく、また、非臨床試験や臨床試験のための検体の規制に適用されるものでもない。

(2) 規格及び検査方法の設定において考慮すべき基本的事項

ア 特性解析

適切な分析技術を用いた生物薬品の特性解析(物理的・化学的性質、生物活性、免疫化学的性質、純度及び不純物に関する解析など)は、適切な規格及び試験方法を設定するために必要となるものである。規格値／適否の判定基準は、非臨床試験や臨床試験に用いたロットから得られたデータ、製造の一定性を示すために用いたロットから得られたデータ、及び安定性試験データ、並びに医薬品開発段階で得られた適切なデータに基づいて設定し、その根拠を示す必要がある。

開発段階では広範かつ詳細な特性解析を行う。また、重要と考えられる工程変更があった場合にも、必要に応じ、詳細な特性解析を行う。承認申請時までには、適切な標準品が入手可能であれば、当該医薬品と標準品との比較検討を行っておく必要がある。対応する天然品との比較検討については、実施可能でかつ適切と考えられる場合に実施すること。また、承認申請時までには、製造業者は、生産ロットの生物学的試験(バイオアッセイ)及び理化学試験に供するために、適切に特性解析した自家標準物質を確立していなければならない。新しい分析技術の開発や既存の技術の改良は日進月歩で進んでいるので、適時取り入れるべきである。

(ア) 物理的・化学的性質

目的物質の物理的・化学的性質の解析計画には、通常、組成分析、物理的性質及び一次構造の決定を含める。目的物質の高次構造に関する情報が適切な理化学的手法により得られる場合もある。なお、目的の高次構造を形成していることに関する確証は、通常、その生物活性から得られる。

タンパク質性医薬品においては、生体による生合成過程を生産に利用していることから、分子構造上不均一なものが産生される可能性が本質的に存在する。したがって、翻訳後修飾が想定されるケースでは、目的物質は、例えば糖タンパク質におけるグリコフォームのように、翻訳後修飾を受けた多様な分子種の混合物となることもある。これらの分子種には生物活性があり、その存在が医薬品の安全性及び有効性に悪影響を及ぼさないこともある

((2)のアの(エ)参照)。製造業者は、目的物質がどのような不均一性のパターンを示すかを明らかにし、これが非臨床試験及び臨床試験に用いたロットにおけるパターンに一致していることを示しておく必要がある。製品の不均一性のパターンに恒常性があることが立証されれば、個々の分子種の生物活性、有効性及び安全性(免疫原性を含む)を評価する必要は必ずしもない。

不均一性は、培養工程以降の原薬又は製剤の製造中や保存中にも生じる可能性がある。これらの不均一性は医薬品の品質を規定するものであるので、不均一性の程度及びプロファイルを特性解析し、ロット間での恒常性を保証する必要がある。目的物質に由来する物質のうち、生物活性、有効性及び安全性の点で目的物質のそれに匹敵する性質を持つものは、「目的物質関連物質」として考える。製造工程の変更や分解物・変化物の生成により、製品における不均一性のパターンが非臨床試験及び臨床試験に用いた製品でみられていたパターンと異なるものとなった場合には、その変化がどのような意味を持つかについて評価する必要がある。

物理的・化学的性質を明らかにするための分析方法を、付録（6）のアに例示する。新しい分析技術の開発や既存の技術の改良は日進月歩で進んでいるので、適時取り入れるべきである。

ロットごとの規格及び検査方法（（4）参照）には、これらの方法のうち適切なものの組合せを選定するとともに、その妥当性を明らかにする必要がある。

（イ）生物活性

生物学的性質の評価も、完全な特性解析プロファイルを確立する上で、物理的・化学的性質の評価と同様に必要不可欠なものである。重要な生物学的性質の一つとして、特定の生物学的効果を発揮するための特異的な機能やその程度を表す「生物活性」が挙げられる。

生物活性を測定するためにどのような生物学的試験（バイオアッセイ）が有用であるかは、製造業者が提示する必要がある。生物活性の測定に用いられる方法の例としては、以下のようなものが挙げられる。

- ・ 動物を用いるバイオアッセイ。これは、製品に対する生体の生物学的応答を測定する。
- ・ 培養細胞を用いるバイオアッセイ。これは、細胞レベルでの生化学的又は生理学的応答を測定する。
- ・ 生化学的試験。これには、酵素反応速度の解析による生物活性の測定や、免疫学的相互作用により引き起こされる生物学的応答を測定することなどが含まれる。

その他、リガンド－レセプター結合試験のような試験方法が活用できる場合もある。

「力価」とは、当該医薬品の（生物学的性質に関連する）特性に基づく生物活性を定量的に表す尺度であり、「単位」で表される。これに対して、「物質量」とは、タンパク質量に関する理化学的尺度であり、質量で表される。力価測定に用いられる生物活性が臨床上期待される作用と同様あるいは類似のものである必要は必ずしもない。臨床上期待する作用と生物学的試験における活性との相関は、薬力学試験又は臨床試験において確認しておく必要がある。

生物学的試験の結果は、「国際標準品」又は「国内標準品」が入手可能で、

かつ当該試験に適切である場合には、標準品を基に検定した活性の単位で表す。そのような標準品が存在しない場合は、特性解析した「自家標準物質」を確立しておき、製造ロットの試験結果は自家単位で報告することとする。

複雑な分子では、物理的・化学的情報が広範にあったとしても、それにより高次構造を確定することはできないが、生物活性から高次構造が正しく形成されていることを推定できることが多い。このような場合には、信頼区間が比較的広い生物学的試験であっても、特異的な定量法による測定と組み合わせれば、用いてよいこともある。重要なことは、以下のような場合にのみ、製品の生物活性を測定する生物学的試験を理化学的試験法に置き換えてもよいであろうということである。

- ・ 当該理化学的方法により、高次構造に関する情報を含めて、当該医薬品に関する十分な物理的・化学的情報があますところなく得られ、かつ生物活性との適切な相関が証明されていること。

更に

- ・ 十分に確立された製造実績があること。

理化学的試験のみを、(適切な相関に基づいて)生物活性の定量法として用いる場合には、結果は質量で表す。

製造業者は、ロットごとの規格及び試験方法((4)参照)に、適切な定量試験(生物学的又は理化学的方法、あるいは両者)を選定するとともに、その妥当性を明らかにする必要がある。

(ウ) 免疫化学的性質

抗体が目的物質の場合には、その免疫学的性質を十分に特性解析すること。精製抗原及び抗原の特定の領域と抗体との結合試験を行い、可能な限り、アフィニティ(1価の抗原結合部位と1価のエピトープ(抗原決定基)との間での結合の強さ)、アビディティ(多価抗体と多価抗原との結合の強さ)、免疫反応性(交差反応性を含む)を決定する。更に、関連するエピトープを有する標的分子を生化学的に明らかにし、可能ならばエピトープ自身も明確にする。

(目的物質が抗体以外の場合であっても)原薬又は製剤において、タンパク質分子の様々なエピトープを認識する抗体を用いた免疫化学的方法(例えば、ELISA、ウエスタンブロット)を利用して、タンパク質分子を検査しようとする場合がある。タンパク質の免疫化学的性質は、その同一性、均一性や純度を確認するのに利用できるほか、定量法に活用できることもある。

免疫化学的性質に関する試験をロットごとの規格及び試験方法の一つとして利用している場合には、抗体に関するすべての関連情報を提供できるようにしておく必要がある。

(エ) 純度、不純物、混入汚染物質

- ・ 純度

純度に関して、絶対的な純度はもとより、相対的な純度を決定しようとすることは、分析上の大きな挑戦である。また、得られた結果は用いた試

験方法に大きく依存することになる。従来から、生物起源由来医薬品の相対的純度は比活性（医薬品 mg 当たりの生物活性単位）として表されてきたが、その比活性も用いた試験方法に大きく依存している。結局、原薬及び製剤の純度は、各種の分析方法の組合せにより評価することになる。

生物薬品には、生体の合成系を利用した製造工程により生産されるという特徴と、独特な分子特性がある。そのため、原薬が数種類の分子種あるいは分子変化体を含んでいることがある。これらの分子種が、しかるべき翻訳後修飾から期待されるものであれば、それらは目的物質とする。目的物質の分子変化体が製造中や保存中に生成することがあるが、それらが目的物質に匹敵する同等・同質の特性を持つ場合は、それらを目的物質関連物質と考え、不純物とはしない（（2）のアの（ア）参照）。

目的物質関連物質については、それぞれ個別の又は総量での規格値を適切に設定する必要がある。

ロットごとの規格及び検査方法（（4）参照）には、純度を測定する試験として数種類の方法を適切に組み合わせたものを選定するとともに、その妥当性を明らかにする必要がある。

- 不純物

目的物質及び複数の目的物質関連物質から構成される原薬及び製剤の純度面からみた評価に加えて、含有する可能性のある不純物についても評価を行う必要がある。不純物として想定されるものには、製造工程に由来するものもあれば目的物質に由来するものもある。これら不純物には、構造が明らかにできるもの、部分的に特性解析できるもの、同定できないものなどがある。不純物がそれなりの量、生成する場合には、必要な範囲でそれらの特性解析を行う必要がある。適切ならば生物活性についても評価する必要がある。

「製造工程由来不純物」の範疇には、製造各工程に由来する以下に列挙するものが含まれる。すなわち、細胞基材に由来するもの（例えば、宿主細胞由来タンパク質、宿主細胞由来 DNA）、細胞培養液に由来するもの（例えば、インデューサー、抗生物質、培地成分）、又は細胞培養以降の工程である目的物質の抽出、分離、加工、精製工程に由来するものなどがある（付録（6）のイの（ア）参照）。「目的物質由来不純物」（例えば、前駆体、ある種の分解物・変化物）は、製造中や保存中に生成する分子変化体であって、かつ生物活性、有効性及び安全性の点で目的物質に匹敵する特性を持たないものである。

不純物に関する規格値は、非臨床試験及び臨床試験で用いたロット及び製造の一定性を評価する試験におけるロットから得られたデータに基づいて設定する必要がある。

不純物（製造工程由来不純物及び目的物質由来不純物）に関する規格値は、それぞれ個別に又は総量で適切に設定する必要がある。不純物のうちのあるものについては、適切なプロセスコントロールを行うことにより、

規格値を必ずしも設定する必要がなくなるものもある（（２）のウ参照）。

不純物に関する試験に用いられる分析方法を、付録（６）のイに例示する。新しい分析技術の開発や既存の技術の改良は日進月歩で進んでいるので、適時取り入れるべきである。

ロットごとの規格及び検査方法（（４）参照）には、これらの方法を適切に組み合わせたものを選定するとともに、その妥当性を明らかにする必要がある。

- ・ 混入汚染物質

医薬品中の「混入汚染物質」とは、製造工程には本来存在しないはずのもので、外来性の化学物質や生化学的な物質（例えば、微生物由来プロテアーゼ）又は微生物類のようなものすべてを指す。汚染物質の混入は厳に避けるべきであり、適切な工程内管理試験の規格値／適否の判定基準や処置基準値又は原薬及び製剤の規格及び試験方法により適正に管理する必要がある（（２）のウ参照）。外来性ウイルス又はマイコプラズマの汚染に関しては、特別な例として、処置基準値の概念は適用しない。この件に関しては、ICH ガイドライン Q5A「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価」及び ICH ガイドライン Q5D「生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）製造用細胞基材の由来、調製及び特性解析」に提示されている方策を考慮してもよい。

- （オ）物質量

物質量は、通常、タンパク質量として測定される生物薬品にとって重要な要素であるので、適切な試験法（通例、理化学的な原理を持つ方法）を用いて測定すること。物質量に基づく定量値が、生物学的試験法を用いて得られた値と直接関連していることを証明できる場合もある。このような相関があれば、製造工程のうち充填のような工程では、生物活性よりも、むしろ物質量を尺度として用いる方が適切な場合もある。

- イ 分析上の留意事項

- （ア）標準品及び標準物質

新有効成分含有医薬品を承認申請する際には、国際標準品又は国内標準品が利用できる場合はほとんどない。承認申請時までには、製造業者は、代表的な製造ロットでかつ臨床試験に用いた検体を代表するロットから調製し、適切に特性解析した「自家一次標準物質」を確立しておく必要がある。生産ロットの試験に用いる「自家用標準物質」は、この一次標準物質を基に検定する。国際標準品又は国内標準品が利用でき、かつ適切であれば、これを基に標準物質を検定する必要がある。生物学的試験及び理化学試験の両方に同一の標準物質を使用することが望ましいが、別々の標準物質が必要な場合もある。また、目的物質関連物質、目的物質由来不純物及び製造工程由来不純物に対して、それぞれの標準物質を個別に確立する必要がある場合もある。適宜、承認申請書中に、標準物質の調製や精製に関する記述を入れておくこ

と。標準物質の特性解析、保存条件、及び安定化のための製剤設計についても、資料を作成し、提出すること。

(イ) 分析法バリデーション

規制当局に承認申請するときには、申請者は、規格及び試験方法に採用した分析方法について、「1の(1)分析法バリデーション：定義と用語に関するガイドライン」(VICH GL1)及び「1の(2)分析法バリデーション：方法論に関するガイドライン」(VICH GL2)に従ったバリデーションを完了していなければならない。ただし、生物薬品の分析に用いられる試験の特殊性に起因する特別な問題がある場合は、この限りではない。

ウ プロセスコントロール

(ア) 工程に関連する留意事項

製造工程を適切に設計すること及び工程が有する能力を把握しておくことは、その管理や再現性の確保が可能で、かつ規格及び試験方法に適合する原薬あるいは製剤を製造することができる製造工程を確立するために必要な方策の一部である。このような観点から、各種の管理基準値については、開発初期から実生産規模の製造に至る間のすべての過程で得られた情報のうち、特に重要なものを基に、その妥当性が明らかにされることになる。

不純物のうち、あるものについては、効果的なプロセスコントロールにより許容できるレベル内に収まっているか、又は容認できるレベル以下まで効率的に除去できることを適切な検討によって実証していれば、原薬や製剤を対象とする試験は必ずしも必要ではなく、かつ規格及び検査方法に含めなくてもよい場合がある。本件に関する検討については実生産規模での確認が必要なこともある。それについては、各国/地域の規制に従うこと。承認申請時にはごく限られたデータしか得られていないこともあると認識されている。したがって、上に述べた考え方は、各国/地域での規制に従って、販売が認められた後に実行に移されることもある。

(イ) 工程内管理試験における規格値/適否の判定基準及び処置基準値

工程内管理試験は、極めて重要な意志決定を必要とする段階、及びその他の段階でも原薬又は製剤の製造工程が常に一定に保たれていることを確認できるデータが得られる段階において実施する。工程内管理試験の結果は、「処置基準値」として社内記録の扱いにするか、「規格値/適否の判定基準」として公的な報告の対象とするか、いずれかになる。工程内管理試験を実施することにより、原薬や製剤の段階で試験を実施する必要性がなくなる可能性がある((2)のウの(ア)参照)。細胞培養の終了時に行う感染性物質についての工程内管理試験は、規格値/適否の判定基準を設定する必要がある試験の一例である。

重要度が相対的に低い製造段階といえども、製造業者が社内での処置基準値を用いて製造工程が一定に保持されていることを評価することは重要である。医薬品開発段階及びバリデーションの段階で得たデータを根拠にして、製造工程に対して設定すべき暫定的処置基準値が得られるはずである。これ

らの処置基準値は、製造業者が責任を負うものであり、工程に関する調査やその後の対応を開始するかどうかを判断するために用いられる。この基準値は、医薬品製造販売承認後に製造経験及びデータが蓄積されるにつれて、更に適切に見直していくべきものである。

(ウ) 原材料及び添加剤の規格及び試験方法

原薬（又は製剤）の製造に使用する原材料の品質は、その使用目的にかなった基準を満たす必要がある。生物学的原材料又は試薬に関しては、慎重な評価を行って有害な内在性感染性物質又は外来性感染性物質の有無を確認しなければならない場合がある。工程中でアフィニティクロマトグラフィー（例えば、モノクローナル抗体を用いたクロマトグラフィー）を使用する場合には、抗体を作製する過程及びクロマトグラフィー用担体として使用する際に生成する可能性がある製造工程由来不純物や、混入する可能性がある汚染物質が当該原薬や製剤の品質及び安全性を損なわないことを担保できるよう、適切な方策を講じておく必要がある。製造業者は、使用する抗体に関する適切な情報を提供できるようにしておく必要がある。

製剤化の際に（場合によっては、原薬に）使用する添加剤及び容器／施栓系の品質は、薬局方に規格及び試験方法があり、かつそれが適切である場合には、薬局方の基準を満たす必要がある。薬局方に収載されていない添加剤に関しては、適切な規格及び試験方法を設定する必要がある。

エ 薬局方の規格及び試験方法

薬局方には、原薬又は製剤の品質評価方法として利用できる試験方法及び規格値／適否の判定基準に関する重要な事項が収載されている。生物薬品に適用できる試験項目としては、一般に、無菌試験、エンドトキシン試験、微生物限度試験、実容量試験、質量偏差試験／含量均一性試験、並びに不溶性微粒子試験及び不溶性異物検査が挙げられるが、これらに限られる訳ではない。薬局方の試験方法及び規格値／適否の判定基準の利用という面からみた場合、本ガイドラインの価値は、ひとえに日、米及び EU 各薬局方間での分析方法のハーモナイゼーションの進捗状況に依存している。薬局方には、薬局方間で同一の、又は方法論的に同等の試験操作及び規格値／適否の判定基準を設定していくことを付託している。

オ 出荷規格及び有効期間内規格

出荷時の規格と有効期間を考慮した規格とでは異なった判定基準を適用すべきであるという概念で、製剤だけに適用される。この概念によれば、製剤の出荷のための規格には、有効期間を考慮した規格よりも厳しい判定基準を設定するのが適切とされる。この概念は、例えば、定量値や不純物（分解生成物）の限度値に適用し得る。ある国／地域においては、行政当局は、出荷のための規格を承認申請に必要な規格として設定することを要求しておらず、各製薬企業がそれぞれ社内規格として設定している。したがって、これらの地域においては、承認申請に必要な判定基準は有効期間を考慮した判定基準のみであり、出荷の時点から有効期間の終わりまでずっと同じ判定基準が適用されることになる。しかしながら、

申請者は、自社の製品が有効期間を通して承認された判定基準に適合することをよりよく保証するために、より厳しい判定基準を有する社内規格を出荷の際に適用する道を選んでもよい。一方、EU においては、行政当局は、出荷時と有効期間を考慮した場合とで異なった規格の設定が適切な場合、両者を承認申請に必要な規格として設定することを要求している。

カ 統計的な考え方

データが定量的に取り扱える場合には、必要に応じて、適切な統計解析を適用する必要がある。解析方法について、その方法を採用した根拠及びその妥当性も含めて、申請資料中に詳細に記載すること。資料中に提示されている結果を、規制当局が改めて計算して確認できるよう、十分明確に記載しておくこと。

(3) 規格及び検査方法の設定根拠

原薬及び製剤の規格及び検査方法の設定は、原材料及び添加剤の管理、工程内管理試験、工程の評価／検証、GMP の遵守、安定性試験、ロット間での恒常性を確認するための試験などととも、品質確保にかかわる方策全体の要素の一つである。これらの要素をすべて組み合わせると、医薬品の適切な品質が保証されるということである。規格及び検査方法の項目は、医薬品の特性解析を目的として選択するというより、むしろ品質の確認を旨として選択する。したがって、規格及び検査方法として特定の品質特性についての試験を採択したり除外したりする根拠及びその妥当性を明確にする必要がある。科学的に妥当性のある規格及び検査方法を設定するに当たっては、以下の点を考慮する必要がある。

- ・ 規格及び検査方法の設定には製造工程を勘案すること。

規格及び検査方法は、製造の一定性を立証するために使用したロットから得られたデータに基づいて設定される必要がある。規格及び検査方法を製造工程と関連付けて考えることは重要なことであり、特に、目的物質関連物質、目的物質由来不純物及び製造工程由来不純物については重要である。製造工程の変更や保存中の分解物・変化物の生成により、不均一性パターンが非臨床試験及び臨床試験に用いた製品でのパターンと異なってしまふことがある。その場合には、その変化がどのような意味を持つかについて評価する必要がある。

- ・ 規格及び検査方法の設定には原薬及び製剤の安定性を勘案すること。

原薬及び製剤の分解・変化は、保存中に生じる可能性があるが、規格及び検査方法を設定する際には、これらについて考慮する必要がある。生物薬品は本質的に複雑な分子であるため、安定性面での特性をそれだけで明らかにすることができるような安定性評価試験法やパラメータはない。したがって、製造業者は、当該医薬品の同一性、純度及び力価の変化などを総合的に捉えることができる安定性評価指標を定め、提示する必要がある。そして、この安定性評価指標に基づいて実施した試験の結果により、医薬品の品質の変化を確実に捉えられることが保証されることになる。どのような試験項目を含めるかは、医薬品ごとに異なる。本件については、「8-5 新動物用生物

薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）の安定性試験（VICH GL17）を参照すること。

- 規格及び検査方法の設定には非臨床試験及び臨床試験のデータを勘案すること。

規格及び検査方法は、非臨床試験及び臨床試験に使用したロットから得られたデータに基づいている必要がある。実生産規模で製造される医薬品の品質は、非臨床試験及び臨床試験に使用したロットの品質に相当するものである必要がある。

- 規格及び検査方法の設定には分析法を勘案すること。

生物薬品における極めて重要な品質特性には、力価、並びに目的物質関連物質、目的物質由来不純物及び製造工程由来不純物の種類や存在量などがある。このような特性は、様々な分析法により評価できるが、分析法が違えば結果も異なる。医薬品開発の過程においては、医薬品の開発状況と平行して分析法が発達していくことも希ではない。このため、開発中に得られたデータが、承認・許可の時点で提出したデータと関連していることを確認することが重要である。

（４）規格及び検査方法

規格及び検査方法に採用する項目及び試験法の選択は、製品により異なる。規格値／適否の判定基準の適合範囲の設定根拠を明らかにする必要がある。規格値／適否の判定基準は、非臨床試験や臨床試験に用いたロットから得られたデータ、製造の一定性を示すために用いたロットから得られたデータ、及び安定性試験データ、並びに製品の開発段階で得られた適切なデータに基づいて設定し、その根拠を示す必要がある。

原薬又は製剤の段階で試験を実施するより、むしろ製造段階で試験を実施する方が適切で、かつ受け入れられる場合もある。その場合、試験結果は、工程内管理試験の規格値／適否の判定基準の対象と考えるべきである。各国／地域の規制当局の要件によっては、原薬又は製剤の規格及び検査方法に含める必要がある。

ア 原薬の規格及び検査方法

以下の試験及び規格値／適否の判定基準にかかわる項目は、通例、すべての原薬において設定されるものである（分析方法については（２）のイの（イ）参照）。原薬では、適宜、薬局方の試験（例えば、エンドトキシン試験）を行う。これらに加えて、原薬ごとに必要とされる特有の規格値／適否の判定基準が設定されることになる。

（ア）外観・性状

原薬の物理的状态（例えば、固体、液体）及び色を定性的に規定する。

（イ）確認試験

確認試験は、その原薬に極めて特異的である必要がある。また、分子構造上の特徴やその他の特有の性質に基づいて設定する必要がある。同一性を確認するためには、２種類以上の試験（理化学試験、生物学的試験、免疫化学

的試験)が必要となろう。確認試験は定性的なものでもよい。確認試験には、(2)のア及び付録(6)のアに記載されているような製品の特性解析のためによく用いられる試験法のうちの幾つかが、そのまま、又は目的に沿うよう改変して用いられる。

(ウ) 純度と不純物

生物薬品の絶対的な純度を決定するのは困難であり、また、得られた結果は用いた試験方法に依存する((2)のアの(エ)参照)。このため、原薬の純度は、通例、複数の分析方法の組合せにより評価される。分析方法を選択し、最適化する際には、目的物質、目的物質関連物質及び不純物を相互に分離することに重点を置くべきである。

生物薬品中に存在する不純物は、製造工程由来不純物及び目的物質由来不純物に分類される。

- ・ 原薬中の製造工程由来不純物((2)のアの(エ)参照)には、培地、宿主細胞由来タンパク質、DNA、精製に用いられるモノクローナル抗体やクロマトグラフィー用担体の構成成分、溶媒、緩衝液成分等がある。製造工程の適切な管理により、これらの不純物は最小限にする必要がある。
- ・ 原薬中の目的物質由来不純物((2)のアの(エ)参照)は、製造中や保存中に生成し、目的物質とは異なる性質を有する分子変化体のことである。

不純物に関する試験方法の選択及び最適化に際しては、目的物質及び目的物質関連物質を不純物から分離することに重点を置くべきである。不純物に関する規格値は、それぞれ個別に若しくは総量で適切に設定する必要がある。不純物のうちのあるものについては、適切なプロセスコントロールを行うことで、規格値を必ずしも設定する必要がないものもある((2)のウ参照)。

(エ) 力価

生物薬品の原薬の規格及び検査方法には、適切な、バリデーションされた力価試験((2)のアの(イ)参照)が必要である。しかし、適切な力価試験を製剤について設定していれば((4)のイの(エ)参照)、原薬の段階での定量的な評価には、代替試験法(理化学的試験法や生物学的試験法)でも十分な場合がある。また、比活性の測定により、更に有用な情報が得られる場合もある。

(オ) 物質質量

通例タンパク質量(質量)で表される原薬の物質質量は、適切な定量法を用いて測定する。物質質量(タンパク質量)の測定には標準品・標準物質を必要としない場合もある。製品の製造が力価に基づいて行われる場合には、別途あえて物質質量(タンパク質量)の測定をする必要はない。

イ 製剤の規格及び試験方法

以下の試験及び規格値/適否の判定基準にかかわる項目は、通例、すべての製剤において設定されるものである。(4)のイの(ア)～(4)のイの(オ)

の各項目は、それぞれ原薬の（４）のアの（ア）～（４）のアの（オ）の各項目に対応する。剤型について薬局方に関連する規定がある場合、それらの規定が適用される。薬局方に収載されている代表的な試験法には、無菌試験、微生物限度試験、実容量試験、不溶性微粒子試験及び不溶性異物検査、質量偏差試験／含量均一性試験、並びに凍結乾燥製剤に対する含湿度試験があるが、これらの試験に限られる訳ではない。質量偏差試験／含量均一性試験は工程内管理試験として実施し、規格値を設定することでもよい。

（ア）外観・性状

製剤の物理的状态（例えば、固体、液体）、色及び澄明度を定性的に規定する。

（イ）確認試験

確認試験は、その製剤に極めて特異的である必要がある。また、分子構造上の特徴やその他の特有の性質に基づいて設定する必要がある。確認試験は定性的なものでもよい。ほとんどの場合、１種類の試験で十分であると考えられるが、製品によっては同一性を確認するために２種類以上の試験（理化学試験、生物学的試験、免疫化学的試験）が必要となる場合もある。確認試験には、（２）のＡ及び付録（６）のＡに記載されているような製品の特性解析のためによく用いられる試験法のうちの幾つかが、そのまま、又は目的に沿うよう改変して用いられる。

（ウ）純度と不純物

不純物は、製剤の製造の際又は保存中に、生成したり増加したりする可能性がある。これらの不純物は、原薬に元々存在する目的物質由来不純物や製造工程由来不純物と同じものか、製剤化中又は製剤の保存中に特異的に生成する分解物・変化物のいずれかである。もし不純物が定性的にも定量的にも（すなわち、相対量又は濃度で）原薬中のものと同じであるということであれば、試験項目として設定する必要はない。新たに不純物が製剤の製造中あるいは保存中に生じることが判明している場合には、これらの不純物のレベルを測定し、規格値を設定する必要がある。

規格値と分析方法は、製剤についてのそれまでの経験に基づき、製剤の製造中又は保存中の原薬の変化を測定できるよう設定し、かつその設定根拠及び妥当性を示す必要がある。

試験方法の選択及び最適化に際しては、目的物質及び目的物質関連物質を、分解物・変化物を含めた不純物及び添加剤から分離することに重点を置くべきである。

（エ）力価

生物薬品の製剤の規格及び検査方法には、適切な、バリデーションされた力価試験（（２）のアの（イ）参照）が必要である。しかし、適切な力価試験を原薬について設定していれば、製剤の段階での定量的な評価には、代替試験法（理化学的試験法や生物学的試験法）でも十分な場合がある。ただし、そのような設定を行う場合には、その妥当性を示すこと。

(オ) 物質量

製剤中の原薬の量は、通例、タンパク質量（質量）で表し、適切な定量法を用いて測定する。製品の製造が力価に基づいて行われる場合には、別途あえて物質量（タンパク質量）の測定をする必要はない。

(カ) その他の一般的試験項目

製剤の機能を評価する上で、物理的性質及び他の品質特性の測定が重要となる場合が多い。このような試験の例としては、pH、浸透圧がある。

(キ) 特殊な剤形のための追加試験項目

剤形によっては、その特殊性に鑑み、上記の試験項目の他に、試験項目の追加が必要となる場合もあることを考えておく必要がある。

(5) 用語集

規格値／適否の判定基準（Acceptance Criteria）

所定の分析方法に従い試験した結果の適合基準となる数値で表した限度値又は範囲、あるいはその他の適切な基準

処置基準値（Action Limits）

重要度が比較的低い製造工程の一定性を評価するときに用いる製造業者が自家で定めた基準値

生物活性（Biological Activity）

特定の生物学的効果を発揮するための製品の特異的な機能やその程度。「力価」は、生物活性を定量的に表す尺度である。

混入汚染物質（Contaminants）

原薬及び製剤の製造工程には本来存在しないはずのもので、外来性の物質（例えば、化学物質、生化学的な物質、微生物類など）すべてを指す。

分解物・変化物（Degradation Products）

目的物質や目的物質関連物質から、経時的に、又は光、温度、pH、水分等の作用、又は添加剤若しくは直接接触する容器／施栓系との反応により、生成する分子変化体のこと。このような変化（例えば、脱アミド化、酸化、凝集、プロテアーゼによる分解）は、製造中又は保存中に生じる可能性がある。分解物・変化物は、目的物質関連物質であることもあるし、目的物質由来不純物であることもある。

目的物質（Desired Product）

①予期した構造を有するタンパク質、② DNA 塩基配列から期待されるタンパク質、③しかるべき翻訳後修飾（グリコフォームの生成を含む）から期待されるタンパク質、及び④生物活性分子を生産するのに必要な、意図的な加工・修飾操作から期待されるタンパク質

製剤（Drug product, Dosage Form, Finished Product）

臨床に供される医薬品の製品形態で、一般に原薬に加えて添加剤を含む。

添加剤（Excipient）

原薬や製剤に意図的に添加する成分で、そこで使用される量では薬理学的作用を持たないもの

不純物 (Impurity)

- ①新原薬として規定された化学物質以外の新原薬の構成成分
- ②原薬として規定された化学物質あるいは医薬品添加剤以外の製剤の構成成分

自家一次標準物質 (In-House Primary Reference Material)

製造業者が生産ロットの生物学的試験 (バイオアッセイ) 及び理化学試験に使用する目的で、代表的な生産ロットから調製し、適切な特性解析を行ったもの。これを基準として自家用標準物質の検定を行う。

自家用標準物質 (In-House Working Reference Material)

自家一次標準物質と同様に調製され、ある特定の製品特性について、各生産ロットを評価、管理するために、確立されたもの。通例、自家一次標準物質を基準として検定される。

新原薬 (New Drug Substance)

これまである地域又はメンバーとなっている国で承認されたことがなく、新しく承認されるに当たって適応症の定められた疾病治療用の物質で、**new molecular entity** 又は **new chemical entity** とも呼ばれる。既に承認された原薬の錯体、エステル、塩である場合もある。

力価 (Potency)

当該医薬品の生物学的性質に関連する特性に基づいて、適切で定量的な生物学的試験 (「力価試験」又は「バイオアッセイ」ともいう。) により測定され、生物活性を定量的に表す尺度

製造工程由来不純物 (Process-Related Impurities)

製造工程に由来する不純物。これらには、細胞基材に由来するもの (例えば、宿主細胞由来タンパク質、宿主細胞由来 DNA)、細胞培養液に由来するもの (例えば、インデューサー、抗生物質、培地成分)、又は細胞培養以降の工程である目的物質の抽出、分離、加工、精製工程に由来するもの (例えば、細胞培養以降の工程に用いられる試薬・試液類、クロマトグラフィー用担体からの漏出物) がある。

目的物質由来不純物 (Product-Related Impurities)

目的物質の分子変化体 (例えば、前駆体、製造中や保存中に生成する分解物・変化物) で、生物活性、有効性及び安全性の点で目的物質に匹敵する特性を持たないもの

目的物質関連物質 (Product-Related Substances)

製造中や保存中に生成する目的物質の分子変化体で、生物活性があり、製品の安全性及び有効性に悪影響を及ぼさないもの。これらの分子変化体は目的物質に匹敵する特性を備えており、不純物とは考えない。

標準品 (Reference Standards)

国際標準品又は国内標準品を指す。

規格及び検査方法 (Specification)

「規格及び検査方法」とは、試験項目、用いる分析方法、及びその方法

で試験したときの規格値／適否の判定基準(数値で表した限度値又は範囲、あるいはその他の基準)を示したものとして定義される。規格及び試験方法は、原薬、製剤又はこれらの製造工程における中間体が、それぞれの使用目的にかなっていると判定するために必要な要素をセットにして定めたものである。「規格及び検査方法に適合する」とは、原薬及び製剤について、示された各分析方法に従って試験するときすべての規格値／適否の判定基準に適合するということである。規格及び検査方法は、承認申請時に、その設定理由とともに製造業者から提示され、規制当局により承認のための必須条件とされるもので、医薬品の品質確保上、極めて重要な規制基準である。

(6) 付録

ア 物理的・化学的特性解析に関する付録

本付録は、目的物質、原薬又は製剤の構造解析や構造確認及び物理的・化学的性質の評価に際して技術的にどのようにアプローチしていけばよいかという例を示している。製品ごとに用いるアプローチは異なるであろうし、本付録に示す方法以外のものが適切な場合も多い。新しい分析技術の開発や既存の技術の改良は日進月歩で進んでいるので、適時取り入れるべきである。

(ア) 構造解析・構造確認

a) アミノ酸配列

目的物質のアミノ酸配列は、b) から e) の項に記載したような方法によりできる限り決定し、目的物質をコードする遺伝子配列から推定されるアミノ酸配列と比較する。

b) アミノ酸組成

全アミノ酸組成は、種々の加水分解法及び分析方法により決定し、目的物質をコードする遺伝子配列から推定されるアミノ酸組成と比較する。必要に応じて、対応する天然型タンパク質のアミノ酸組成と比較する。ペプチドや低分子量のタンパク質については、アミノ酸組成分析により有用な構造情報が得られることが多いが、高分子量のタンパク質については、必ずしも一般的にそうとはいえない。定量的なアミノ酸分析のデータは、タンパク質量の定量にも利用できる場合が多い。

c) 末端アミノ酸配列

末端アミノ酸分析は、アミノ末端(N末端)及びカルボキシ末端(C末端)アミノ酸の種類及び均一性を確認するために行う。目的物質が末端アミノ酸に関して不均一であることが認められた場合には、各分子変異体の相対量を適切な分析方法により測定する。末端アミノ酸配列は、目的物質をコードする遺伝子配列から推定される末端アミノ酸配列と比較する。

d) ペプチドマップ

目的物質を適当な酵素又は化学物質を用いて個々のペプチドに選択的に断片化し、得られたペプチド断片を高速液体クロマトグラフィー

(HPLC) 又は他の適切な方法により分析する。これらのペプチド断片は、アミノ酸組成分析、N 末端アミノ酸配列分析又は質量分析などの方法により、可能な範囲で同定する。適切にバリデーションされた分析法による原薬や製剤のペプチドマッピングは、ロットごとの規格及び試験方法において、目的物質の構造確認にしばしば用いられる試験法となる。

e) スルフヒドリル基及びジスルフィド結合

目的物質をコードする遺伝子配列からシステイン残基があるとされる場合には、すべての遊離スルフヒドリル基あるいはジスルフィド結合の数及び位置を可能な範囲で決定する。ペプチドマッピング（還元条件下及び非還元条件下）、質量分析、又は他の適切な分析法を用いて評価する。

f) 糖組成・糖鎖構造

糖タンパク質の場合には、糖含量（中性糖、アミノ糖、シアル酸）を決定する。更に、糖鎖構造、オリゴ糖パターン（枝分かれ構造についてのプロファイル）及びポリペプチド鎖の糖鎖結合部位をできる限り分析する。

(イ) 物理的・化学的性質

a) 分子量・分子サイズ

分子量（又はサイズ）を、サイズ排除クロマトグラフィー、ドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS-PAGE、還元条件下あるいは非還元条件下）、質量分析又は他の適切な分析法により決定する。

b) アイソフォームパターン

アイソフォームパターンを、等電点電気泳動又は他の適切な分析法により決定する。

c) 比吸光度（又はモル吸光係数）

特定の紫外可視領域での波長（例えば、280nm）における目的物質の比吸光度（又はモル吸光係数）を決定することが望ましい場合が多い。比吸光度は、アミノ酸組成分析又は窒素定量法等の方法により測定した既知のタンパク質濃度の溶液を試料として、紫外可視分光光度法により決定する。紫外吸収をタンパク質量測定に用いる場合は、当該目的物質の比吸光度を用いる。

d) 電気泳動パターン

電気泳動パターン、並びに同一性、均一性及び純度に関するデータを、ポリアクリルアミドゲル電気泳動、等電点電気泳動、SDS-PAGE、ウエスタンブロット、キャピラリー電気泳動、又は他の適切な方法により測定する。

e) 液体クロマトグラフィーパターン

クロマトグラフィーパターン、並びに同一性、均一性及び純度に関するデータを、サイズ排除クロマトグラフィー、逆相液体クロマトグラフ

イー、イオン交換液体クロマトグラフィー、アフィニティクロマトグラフィー、その他の適切な方法により測定する。

f) 分光学的性質

紫外可視吸収スペクトルを、必要に応じて測定する。目的物質の高次構造を、円偏光二色性、核磁気共鳴 (NMR)、その他の適切な分析法により必要に応じて検討する。

イ 不純物に関する付録

本付録では、混在する可能性のある不純物について例示し、その由来及び適切な検出方法の例を示す。個々の不純物及びそれらを検出する方法は、物理的・化学的特性解析の場合と同様に、製品ごとに異なるであろうし、本付録に示されていない方法が適切な場合も多い。新しい分析技術の開発や既存の技術の改良は日進月歩で進んでいるので、適時取り入れるべきである。

(ア) 製造工程由来不純物及び混入汚染物質

製造工程に由来する不純物 ((2) のアの (エ) 参照) は、細胞基材に由来するもの、細胞培養液に由来するもの、及び細胞培養以降の工程である目的物質の抽出、分離、加工、精製工程に由来するものの三つの範疇に大別される。

a) 細胞基材に由来する不純物には、例えば、宿主細胞由来タンパク質、核酸 (宿主ゲノム由来、ベクター由来、総 DNA) 等がある。宿主細胞由来タンパク質に対しては、広範なタンパク質性不純物を検出することができる高感度な分析法、例えば免疫アッセイが一般に用いられる。免疫アッセイの場合、試験に用いるポリクローナル抗体は、産生細胞から目的物質をコードする遺伝子を除いた細胞から調製した標品、細胞融合の相手となる細胞から調製した標品、又は他の適当な細胞株から調製した標品等を免疫することにより得られる。宿主細胞由来の DNA は、(ハイブリダイゼーション法などにより) 製品を直接測定することにより検出される。実験室スケールでの添加回収実験等による不純物クリアランス試験は、核酸や宿主細胞由来タンパク質のような細胞基材に由来する不純物が除去されていることを示すためのものであるが、クリアランス試験をこれらの不純物について規格値を設定しない根拠にできることもある。

b) 細胞培養液に由来する不純物には、例えば、インデューサー、抗生物質、血清、その他の培地成分などがある。

c) 細胞培養以降の工程である目的物質の抽出、分離、加工、精製工程に由来する不純物には、例えば、酵素、化学的・生化学的試薬 (例えば、臭化シアン、グアニジン、酸化剤及び還元剤)、無機塩 (例えば、重金属、ヒ素及び非金属イオン)、溶媒、クロマトグラフィー用担体、アフィニティクロマトグラフィー用担体のリガンド (例えば、モノクローナル抗体)、その他の漏出物などがある。

製造工程中で意図的に添加したウイルス、内在性のウイルス、及び製造工程に迷入する可能性のあるウイルスについては、製造工程のウイル

ス除去／不活化の能力を示す必要がある。この点については、ICH ガイドライン Q5A「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価」を参照すること。

(イ) 目的物質由来不純物（分解物・変化物を含む）

目的物質の分子変化体の最も代表的な例を以下に挙げ、それらを検査するための適切な方法を例示する。分子変化体がどのような修飾を蒙ったものであるかを明らかにするための変化体の単離及び特性解析には、かなりの努力を必要とすることもある。分解物・変化物のうち、製造中又は保存中にそれなりの量が生成するものについては、適切に設定した規格値の範囲内にあることを試験する必要がある。

- a) 切断体：加水分解酵素や化学物質がペプチド結合の開裂を触媒することがある。切断体の検出には、HPLC や SDS-PAGE が有用である。ペプチドマッピングも分子変化体の特性によっては有用な方法である。
- b) 切断体以外の分子変化体：脱アミド体、異性体、ジスルフィド結合ミスマッチ体、酸化体、又は複合タンパク質（例えば、糖鎖付加、リン酸化したタンパク質）の分子変化体等については、クロマトグラフィー（例えば、HPLC）、電気泳動（例えば、キャピラリー電気泳動）、又は他の適切な分析法（例えば、質量分析、円偏光二色性）により検出及び特性解析ができる。
- c) 凝集物：凝集物の範疇には、目的物質の二量体や多量体が含まれる。通常、これらは適切な分析法（例えば、サイズ排除クロマトグラフィー又はキャピラリー電気泳動）により、目的物質及び目的物質関連物質から分離され、定量される。

4 食用動物に使用する新動物用医薬品の承認に必要となる抗菌剤耐性に関する承認前試験指針（VICH GL27）

はじめに

ヒト、動物又は植物分野における抗菌剤の使用は、結果的に耐性選択を誘導する可能性がある。非チフス性サルモネラ、カンピロバクター、腸管出血性大腸菌（O157）のような人獣共通病原体は、一般的な定義によれば動物からヒトへの伝播が可能である。したがって、当然人獣共通病原体の抗菌剤耐性もヒトへ伝播され得る。抗菌剤耐性を示す非人獣共通病原体又はそれらの耐性遺伝子が、食物連鎖を介して動物からヒトへ伝播することも可能である。しかし、そのような伝播がいかに重大、重要であるのかを裏付けるデータ及び汚染食肉の摂取を介しての伝播あるいは動物の排泄物で汚染された飲水、野菜を介した伝播が、実際に起こっているのかどうかを証明するデータは限られている。^{1,2,3} ヒトも抗菌剤耐性菌の潜在的源のひとつである。^{4,5}

食用動物が、ヒトでの抗菌剤耐性菌のばく露にどの程度の範囲でかかわっているのかを特定することは困難である。しかし、食用動物に抗菌剤を使用することの安全性を評価するとき、規制当局もそのような製剤による抗菌剤耐性菌の選択の潜在的可能性を考慮すべきである。それゆえ、医薬品の承認申請者（以下「申請者」という。）にとっては、認可機関へ提出すべき情報の種類に関する指針が必要である。この情報は、抗菌剤の使用が人の健康上、懸念される抗菌剤耐性菌を選択させる潜在的可能性を調べる手助けとなるべきである。その提供された情報は、ヒトの健康に与える潜在的影響の全体的な評価に使用すべきである。

目的

この指針の目的は、食用動物に使用する抗菌剤の承認に必要であり、抗菌性物質が与えられることによって、ヒトの健康上、懸念される耐性菌が選択される潜在的可能性を調べるために役立つ EU、日本及び米国での統一的な技術的指針を提供することである。

さらに説明を加えれば、本指針は、その製剤を申請された用法で食用動物に投薬するときに起こる潜在的な耐性出現を調べるために推奨される試験及びデータの種類を概説する。この指針は原薬や製剤の特性、耐性の性質及び対象動物の腸管内細菌叢における潜在的ばく露についての情報も含む。また、本指針は、人の健康に潜在的に影響を与える食品加工過程あるいは家庭調理衛生のような動物のと殺後の要因は考慮していない。

本指針の中には病原体負荷試験、環境毒性試験、危険度評価の過程及び一日許容摂取量（ADI）の確立及び抗菌剤残留問題を含めていない。

水産用医薬品については、生産システム、細菌集団及び潜在的な人獣共通感染症としての公衆衛生上の脅威に基本的な違いがあるので、特別な取扱いをすることが妥当であろう。

データの要件：

これ以降の項目における情報を、基礎的データと付加的データの2種類に分け

た。その情報が基礎的データである場合は、申請者はそのような情報を提供することが推奨される。

一方、その情報が付加的データである場合は、それらのデータの一部又はすべてを含めるかどうかを選択してもよい。その製剤の申請された用法、動物の腸管内細菌叢の抗菌性物質へのばく露の可能性、生じた耐性菌又は耐性遺伝子のヒトへのばく露の可能性及びその抗菌性物質（又は関連物質）のヒト医療における重要性などは、付加的データを提供する際の要因となる。

(1) 基礎的情報

ア 抗生物質の系統

当該情報は、原薬成分の化学構造、特許情報及びこれ以後の項目で取り扱われる関連の情報に基づく。例えば、一般的名称、化学名、CAS（化学分野の要約サービス）登録番号、化学構造及び製造コード番号／類義語が推奨される。

イ 作用機序と作用型

当該情報は、特許に関する文献情報又は申請者により実施された特異的作用機構に関する試験から推論できる。また、この項には、その作用が殺菌的又は静菌的であるのか等の特徴付けを含めるべきである。

ウ 抗菌スペクトル活性

(ア) 一般データ

抗菌性物質に関する当該情報は申請者により提供されなければならない。抗菌スペクトル活性の全体を決定するために、その中には広範な細菌を用いて実施した MIC（最小発育阻止濃度）試験から得られたデータ又は文献情報から得られたデータを含めるべきである。MIC 値を測定する際には、供試菌株の収集は微生物株保存機関、疾病診断センター、その他の菌株保管施設から行うことになるだろう。

可能ならば、MIC 値は米国臨床検査標準委員会（NCCLS）の文書（eg.,M31-A, Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria isolated from Animals, Approved Standards）のようバリデートされ、精度管理された方法により測定すべきである。

(イ) 適用対象動物の病原菌（製品ラベル上）の MIC

これらのデータは、本指針の目的においても、裏付けになると考えられる。適用対象動物の病原菌の MIC 値は、申請資料の「効力を裏付ける試験」から得られる。

(ウ) 食品媒介性病原菌及び共生細菌の MIC

食品媒介性病原細菌及び共生細菌の MIC 値はデータとして示されるべきである。この情報は、公表データ又は申請者により実施された試験に基づく。そのスペクトル活性にもよるが、食品媒介性病原細菌及び食品媒介性共生細菌として適当な細菌は以下のようなになる。

食品媒介性病原細菌：

サルモネラ

カンピロバクター属菌

食品媒介性共生細菌：

大腸菌

腸球菌

可能ならば、以下の推奨事項に従って供試菌株を選定すべきである。

・関係する細菌種／血清型の菌株については、申請の適用対象動物から分離されるべきである。広い動物種を適用対象として申請する場合には牛、豚及び鶏などの主要な食用動物から分離された菌株を供試すべきである。

・望ましくは、最近の分離株を含めるべきである。

供試菌株に関する情報には以下の事項を含めるべきである。

・少なくとも菌種レベルまでの同定

・分離株の起源、由来及び分離年月日

エ 耐性機序及び耐性遺伝学

可能ならば、抗菌性物質に対する耐性機構に関する情報及び耐性の分子遺伝学的原理に関する情報は提示されるべきである。当該情報は、文献情報又は申請者により実施された試験に基づく。原薬成分に関するデータがない場合には、同系統類縁物質での情報が利用できる。

オ 耐性遺伝子の存在及び耐性遺伝子の伝達頻度

耐性遺伝子の存在又は欠如及び伝達頻度に関する情報は提示されるべきである。当該情報は、文献情報あるいは申請者により実施された試験に基づく。耐性伝達の出現を評価するのであれば、その具体的研究の実施に当たっては、「Antibiotics in Laboratory Medicine, 4th ed., V. Lorian, ed. 1996. William and Wilkins, Baltimore, Maryland」に記載されているプロトコールを参考にすべきである。本試験には、対象動物病原菌、関連の食品媒介性病原細菌及び関連の共生細菌を供試することを考慮してもよい。原薬成分に関するデータがない場合には、同系統類縁物質に関する情報も利用できる。

カ 交叉耐性の発現

抗菌性物質に対する交叉耐性情報は提示されるべきである。当該情報は、文献情報又は申請者により実施された試験に基づく。この情報には表現型の記述、及び更に有用であれば、遺伝形質の記述を含めるべきである。

キ 共通耐性の発現

当該抗菌性物質とその他の成分との共通耐性に関する情報は、文献情報又は申請者により実施された試験に基づき提示されるべきである。この情報には、表現型の記述、及び更に有用であれば、遺伝形質の記述も含めるべきである。

ク 薬物動態データ

薬物動態データは、腸管内の抗菌活性を予期するために承認申請資料における他の資料区分から得られる。データとしては、次のようなものが含まれる。

・血清／血漿濃度対時間データ

・最高濃度 (Cmax)

・最高濃度到達時間 (Tmax)

・分布容 (VD)

- ・クリアランス (Cl)
- ・濃度－時間曲線下面積 (AUC)
- ・生物学的利用能
- ・蛋白結合能

(2) 付加的情報

申請者は、以下に示す情報の中の一部又はすべてを含ませるかどうかを選択できる。

ア *in vitro* 変異頻度試験

in vitro 変異頻度試験は、被検菌種も含めて「Antimicrobials in Laboratory Medicine, 4th ed., V. Lorian, ed. 1996. Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland」の中に示されたようなプロトコールに従う。

イ 腸管内における抗菌活性

有用であるならば、その製剤が申請用法に従って投薬されるとき、腸管内容物あるいは糞便中の細菌学的活性成分の濃度に関する詳細データが提示される。ここで問題となる活性は、親化合物あるいは活性代謝産物によるものである。そのようなデータが有用でない場合には、詳細データは腸管に関連した代謝試験により提示される。その代謝試験データは、承認申請資料における他の資料区分から得られる。

ウ その他の動物試験

申請者は、その製剤の申請用法による投薬に関連した耐性出現の範囲及び耐性出現の頻度を調べる手助けとするために、実施されたその他の動物試験からの情報を含めるかどうかを選べる。この情報には、承認申請資料中のその他の資料区分を支持するために実施された臨床試験からのデータも含む。そのような試験成績の将来的価値については、未だ耐性出現との関連では明確にはなっていない。したがって、そのような試験成績は、本指針の中で述べられているその他すべての承認前情報の文脈の中で解釈されるべきである。

エ 補助情報

有用かつ関連がある場合には、文献からの背景情報若しくはその製剤又は類縁製剤が過去に承認された際の試験データを提示できる。

(3) 考察

申請者は、当該製剤の使用によりヒトの健康に関係した抗菌剤耐性菌が選択される潜在的な可能性を調べなければならない。このことを達成するため、動物用医薬品がその申請用法に従って投薬された後、対象動物における食品媒介性病原細菌及び共生細菌の細菌学的活性物質に対するばく露について、前述の項目で提供された情報に基づき考察すべきである。

用語集

- 抗菌性物質又は抗菌剤：抗菌活性（他の微生物を殺したり、その発育を抑制する活性）を示す天然物質、半合成又は合成された物質
- 食用動物：牛、鶏及び豚を食用動物として考える。食用動物の概念については、各国間での認識の違いがあるため、ある国では、その他の動物種も食用動物と

みなされる可能性がある。

- 対象動物病原細菌：動物用抗菌剤の製品ラベルに示された適用用法上の対象動物において感染症を引き起こす病原性を有する細菌種
- 食品媒介性病原細菌：動物がその腸管内容物中に保菌する人獣共通病原菌種であり、食物連鎖によりヒトにそれが伝播され、その後にヒトに食中毒を引き起こす細菌
- 食品媒介性共生細菌：動物の腸管内容物中に生息する非人獣共通病原細菌で、食物連鎖を介して動物からヒトへ伝播されることもありうるが、ヒトには通常、食品媒介性感染症を引き起こさない細菌

参考文献

1. Ministry of Agriculture Fisheries and Food. A Review of Antimicrobial Resistance in the Food Chain: A Technical Report for MAFF. July 1988.
2. European Commission. Opinion of the Scientific Steering Committee on Antimicrobial Resistance. May 1999.
3. Commonwealth Department of Health and Aged Care and the Commonwealth Department of Agriculture, Fisheries and Forestry-Australian. The use of antibiotic in food-producing animals: antibiotic-resistant bacteria in animals and humans. Report of the Joint Expert Advisory Committee on Antibiotic Resistance (JECFAR) . September 1999.
4. H. Kinde, et al. Sewage Effluent: Likely Source of Salmonella enteritidis, Phage Type 4 Infection in a Commercial Chicken Layer Flock in Southern California. Avian Diseases 40:672-679, 1996.
5. H. Kinde, et al. Prevalence of Salmonella in Municipal Sewage Treatment Plant Effluents in Southern California. Avian Diseases 41:392-398, 1997.

5 動物用生物学的製剤の検査法に関するガイドライン

5-1 ホルムアルデヒド定量試験 (VICH GL25)

(1) 緒言

ア 目的

多くの動物用不活化ワクチン、特に細菌ワクチンには残留ホルムアルデヒドが含まれている。残留ホルムアルデヒド定量試験の目的は、

- (ア) 製品の安全性を保証し、
- (イ) 当該製品が、同時に使用される他の製品を不活化しないことを保証し、
- (ウ) 保存期間中、当該製品の活性が持続することを保証し、
- (エ) クロストリジウムトキソイドが抗原性を有し、かつ、安全であることを保証することである。

本ガイドラインはホルムアルデヒド試験のための一般要件に関するガイドラインを提供するものである。本ガイドラインは対象物質の特性や特定の科学的状況に基づいた他の試験方法を否定するものではないが、他の試験方法を採用する場合には、承認申請書中に明記され、本ガイドラインに基づいて試験を行った場合と比較して同等のデータを有するものでなければならない。

イ 適用範囲

本ガイドラインは、ホルムアルデヒドを含むすべての新動物用ワクチンの最終製品に適用される。

ウ 背景

不活化ワクチン中の残留遊離ホルムアルデヒドの測定には、アセチルアセトン法、塩化鉄法、塩基性フクシン法等の幾つかの測定法が使用されているが、亜硫酸水素ナトリウムで中和された製品にも使用できることが示された¹ため、塩化鉄法が採用された。

残留ホルムアルデヒドは g/L として記録され、換算表は表 1 のとおりである。

エ 一般原理

総ホルムアルデヒドは、ホルムアルデヒドとメチルベンゾチアゾロンヒドラゾン塩酸塩 (MBTH) との反応に基づいて定量される。

この反応は以下のとおりである。

- (ア) MBTH とホルムアルデヒドが結合し、一つの化合物を生成する。
- (イ) 過剰の MBTH が酸化し、もう一つの化合物を生成する。
- (ウ) これらの二つの化合物が結合し、628nm で測定される青色発色団を生成する。

オ 本ガイドラインで採用する塩化鉄法は、動物用生物学的製剤基準 (平成 14 年 10 月 3 日農林水産省告示第 1567 号。以下「動生剤基準」という。) の通則 39 の規定により、動生剤基準の一般試験法のホルマリン定量法と同等以上の正確さと精密さがあるものとして用いることができる。

(2) 塩化鉄法

ア 試薬

(ア) 塩化鉄 (III) - アミド硫酸試薬

塩化鉄 (III) 10g 及びアミド硫酸 16g に水を加えて溶解し、1 L とした溶液

(イ) MBTH 試薬 (MW233.7) [CAS149022-15-1]

3-メチルベンズチアゾール-2 (3H) オンヒドラゾン塩酸塩一水和物 (白色又は黄色の結晶性粉末。融点：約 270 °C)。この試薬は、0.5g/L の MBTH 溶液である (注意：この溶液は不安定なので毎日新しいものを調製すること。)

a アルデヒド検出のための適切性

アルデヒドを含有しないメタノール 2 mL に、アルデヒドを含有しないメタノール 1 L 中にプロピオンアルデヒド 1 L を含む溶液 60 μ L、及び 4 g/L MBTH 溶液を 5 mL を加え、混和し、30 分間放置する。また、プロピオンアルデヒド溶液を含まない対照液も用意する。試験液と対照液にそれぞれ 2 g/L の塩化鉄 (III) 溶液を 25.0mL ずつ加え、アセトンで 100mL とし混和する。1 cmセルで 660nm における試験液の吸光度を対照液を補正液として測定する。試験液の吸光度は 0.62 以上でなければならない。

(ウ) ホルムアルデヒド溶液

ホルムアルデヒドを 34.5w/v % 以上 38.0w/v % 以下含むもの

(エ) その他の試薬

分析用のもの

イ 試料及び標準溶液の調製

(ア) ホルムアルデヒド溶液を水で正確に希釈し、0.25、0.50、1.00 及び 2.00g/L のホルムアルデヒド標準液を調製する。

(イ) ワクチンがオイルエマルジョンの場合は、適切な方法でエマルジョンを分離し、水相のホルムアルデヒド濃度を測定すること。

以下の分離方法は適切であることが示されている。

a ワクチン 1.0mL にミリスチン酸イソプロピル 1.0mL を加えて混和する。この混合液に 1 mol/L 塩酸試液 1.3mL、クロロホルム 2.0mL 及び 9 g/L 塩化ナトリウム溶液 2.7mL を加える。完全に混和した後、15,000 G で 60 分間遠心する。水相を 10mL のメスフラスコに移し、水で 10mL に希釈する。この希釈液をホルムアルデヒド試験に用いる。

以上の方法で上清を分離できない場合は、塩化ナトリウム溶液に 100g/L のポリソルベート 20 を加え、同じ操作を繰り返す。ただし、遠心は 22,500 G で行う。

b ワクチン 1.0mL に 100g/L 塩化ナトリウム 1.0mL を加え、混和した後、1,000 G で 15 分間遠心する。水相を 10mL のメスフラスコに移し、水で 10mL に希釈する。この希釈液をホルムアルデヒド試験に用いる。

c ワクチン 1.0mL に 100g/L 塩化ナトリウム溶液 2.0mL とクロロホルム 3.0mL を加え混和した後、1,000 G で 5 分間遠心する。水相を 10mL の

フラスコに移し、水で 10mL に希釈する。この希釈液をホルムアルデヒド試験に用いる。

注：エマルジョンを分離するために用いた容量は例示である。抽出操作で用いる他の試薬の容量と試料との比率が例示と同じであれば、容量が異なってもよい。

ウ 試験方法

(ア) 200 倍に希釈したワクチン 0.5mL (エマルジョンの場合は、希釈後の水相を 20 倍に希釈して、その 0.5mL を使用する。)、及び 200 倍に希釈した各濃度のホルムアルデヒド標準液 0.5mL それぞれに MBTH 試薬を 5.0mL ずつ加える。試験管に密栓をして、振とう後 60 分間放置する。

(イ) 塩化鉄 (III) - アミド硫酸試薬 1 mL を加え、15 分間放置する。

(ウ) 補正液として試薬対照液を用い、ワクチン及び標準液の 1 cm セルにおける 628nm 付近の吸収極大の波長における吸光度を測定する。

エ 計算と解釈

線形回帰を用いて、標準曲線から総ホルムアルデヒド濃度 (g/L) を算出する (許容できる相関係数 [r] は 0.97 以上)。

表 1

ホルムアルデヒドレベル換算表

ホルムアルデヒド (g/L)	ホルムアルデヒド (w/v %)	ホルムアルデヒド溶液* (vol %)	ホルムアルデヒド (ppm)
2.0	0.2	0.5	2000
0.8	0.08	0.2	800
0.5	0.05	0.125	500
0.4	0.04	0.1	400
0.05	0.005	0.0125	50
0.04	0.004	0.01	40

* : 40 %ホルムアルデヒド溶液を基本とする。

参考文献

1. Chandler, M.D. & G.N. Frerichs, Journal of Biological Standardization (1980) 8. 145-149
2. Knight, H, & Tennant R.W.G. Laboratory Practice, (1973) 22,169-173

5-2 含湿度試験 (VICH GL26)

(1) 緒言

ア 目的

凍結乾燥した動物用ワクチンは残留水分として知られている水分を常に含んでいる。含湿度試験の目的は、適切な保存期間及び製造業者の凍結乾燥工程が正しく管理されたことを保証することである。

本ガイドラインは含湿度試験のための一般要件に関するガイドラインを提供するものである。本ガイドラインは対象物質の特性や特定の科学的状況に基づいた他の試験方法を否定するものではないが、他の試験方法を採用する場合には、承認申請書中に明記され、本ガイドラインに基づいて試験を行った場合と比較して同等のデータを有するものでなければならない。ただし、代替試験法の限度が重量法と異なる可能性があることは容認される。

イ 適用範囲

本ガイドラインはすべての新しい動物用凍結乾燥ワクチンの最終製品試験に適用される。

ウ 背景

含湿度を測定するために以下の三つの一般的な方法が広く認められている。

- ・ 滴定法 (カールフィッシャー法)
- ・ 共沸法
- ・ 重量法

EU 及び米国農務省では、含湿度試験において特定の試験法を規定していない。米国連邦規制基準 (9CFR113.29) では、「含湿度測定に相当とされる方法は、動植物衛生検査部によって申請書類として承認された製品概要書に記載されなければならない。」と規定されている。EU 指令/ガイドラインでは、製品の各バッチごとに含湿度を測定し、「必要に応じて、水分量測定によって凍結乾燥工程をチェックし、当該製品の規定された限度内であることを示す。」と規定されている。日本の動生剤基準においては、「乾燥減量法」が規定されている。

エ 一般原理

含湿度は以下に示す重量法によって測定される。減圧下で加熱することによって試験品から残留水分が放出され、試験品の含湿度 (%として) は、乾燥によって減量した製品の重量に基づいて算出される。

オ 本ガイドラインで採用する重量法は、動生剤基準の通則 39 の規定により、動生剤基準の一般試験法の含湿度試験法と同等以上の正確さと精密さがあるものとして用いることができる。

(2) 重量法

ア 材料と装置

(ア) 円筒形の秤量瓶

気密性のガラス栓付で、番号が個々に付されたもの

(イ) 減圧乾燥器

バリデートされた温度計とサーモスタットを備えたもの。適当な空気乾燥装置が注入バルブに取り付けられていること。

(ウ) 天秤

0.1 mgまで読み取り可能なもの（精度：± 0.1 mg）

(エ) デシケーター

酸化リン（V）、シリカゲル又は同等物を用いる。

(オ) 試料

密閉したバイアル中の動物用乾燥ワクチン

イ 試験のための準備

(ア) 試験のための準備－環境

相対湿度 45 %未満の環境にてすべての操作を行う。

(イ) 試験のための準備－秤量瓶

試料用の秤量瓶にラベルを貼る。秤量瓶は完全に清浄にしておく。秤量瓶の上部に一定角度で栓を置き、減圧 (<2.5kPa) 下、60 ± 3 °Cで最低 30 分間乾燥する。熱いうちに、速やかに秤量瓶と栓をデシケーター内へ移動させる。室温まで放冷後栓をし、重量を量り、その重量を「A」として記録する。秤量瓶はデシケーターに戻す。

(ウ) 試料の準備

使用時まで室温で、気密容器中に試料を保管する。作業の準備が整うまでは開封しないこと。

ウ 試験の実行

(ア) 手順

- a 試料容器を開封する。薬匙を用いて乾燥した製品を粉碎し、あらかじめ重量を量っておいた秤量瓶に速やかに移す（最低 100 mg若しくは精密な測定に要する下限量、又は必要であれば1バイアル（1用量）以上使用すること。）。栓をして、速やかに重量を量る。その重量を「B」として記録する。
- b 減圧乾燥器内で、秤量瓶に栓を傾けて置く。2.5kPa 未満まで減圧し、温度は 60 ± 3 °Cに設定する。
- c 最低 3 時間後、減圧ポンプを止め、乾燥器の内圧が常圧となるまで乾燥器へ乾燥した空気を注入する。
- d 秤量瓶が温かいうちに、栓をしてデシケーターへ入れ、室温まで放冷する（最低 2 時間又は一定重量を得られることが確認された時間）。重量を量り、その重量を「C」として記録する。

エ 計算と結果

$((B - C) / (B - A)) \times 100$ で含湿度 (%) を算出する。

A：秤量瓶の風袋重量

6 動物用生物学的製剤基準一般試験法の異常毒性否定試験法及び毒性限度確認試験法の取扱いについて

(1) 異常毒性否定試験法について

異常毒性否定試験法は、その有効成分、アジュバント等に特に問題となる毒性を示す物質が含まれない製剤に適用する。

(2) 毒性限度確認試験法について

毒性限度確認試験法は、その有効成分、アジュバント等に何らかの毒性を示す物質が含まれ、異常毒性否定試験法では適切に規格を設定できない製剤に適用する。

7 ワクチン接種対象動物における動物用生ワクチンの病原性復帰否定試験について

牛、馬、めん羊、山羊、豚、犬、猫及び家きん（鶏及び七面鳥）を対象とする動物用生ワクチン（ベクターワクチンの場合は、対象動物種で増殖するベクターワクチン株のみを対象とする。）の承認申請のための病原性復帰否定試験は、動物用生物学的製剤基準（平成14年10月3日農林水産省告示第1567号。以下「動生剤基準」という。）の一般試験法に規定する病原性復帰確認試験法（以下「病原性復帰確認試験法」という。）に基づき実施することが望ましい。この場合、動生剤基準の規格の部のシードロット規格に適合しない動物用生ワクチンでは、病原性復帰確認試験法の1.1の「マスターシード」を「原株」に、「ワーキングシード」を「原種」に読み替える。

微生物株の弱毒化が、よく知られている特定のマーカー又は遺伝子変化に起因する場合には、ワクチン株の弱毒マーカーの遺伝学的安定性を確認するために、初回接種微生物株と最終継代から回収された微生物株について、適切な分子生物学的手法により比較する試験を追加実施しなければならない。

また、既知のデータ又は評価により、供試微生物株の病原性が復帰又は増強する可能性が十分あることが示唆されている場合には、供試微生物株に関する更なる情報を得るために追加試験が必要となるかもしれない。

なお、科学的に正当な理由がある場合には、必ずしもこの方法に従う必要はなく、他の適当な方法を用いても良い。

8 安定性に関する試験について

(1) 安定性に関する試験の添付資料の提出範囲

本ガイドラインにおいて提出するものとする安定性試験資料は、「8-1 動物用新原薬及び製剤の安定性試験」(VICH GL3R)の試験資料をもって代えることができるものとする。

ア 「薬事法関係事務の取扱いについて」(平成12年3月31日付け12畜A第729号農林水産省畜産局長通知。以下「局長取扱い通知」という。)第2の2別表第3及び別表第4の区分の1、2、3又は5に該当する医薬品(同区分の3に該当する医薬品にあっては、剤型が既に承認されているものと同類のもの以外のものに限る。)については、(2)のアの長期保存試験及びウの苛酷試験の試験成績を提出するものとする。

イ 局長取扱い通知第2の2別表第3及び別表第4の区分の8、9、10、11、12又は13(同区分10、11、12又は13に該当する生物学的製剤にあっては、菌(ウイルス)株、組成及び剤型が既に承認されているものと同類のもの以外のものに限る。)に該当する医薬品については、(2)のアの長期保存試験の試験成績を提出するものとする。

ウ 局長取扱い通知第2の2別表第3及び別表第4の区分3、4、6、7、10、11、12、13又は14に該当する医薬品(同区分3に該当する医薬品にあっては剤型が、同区分10、11、12又は13に該当する生物学的製剤にあっては菌(ウイルス)株、組成及び剤型が既に承認されているものと同類のものに限る。)に係る長期保存試験については、品質を短期間で推定するには不相当と判断される場合又は3年を超えて安定であることを確認しようとする場合を除き、(2)のイの加速試験であって差し支えないものとする。

エ なお、局長取扱い通知第2の2別表第3及び別表第4の区分2に該当する医薬品のうち、国内において人用として承認され、かつ再審査が終了しているものと同じ成分、組成、剤型(形状、容量及び重量を含む。)、規格(原料規格を含む。)、製造方法、貯法、容器及び有効期間が当該人用医薬品と同じ場合において、人用の製造販売承認申請で添付された製剤の安定性試験成績を用いることで差し支えないこととする(原薬の安定性試験を添付する必要はない)。

ただし、人用医薬品と主剤が同一であっても、安定剤、賦形剤等の種類又は量が異なる場合、あるいは安定性が異なると考えられる場合は、動物用申請製剤を用いたアの安定性試験を実施することとする。

人用医薬品の安定性試験成績を添付する場合、当該資料の本文末尾等の余白部分に、人用医薬品の製造販売承認申請の際に使用された資料である旨の申請者等の陳述及び署名を記さなければならない。

オ また、有効期間の欄に同期間として1年以上を設定し、承認申請を行う場合においては、(2)のアの長期保存試験の途中であっても、1年以上の期間の試験成績をもって承認申請して差し支えない。この場合、申請者は承認申請書の参考事項の欄に安定性試験を継続中であることを記載し、承認時まで

の後引き続き実施した試験の成績を提出することとする。

カ また、有効期間の欄に同期間として1年以上を設定し、承認申請を行う場合にあっては、(2)のアの長期保存試験の途中であっても、1年以上(生物学的製剤の場合、試験開始時を含め3時点の安定性試験成績があれば、6か月以上)の期間の試験成績をもって承認申請して差し支えない。この場合、申請者は承認申請書の参考事項の欄に安定性試験を継続中であることを記載し、承認時までにはその後引き続き実施した試験の成績を提出することとする。

なお、生物学的製剤において、同一の製造販売業者で製造販売し、再審査が終了している既承認製剤とその有効成分の種は同一で製造用株のみが異なり、その他の成分及び分量、及び製造方法が同一である製剤を既承認製剤を製造している製造業者で製造する場合、承認申請時に安定性試験成績の添付を要しないこととし、既承認製剤と同じ保存条件下において暫定的に既承認製剤と同じ有効期間を設定して差し支えないこととする。安定性試験成績は、承認後に提出することとし、暫定的に定めた有効期間が担保できない場合は、安定性が確認できる期間まで短縮することとする。

(2) 安定性に関する試験方法

ア 長期保存試験

検体：原則として最終製品(局長取扱い通知第2の2別表第3及び第4の区分1に該当する医薬品にあっては、原薬及び最終製品)

ただし、安定性が保証できれば、分包品又は内袋品を用いて差し支えない。また、包装材質及び包装単位が複数ある場合は、その中で最も経時変化しやすいと推定される容量、材質及び包装単位のもの検体とする。

検体数：3ロット、1ロット1検体以上(注1)

測定の繰り返し回数：測定法の精度や再現性にに基づき適切に決定する(注2)

保存条件：室温(承認申請書に貯蔵方法として特別な条件を設定している場合には当該条件)

試験期間：承認申請する医薬品の有効期間、貯蔵方法、流通形態及び使用方法等を十分考慮に入れた期間とする。

測定時点：試験開始時、開始後2年目までは6か月を超えない範囲内で、その後は1年を超えない範囲内で定期的に行う。

測定項目：原則として承認申請書の規格及び検査方法欄に設定した全項目
ただし、経時的に変化しないことが明らかな項目については、期間の途中における測定を省略できる。

イ 加速試験

検体：原則として最終製品

ただし、安定性が保証できれば、分包品又は内袋品を用いて差し支えない。また、包装材質及び包装単位が複数ある場合は、その中で最も経時変化しやすいと推定される容量、材質及び包装単位のもの検体とする。

検体数：3ロット、1ロット1検体以上

測定の繰り返し回数：測定法の精度や再現性にに基づき適切に決定する。

保存条件：原則として $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、 $75\% \text{RH} \pm 5\%$

ただし、水溶液剤又は密封容器の製品については、湿度条件を除外してよい。

試験期間：6か月間以上（事項変更承認申請の場合で変更前の最終製品と比較して試験する場合には、3か月間以上）

測定時期：原則として試験開始時を含め4時点以上

測定項目：原則として承認申請書の規格及び検査方法欄に設定した全項目
ただし、経時的に変化しないことが明らかな項目については、期間の途中における測定を省略できる。

ウ 苛酷試験

検体：原則として最終製品から包装を除いたもの（局長通知第2の2別表第3及び第4の区分1に該当する医薬品にあつては、原薬及び最終製品から包装を除いたもの）また、必要に応じて包装をした形態のものをあわせて用いる。

検体数：1ロット、1ロット1検体以上

保存条件：光、極端な温度変動や湿度変動及び凍結によって品質の変化が予想される製剤については、その影響を検出できる条件を設定する。

試験期間：原則として1か月間程度

測定時期：原則として試験開始時を含め4時点以上

測定項目：少なくとも承認申請書の規格及び検査方法欄に設定した全項目並びにその他分解生成物の検索及び品質管理上必要と判断される項目
ただし、経時的に変化しないことが明らかな項目については、期間の途中を省略できる。

（注1）検体とは、安定性試験を行うために選定したロットから採取し保存する原薬又は製剤をいう。

（注2）測定の繰り返し回数とは、各検体から測定用に試料を採取する段階から測定を実施、終了するまでの全過程を繰り返す回数をいう。

8-1 動物用新原薬及び製剤の安定性試験 (VICH GL3R)

(1) 緒言

ア ガイドラインの目的

本ガイドラインは、EU、日本及び米国三極内において、新有効成分含有医薬品の原薬及び製剤の承認申請を行うときに必要な安定性試験成績を示したものであり、三極以外の地域における承認申請や当該地域への輸出のための承認申請のための試験を対象とすることを必ずしも目的としているものではない。本ガイドラインは、新有効成分含有医薬品の原薬及び製剤の安定性試験成績の主要部分を示したものであるが、試験対象となる物質の特性や特殊な科学的理由のために実際に直面しうる状況に対して柔軟に対応する必要がある。科学的に妥当な理由がある場合には、本ガイドライン以外の適切な実施方法を用いてもよい。

イ ガイドラインの適用範囲

本ガイドラインの適用対象は、動物用医薬品のうちの新有効成分含有医薬品である。本ガイドラインは、現時点において、それ以外の申請区分の申請のために提出すべき試験を対象としていない。特定の製剤等に対する検体の採取及び試験方法についての詳細は、本ガイドラインの対象としていない。新剤型、飼料添加剤及び生物薬品（バイオテクノロジー応用製品／生物起源由来製品）についてのガイダンスは「8-2 新剤型動物用医薬品の安定性試験」(VICH GL4)、「8-4 動物用飼料添加剤の安定性試験」(VICH GL8)及び「8-5 新動物用生物薬品(バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品)の安定性試験」(VICH GL17)にそれぞれ記載されている。製剤の初回使用時以降の安定性（例えばバイアルの初回開封後）は、このガイドラインには含まれてはいない。

ウ 一般原理

医薬品の承認申請における安定性試験は、温度、湿度、光等の様々な環境要因の影響の下での品質の経時的変化を評価し、原薬のリテスト期間、製剤の有効期間及び医薬品の貯蔵条件の設定に必要な情報を得るために行う試験である。

本ガイドラインに定義されている試験条件は EU、日本及び米国の三極における気象条件の影響を分析した結果に基づいて選択されている。世界各地の平均キネティック温度は気候データから求めることができ、そして世界を四つの気候区域 I-IV に分けることができる。本ガイドラインは気候区域 I と II を対象にしている。本ガイドラインに従って実施され、かつ、表示が国内/地域の基準に合っている場合には、EU、日本及び米国の三極のいずれか一地域で行われた安定性に関する試験の成績は、原則として、他の二つの地域においても添付資料として使用できるとされている。

(2) ガイドライン

ア 原薬

(ア) 一般的事項

原薬の安定性に関する資料は、その医薬品の安定性を系統的に評価するために欠くことのできないものである。

(イ) 苛酷試験

原薬の苛酷試験は、生成の可能性がある分解生成物を同定するのに役立ち、それによって分解経路や医薬品本来の安定性を明らかにしたり、安定性試験に用いる分析方法の適合性を確認することができる。個々の原薬及び製剤の種類により、苛酷試験の内容は決まる。

苛酷試験は、通常1ロットの原薬について行い、加速試験の温度条件よりも10℃ずつ高くなっていく温度（例えば、50℃、60℃、...）、適切な湿度（例えば、75% RH以上）、酸化及び光分解による影響を検討する。さらに、溶液又は懸濁液中では、広い範囲のpH領域における加水分解に対する反応性を検討する。光安定性試験は苛酷試験のうち、不可欠な構成要素である。光安定性試験のための標準条件は、「8-3 新動物用医薬品の原薬及び製剤の光安定性試験」（以下「VICH GL5」という。）に述べられている。

苛酷条件下での分解生成物を調査することは、分解経路を確立したり、適切な分析方法の開発並びに適合性の確認に役立つ。しかし加速試験又は長期保存試験で生成しないことが示されれば、その分解生成物について特に検討する必要はない。これらの試験成績は、行政当局に提出される資料として必要となる。

(ウ) ロットの選択

正式な安定性試験（長期保存試験及び加速試験）は、3ロット以上の基準ロットについて実施する。検体は、パイロットスケール以上で製造されたロットとし、生産ロットで適用される最終的な方法を反映する製造方法及び製造工程で製造されたものとする。

安定性試験に使用するロットの品質は、実生産スケールで製造されるものの品質を反映するものである。

他の安定性試験成績は参考資料として提出できる。

(エ) 容器施栓系

検体の容器施栓系は、申請するものと同じのもの又はそれに準ずるものとする。

(オ) 規格

規格、即ち測定項目、分析方法及び判定基準は、「3-1 新動物用医薬品の原薬及び製剤の規格及び試験方法の設定：化学物質に関するガイドライン」及び「3-2 新動物用生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）の規格及び試験方法の設定」（以下「VICH GL39」及び「VICH GL40」という。）に記載されている。原薬中の分解生成物の規格は、「2-1 新動物用医薬品の原薬中の不純物」（VICH GL10R）で論議されている。

安定性試験は、保存により影響を受け易い測定項目及び品質、安全性又は

有効性に影響を与えるような測定項目を選定する。試験には、原薬の物理的、化学的、生物学的及び微生物学的測定項目を適切に含める。測定方法としては、安定性試験に用いる方法として適合性が検証された分析方法を採用する。測定の繰り返しの必要性及び回数は、バリデーション試験の結果に基づき決定する。

(カ) 測定時期

長期保存試験における測定時期は、原薬の安定性の特性を十分に把握できるように、1年以上のリテスト期間を設定する原薬については、通常、1年目は3か月ごと、2年目は6か月ごと、その後はリテスト期間をとおして1年ごととする。

また、加速試験にあつては試験開始時と終了時を含めて、6か月の試験につき3回以上（例えば、0、3、6か月）行うことが望ましい。開発時の経験に基づいて、加速試験の結果に品質の明確な変化が示されることが予想される場合には、測定終了時において検体数を増やして試験を行うか、又は試験計画に4番目の測定時点を加えることにより、増強した試験を行う。

加速試験において品質の明確な変化が示されたために、中間的な条件での試験が必要になった場合には、試験開始時と終了時を含めて、12か月の試験につき4回以上（例えば、0、6、9、12か月）行うことが望ましい。

(キ) 保存条件

一般に、原薬の安定性は、熱安定性と必要であれば湿度に対する安定性が試験できるような適切な保存条件において評価されるべきである。保存条件及び試験期間は、貯蔵、流通及びそれに続く使用を十分考慮にいたしたものとする。

長期保存試験は、申請時において、試験の途中であっても3ロット以上の基準ロットの12か月以上の期間の試験成績をもって承認申請して差し支えないが、申請されるリテスト期間を保証する十分な期間継続する。承認申請後引き続き実施した成績は、行政当局の求めに応じて提出する。加速試験成績又は必要に応じて中間的な保存条件で試験された成績は、輸送中に起こりうる貯蔵方法からの短期的な逸脱の影響を評価するために利用される。

原薬の長期保存試験の保存条件、加速試験の保存条件及び必要な場合の中間的試験の保存条件の詳細は、下記に示す。後続の項に該当しない原薬は、一般的な原薬として取り扱う。根拠があれば、他の保存条件を採用することができる。

① 一般的な原薬

試験の種類	保存条件	申請時点での最小試験期間
長期保存試験*	25℃ ±2℃ / 60% RH ±5% RH 又は 30℃ ±2℃ / 65% RH ±5% RH	12か月
中間的試験**	30℃ ±2℃ / 65% RH ±5% RH	6か月
加速試験	40℃ ±2℃ / 75% RH ±5% RH	6か月

*申請者は、長期保存試験として 25℃ ±2℃ / 60% RH ±5% RH 又は

30℃±2℃／65%RH±5%RH どちらの条件で行うかを決定する。

** 30℃±2℃／65%RH±5%RH が長期保存条件の場合は、中間的条件はない。25℃±2℃／60%RH±5%RH で長期保存試験を行い、加速試験において、6か月の試験のいずれかの時点で、「明確な品質の変化」が認められた場合、中間的な条件で追加の試験を実施し、「明確な品質の変化」の基準に対して評価しなければならない。中間的試験は、別に何か根拠がない限りすべての試験を実施する。承認申請時には、中間的な条件で実施される12か月の試験より、6か月以上の試験成績を提出する。

以下、原薬についての「明確な品質の変化」とは、規格からの逸脱が認められた場合をいう。

② 冷蔵庫での保存の場合

試験の種類	保存条件	申請時点での最小試験期間
長期保存試験	5℃±3℃	12か月
加速試験	25℃±2℃／60%RH±5%RH	6か月

冷蔵庫での保存の場合の試験成績は、以下に示された場合以外は、本ガイドラインの「評価」の項に従って評価する。

加速試験において、測定開始後3か月から6か月の間に「明確な品質の変化」が認められた場合、リテスト期間は長期保存試験から得られる試験成績（リアルタイムのデータ）に基づいて設定する。

加速試験において、測定開始後3か月以内に「明確な品質の変化」が認められた場合、輸送中や取扱い中等における貯蔵方法からの短期的な逸脱の影響に関する試験成績を用意する。この場合、適切ならば、1ロットの原薬につき3か月より短期間に、通常より多い測定時点で追加試験を行うことにより説明してもよい。測定開始後3か月以内に「明確な品質の変化」が認められた場合、あえて6か月まで試験を継続する必要はない。

③ 冷凍庫での保存の場合

試験の種類	保存条件	申請時点での最小試験期間
長期保存試験	-20℃±5℃	12か月

冷凍庫での保存の場合のリテスト期間は、長期保存試験で得られる試験成績（リアルタイムのデータ）に基づいて設定する。冷凍庫での保存の場合は、加速試験がないので、輸送中や取扱い中等における貯蔵方法からの短期的な逸脱の影響を説明するため、上昇させた温度（例えば、5℃±3℃又は25℃±2℃）で適切な期間にわたる試験を1ロットについて実施する。

④ -20℃以下での保存の場合

-20℃以下で保存される原薬は、個別に妥当な保存条件の下で試験を実施する。

(ク) 安定性試験の確認のための試験の実施（コミットメント）

原薬の承認の時点で、基準ロットの長期保存試験成績が、リテスト期間を
保証する期間まで得られていない場合には、申請されたリテスト期間を確認
するために、承認後、長期保存試験を継続する。

実生産スケールで製造された3ロットを用いて実施され、リテスト期間を
通して実施された長期保存試験成績に基づいて申請される場合には、承認後
に長期保存試験を実施する（コミットメント）必要はない。その他の場合に
あつては、以下に掲げるもののうち、一つの試験を実施する。

- ① 添付資料として実生産スケールで製造された3ロット以上のロットの安
定性試験の成績に基づき申請される場合には、リテスト期間中試験を継続
し、安定性を確認する（コミットメント）必要がある。
- ② 添付資料として実生産スケールで製造された3ロット未満のロットを用
いた安定性試験の成績に基づき申請される場合には、当該試験をリテスト
期間中継続する（コミットメント）必要がある。また、実生産スケールで
製造されたロット数の合計が3以上になるよう、実生産スケールで製造さ
れたロットを追加し、リテスト期間を通じて長期保存試験を実施し、安定
性を確認する（コミットメント）必要がある。
- ③ 添付資料として実生産スケールで製造されたロットを用いた安定性試験
の成績が提出されない場合は、実生産スケールで製造される最初の3ロッ
トについて、リテスト期間を通じて長期保存試験を実施し、安定性を確認
する（コミットメント）必要がある。コミットメントとして、安定性の確
認のために実施される長期保存試験は、科学的に妥当性がない限り、承認
申請時（基準ロット）と同一の安定性試験プロトコールを使用して実施す
る。

(ケ) 評価

安定性試験は、3ロット以上の原薬について実施し、必要な物理的、化学
的、生物学的及び微生物学的試験等で得られる安定性の情報を適正に評価す
ることにより、同様の条件で製造されるすべてのロットに適用できるリテス
ト期間を設定するものである。将来生産されるロットがリテスト期間を通じ
て規格に適合する確かさは、各ロットのばらつきの程度に影響される。

得られたデータから原薬がリテスト期間中ほとんど分解せず、変動もほと
んどないことが示され、申請するリテスト期間が十分保証される場合は、通
常、正式な統計解析を実施する必要はないが、解析を省略する正当性を記載
する。

経時的に変化する定量的測定項目のデータからリテスト期間を求める場
合、母平均の曲線の95%片側信頼限界が判定基準と交差する時期をもって
決定する。ロット間の変動が小さいことが統計解析から明らか場合は、全
ロットのデータを一括して評価し、全体として一つのリテスト期間を求め
るのが有益な方法である。この解析は、個々のロットの回帰直線の傾き及び縦
軸切片に対して適切な統計解析を適用することによって行うことができる

(例えば、棄却の有意水準として0.25より大きいp値を用いる)。また、全

ロットのデータを一括して評価することが不適切な場合は、個々のロットのリテスト期間のうちの最短の期間をリテスト期間とする。

直線回帰分析のためにデータを変換する必要があるかどうかは、分解曲線の形によって決まる。通常、分解曲線は算術目盛あるいは対数目盛で時間の一次、二次又は三次関数によって表わされる。個々のロットのデータ又は全ロットを一括したデータが、推定された分解直線又は曲線に適合するかどうかは統計解析により検定する。

正当化できれば、承認時に、長期保存試験の成績を外挿することにより、実測範囲以上にリテスト期間を限られた範囲で延長することができる。分解機構について明らかになっていること、加速試験の成績、数式モデルの適合性、ロットサイズ、参考資料の存在等に基づいて正当化することができる。ただし、この外挿は実測期間を超えても同一の分解曲線が継続するとの仮定に基づいている。

含量のみならず、分解生成物の量やその他の適切な測定項目についても評価する必要がある。

(コ) 取扱い上の注意／表示

貯蔵方法は、関連する国内／地域の基準に従った表示をするために、原薬の安定性評価に基づいて決めなければならない。必要に応じ、個別の指示が付される。凍結してはならない原薬については特に注意を要する。「成り行き温度」、「室温」等の用語の使用は避ける。

リテスト期間は安定性試験成績に基づいて定められる。再試験日は容器ラベルに適切に表示する。

イ 製剤

(ア) 一般的事項

製剤の正式な安定性試験は、原薬の挙動及び特性、原薬の安定性試験の成績並びに治験薬の処方検討から得られる経験を十分考慮に入れて計画する。保存中に生ずると予測される変化及び正式な安定性試験の対象となる測定項目の選定根拠を添付資料に記載する。

(イ) 光安定性試験

光安定性試験は、必要に応じ、製剤の一つ以上の基準ロットについて行う。光安定性試験のための標準条件は、VICH GL5 に定められている。

(ウ) ロットの選択

長期保存試験及び加速試験は、3ロット以上の基準ロットについて実施する。基準ロットは市販予定製剤と同一処方、同一容器施栓系の包装にする。基準ロットの製造工程は生産ロットで適用される方法を反映するものとし、市販予定製剤と同等な品質でかつ同じ品質規格を満たすものとする。3ロットのうちの2ロットはパイロットプラントスケール以上とし、他の1ロットは、正当化できれば小規模でも差し支えない。可能ならば、製剤の各ロットは、異なる原薬ロットを使用して製造する。

ブラケットティング法やマトリキシング法を適用しない限り、各含量、各包

装それぞれについて安定性試験を行う。

上記以外の参考資料も提出できる。

(エ) 容器施栓系

検体は、申請する容器施栓系で包装されたものとする（必要ならば二次包装及び容器ラベルを含める）。幾つかの場合は、申請する実際の容器施栓系を模倣したより小型の容器施栓系も使用できるかもしれない。このような例では、小型の容器施栓系を使用する妥当性を説明する必要がある。直接容器に容れられていない製剤についての試験成績は苛酷試験の一部として、また他の包装材料で包装された製剤についての試験成績は参考情報として利用できる。

(オ) 規格

規格、即ち測定項目、分析方法及び判定基準は、出荷判定時の規格と有効期間中の規格の異なった判定基準の考え方を含めて、VICH GL39 及び 40 に記載されている。製剤中の分解物の規格は、「2-2 新動物用医薬品の製剤中の不純物」(VICH GL11R) に記載されている。

安定性試験には、保存により影響を受け易い測定項目及び品質、安全性又は有効性に影響を与えるような測定項目を選定する。試験には、物理的、化学的、生物学的及び微生物学的測定項目、保存剤含量（例えば、抗酸化剤、抗菌剤）、並びに機能性試験（例えば、一回当りの投与量）を適切に含める。分析方法は、安定性試験に用いる方法として適合性が十分に検証された方法を採用する。測定の繰り返しの必要性及び回数は、分析法バリデーションの結果に基づき決定する。

有効期間の判定基準は、得られるすべての安定性試験の成績を考察して決定する。有効期間の規格は、安定性評価及び保存中に観察された変化に基づき、妥当な理由がある場合には、出荷判定の判定基準と異なることもある。保存剤含量試験において、出荷判定の判定基準と有効期間の判定基準の間に差がある場合は、有効期間の規格に従って、保存効力を示す最小許容量が含まれた処方では人為的に作成したロットの保存効力を証明したデータにより説明する。保存剤含量試験における出荷判定と有効期間の判定基準の違いの有無に係らず、一つの基準ロットの製剤を用い、有効期間の最終時点において、保存剤含量試験に加え、保存効力試験を行い、確認する。

(カ) 測定時期

長期保存試験における測定時期は、製剤の安定性の特性を十分に把握できるように、1年以上の有効期間を設定する製剤については、通常、1年目は3か月ごと、2年目は6か月ごと、その後は有効期間を通じて1年ごととする。

また、加速試験にあっては試験開始時と終了時を含めて、6か月の試験につき3回以上（例えば、0、3、6か月）行うことが望ましい。開発時の経験に基づいて、加速試験の結果に品質の明確な変化が示されることが予想される場合には、測定終了時において検体数を増やして試験を行うか、又は試

験計画に4番目の測定時点を加えることにより、増強した試験を行う。

加速試験において、品質の明確な変化が示されたために中間的な条件での試験が必要になった場合には、試験開始時と終了時を含めて、12か月の試験につき4回以上（例えば、0、6、9、12か月）行うことが望ましい。

妥当であれば、マトリキシング法やブラケットティング法等、測定時点を減らす減数試験、あるいはある要因の組合せの製剤については全く試験を行わない減数試験を適用することができる。

(キ) 保存条件

一般に、製剤の安定性は、熱安定性、必要であれば、湿度に対する安定性、また溶媒の損失の可能性について試験できる保存条件において評価されるべきである。保存条件及び試験期間は、貯蔵、流通及びそれに続く使用を十分考慮にいたしたものとする。

溶解又は希釈後の製剤の安定性についても、調製方法、保存条件並びに溶解又は希釈後の使用期間についての表示のための情報を提供するために必要に応じて実施する。この試験は試験開始時と最終時点において正式な安定性試験の一部として、基準ロットの製剤について溶解又は希釈後に使用期間まで行う。申請前に有効期間までの長期保存試験成績が得られていない場合は、12か月又はデータの得られる最終時点で行う。一般的に、この試験はコミットメントロットについて繰り返す必要はない。

長期保存試験は、申請時において、試験の途中であっても、3ロット以上の基準ロットの6か月以上の期間の試験成績をもって承認申請して差し支えないが、申請される有効期間を保証する十分な期間継続する。承認申請後引き続き実施した成績は、行政当局の求めに応じて提出する。加速試験成績又は必要に応じて中間的な保存条件で試験された成績は、輸送中に起こりうる貯蔵方法からの短期的な逸脱の影響を評価するために利用される。

製剤の長期保存試験の保存条件、加速試験の保存条件及び必要な場合の中間的試験の保存条件の詳細は、下記に示す。後続の項に該当しない製剤は、一般的な製剤として取り扱う。根拠があれば、他の保存条件を採用することができる。

① 一般的な製剤

試験の種類	保存条件	申請時点での最小試験期間
長期保存試験*	25℃ ±2℃ / 60% RH ±5% RH 又は 30℃ ±2℃ / 65% RH ±5% RH	6か月
中間的試験**	30℃ ±2℃ / 65% RH ±5% RH	6か月
加速試験	40℃ ±2℃ / 75% RH ±5% RH	6か月

*申請者は、長期保存試験として 25℃ ±2℃ / 60% RH ±5% RH 又は 30℃ ±2℃ / 65% RH ±5% RH どちらの条件で行うかを決定する。

** 30℃ ±2℃ / 65% RH ±5% RH が長期保存条件の場合は、中間的条件はない。25℃ ±2℃ / 60% RH ±5% RH で長期保存試験を行い、加速試験において、6か月の試験のいずれかの時点で、「明確な品質の変化」

が認められた場合、中間的な条件で追加の試験を実施し、「明確な品質の変化」の基準に対して評価しなければならない。承認申請時には、中間的な条件で実施された 12 か月の試験より、6 か月以上の試験成績を提出する。

一般に、製剤に関する「明確な品質の変化」とは、次に掲げる場合である。

- a 試験開始時から含量が 5 %以上変化した場合、生物学的又は免疫学的方法を用いる時は、力価が判定基準から逸脱した場合
- b 特定の分解生成物が判定基準を超えた場合
- c 外観、物理的項目及び機能性試験が判定基準から逸脱した場合（例えば、色、相分離、再懸濁性、ケーキング、硬度）、しかし、加速試験条件下では、物理的特性の変化（例えば、坐剤の軟化、クリーム of 融解）が予想されることもある。

さらに、剤型により必要に応じて

- d pH が判定基準を逸脱した場合
 - e 溶出試験（12 投与単位）で判定基準を逸脱した場合
- ② 不透過性の容器に包装された製剤

水分及び溶媒が透過しない不透過性の容器に入れられた製剤については、湿度に対する安定性や溶媒の損失の可能性についての検討の必要はない。したがって、不透過性の容器に容れられ貯蔵される製剤についての安定性試験については、相対湿度を調整する必要はない。

③ 半透過性の容器に包装された製剤

水を基剤とする製剤で半透過性の容器に容れられたものについては、物理的、化学的、生物学的及び微生物学的安定性に加えて、予想される水分の損失についても評価する。

この評価は下記のように、低い相対湿度条件下で行われる。最終的には、半透過性の容器に容れられた水を基剤とする製剤は、低い相対湿度条件における貯蔵に耐えることを示す必要がある。非水溶媒を基剤とした製剤については、同様の方法を開発し、報告する。

試験の種類	保存条件	申請時点での最小試験期間
長期保存試験*	25 °C ±2 °C / 40 % RH ±5 % RH 又は 30 °C ±2 °C / 35 % RH ±5 % RH	6 か月
中間的試験**	30 °C ±2 °C / 65 % RH ±5 % RH	6 か月
加速試験	40 °C ±2 °C / 25 % RH 以下	6 か月

*申請者は、長期保存試験として 25 °C ±2 °C / 40 % RH ±5 % RH 又は 30 °C ±2 °C / 35 % RH ±5 % RH どちらの条件で行うかを決定する。

** 30 °C ±2 °C / 35 % RH ±5 % RH が長期保存条件の場合は、中間的条件はない。25 °C ±2 °C / 40 % RH ±5 % RH の長期保存試験においては、加速試験において、6 か月の試験で水分損失以外に、「明確な品質の変化」が認められた場合、30 °C で温度の影響を評価するため、一般的な製剤に

記載している中間的な条件で追加の試験を実施する。加速試験において、水分の損失のみに「明確な品質の変化」が認められる場合は、中間的な条件における試験は必要とされない。しかし、製剤を 25 °C で 40 % の参照相対湿度条件下で保存した場合に、申請される有効期間を通じて水分の損失に係る「明確な品質の変化」を認めないことを示さなければならない。

半透過性の容器に容れられた製剤についての水分の損失に係る「明確な品質の変化」とは、40 °C 相対湿度 25 % 以下、3 か月間に相当する保存の後に、5 % の水分の損失が認められた場合である。しかし、小容器（1 mL 以下）又は、単回投与製剤については、根拠があれば、40 °C 相対湿度 25 % 以下、3 か月間に相当する保存の後に、5 % 以上の水分損失があっても認められることがある。

上記の表（長期保存試験、加速試験のいずれも）で推奨されている参照相対湿度に保存する方法の代わりに、比較的高い相対湿度下で安定性試験を行い、参照相対湿度下での水分の損失を計算により求める方法も採用することができる。容器施栓系における透過係数を実験的に求める方法や、以下の例に示すように、同一温度における二つの湿度条件下で水分の損失の比率を実験的に求める方法もある。容器施栓系における透過係数は、申請する製剤の中で最も透過性の高い系（例えば、一連の濃度の製剤の最も希釈された製剤）について実験的に求めてもよい。

水分の損失率を求める方法の例

ある容器施栓系、容器サイズ及び容れ目の製剤について、参照相対湿度における水分の損失率を算出する適正な方法は、同一温度の任意の相対湿度において測定された水分損失率に下表に示す水分損失の比率を乗じることである。ここで、任意の相対湿度における水分の損失率が保存期間を通じて直線的に増加することを示す必要がある。

例えば、40 °C 相対湿度 25 % 以下で保存した後の水分損失率は、40 °C 相対湿度 75 % で保存した後の水分損失率に、対応する水分損失の比率 3.0 を乗じることにより計算できる。

任意な相対湿度	参照相対湿度	一定温度における水分損失の比率
60 % RH	25 % RH	1.9
60 % RH	40 % RH	1.5
65 % RH	35 % RH	1.9
75 % RH	25 % RH	3.0

上表に示されている以外の相対湿度条件における水分損失の比率も、妥当であれば使用することができる。

④ 冷蔵庫での保存の製剤

試験の種類	保存条件	申請時点での最小試験期間
長期保存試験	5 °C ±3 °C	6 か月

加速試験 $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C} / 60\% \text{ RH} \pm 5\% \text{ RH}$ 6 か月

半透過性容器に包装された製剤の場合、水分損失の程度を評価できる適切な情報を提出する。

冷蔵庫での保存の場合の試験成績は、以下に該当する場合以外は、本ガイドラインの「評価」の項に従って評価する。

加速試験において、測定開始後3か月から6か月の間に「明確な品質の変化」が認められた場合、有効期間は長期保存試験から得られる試験成績（リアルタイムのデータ）に基づいて申請する。

加速試験において、測定開始後3か月以内に「明確な品質の変化」が認められた場合、輸送中や取扱い中等における貯蔵方法からの短期的な逸脱の影響に関する試験成績を用意する。この場合、適切ならば、1ロットの製剤につき3か月より短期間に、通常より多い測定時点で追加試験を行うことにより説明してもよい。測定開始後3か月以内に「明確な品質の変化」が認められた場合、あえて6か月まで試験を継続する必要はない。

⑤ 冷蔵庫での保存の製剤

試験の種類	保存条件	申請時点での最小試験期間
長期保存試験	$-20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$	6 か月

冷蔵庫での保存の場合の有効期間は、長期保存試験で得られる試験成績（リアルタイムのデータ）に基づいて申請する。冷蔵庫での保存の場合は、加速試験がないため、貯蔵方法からの短期的な逸脱の影響を説明するため、上昇させた温度（例えば、 $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ 又は $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ）で適切な期間にわたる試験を1ロットについて実施する。

⑥ $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下での保存の場合

$-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下で保存される製剤は、個別に妥当な保存条件の下で試験を実施する。

(ク) 安定性試験の確認のための試験の実施（コミットメント）

製剤の承認の時点で、基準ロットの長期保存試験成績が、有効期間を保証する期間まで得られてない場合には、申請された有効期間を確認するために、承認後、長期保存試験を継続する。

実生産スケールで製造された3ロットを用いて実施され、有効期間を通して実施された長期保存試験成績に基づいて申請される場合には、承認後に長期保存試験を実施する（コミットメント）必要はない。その他の場合にあつては、以下に掲げるもののうち、一つの試験を実施する。

① 添付資料として実生産スケールで製造された3ロット以上のロットの安定性試験の成績に基づき申請される場合には、有効期間中試験を継続し、安定性を確認する（コミットメント）必要がある。

② 添付資料として実生産スケールで製造された3ロット未満のロットを用いた安定性試験の成績に基づき申請される場合には、当該試験を有効期間中継続する（コミットメント）必要がある。また、実生産スケールで製造されたロット数の合計が3以上になるよう、実生産スケールで製造された

ロットを追加し、有効期間を通じて長期保存試験を、また6か月間を通じて加速試験を実施し、安定性を確認する（コミットメント）必要がある。

- ③ 添付資料として実生産スケールで製造されたロットを用いた安定性試験の成績が提出されない場合は、実生産スケールで製造される最初の3ロットについて、有効期間を通じて長期保存試験及び6か月間を通じて加速試験を実施し、安定性を確認する（コミットメント）必要がある。

コミットメントとして、安定性の確認のために実施される長期保存試験は、科学的に妥当性がない限り、承認申請時（基準ロット）と同一の安定性試験プロトコールを使用して実施する。

「明確な品質の変化」が基準ロットの加速試験で認められた場合には、コミットメントロットでの試験は、加速試験の保存条件か中間的試験の保存条件のいずれかで実施する。しかし、コミットメントロットの加速試験で「明確な品質の変化」が認められた場合には、中間的試験を実施する。

(ケ) 評価

製剤の安定性に関する情報は、物理的、化学的、生物学的及び微生物学的試験結果、さらには剤型に特有な項目（例えば、経口固形製剤の溶出時間）を適切に含めて、系統的に記載し、評価しなければならない。

安定性試験は、3ロット以上の製剤に基づき、同様の条件で将来にわたって製造及び包装されるすべてのロットに適用できる有効期間及び取扱い上の注意を設定するものである。将来生産されるロットが有効期間を通じて規格に適合する確かさは、各ロットのばらつきの程度に影響される。

得られたデータから製剤が有効期間中ほとんど分解せず、変動もほとんどないことが示され、申請する有効期間が十分保証される場合は、通常、正式な統計解析を実施する必要はないが、解析を省略する正当性を記載する。

経時的に変化する定量的測定項目のデータから有効期間を求める場合、母平均の曲線の95%片側信頼限界が判定基準と交差する時期をもって決定する。ロット間の変動が小さいことが統計解析から明らか場合は、全ロットのデータを一括して評価し、全体として一つの有効期間を求めるのが有益な方法である。この解析は、個々のロットの回帰直線の傾き及び縦軸切片に対して適切な統計解析を適用することによって行うことができる（例えば、棄却の有意水準として0.25より大きいp値を用いる）。また、全ロットのデータを一括して評価することが不適切な場合は、個々のロットの有効期間のうちの最短の期間を有効期間とする。

直線回帰分析のためにデータを変換する必要があるかどうかは、分解曲線の形によって決まる。通常、分解曲線は算術目盛あるいは対数目盛で時間の1次、2次又は3次関数によって表わされる。個々のロットのデータ又は全ロットを一括したデータが、推定された分解直線又は曲線に適合するかどうかは統計解析により検定する。

正当化できれば、承認時に、長期保存試験の成績を外挿することにより、実測範囲以上に有効期間を限られた範囲で延長することができる。分解機構

について明らかになっていること、加速試験の成績、数式モデルの適合性、ロットサイズ、参考資料の存在等に基づいて正当化することができる。ただし、この外挿は実測期間を超えても同一の分解曲線が継続するとの仮定に基づいている。

含量のみならず、分解生成物の量やその他の適切な測定項目についても評価する必要がある。必要に応じて、物質収支の妥当性や異なる分解挙動についても注意を払うべきである。

(コ) 取扱い上の注意／表示

貯蔵方法は、関連する国内／地域の基準に従った表示をするために、製剤の安定性評価に基づいて決めなければならない。必要に応じ、個別の指示が付される。凍結してはならない製剤については特に注意を要する。「成り行き温度」、「室温」等の用語の使用は避ける。

製剤の貯蔵方法の表示は、試験で示された製剤の安定性を直接反映させる。使用期限は容器ラベルに適切に表示する。

(3) 用語の定義

医薬品添加剤 (Excipient)

製剤中の原薬以外の成分

苛酷試験 (原薬) (Stress testing drug substance)

原薬の本質的な安定性を明らかにするために行われる試験。苛酷試験は開発段階で行う試験の一部であり、通常、加速試験よりも苛酷な保存条件を用いて行われる。

苛酷試験 (製剤) (Stress testing medicinal product)

製剤について苛酷条件の影響を評価するために行われる試験。光安定性試験 (VICH GL5 参照) や特定の製剤についての特殊試験 (例えば、計量吸入剤、クリーム、エマルジョン、冷蔵の水性液剤) が含まれる。

加速試験 (Accelerated testing)

正式な安定性試験の一部として、原薬又は製剤の化学的変化又は物理的変化を促進する保存条件を用いて行う試験である。加速試験の成績は、長期保存試験成績とともに、申請する貯蔵方法で長期間保存した場合の化学的影響を評価するのに利用できる。同時に、輸送中に起こり得る貯蔵方法からの短期的な逸脱の影響の評価にも利用できる。なお、加速試験の結果が物理的変化の予測に適用できるとは限らない。

規格 (Specification)

VICH GL39 及び VICH GL40 を参照

気候区域 (Climatic zones)

平均的な年間の気候条件により区分した世界の4つの区域。これは W.Grimm によって記述された考え方に基づいている (*Drugs Made in Germany* , 28:196-202,1985 , 29:39-47,1986)。

基準ロット (Primary batch)

正式な安定性試験に用いられる原薬又は製剤のロットであり、それらを用いて

実施される安定性試験成績は、リテスト期間又は有効期間を設定する目的で、承認申請の添付資料として提出される。原薬の基準となるロットは、パイロットスケールロット以上でなくてはならない。製剤の場合、3ロットのうち、2ロットはパイロットスケールロット以上で、1ロットは重要な製造工程が反映されているならば小規模でも差し支えない。勿論、基準ロットは、生産スケールロットでもよい。

原薬 (Drug substance)

未処方の医薬品有効成分であり、製剤を製造するためには添加剤とともに処方されうるもの

コミットメントロット (Commitment batches)

原薬又は製剤の実生産スケールにより製造されるロットであって、承認申請時におけるコミットメント (担保) に基づき、承認後に安定性試験を開始又は終了するもの

剤型 (Dosage form)

医薬品製剤の種類をいう (例えば、錠剤、カプセル剤、溶液、クリーム等)。一般に、原薬と添加剤を含有するが、必ずしも添加剤が含まれるとは限らない。

参考資料 (Supporting data)

申請時に提出される正式な安定性試験以外のデータで、分析方法、申請されたリテスト期間又は有効期間及びラベルに表示される貯蔵方法の正当性を支持するデータ。(1) 初期の合成経路による原薬のロット、小規模のロット、市場に出荷されない試験的な処方及び関連した処方、市場に出荷される容器/栓システム以外の容器/栓システムに入れられた製剤等について行われた安定性試験成績、(2) 容器についての試験成績に関する情報及び(3) その他の科学的な根拠等を含む。

実生産スケールロット (Production batch)

承認・許可の申請に係る製造施設において、実際の製造設備を用い、実生産スケールで製造された原薬又は製剤のロット

出荷判定の規格 (Specification - Release)

製剤の出荷時に、適合性を判定するための一連の物理的、化学的、生物学的、微生物学的試験法及び判定基準

新規成分 (New molecular entity (new drug substance))

国内又は地域の当局により、今までに登録されたいかなる製剤にも含有されていない薬物。既承認原薬の新しい塩、エステル及び、非原子価結合誘導体は、このガイドラインの安定性試験の目的では新規成分と考える。

製剤 (Medicinal (drug) product)

剤形に処方され、市販される形の最終的な直接包装に容れられた医薬品

正式な安定性試験 (Formal stability studies)

原薬のリテスト期間や製剤の有効期間を決定し、確認するために、定められた安定性試験プロトコールに従って基準ロット又はコミットメントロットについて実施される長期保存試験及び加速試験 (及び中間的試験)

中間的試験 (Intermediate testing)

30 °C/65 % RH で行い、25 °Cにおいて長期間貯蔵する原薬や製剤について化学的分解や物理的変化を緩やかに加速するように計画された試験

長期保存試験 (Long term testing)

申請 (又は承認) されるリテスト期間又は有効期間を設定するために、ラベルに表示される貯蔵条件下で行う安定性試験

パイロットスケールロット (Pilot scale batch)

実生産に適用される製造方法、製造工程を十分に反映して製造された原薬又は製剤のロットのこと。経口固形製剤では、通常、少なくとも実生産スケールの 10 分の 1 をパイロットスケールとする。

半透過性容器 (Semi-permeable containers)

溶質の損失を防ぐが、溶媒 (通常は水) が透過する容器。溶媒の移行は、容器表面への吸着、容器材料内における拡散、反対側の表面からの脱着の機構によって起こる。移行は分圧の勾配によって起こる。半透過性容器の例としては、大用量輸液 (LVPs) 用のプラスチックバッグやセミリジッド低密度ポリエチレン (LDPE) ポーチ、さらに LDPE のアンプル、ビン及びバイアルなどがある。

物質収支 (Mass balance)

分析法の精度を適切に考慮に入れて、有効成分の定量値と分解生成物の量の総和がどの程度まで初期値の 100 % に近い値になるかについての検討

不透過性容器 (Impermeable containers)

永久的に気体や溶媒を透過しない容器。例えば、半固形製剤における密封アルミチューブ、液剤における密封ガラスアンプル

ブラケットティング法 (Bracketing)

全数試験において設定する全測定時点において、含量や容器サイズ等の試験要因の両極端のものを検体とする安定性試験の手法である。この手法は、中間的な水準にある検体の安定性は、両極端の検体の安定性により示されるとの仮定に基づいている。一連の異なる含量の製剤が試験される場合、製剤の成分が同一であるか類似しているならば、ブラケットティング法が適用できる (例: 同様の組成の原料顆粒を使用して製造した含量違いの錠剤、異なるサイズのカプセルに異なる量の同一組成の成形粉末を充填して製造したカプセル剤)。

ブラケットティング法は同じ包装仕様で異なるサイズの容器もしくは容れ目違いにおいても適用できる。

保存条件の許容限度 (Storage condition tolerances)

正式な安定性試験を行うための保存設備について、温度及び相対湿度の許容される変動。設備は、本ガイドラインで指定されている範囲内で保存条件を制御できるものでなければならない。実際の温度及び湿度 (制御されている時) は、安定性試験の期間を通してモニターしなければならない。保存設備のドアの開閉による短期の逸脱は不可避として認められるが、設備の故障などによる逸脱は安定性試験成績への影響を判断し、影響がある場合には報告する。24 時間を超える逸脱は安定性試験資料に記載しその影響を評価する。

平均キネティック温度 (Mean kinetic temperature)

原薬又は製剤が、ある一定の期間を通じて高温及び低温に変動する温度条件下で影響をうけた場合と同じ変化を与えうる一定温度。平均キネティック温度は、アレニウス式を考慮に入れているので算術平均温度よりも高い。ある一定期間の平均キネティック温度は Haynes の式を用いて計算される (*J.Pharm.Sci.* 60, 927-929, 1971)。

マトリキシング法 (Matrixing)

ある特定の時点ですべての要因の組合せの全検体のうち選択された部分集合を測定する安定性試験の手法である。連続する二つの測定時点では、すべての要因の組合せのうちの異なる部分集合を測定する。この手法は、ある時点における全検体の安定性は各部分集合の安定性により代表されているという仮定に基づいている。したがって、同じ品目の試料間で見られる差が何に起因する差であるかを明らかにする必要がある。例えば、ロットの違い、含量の違い、同じ容器／栓システムのサイズの違い、また、場合によっては異なる容器／栓システムの違いに起因するのかを明らかにする必要がある。

使用期間 (Shelf -life)

製剤が、容器ラベルに表示された条件下で貯蔵されたときに、承認された有効期間の規格を満たしていることが想定される期間

有効期間の規格 (Specification Shelf-life)

原薬はリテスト期間を通じて、又は製剤は有効期間を通じて、適合性を判定するための一連の物理的、化学的、生物学的、微生物学的試験法及び判定基準

有効期限 (Expiration date)

あるロットの製剤が、定められた条件の下で貯蔵されたときに、その日まで、承認された有効期間の規格を満たすことを示す容器ラベルに記される日付であり、その後は使用することができない日付

容器施栓系 (Container closure system)

製剤を収容し保護する包装の構成要素の全体。直接包装を指すが、二次包装によってさらに製剤を保護する場合は、二次包装も含まれる。

リテスト期日 (Re-test date)

当該日付以後は、原薬が依然として規格に適合し、製剤の製造に使用できることを確認するために、当該原薬の検体を用いて試験検査しなければならないことを示す日付

リテスト期間 (Re-test period)

原薬が、定められた条件の下で保存された場合に、その品質が規格内にとどまると想定される期間であり、当該原薬が製剤の製造に使用できる期間。この期間を超えて保存された原薬のロットを製剤の製造に使用する場合は、規格への適合性を再試験し、速やかに使用する。原薬のロットは複数回再試験することが出来る。使用された残りの原薬は、規格に適合し続ける限り、再試験後に使用できる。不安定であることが知られているほとんどのバイオテクノロジー応用製品／生物起源由来製品の原薬に関しては、リテスト期間より有効期間を設定するほうが適

切である。同じことがある種の抗生物質についてもいえる。

(4) 参考

VICH ガイドライン (() 内は本通知における番号)

4 : 「新剤型動物用医薬品の安定性試験」(8-2)

5 : 「新動物用医薬品の原薬及び製剤の光安定性試験」(8-3)

8 : 「動物用飼料添加剤の安定性試験」(8-4)

10R : 「新動物用医薬品の原薬中の不純物」(2-1)

11R : 「新動物用医薬品の製剤中の不純物」(2-2)

17 : 「新動物用生物薬品(バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品)の安定性試験」(8-5)

39 : 「新動物用医薬品の原薬及び製剤の規格及び試験方法の設定: 化学物質に関するガイドライン」(3-1)

40 : 「新動物用生物薬品(バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品)の規格及び試験方法の設定」(3-2)

8-2 新剤型動物用医薬品の安定性試験 (VICH GL4)

(1) 緒言

本ガイドラインは、VICH の安定性の親ガイドライン (8-1 動物用新原薬及び製剤の安定性試験 (VICH GL3R)) に付属するものであり、新有効成分の原薬又は製剤の最初の承認申請後、当該承認の申請者又は取得者が、新剤型について承認申請する際の安定性試験成績の取扱いを示すものである。

(2) 新剤型

新剤型とは、既承認の動物用医薬品に含まれているものと同じ有効成分を含むが、異なった剤型であるものとして定義される。

異なった剤型とは、既承認の動物用医薬品と投与経路の異なる製剤 (例: 経口から注射への変更)、新しい特殊な機能性又は送達システムを有する製剤 (例: 即時放出錠から放出制御錠への変更) 及び既承認の動物用医薬品と同一の投与経路であるが剤型が異なる製剤 (例: カプセル剤から錠剤への変更、液剤から懸濁剤への変更) をいう。

新剤型動物用医薬品の安定性試験は、原則として親ガイドラインに従って行われるべきであるが、正当な理由があれば、安定性試験成績を減らして承認申請することができる。

8-3 新動物用医薬品の原薬及び製剤の光安定性試験 (VICH GL5)

(1) 一般的事項

「8-1 動物用新原薬及び製剤の安定性試験」(VICH GL3R。以下「親ガイドライン」という。)は光線に対する試験が苛酷試験の必須の部分であると記載されている。本資料は親ガイドラインの付属書として、推奨される光安定性試験の要件を示したものである。

ア 序文

新動物用医薬品の原薬及び製剤については、適切な量の曝光により許容できない変化が起こらないことを示すために、新原薬及び製剤が本来有する光に対する特性を評価しなければならない。

通例、親ガイドラインのロットの選定の項に示されたとおりに選ばれた1ロットについて光安定性試験を実施する。承認事項の一部変更申請(例えば、処方、容器包装等)の場合には、光安定性試験を再度実施しなければならないこともある。試験を繰り返すかどうかは、最初の申請時に明らかにされた光に対する特性及び変更の種類と程度による。

本ガイドラインは、主に新化合物とその関連する製剤を承認申請する際に必要とされる光安定性に関する情報を示すものである。本ガイドラインは、申請後(例えば、現状で使用されている)の医薬品の光安定性をカバーするものではなく、また、これらの適用は親ガイドラインによってもカバーされない。

科学的な根拠により妥当性が明示される場合には、他の方法を採用してもよい。

光安定性試験は、下記のような適切な試験により、系統的に行うことが望ましい。

ア) 原薬についての試験

イ) 直接包装を除いたむき出しの製剤についての試験

ウ) 必要ならば、直接包装形態での製剤についての試験

エ) 必要ならば、市販包装形態の製剤についての試験

製剤の試験をどこまで行うかは、「製剤の光安定性試験結果の判定フローチャート」に沿って、曝光試験による変化が許容できるかどうかを評価して決める。許容できる変化とは申請者によって妥当性が示された限度内の変化をいう。

光の影響を受け易い原薬及び製剤の表示については、各国又は各地域の規定に従う。

イ 光源

光安定性試験には以下に示されている光源を用いることができる。申請者は妥当な理由がある場合以外は、局所的な温度変化の影響を最小にするために、適切な温度管理を行うか、或いは同じ条件下に遮光した対照試料を置いた試験を行わなければならない。

医薬品製造者/申請者は、オプション1及び2のいずれの光源についても、その波長分布特性の規格は光源の製造業者が示すものを受け入れてよい。

オプション 1

D65 ないしは ID65 の放射基準に類似の出力を示すように設計された光源、例えば、可視光と紫外放射の両方の出力を示す昼光色蛍光ランプ、キセノンランプ又はメタルハライドランプなどがある。D65 は、ISO 10977 (1993) に規定されている屋外の昼光の標準として国際的に認められたものである。ID65 は、それと同等の屋内の間接的な昼光の標準である。

320nm 以下に有意な放射エネルギーを持つ光源については、適切なフィルターを用いてそのような放射エネルギーを除去してもよい。

オプション 2

オプション 2 では、同じ試料が白色蛍光ランプと近紫外ランプの両方で照射されなければならない。

(ア) ISO 10977 (1993) に規定されたものと同様な出力をもつように設計された白色蛍光ランプ

及び

(イ) 350 ~ 370nm に放射エネルギーの極大を持ち、320 ~ 400nm にスペクトル分布を持つ近紫外蛍光ランプを使用する。; 320 ~ 360nm 及び 360 ~ 400nm の波長域のそれぞれに十分な放射エネルギーを示すものであること

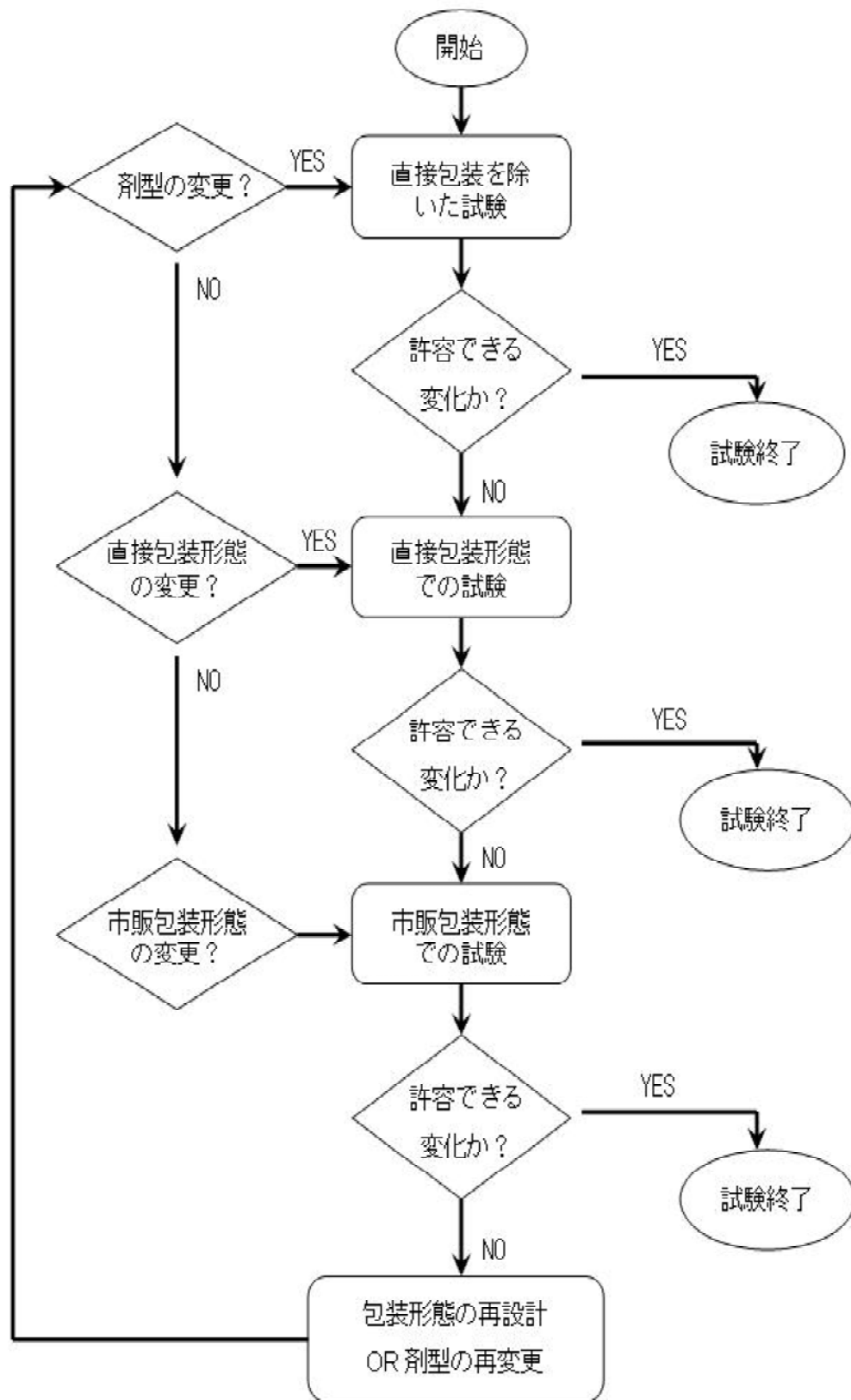
ウ 手順

光安定性を確認するための試験（以下、「確認試験」という）では、原薬と製剤の結果を対比できるように、試料は総照度として 120 万 Lux·hrs 以上及び総近紫外線エネルギーとして 200 W·hrs/m² 以上の光に曝されねばならない。

規定された曝光量が得られていることを保証するために、試料はバリデートされた化学光量計と並べて曝光するか、或いは検定済みの放射計ないしは照度計を用いた曝光量測定結果により設定された適切な期間、曝光してもよい。化学光量計による方法の例が付属書に示されている。

もし、すべての見掛けの変化に対して温度の影響による変化を評価するために、遮光された試料（例えば、アルミホイルで包んだ試料）を使用するなら、測定試料と並べておくべきである。

製剤の光安定性試験結果の判定フローチャート



(2) 原薬

原薬の光安定性試験は、強制分解試験と確証試験の二つの部分からなっている。

強制分解試験の目的は、分析法を開発したり、分解経路を解明するためにその物質の全般的な光感受性を評価することである。分析方法のバリデーションのためには、原薬自体の他、単純な溶液／懸濁液を用いて強制劣化試験を行う。これらの試験では、透明で化学的に不活性な容器に入れるべきである。強制分解試験では、原薬の光感受性や使用する光源の強度に応じていろいろな曝光条件を用いることができる。分析法の開発やバリデーションの目的であるなら、分解がかなりみられたときには曝光を打ち切って、試験を終了してもよい。光に対して安定な物質については、適切な量の曝光を行ったらその時点で試験を終了してよい。これらの実験計画は、申請者の自由裁量に任されるが、曝光量の妥当性を明示する必要がある。

強制的な条件下においては、確証試験の条件では、生成する可能性の少ない分解物が観察されることがある。この情報は適切な分析法を開発しバリデートするのに役立つ。もし、確証試験において、これらの分解物が生成されないことが実際に示されている場合には、それ以上の検討は必要ない。

確証試験は、取扱い、包装、表示に必要な情報を得るために行われる（これらの試験計画については、(1)のウ「手順」及び(2)のア「試料の配置」を参照）。

通例、開発段階の間に1ロットの原薬を試験し、その後、その医薬品が光に対して明らかに安定であるか、或いは明らかに不安定である場合には親ガイドラインに従って選定した1ロットについて、光に対する特性を確認する。確証試験の結果が明確でない場合には更に最大2ロットまで追加して試験を行うべきである。試料は親ガイドラインに従って選定する。

ア 試料の配置

試験試料の物理的な特性を考慮して試験をするように注意を払い、昇華、蒸発、融解などの物理的な状態の変化による影響が最少になるように、試料を冷却したり、密封した容器に入れるなどの努力をしなければならない。試験される試料の曝光をできるだけ妨げないように注意しなければならない。容器として用いられる物質や試料保護のために用いる物質などと試料との間に起こり得る相互作用についても考慮し、試験に適さない場合には原因となるものを除去しなければならない。

試料が固体原薬の場合には、適切な量の試料を採り、適切なガラス又はプラスチック製の皿状容器に入れ、必要な場合には適切な透明カバーで覆う。固体原薬は一般的には3 mm以下の厚さになるよう容器中に広げる。液状の原薬は化学的に不活性で透明な容器に入れて曝光される。

イ 試料の分析

曝光終了時に、試料の物理的な性質（例えば、外観、溶状等）の変化を検討するとともに、光分解過程で生じうる分解物について適切にバリデートされた

方法を用いて含量及び分解物の量を測定する。

固体原薬の場合には、サンプリングは、それぞれの試験の試料として全体を反映する部分が用いられるように行う。固体以外の原薬についても、ばく光後の試料が均一でない可能性がある場合には、同様に試料全体を均一化した後、サンプリングを行う。対照として遮光した試料を用いる場合には、それを曝光された試料と同時に分析すべきである。

ウ 結果の判定

強制分解試験は、確証試験で用いられる分析法を開発し、バリデートするための適切な情報が得られるように計画されなければならない。これらの分析法は、確証試験において生成される光分解物を分離して検出できるものでなければならない。強制分解試験の結果を評価するときには、これらは苛酷試験の一部であり、光による変化について定性的或いは定量的な限度値を設定するためのものでないことを念頭に置くことが重要である。

確証試験は、原薬の製造や製剤化において必要な注意事項を確認でき、また、遮光包装の必要性を確認できるものでなければならない。確証試験の結果から、曝光による変化が許容できるものであるかを判定するときには、使用時点において原薬が規格に適合する品質であることを保証できるように、光安定性試験以外の通常行われる安定性試験の結果を併せて考察する必要がある（関連する ICH 安定性試験ガイドライン及び不純物ガイドラインを参照）。

(3) 製剤

製剤についての試験は、通例、まず完全にむき出しにした製剤での試験から始め、次に必要に応じて直接包装の製剤、更に市販される容器包装（市販包装）の製剤での試験を行うように逐次的に進めるべきである。その製剤が曝光の影響を受けないことを実証できるまで試験を進めなければならない。製剤は、

(1) のウ「手順」の項に記載されている条件で曝光しなければならない。

通例、開発段階の間に 1 ロットの原薬を試験した後、その医薬品が光に対して明らかに安定であるか、或いは明らかに不安定である場合には、親ガイドラインに従って選定した 1 ロットについて光に対する特性を確認する。確証試験の結果が明確でない場合には、更に最大 2 ロットまで追加して試験を行うべきである。

直接包装がアルミニウムチューブや缶のように光を完全に通さないものであり、そのままの形で患者に投薬される製剤については、通例、容器包装なしのむき出しの製剤についてのみ試験を行えばよい。

輸液や皮膚用クリーム等の製剤については、用時の光安定性を保証するための試験を行う方がよい。この試験をどの程度行うかは用法によって決まるものであり、申請者の判断に任される。

試験に用いる分析法は、適切にバリデートされていなければならない。

ア 試料の配置

試験試料の物理的な特性を考慮して試験をするように注意を払い、昇華、蒸発、融解などの物理的状態の変化による影響が最少になるように、試料を冷却

したり、密封した容器に入れるなどの努力をしなければならない。試験試料の曝光をできるだけ妨げないように注意しなければならない。容器として用いられる物質や試料保護のために用いる物質などと試料との間に起こり得る相互作用についても考慮し、試験に適さない場合には原因となるものを除去しなければならない。

直接包装から取り出した製剤について試験をすることが実際的である場合には、原薬について述べた条件と同じ方法で試料を配置する。試料は、光源に曝される面積が最大になるように配置する。例えば、錠剤、カプセル剤等は単一の層になるように広げて配置する。

直接曝光するのが実際的でない場合には（例えば、製剤が酸化されるため）、適切に保護できる不活性で透明な容器（例えば、石英）に試料を入れる。

直接包装に入れた製剤或いは市販包装の製剤についての試験が必要な場合には、曝光が最も均一になるように、試料を水平に或いは光路に対して直角になるように配置する。容積の大きな容器の製剤（例えば、調剤用の包装）を試験するときには、試験条件を調節することが必要な場合もある。

イ 試料の分析

曝光終了時に、試料の物理的な性質（例えば、外観、溶状、溶出性又は崩壊性等）の変化を検討するとともに、光分解過程で生じる分解物について適切にバリデートされた方法を用いて含量及び分解物の量を測定する。

散剤の場合には、サンプリングは、それぞれの試験の試料として全体を反映する部分が用いられるように行う。固形の経口剤の試験には適切な個数、例えば、20 錠又は 20 カプセルを用いる。その他の製剤（例えば、クリーム、軟膏、懸濁剤等）についても曝光後の試料が均一でない可能性がある場合には、同様に試料全体を均一化或いは溶解した後、サンプリングを行う。対照として遮光試料を用いた場合には、それを曝光された試料と同時に分析すべきである。

ウ 結果の判定

変化の程度によって、曝光の影響を軽減するための特別な表示や容器包装が必要とされることもある。確証試験の結果から、曝光による変化が許容できるものであるかどうかを判定するときには、有効期間を通じて製剤が申請を予定している規格に適合する品質であることを保証できるように、光安定性試験以外の通常行われる安定性試験の結果を合わせて考察する必要がある（関連の ICH 安定性試験ガイドライン及び不純物ガイドラインを参照）。

付属書

キニーネの化学光量法 (Quinine Chemical Actinometry)

近紫外蛍光ランプ (FDA/National Institute of Standards and Technology の研究に基づいて) に対する曝光量を測定するための化学光量法の詳細を以下に示す。他の光源/光量法についても、同様の手順が用いられるが、しかし、それぞれの化学光量計は使用する光源に対して、校正しておかなければならない。

塩酸キニーネ (Quinine monohydrochloride dihydrate) の 2 w/v % 水溶液 (必

要ならば加熱して溶かす) を調製する。

オプション 1

この液 10mL を 20-mL 容量の無色アンプル 1)) に入れ、密封し、測定試料とする。

別に、この液 10mL を 20-mL 容量の無色アンプル 1)) に入れ、密封し、完全に遮光するために、アルミホイルで包み、対照試料とする。

測定試料及び対照試料を適切な時間曝光する。その後、測定試料及び対照試料中の溶液につき、層長 1 cm のセルを用いて、400nm における吸光度 (AT 及び AO) を測定し、吸光度の差 $\Delta A = AT - AO$ を求める。曝光時間は吸光度の変化 (ΔA) が少なくとも 0.9 になるようにする。

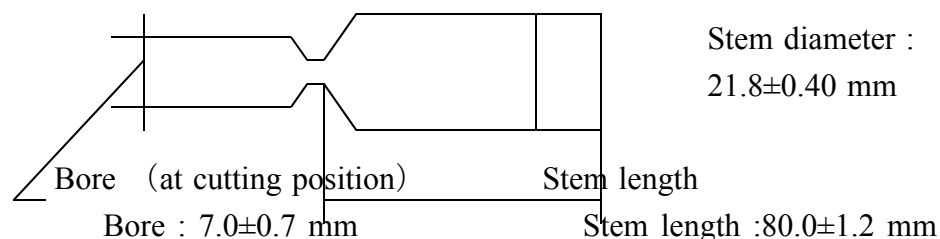
オプション 2

塩酸キニーネ (Quinine monohydrochloride dihydrate) の 2 w/v % 水溶液 (必要ならば加熱して溶かす) を 1 cm の石英セルに満たし、測定試料とする。別に、この液を 1 cm の石英セルに満たし、完全に遮光するために、アルミホイルで覆い、対照試料とする。

測定試料及び対照試料に適切な時間曝光する。その後、測定試料及び対照試料について、400nm における吸光度 (AT 及び AO) を測定する。吸光度の差 $\Delta A = AT - AO$ を求める。曝光時間は、吸光度の変化 (ΔA) が少なくとも 0.5 になるようにする。

適切にバリデートされている場合には、他の容器も用いることができる。その他のバリデートされた化学的光量計を使用しても差し支えない。

(ア) 形及び寸法 (Shape and Dimensions) (JIS R3512 (1974) 参照)



用語集

直接包装 (一時包装) : 原薬又は製剤が直接接触している容器又は包装で適切なラベルを含む。

市販包装 : 直接容器及び紙箱などの直接包装以外の包装を合わせた全体をいう。

強制分解試験 (Forced Test) : 試料を意図的に分解させるために行う試験である。この試験は、通例、原薬について開発段階で行われ、分析法を開発したり、分解経路を解明するために、その物質の全般的な光感受性を評価するために行う。

確証試験 : 標準化された条件下における光に対する特性を明らかにするために行う試験である。この試験は原薬の製造や製剤化において必要な注意事項を確認し、また、曝光の影響を軽減するために遮光包装や特別な

表示が必要かどうかを明らかにするために行う。この確証試験のために、親ガイドラインに記載されている長期試験及び加速試験のロットの選定に従って選択すべきである。

参考文献

Quioine Actinometry as a method for calibration ultraviolet radiation intensity in lightstability tesing of pharmaceuticals.

Yoshioka et al ; Drug Developmment and Industrial Pharmacy, 20 (13) , 2049-2062 (1994).

8-4 動物用飼料添加剤の安定性試験 (VICH GL8)

(1) 概略

飼料添加剤のために、VICH 三極間で調和した「8-1 動物用新原薬及び製剤の安定性試験」(VICH GL3R。以下「親ガイドライン」という。)に付則を設ける。本ガイドラインは、親ガイドラインの付則であり、動物用飼料添加剤の製剤の安定性試験のための要件として位置づけられる。親ガイドラインは、製剤で作成される安定性情報の一般的指針を規定するものであるが、飼料添加剤のための付則は、評価される製剤の特有の性質により、多様な実際の・科学的に考慮すべき事項があるので、十分な柔軟性を残している。調製とペレット化に関係する安定性のような非常に重要と考えられるような他の安定性試験、分離試験及び均質試験は、本ガイドラインの対象ではない。

(2) 緒言

本ガイドラインは、原則として、新化合物を含有する飼料添加剤の製剤のための承認申請において、受け入れ可能な安定性情報作成のためのものである。飼料添加剤は、動物の飼料に混合されて経口投与されるものである。本ガイドラインは、飼料添加剤のみに適用され、飼料添加剤から製造されるものには適用されない。飼料添加剤で実施される安定性試験は、親ガイドラインに従わなければならない。一方、親ガイドラインの応用は、幾つかの事例に限定されるかもしれない。したがって、このガイドラインは、飼料添加剤のための安定性試験資料において親ガイドラインと異なる点について記述している。

(3) 保存条件

飼料添加剤は、 $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C} / 60\% \text{ RH} \pm 5\%$ (長期保存試験) 及び $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C} / 75\% \text{ RH} \pm 5\%$ (加速試験) で、親ガイドラインの製剤と同じ試験間隔で試験されるべきである。正当であれば、他の保存条件が認められる。加速試験によって「規格からの逸脱」が生じた場合、中間的条件、例えば、 $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C} / 60\% \text{ RH} \pm 5\%$ での追加試験が実施されるべきである。加速試験における「規格からの逸脱」は、規格値に適合しないことと定義される。飼料に配合する前の飼料添加剤の安定性を立証するために証拠が必要である。飼料添加剤の有効期間の規格値は、すべての安定性を示す試験項目を含むべきである。

(4) 包装材質

試験は、可能であれば、市販のために申請した最終包装で実施すべきである。実際の市販包装をシュミレートした比較可能な縮小容器の使用は、認められる。

(5) 用語解説

キャリア：飼料に均一に混合しやすくするために、原薬に加えられる可食のもの。

飼料添加剤 (Type A 治療用物質)：飼料添加剤は、飼料と混合して、動物への医薬品の経口投与を容易になるように調製した一種類以上の原薬と、通常、キャリアとの混合物である。

追加の規定は、地域のガイダンス及び規制を参照されたい。

8-5 新動物用生物薬品(バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品)の安定性試験 (VICH GL17)

(1) 緒言

VICH 調和三極ガイドライン「8-1 動物用新原薬及び製剤の安定性試験」(VICH GL3R)におけるガイダンスは、一般に新生物薬品(バイオテクノロジー応用製品/生物起源由来製品)にも適用することとする。しかし、生物薬品は、通常の化学物質とは異なる特性を有しているため、これらの医薬品が安定に維持できる保存条件及び期間を定めるために行われる安定性試験の実施要領は、その特性に十分配慮したものである必要がある。生物薬品の場合、その有効成分は、十分に特性解析がなされたタンパク質やポリペプチドであり、分子の高次構造(コンホメーション)の維持や、それを基盤とする生物学的活性の維持は、共有結合はもとより非共有結合に依存している。また、温度変化、酸化、光、イオン強度、せん断のような環境因子に特に敏感である。生物学的活性を維持し、分解等を回避するには、一般に厳密な保存条件を必要とする。

安定性評価には様々な分析手段を複合的に組み合わせることが必要である。生物学的活性の測定が適用できる場合には、これを安定性試験の重要な項目とすべきである。製品の純度や特性からみて適切な物理的・化学的手法、生化学的手法及び免疫化学的手法が適用できる場合には、それらも分子レベルでの分析や分解物・変化物の定量手段として、安定性試験計画に盛り込まれるべきである。

申請者は、これらのことを勘案した上で、新生物薬品の安定性を保証する適切なデータを作成するとともに、製品の力価、純度及び品質に影響を及ぼす様々な外的条件がどのようなものであるかを考察する必要がある。原薬又は製剤のいずれの貯法を申請する際にも、その根拠となる第一義的なデータは、実保存期間、実保存条件での長期保存試験により得られるデータである。したがって、適切な長期保存試験計画の立案は、製品開発の成否にきわめて重要である。本文書の目的は、申請者に対し、承認申請に当たって実施すべき安定性試験及び承認申請書に添付する必要がある安定性試験データに関するガイダンスを示すことにある。なお、審査期間中に、引き続き実施して得られた長期保存試験データを提出できることになっている。

(2) 適用対象範囲

本文書に述べられたガイダンスの適用対象となる物質は、組織、体液あるいは細胞培養液から単離・精製され、あるいは組換え DNA 技術を用いて生産され、十分に特性解析がなされたタンパク質、ポリペプチド類及びそれらの誘導体を構成成分とする製品である。したがって、本文書は、サイトカイン類、成長ホルモン類、成長因子類、インスリン類、モノクローナル抗体類、十分に特性解析がなされたタンパク質又は化学合成されたポリペプチド類を構成成分とするワクチン類のような製品についての安定性データの作成と申請のためのものである。

なお、本文書は、抗生物質類、ヘパリン類、ビタミン類、細胞代謝産物類、DNA産物類、アレルゲン抽出物類、従来型ワクチン類、細胞類、全血製剤及び血液の細胞成分には適用されない。

(3) 用語

本文書で使用している用語のうち基本的なものの定義については、「8-1 動物用新原薬及び製品の安定性試験」(VICH GL3R)の用語集を参照すること。しかし、生物薬品(バイオテクノロジー応用製品/生物起源由来製品)の製造業者は時に伝統的用語を用いることから、便宜上、伝統的用語を括弧書きで並記する。付録の用語集にも、生物薬品の製造に際して用いられる用語の幾つかを挙げ、定義したものが含まれている。

(4) バッチの選定

ア 原薬(バルク)

原薬が製造後、製剤化工程又は最終工程の前の段階で保存される場合には、実生産スケールを反映する3バッチ以上の試料について安定性試験成績を提出する必要がある。6か月以上の有効期間を予定しているものについては承認申請時に最低6か月の試験データを提出する。6か月未満の有効期間を予定しているものの場合、当初の申請に最低限どの程度のデータが必要かについてはケースバイケースで決定されるであろう。培養工程及び精製工程をスケールダウンして製造した原薬についてのデータ、いわゆるパイロットプラントスケールで得たバッチのデータを承認申請用として提出することは可能である。ただし、承認後実生産スケールで製造された最初の3バッチについて長期保存試験を実施する旨の約定を規制当局と交しておく必要がある。

安定性試験に使用するバッチの品質は、非臨床試験及び臨床試験で使用するものの品質や実生産スケールで製造されるものの品質を体現するものである必要がある。加えて、パイロットプラントスケールで製造された原薬は、その製造工程や保存条件が、実生産スケールに適用される製造工程及び保存条件とともに反映したものである必要がある。原薬の安定性試験に使用する容器は、実生産の製造工程で実際に用いられる容器を適切に体現できるものを用いる必要がある。実際の製造に通常使用されるものと同じ材質及び同じタイプの容器/栓であればサイズの小さな容器を用いて安定性試験を実施しても差し支えない。

イ 中間製品

生物薬品の製造において、ある特定の中間製品の品質とその管理が最終製品の製造に重要となる場合がある。その場合、製造業者は開発された製造工程中において、該当する中間製品を定め、自家試験データを取得し、その安定性を保証する工程管理限度値を設定することが一般的に求められる。パイロットプラントスケールでのデータも利用できるが、実生産スケールの製造工程でそうしたデータの妥当性を確立しておくべきである。

ウ 製剤(最終製品)

実生産スケールを反映する3バッチ以上の製剤(最終製品)について安定性

試験成績を提出する。可能ならば、安定性試験に用いる製剤（最終製品）の各バッチは、異なる原薬バッチを使用して製造したものとする。6か月以上の有効期間を予定しているものについては承認申請時に最低6か月の試験データを提出する。6か月未満の有効期間を予定しているものの場合、当初の申請に最低限どの程度のデータが必要かについてはケースバイケースで審査されることになるであろう。製品の有効期間は申請に際して根拠として提出された実際の試験データに基づく。有効期間の設定は、審査用に提出された実保存期間、実保存温度における長期保存試験の成績に基づいて行われることになるので、審査期間中にその後引き続き実施した試験の成績により、当初データでの期間が更新／延長されることになる。安定性試験に用いられる最終製品の品質は、非臨床試験及び臨床試験に用いられる製品の品質を体現するものである必要がある。承認後、実生産スケールで製造された最初の3バッチで長期保存試験を行う旨の約定があれば、パイロットプラントスケールでのデータを承認申請用資料として提出することも認められる。パイロットプラントスケールで製造されたバッチを使用した安定性試験により製品の有効期間を設定したものの、実生産スケールで製造された製品が長期保存試験でその有効期間内で規格に適合しなかったり、又は非臨床試験及び臨床試験で使用されたものの品質を反映したものではなく、同等とはいえないような事態が生じたときには、申請者は当該規制当局に連絡し、適切な指導を受ける必要がある。

エ 検体の選定

製剤に一連の容量違い（例えば、1 mL、2 mL、10mL）、単位違い（例えば、10 単位、20 単位、50 単位）、質量違い（例えば、1 mg、2 mg、5 mg）のバッチがある場合には、安定性試験に供する試料は、マトリキシング法又はブラケット法により選定することもありえる。

マトリキシング法とは、安定性試験を統計学的にデザインした方式の一つで、各測定時点で採取され試験に供されるのは全試料のうちの一部であるという方式である。本方式は、試験に供された試料の安定性が全試料の安定性を代表することを確証する適切な文書が提出されたときにのみ適用されるべきである。同一製剤での試料の違いのうちには、例えば、バッチの違い、含量違い、同一の栓でサイズ違い、あるいは可能性としては、容器／栓が異なる場合などが含まれている。マトリキシング法は、例えば含量の違い、容器／栓の違いなどが安定性に影響を及ぼす可能性があるような試料で、それらの製剤が保存条件下で同じように反応することを確認することができない場合には、適用すべきではない。

成分組成において同一でかつ容器は全く同じタイプのものを使用しているが充填量においては異なる三種以上の製剤の場合、製造業者は容器サイズの最も小さいものと最も大きいもの（充填量の最も小さいものと最も大きいもの）のみを安定性試験の試料とすることができる。これがブラケット法である。ブラケット法をとり入れたプロトコールのデザインでは、中間的な充填量の試料の安定性は両極の充填量の試料の安定性により代表されるとの仮定に基づいてい

る。場合によっては、両極の充填量の試料で集められたデータが全試料の安定性を適正に表わしていることを示すデータを提出する必要があるかもしれない。

オ 容器／栓

生物薬品において、製剤と容器や栓との相互作用によって製品の品質変化が起こる可能性がある。アンプル製品以外の液体の製品で、使用される容器や栓との相互作用が明らかになっていない場合については、正立の状態だけでなく容器を倒立又は横倒しさせた状態も含めた（すなわち栓と接触した状態で）安定性試験を実施し、栓が製品の品質に影響を及ぼさないか検討する必要がある。市販予定のすべての容器／栓の組合せについてのデータが必要である。

(5) 安定性評価

一般的に、生物薬品の安定性面での特性をそれだけで明らかにすることができるといえるような安定性評価試験法あるいはパラメーターはない。したがって、製造業者は当該医薬品の同一性、純度及び力価の変化を捉えることができる総合的な安定性評価指針を考案し、提示する必要がある。

この安定性評価指針に含まれる試験方法は申請者によりバリデートされたものであって、これに関する資料は申請時点において提出できる状態にしておくべきである。どのような試験項目を採用するかは、製品の特徴に応じて決められる。以下の各項に示されている項目は、医薬品の安定性を適切に示そうとする際に、通常、資料作りが必要であろう代表的な特性項目を例示したものであり、すべてを包含しているものではない。

ア 安定性試験実施計画書／結果報告書

承認申請資料には、原薬（適応可能な場合）及び製剤について、申請する貯法及び有効期間の妥当性を示す詳細な安定性試験実施計画書／結果報告書を添付する必要がある。この実施計画書／結果報告書には、適切に定められた規格や試験実施間隔等を含め、承認を得ようとする有効期間中をとおして生物薬品が安定であることを示すために必要な情報がすべて記載されている必要がある。統計学的手法は安定性に関する三極調和ガイドラインに記載されている方法を用いること。

イ 力価

製品の臨床効果と、定義可能でかつ測定可能な生物学的活性とが関連性を有している場合には、力価試験は安定性評価の一部であるべきである。本文書に述べられている製品の安定性試験において力価とは、目的とする効果を発揮するための特殊な能力のことをさす。力価は、製品のある特性を測定することを基盤としており、適切な定量性のある *in vivo* 又は *in vitro* での方法により検定される。一般に、異なる試験室において測定された生物薬品の力価は、適切な標準物質の力価に関係づけて表わされる場合のみ、意味あるものとして比較することができる。その目的のために、可能であれば国内標準品又は国際標準品に対して直接的又は間接的に検定された標準物質を力価測定に用いるべきである。

力価の経時的変化に関する検討は、安定性試験実施計画書に従って適切な間隔で実施される必要がある。また、その結果は、可能な限り、国内又は国際的に認定された標準品を基準として検定された生物学的活性単位で報告される必要がある。国内標準品又は国際標準品がない場合、試験結果を、適切な特性解析がなされた自家標準物質を用いて得られた自家単位でのデータにより報告してもよい。

生物薬品の中には、力価が有効成分と第二の成分とのコンジュゲーションあるいはアジュバントとの結合に依存しているものがある。コンジュゲートあるいはアジュバントとして用いられたキャリアーからの有効成分の離脱については、流通過程で遭遇する条件も含め、実保存期間、実保存温度で検討する必要がある。この種の製品にあつては、*in vitro* の生物学的活性試験や物理的・化学的特性分析が実施不可能かあるいは正確性に欠く結果を与えるため、安定性評価が困難な場合がある。このような *in vitro* 試験における不十分さを補完するために、適切な方策（例えば、コンジュゲーションや結合前の製品についての試験、第二成分から有効成分の離脱の評価、*in vivo* による力価試験）を考えたり、又は適切な代替試験の活用を考慮する必要がある。既に評価確立された *in vivo* による力価試験では、有効成分の著しい離脱は認められないことが多くの場合示されている。

ウ 純度及び分子特性の解析

本文書中で述べられている製品の安定性試験において、純度とは相対的な用語である。生物薬品には、糖鎖付加、脱アミド化、あるいはその他の不均一性などがあるため、その絶対的な純度を決定することは極めて困難である。したがって、生物薬品の純度は、一般的に複数の方法により評価されるべきである。得られる純度は試験方法に依存したものになる。安定性試験の目的をふまえると、その純度試験は分解物・変化物を測定することに焦点を合わせるべきである。

安定性試験に供された生物薬品に関しては、純度はもとより、その分解物・変化物について、個々の量及び総量を可能及び必要な限り報告し、説明資料を作成する必要がある。分解物・変化物の許容限界量は、非臨床及び臨床試験に用いた原薬及び製剤の分析結果に基づくべきである。

適切な理化学的分析手法、生化学的手法及び免疫化学的分析手法を用いれば、原薬及び（又は）製剤について広範囲な特性解析（例えば、分子量、荷電、親水性）を行うことができ、保存中の脱アミド化、酸化、スルホキシド化、凝集又は断片化等による物質変化を的確に検出することが可能となる。これに有用な分析方法の例としては、電気泳動法（SDS-PAGE、免疫電気泳動法、ウエスタンブロット、等電点電気泳動法等）、高分離能クロマトグラフィー（例えば逆相クロマトグラフィー、ゲル濾過、イオン交換、アフィニティクロマトグラフィー）及びペプチドマッピングがある。

長期保存試験、加速試験及び（又は）苛酷試験において、分解物・変化物の生成を示す有意な質的又は量的変化が検出された場合には、計画に沿って実施

された長期保存試験中に生成する分解物・変化物が安全性上問題となる可能性につき検討・考察する必要がある。また、それらの特性解析と定量的把握が必要かどうかにつき検討・考察すべきである。許容限度値については、非臨床及び臨床試験に用いた原薬及び(又は)製剤で検出された水準を勘案して設定し、その妥当性の根拠を示す必要がある。

通常分析法では適切に特性解析ができない物質又はルーチンに用いられる分析手法では正確な純度の測定が不可能な製品の場合、申請者は代替試験法を設定し、その妥当性の根拠を示す必要がある。

エ その他の製品特性

生物薬品に特に限られた項目ではないが、下記の製品特性について最終包装形態でモニターし、報告する必要がある。

製剤の外観(溶液/懸濁液の色及び濁度、粉末の色、形状及び溶解時間); 溶液のものはそのままの状態、粉末及び凍結乾燥品を溶解剤で溶解するものについては溶解後に、肉眼で観察される微粒子の有無; pH; 粉末及び凍結乾燥品の含湿度。

無菌試験又はそれに代わる試験(例えば、容器/栓の完全性試験)は少なくとも試験開始時及び申請する有効期間の最終時に実施すること。

添加剤(例えば安定剤、保存剤、賦形剤等)が製剤の保存中に変化・分解する可能性もある。予備安定性試験において、これらの添加剤における化学反応や分解が製剤の品質に悪影響を与える徴候がみられた場合には、安定性試験においてこれらの項目をモニターすべきであろう。

容器/栓は、製品に悪影響を及ぼす可能性があるため、注意深く評価する必要がある。

(6) 保存条件

ア 温度

生物薬品の多くは保存温度を厳密に限定する必要があるため、実保存温度、実保存期間で実施される安定性試験の保存条件は、通常、申請する保存温度に限定される。

イ 湿度

生物薬品は、通常、防湿性の容器に入れられ、流通される。したがって、申請しようとする容器(及び申請しようとする保存条件)が、高湿度及び低湿度に対して十分な防湿効果を有することを証明できる場合、各種の相対湿度条件下での安定性試験は一般に省略することができる。防湿性の容器を使用しない場合には、適切な安定性のデータを提出する。

ウ 加速及び苛酷条件

前述したように、有効期間は実保存温度、実保存期間で実施された試験成績に基づいて設定されるべきである。しかし、原薬及び製剤について加速及び苛酷条件での試験も実施することが強く望まれる。

加速試験は、①有効期間の設定上有用な補足情報を提供する②将来の製品開発(例えば、製剤処方変更、スケールアップ等)のような製法変更を申請する際

の予備的評価)に資する当該物質の安定性面での情報を提供する③安定性試験に用いられる分析方法のバリデーションを行う際に役立つ④原薬又は製剤の変化の様相(分解特性)の解明に役立つ情報をもたらす、などの可能性がある。

苛酷試験は、①製品が申請する保存条件以外の条件に偶発的に曝された場合(例えば、輸送中)、製品に悪影響があるかどうかを判断する②どのような特異的試験パラメーターが製品の安定性指標として最適かを評価する、ことなどに有用である可能性がある。また、③極端な条件下に原薬又は製剤を曝すことで、変化・分解のパターンを明らかにするのに役立つ可能性がある。仮に変化・分解のパターンが明らかとなるのであれば、同様な変化が申請しようとしている保存条件下で起きるかどうかをモニターする必要がある。安定性に関する三極調和ガイドライン中に加速及び苛酷試験の条件についての記載があるが、これらは生物薬品には適切でない場合があることに留意すべきである。条件についてはケースバイケースで慎重に選択する必要がある。

エ 光

申請者は試験の方針を決めるに際して、ケースバイケースで当該規制当局に相談すること。

(7) 使用条件

ア 凍結乾燥品の開栓後あるいは溶解後の安定性

凍結乾燥品の溶解後の安定性については、容器、包装、添付文書などに記載された条件及び最長保存期間での安定性を検討する必要がある。この表示法は各国/地域の基準に準拠することとなっている。

イ マルチプルドースバイアル

また、通常の単回使用バイアルに必要な標準的なデータに加えて、注射針などを何度も栓から入れて繰り返し抜き取り使用するマルチプルドースバイアルの場合は、容器、包装、添付文書などに記載する使用手引に規定された最長使用期間中、栓がそうした条件に耐え、製品の力価、純度、品質が保持されていることを示す必要がある。使用手引の表示法は各国/地域の基準に準拠することとなっている。

(8) 試験頻度/期間

生物薬品の有効期間は、何日という単位から数年と幅が広いので、すべての製品に一律にあてはまる安定性試験の期間や試験頻度を定めることは難しい。しかし、少数の例外を除き、現存の製品あるいは将来開発される可能性がある製品の有効期間は半年から5年の範囲と考えられる。そこで本文書では、この範囲に有効期間が想定されるものとして以下のような指針を定めた。これには生物薬品における変化・分解というものが、長期保存期間中の時間経過の中の各時間間隔において、経過した時間としては同じであっても、時点が異なれば必ずしも同じ内容/程度の変化にならない場合が多いことなどを考慮している。すなわち、1年未満の有効期間を予定している場合では、長期保存試験は最初の3か月は1か月ごと、その後は3か月ごとに試験する。1年以上の有効期間を予定している場合は、最初の1年目は3か月ごと、2年目は6か月ごと、

それ以降は1年ごとに試験することとする。

上記の試験間隔は承認前や許可前の段階において妥当であろうとされているものである。しかし、製品の承認／許可後であって、既に製品の安定性に関して適切なデータがあり、問題がないことが示された場合には、試験の一部を省略しても差し支えないであろう。製品の安定性が損なわれないことを示すデータがある場合には、申請者が、承認／許可後の長期保存試験の計画書としてある特定の時点での試験（例えば9か月の試験）の省略を裏付けるような試験計画書を積極的に提出することが望まれる。*in vivo*による力価試験が安定性試験計画書に含まれている場合には、ある一定時点でのこれらの試験の省略について裏付けをしなくてはならない。

(9) 規格

生物薬品では、保存中に活性の有意な低下、物理的・化学的な変化又は分解が起こる可能性があるが、出荷規格と有効期間の終了時点での規格（有効期間内規格）については、各国の基準や国際的な基準の中ではほとんど触れられていない。申請有効期間中の活性低下の最大許容範囲や物理的・化学的変化（分解）の限度については、生物薬品の個々のタイプやグループごとでの勧告はなされておらず、ケースバイケースで考えられている。それぞれの製品は、その有効期間を通して安全性、純度、力価などにおいて定められた限度値内に規格が維持されている必要がある。この規格や限度値は、適切な統計学的手法を利用した情報に基づいて定められる必要がある。もし異なった出荷規格と有効期間内規格を用いようとする場合には、安定性に関する三極調和ガイドラインで述べられているように臨床効果に影響しないことを示す十分なデータによる裏付けが必要である。

(10) ラベル表示

ほとんどの生物薬品の原薬、製剤には正確に定められた保存温度が推奨される。とりわけ凍結させてはならない原薬、製剤については、特別な勧告を記載する必要がある。これらの条件のほか、必要ならば光や湿度から保護すべき旨の勧告なども容器、包装及び添付文書などに記載する必要がある。この表示法は各国／地域の基準に準拠することとなっている。

(11) 用語の定義

・コンジュゲート製品

コンジュゲート製品とは、製品の有効性や安定性を改良する目的のために、有効成分（例えばペプチド、炭水化物）を共有結合あるいは非共有結合によりキャリアー（例えばタンパク質、ペプチド、無機鉱物）と結合して調製したものである。

・分解物・変化物

製品が経時的に変化して生成する物質である。このような変化（例えば、脱アミド化、酸化、凝集、プロテアーゼによる分解）は製造工程中又は保存中に起きる可能性がある。生物薬品の場合、分解物・変化物によっては活性を有するものがある。

- ・不純物

原薬（バルク）又は製剤（最終製品）中の有効成分、添加剤として定義される物質以外のもの

- ・中間製品

生物薬品製造工程の中間過程で得られるもので、原薬や製剤ではないが、それらの製造が原薬又は製剤の製造を成功させるために非常に重要なもの。一般に、中間製品とは定量的に取り扱えるもので、工程をさらに先へ進める前にそれまでの製造工程が成功裡に完了したか否かを判定するための規格が設定されるものである。中間製品には、更に分子構造上の修飾を受けるもの、あるいは次の工程まで一定期間以上保存されるものも含まれる。

- ・実生産スケールでの生産

市場へ供給する製品の製造のために、施設内で通常に行われる生産

- ・パイロットプラントスケールでの生産

実生産に適用される製造方法、製造工程を十分に反映し、シュミレートした方法／工程で行われる原薬又は製剤の製造。細胞の増殖／培養、ハーベスト及び精製方法は、製造規模を除き、同一でなければならない。

9 動物用医薬品のための毒性試験法ガイドライン

本ガイドラインは、動物用医薬品の承認申請等の目的で実施される毒性試験について、標準的な実施方法を示し、動物用医薬品の安全性の適正な評価に資することを目的とする。

しかし、本来、すべての動物用医薬品について一律の試験方法を定めることは合理的ではなく、また、試験の進展に応じて新たな実験を追加する必要があることも少なくない。したがって、得られた所見が臨床上の安全性評価に資することができるものである限り必ずしもここに示した方法を固守するよう求めるものでない。

(1) 急性毒性試験、亜急性毒性試験及び慢性毒性試験

原則としてすべての新動物用医薬品について、小動物を用いて試験を実施すること。

ア 試験動物

(ア) 種及び系統の選択に当たっては、寿命、各種自然発生疾患の発生頻度、毒性が既知の物質に対する感受性等を考慮する。

(イ) 同一検体について急性毒性試験、亜急性毒性試験及び慢性毒性試験を実施する場合には、同一の種及び系統の動物を使用することが望ましい。

イ 試験方法

(ア) 急性毒性試験

① 動物

1種以上の順調に発育した動物とする。通常、未経産で非妊娠のラットの雌が用いられる。

② 動物数

試験の目的に合致する適当な数とする。

③ 投与経路

原則として、経口投与とする。臨床適用経路が非経口の場合には、当該臨床適用経路についても実施する。なお、臨床適用経路が特殊で動物での実験が不可能な場合には他の適切な経路とする。

また、経口投与は原則として強制経口投与とし、この場合には、通常検体投与前に一定時間動物を絶食させるものとする。

④ 用量段階

用量－反応関係及びおおよその50%致死量(LD₅₀)を求めるに足る用量段階を設定する。なお、通常、投与上限量は2,000mg/kgとする。

⑤ 投与回数

原則として1回とする。

⑥ 観察期間

原則として14日間とする。

⑦ 検索方法

a 全例について、少なくとも投与後30分以内に1回、24時間までは定

期的に、その後は毎日、一般状態を観察する。

b 体重は投与直前と、少なくとも週に1回以上測定する。

c 観察期間終了時（又は死亡時）に全例を剖検し、全部の器官・組織を肉眼的に観察し、所見を記録する。

(イ) 亜急性毒性試験

① 動物

1種以上の同一週齢で、順調に発育した雌雄の動物とする。

一般には、小動物としてラット又はマウスが用いられる。

② 動物数

雌雄各々について、1群5匹以上とする。

動物に大きな負担を与える特殊検査、中途と殺又は回復試験を実施する場合にはそれに要する動物数をあらかじめ追加する。

③ 投与経路

原則として臨床適用経路とする。

経口投与の場合には、強制投与又は飼料若しくは飲料水に混入して自由に摂取させる方法がある。

④ 用量段階

雌雄各々について、3段階以上の試験群を設定するとともに、別に対照群を置く。

急性毒性試験又は予備的な短期間の連続投与試験の結果を参考に、有害反応の種類と強度を明らかにし、中毒量、最小中毒量及び無毒性量（No Observable Adverse Effect Level : NOAEL）を求め得る投与量及び群数とする。なお、中毒量は、一部の動物を致死させるか又ははっきりした毒性変化が現れる量とし、最小中毒量は何らかの毒性変化が現れる量とする。また、無毒性量（NOAEL）は、いずれの動物にも毒性変化が現れない量とする。

飼料又は飲料水に混入して投与する場合には、摂餌量又は飲水量から検体摂取量を算出する。

⑤ 対照群

陰性対照を置く。

陰性対照は、検体投与に当たり各種溶媒、乳化剤等を必要とする場合には、そのみを与える群とする。また、その他に無処置対照群を置くことが望ましい。

⑥ 投与期間

3週間以上とし、投与は週7日とする。

⑦ 検索方法

a 各群の全例について、一般状態を詳細に毎日観察し、体重を週1回以上測定する。

b 投与期間中、個別又は群ごとに摂餌量を週1回以上測定する。

c 投与期間中、各群の全部又は一部の例について、1回以上尿検査、眼

科的検査を行う。なお、検体の化学構造、薬理作用及び一般状態から類推して、適切な臨床検査を加えることが望ましい。

d 投与期間中の死亡例については、速やかに剖検し、器官・組織の肉眼的観察を行う。

e 投与期間中に死期の迫った例については、速やかにと殺剖検し、器官・組織の肉眼的観察を行う。

なお、と殺時に血液を採取して、血液学的検査及び血液生化学的検査を行うことが望ましい。

f 投与終了時の生存例については、24 時間後にと殺剖検し、全例について器官・組織の肉眼的観察を行う。なお、と殺時に血液を採取して、血液学的検査及び血液生化学的検査を行う。検査の項目は、できる限り多項目にわたることが望ましく、各項目の測定には、それぞれ国際的に繁用されている方法及び測定単位を採用する。

また、筋肉、脂肪、肝臓、腎臓等について検体等の残留量を測定することが望ましい。

(ウ) 慢性毒性試験

① 動物

1 種以上の同一週齢で、順調に発育した雌雄の動物とする。

一般には、小動物としてラット又はマウスが用いられる。

② 動物数

雌雄各々について、原則として1群 10 匹以上とする。

動物に大きな負担を与える特殊検査、中途と殺又は回復試験を実施する場合にはそれに要する動物数をあらかじめ追加する。

③ 投与経路

臨床適用経路又は経口投与とする。

経口投与の場合には、飼料若しくは飲料水に混入して自由に摂取させる方法又は強制投与による方法がある。

④ 用量段階

雌雄各々について、3 段階以上の試験群を設定するとともに、別に対照群を置く。

亜急性毒性試験の結果を参考に、何らかの毒性変化が現れる量及び無毒性量 (NOAEL) を求め得る投与量及び群数を決定する。

飼料又は飲料水に混入して投与する場合には、摂餌量又は飲水量から検体摂取量を算出する。

⑤ 対照群

陰性対照を置く。

陰性対照は、検体投与に当たり各種溶媒、乳化剤等を必要とする場合には、それのみを与える群とする。また、その他に無処置対照群を置くことが望ましい。

⑥ 投与期間

3か月以上とし、投与は週7日とする。

⑦ 検索方法

- a 各群の全例について、一般状態を毎日観察し、体重を投与開始後3か月間は週1回以上、その後は4週に1回以上測定する。
- b 投与期間中、個別又は群ごとに摂餌量を投与開始後3ヵ月間は週1回以上、その後は4週に1回以上測定する。
- c 投与期間中、各群ごとに一定数の例を任意に選び、1回以上尿検査、眼科的検査を行う。なお、必要があればその他の臨床検査を実施する。
- d 投与期間の死亡例については、速やかに剖検し、器官・組織の肉眼的観察、重量の測定及び病理組織学的検索を行う。

病理組織学的検索の対象となる器官・組織は次のとおりであるが、肉眼所見等からその必要性が認められないと判断される場合には、その一部を省略できる。

皮膚、乳腺、リンパ節、唾液腺、胸骨、大腿骨（骨髄を含む。）、胸腺、気管・肺及び気管支、心臓*、甲状腺及び上皮小体、舌、食道、胃及び十二指腸、小腸、大腸、肝臓*、膵臓、脾臓*、腎臓*、副腎*、膀胱、精囊、前立腺*、精巣*、卵巣*、子宮、膣、脳*、下垂体*、脊髄、眼球、ハーダー腺、その他肉眼で変化が認められた器官・組織

上記の器官・組織のうち*印を付したものについては、その重量を測定する。

- e 投与期間中に死期の迫った例については、速やかにと殺剖検し、dのとおり器官・組織の肉眼的観察、重量の測定及び病理組織学的検索を行う。

なお、と殺時に血液を採取して、血液学的検査及び血液生化学的検査を行うことが望ましい。

- f 投与終了時の生存例については、と殺剖検し、dのとおり各群の全例について器官・組織の肉眼的観察及び重量の測定を行う。病理組織学的検索は、原則として対照群及び最高用量群の全例について行うが、他の試験群において、肉眼で変化が認められた器官・組織がある場合又は最高用量群で観察された変化から考えて必要性のある場合には、他の試験群の全例についても当該器官・組織の病理組織学的検索を行う。なお、と殺時に血液を採取して、血液学的検査及び血液生化学的検査を行う。検査の項目は、できる限り多項目にわたることが望ましく、各項目の測定には、それぞれ国際的に繁用されている方法及び測定単位を採用する。

(2) 生殖・発生毒性試験

原則として新動物用医薬品について、「(ア) 催奇形性試験」を実施すること。

本試験の成績により必要と考えられる場合又は別に知られている知見等から雌雄動物の生殖能力や分娩など生殖の過程に対して悪影響を及ぼすことが疑われる動物用医薬品については、「(イ) 一世代生殖毒性試験」を実施すること。

妊娠前から離乳期までにわたる生殖過程の期間を3区分し、それぞれを投与期間として、「(ア) 妊娠前及び妊娠初期投与試験」、「(イ) 胎仔の器官形成期投与試験」及び「(ウ) 周産期及び授乳期投与試験」を実施することにより、生殖・発生への悪影響を正確に把握できるように配慮した試験法を採用しても差し支えない。

ア 試験動物

(ア) 種及び系統の選択に当たっては、受胎能などの生殖に関する知見、自然発生奇形の発生頻度、生殖・発生に悪影響を及ぼすことが明らかにされている物質に対する感受性等を考慮する。

(イ) 奇形子の自然発現率の低い種及び系統を選択することが望ましい。

(ウ) (イ) 及び (ウ) の試験に共通して用いられる動物においては、種及び系統が同一であることが望ましい。

イ 試験方法

(ア) 催奇形性試験

① 動物

ラット又はマウスなどのげっ歯類及びウサギなどの非げっ歯類からそれぞれ選んだ各1種以上の雌動物とする。

一般には、試験が比較的容易にでき、かつ、一般的な代謝様式等が比較的知られている動物種が用いられる。

② 動物数

ラット又はマウスでは1群20匹以上、ウサギでは1群8匹以上とする。動物数は、妊娠が成立した個体の数を意味する。

ラット、マウス又はウサギ以外の動物種を用いる場合には、原則として評価に耐える知見が得られると期待される動物数とする。

③ 投与経路

原則として臨床適用経路とする。

経口投与の場合には、強制経口投与を原則とする。

強制投与法は、確実に一定量を投与できる点などで飼料若しくは飲料水に混入して自由に摂取させる方法に勝っている。

臨床適用経路を採用し難い場合には、他の経路をもって代えてもよい。

④ 用量段階

3段階以上の試験群を設定するとともに、別に対照群を置く。

最高用量は摂餌量の低下、体重増加の抑制など何らかの明らかな毒性徴候が現れる量とする。技術的に投与できる最大量においても毒性徴候が現れない場合には、その量を最高用量とする。最低用量は、母動物及び胎仔の両方ともに障害が現れない量とする。中間用量（複数のこともある。）は、原則として最高用量と最低用量の等比中項とする。用量段階のうちには、当該使用動物で薬理効果が現れる量又は推定臨床常用量と著しく掛け離れていない用量が含まれることが望ましい。

⑤ 対照群

陰性対照を置く。なお、必要に応じて陽性対照又は比較対照を置く。

陰性対照は、検体投与に当たり各種溶媒、乳化剤等を必要とする場合には、原則としてそれのみを与える群とする。なお、陽性対照には催奇形性を有することが明らかにされている物質を、比較対照には、化学構造又は薬効が類似する既存薬物を用いる。

⑥ 投与期間

胎子の器官形成期の間連日投与を行う。

⑦ 検索方法

a 試験期間中、母動物については、各群の全例についてその生死及び一般状態を観察し、体重及び摂餌量を測定する。

b 母動物は全例を妊娠末期に剖検し、妊娠の成立、胎子の死亡の有無を検索し、かつ、生存胎子については体重などの測定及びその形態学的検索を行う。死亡胎子については、できる限り死亡時期を推定する根拠となる所見を記録する。また、母動物については、器官・組織の肉眼的観察を行う。

(イ) 一世代生殖毒性試験

① 動物

げっ歯類から選んだ1種以上の雌雄の動物とする。

一般的にはラット又はマウスが用いられる。

② 動物数

1群20匹以上の雄と妊娠末期において原則として1群20匹以上の妊娠動物を確保するために必要な雌とする。

③ 投与経路

原則として臨床適用経路とする。

経口投与の場合には、強制投与又は飼料若しくは飲料水に混入して自由に摂取させる方法がある。臨床適用経路を採用し難い場合には、他の経路をもって代えてもよい。

④ 用量段階

3段階以上の試験群を設定するとともに、別に対照群を置く。

最高用量は摂餌量の低下、体重増加の抑制など何らかの明らかな毒性徴候が現れる量とする。技術的に投与できる最大量においても毒性徴候が現れない場合には、その量を最高用量とする。最低用量は、親動物、胎子又は出生子のいずれにも障害が現れない量とする。中間用量（複数のこともある。）は、原則として最高用量と最低用量の等比中項とする。

用量段階のうちには、当該使用動物で薬理効果が現れる量又は推定臨床常用量と著しく掛け離れていない用量が含まれることが望ましい。

⑤ 対照群

陰性対照を置く。なお、必要に応じて陽性対照又は比較対照を置く。

陰性対照は、検体投与に当たり各種溶媒、乳化剤等を必要とする場合には、原則としてそれのみを与える群とする。なお、陽性対照には生殖に悪

影響を及ぼすことが明らかにされている物質を、比較対照には、化学構造又は薬効が類似する既存薬物を用いる。

⑥ 投与期間

雌雄とも8週齢時から8週間以上連日投与してから交配に当てる。交配は3週間を限度として同一の雄と雌を1対1で同居させる。

雄については、交配期間中も連続投与し、雌については、交配期間中、妊娠期間中及び分娩後3週間における新生子の離乳までの期間投与を続ける。

⑦ 検索方法

a 試験期間中、各群の全例についてその生死及び一般状態を観察し、母動物については、体重及び摂餌量を測定する。

b 交配期間の終了した雄はと殺剖検し、器官・組織の肉眼的観察を行う。交尾が成立しなかった雌雄についてはその原因を調査する。

交尾率及び受胎率を求める。

これらは、通常次の算出法による。

$$\text{交尾率} = (\text{交尾動物} / \text{同居動物}) \times 100$$

$$\text{受胎率} = (\text{受胎動物} / \text{交尾動物}) \times 100$$

c 各群の全例を分娩哺育させる。

分娩に際しては、分娩の障害や遅延の徴候などについて観察する。

出産率を求める。

これは、通常次の算出法による。

$$\text{出産率} = (\text{生子出産雌数} / \text{妊娠雌数}) \times 100$$

d 新生子については、産子数、その生死、性別及び外表における変化などを検索し、体重を測定する。

同腹生子数を調整する場合には、生後比較的早い時期に、1母体当たり雄と雌がほぼ同数から成る一定匹数無作為に採り、余分な子を淘汰する。ラット又はマウスでは、通常生後4日齢で8匹程度にする。

e 出生子については、成長及び発達並びに特異な症状の有無や行動の異状などに関する検索を行う。

出生子に異常所見が見いだされた場合には、必要に応じて、新たに乳母哺育試験などを行って生後のいずれの時期における影響によるかを分析すべきである。

成長及び発達については、形態、機能及び行動に関する検索を行う。

また、必要に応じて更に長期間の観察を行う。出生から離乳までの間に出生率、生存率及び離乳率を求める。

これらは通常次の算出法による。

$$\text{出生率} = (\text{出產生子数} / \text{着床頭数}) \times 100$$

$$\text{4日生子率} = (\text{生後4日の生子数} / \text{出產生子数}) \times 100$$

$$\text{離乳率} = (\text{離乳時生子数} / \text{生後4日の生子数又は淘汰直後の生子数}) \times 100$$

- f 処置された母動物については、適当な時期に剖検し、器官・組織の肉眼的観察を行う。なお、必要に応じて検体の投与を続けて多世代に関する検索を行う。

(3) 変異原性試験

原則として新動物用医薬品について、遺伝子突然変異誘発性を指標とする「(ア) 細菌を用いる復帰変異試験」及び染色体異常誘発性を指標とする「(イ) 哺乳類の培養細胞を用いる染色体異常試験」を実施すること。ただし、(ア) 又は (イ) の試験の結果、変異原性が疑われる場合には「(ウ) マウスを用いる小核試験」を実施すること。

なお、以上の試験及び他の毒性試験の結果並びに薬理作用に関する試験の結果から必要と認められる場合には、その他の変異原性試験を追加して行うことが望ましい。

試験方法

(ア) 細菌を用いる復帰変異試験

① 菌株

ネズミチフス菌 (*S. typhimurium*) の TA1535、TA1537、TA98、TA100 など及び大腸菌 (*E. coli*) の WP2uvrA などの数菌株とする。

② 用量段階

5～6段階の試験用量を設定するとともに、別に対照を置く。

最高用量は原則として 5 mg/プレート を限度とし、抗菌性を示す薬物では抗菌性を示す用量とする。

③ 対照

陰性及び陽性対照を置く。

陰性対照は、原則として溶媒対照とする。陽性対照としては、既知変異原物質 (S9 mix を必要としない物質と必要とする物質) を用いる。

④ 代謝活性化

S9 mix を加えた試験と加えない試験とを平行して行う。哺乳類 (通常ラット) に適切な薬物代謝酵素系の誘導剤を投与した後、肝臓から S9 を調製する。この S9 に補酵素などを加えた S9 mix を用いる。

⑤ 試験方法

プレインキュベーション法又はプレート法のいずれかとする。

抗生物質など特に強い抗菌性を示す薬物については、試験に用いる菌とインキュベートした後洗浄し、さらに、菌を再び懸濁して突然変異誘発数と生存菌数とから突然変異誘発頻度を求めることが望ましい。

⑥ 結果

復帰変異コロニー数の実測値とその平均を表示 (図を含む。) する。

(イ) 哺乳類の培養細胞を用いる染色体異常試験

① 細胞

哺乳類の初代又は継代培養細胞を用いる。

チャイニーズ・ハムスター線維芽細胞 (CHL、CHO) など、できるだ

け感受性の高いものを使用することが望ましい。

② 用量段階

3段階以上の試験用量を設定する。

最高用量は細胞増殖（又は分裂）が 50 %抑制される濃度を指標とし、その前後の用量を用いる。

細胞毒性が認められない場合は、0.01mol/L 相当又は 5 mg/mL の濃度を限度とする。

③ 対照

陰性及び陽性対照を置く。

陰性対照は、原則として溶媒対照とする。陽性対照としては、既知染色体異常誘発物質を用いる。

④ 代謝活性化

適切な代謝活性化法を併用することが望ましい。

哺乳類（通常ラット）に適切な薬物代謝酵素系の誘導剤を投与した後、肝臓から S9 を調製する。この S9 に補酵素などを加えた S9 mix を用いる。

⑤ 検索方法

検体処理後、適切な時期に染色体標本を作製する。

原則として、用量当たり 2 系列の培養を用いる。

1 系列当たり 100 個の分裂中期像について、染色体の形態異常及び倍数性細胞について検索する。

形態異常では染色分体又は染色体に見られる構造異常の種類を明記する。

⑥ 結果

染色体異常を持つ細胞の出現頻度又は細胞当たりの染色体異常頻度を表示（図を含む。）する。

(ウ) マウスを用いる小核試験

げっ歯類の骨髄細胞を用いる染色体異常試験で代行してもよい。

① 動物

原則として純系又は均一の雄を用いる。

② 動物数

1 群 5 匹以上とする。

③ 投与経路

腹腔内投与又は経口投与とする。

経口投与は、原則として強制投与とする。

④ 用量段階

3段階以上の試験群を設定する。

最高用量は、体重増加の抑制など何らかの毒性徴候が現れる用量とする。毒性徴候が現れない場合には、2,000mg/kg を最高用量とする。

⑤ 対照群

陰性及び陽性対照を置く。

陰性対照は、原則として溶媒対照とする。陽性対照としては、既知小核誘発物質を用いる。

⑥ 投与回数

単回及び4～5回の連続投与を行う。ただし、連続投与する場合には適切な単一用量を設定する。

⑦ 検索方法

a 検体投与後、適切な時期に各群の全例をと殺し、骨髓塗抹標本を作製する。

標本の作製は検体投与後、18～30時間目に行うことが望ましい。

b 原則として個体当たり1,000個の多染性赤血球について、小核の有無を検索する。同時に全赤血球に対する多染性赤血球の出現頻度を求める。多染性赤血球の代わりに網〔状〕赤血球の頻度を求めてもよい。

⑧ 結果

小核を有する多染性赤血球の出現頻度及び全赤血球に対する多染性赤血球の出現頻度を表示する。

陽性結果が得られた場合には、用量依存性について図示する。

(4) がん原性試験

原則として次のいずれかによりがん原性が疑われる場合には、がん原性試験を実施すること。

(イ) 化学構造又は薬理作用

(ロ) 毒性試験の結果

(ハ) その他

ア 試験動物

① 種及び系統の選択に当たっては、感染性疾患に対する抵抗性、寿命、自然発生腫瘍の発生頻度、既知がん原性物質に対する感受性を考慮する。

② 同一検体についてがん原性予備試験及びがん原性試験を実施する場合には、同一の種及び系統の動物を使用する。

イ 試験方法

① 動物

2種以上の雌雄の動物とする。なお、同一週齢で、順調に発育した6週齢までの動物を用いることが望ましい。

現在のところ、一般には、ラット、マウス又はハムスターが用いられる。離乳後できるだけ早い時期に開始することが望ましい。

② 動物数

雌雄各々について、1群50匹以上とする。各群への動物の割付けには、体重層別等による適切な無作為抽出法を用いる。

③ 投与経路

原則として臨床適用経路とする。

経口投与の場合には、強制投与又は飼料若しくは飲料水に混入して自由に摂取させる方法がある。

検体を飼料に混入して投与する場合には、飼料中の検体濃度は最高5%までとする。

④ 用量段階

雌雄各々について、3段階以上の試験群を設定するとともに、別に対照群を置く。

最高用量は予備試験の亜急性毒性試験で定めた量とし、最低用量として当該使用動物種で薬理効果が現れる量又は推定臨床常用量を勘案して設定する。中間用量は、最高用量と最低用量との等比中項をとることが望ましい。

一般には、最低用量は、最高用量の10%以上であることが望ましい。ただし最低用量と推定臨床常用量とが著しく掛け離れている場合には、最高用量の10%未満の用量を別途設けてもよい。

検体を飼料又は飲料水に混入して投与する場合には、投与期間中、個別又は群ごとに摂餌量又は飲水量を投与開始後3か月間は週1回以上、その後は3か月に1回以上測定し、検体摂取量を算出する。なお、試験開始前及び試験中に適宜検体の純度、安定性及び夾雑物を可能な限り定性的又は定量的に分析する。

⑤ 対照群

陰性対照を置く。

陰性対照は、検体投与に当たり各種溶媒、乳化剤等を必要とする場合には、そのみを与える群とする。また、その他に無処置対照群を置くことが望ましい。

⑥ 投与期間

ラットでは24か月以上30か月以内、マウス及びハムスターでは18か月以上24か月以内とし、投与は原則として週7日とする。

強制投与の場合、実務的な見地から週5日以上投与でも容認される。

⑦ 試験期間

投与終了時又は投与終了後1～3か月までとする。ただし、試験の最長期間は、ラットでは30か月、マウス及びハムスターでは24か月とし、最低用量群又は対照群の累積死亡率が75%になった場合には、その時点で生存例をと殺し、試験を終了する。

腫瘍以外の原因による死亡率が、投与開始後ラットでは24か月、マウス及びハムスターでは18か月の時点で50%以上であることを要する。

いずれの群においても、動物の10%以上が自己融解、共食い又は飼育上の問題で失われないこと。

したがって、試験期間中に衰弱動物や死期の迫った動物が見いだされた場合には、隔離又はと殺解剖等の配慮が必要である。

⑧ 検索方法

a 各群の全例について、一般状態を毎日観察し、体重を投与開始後3か月間は週1回以上、その後は4週に1回以上測定する。

b 試験期間中の死亡例については、速やかに剖検し、器官・組織の肉眼的

観察及び病理組織学的検索を行う。

病理組織学的検査は、次の器官・組織について行う。

皮膚、乳腺、リンパ節、唾液腺、胸骨、椎骨又は大腿骨（骨髄を含む。）、胸腺、気管・肺及び気管支、心臓、甲状腺及び上皮小体、舌、食道、胃及び十二指腸、小腸、大腸、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精囊、前立腺、精巣、卵巣、子宮、膣、眼球、脳、下垂体、脊髄、その他肉眼で腫瘍性病変が認められた器官・組織。

腫瘍性病変の記載に際しては、腫瘍発生に至る各種変化（前がん病変）の所見も付け加える必要がある。

- c 試験期間中に死期の迫った例については、速やかに隔離又はと殺剖検し、bのとおり器官・組織の肉眼的観察及び病理組織学的検索を行う。

なお、と殺時、必要に応じて血液を採取し、末梢血の赤血球数及び白血球数を測定するとともに、塗抹標本を作成し、貧血、リンパ節・肝臓・脾臓の腫大等血液疾患を予想させる例については塗抹標本を検索する。

- d 試験終了時の生存例については、速やかに剖検し、各群の全例について、bのとおり器官・組織の肉眼的観察を行う。

病理組織学的検索は、原則として試験群及び対照群について行う。

なお、と殺時、必要に応じて血液を採取し、末梢血の赤血球数及び白血球数を測定するとともに、塗抹標本を作成し、貧血、リンパ節・肝臓・脾臓の腫大等血液疾患を予想させる例については塗抹標本を検索する。

9-1 ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を評価する試験

(1) 試験への一般的アプローチ (VICH GL33)

ア 緒言

(ア) 目的

このガイドラインは、動物用医薬品を投与した動物に由来する食品を摂取したヒトにおける食品の安全性を確保するに当たっての試験へのアプローチを概説する。これらの試験は、試験に用いる動物の数を少なくし、かつ、資源を保護しながらヒト食品の安全性を確保するに十分な量の毒性学的データを提供するはずである。可能な限り、柔軟性、最少の動物数並びに *in vivo* 及び *in vitro* 代替試験が推奨される。

(イ) 背景

残留動物用医薬品を含む食品の摂取に伴う危険性は、一般には動物用医薬品を投与した実験動物で評価される。試験要因の国際的調和は、価値の高い動物用医薬品の開発と登録を最大限の効率で達成されることを確実なものにすることを目指している。承認手続の効率化は、資源の消費、発見から新製品承認までの期間及び革新的薬剤の市場への導入に影響する。

動物用医薬品についての現行の毒性試験要件は、ヒト医薬品、食品添加物及び農薬の毒性学的試験に基づいている。このガイドラインは、動物用医薬品に有害作用が観察されないレベル (no-observable adverse effect level ; NOAEL、無毒性量) の識別に、特に関連する試験を示すものである。

ヒトの食品の安全性を評価する目的で行う試験の適切さは、ヒトにおける有害作用を予見する能力によって決まる。簡潔で適切な試験の選択が主要な懸念であり、広範囲な歴史的データの考察と広く受け入れられているプロトコルを再調査した後で、最少数の試験を基に要件は選定された。潜在的有害作用を識別する機会を増加させるため、この試験のアプローチにはげっ歯類と非げっ歯類モデルの両方が含まれている。ヒト腸内細菌叢に及ぼす影響試験のような追加試験は、化合物に特異的なエンドポイントを評価するのに使えるかもしれない。試験のアプローチは、有害作用をもたらす用量及び NOAEL として識別される用量を明らかにすることを意図している。NOAEL は、ヒトが生涯にわたって安全に摂取できる 1 日用量を表しているヒトの 1 日許容摂取量 (acceptable daily intake ; ADI) の設定に用いられる。

(ウ) 適用範囲

このガイドラインの範囲は、1) ヒト食品中に存在する残留薬物の安全性を評価するに当たり、食用動物に使用されるすべての新動物用医薬品に要求される基本的試験、2) その薬物の化学構造、系統、作用機序に関連する特定の毒性学的懸念に基づいて要求されるであろう追加試験、及び 3) 基本的試験又は追加試験で得られたデータの解釈を助けるであろう特殊試験を含んでいる。

基本的及び選択した追加試験についてのプロトコルの設計に関する指針

は、別の VICH ガイドラインに規定される。特殊試験とその他の試験の選択及びプロトコール設計は、それぞれの規制当局及び／又はスポンサーの自由裁量とされることになろう。

イ ガイドライン

試験には、全身毒性、生殖毒性、発生毒性、遺伝毒性、がん原性、及びヒト腸内細菌叢に及ぼす影響が含まれる。一般に、経口投与が *in vivo* 試験での選択すべき経路である。このガイドラインは、どうしてこのようなデータを提出する必要がないかという科学的な理由を含めて、安全性を同等に保証するであろう代替アプローチの可能性を排除するものではない。

このガイドラインに記載されている試験は国内スタンダード及び／又は GLP 対応を受けるべきである。

(ア) 基本的試験

① 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験は、a) その化合物及び／又はその代謝物に対する反復及び／又は蓄積ばく露による毒性作用、b) ばく露の用量及び／又は期間と影響の出現率及び重度との関連性、c) 毒性及び生物応答を伴う用量、及び d) NOAEL を明らかにするために実施する。

② 生殖毒性試験

哺乳動物の生殖に及ぼすあらゆる影響を検出するために、多世代生殖試験が計画される。この試験には、雌雄の生殖能、交尾、受胎、着床、妊娠維持期間、分娩、哺乳、生存、出産から哺乳までの子の成長と発育、性的成熟及びその後の成熟動物としての子の生殖機能に及ぼす影響が含まれる。

③ 発生毒性試験

発生毒性試験の目的は、着床から妊娠全期間を通して帝王切開前日までばく露した後の妊娠雌及び胚と胎子の発生に及ぼすあらゆる有害作用を検出することにある。このような有害作用には、非妊娠雌に観察される毒性に対応する毒性の増加、胚-胎子死、胎子成長の変化及び胎子の構造的変化が含まれる。

④ 遺伝毒性試験

遺伝毒性試験の組合せは、細胞内の遺伝的情報損傷能を有する物質を識別するために用いられる。遺伝毒性があると考えられる物質は、潜在的がん原性物質とみなされる。初期胚細胞に遺伝的損傷をもたらす物質は、生殖／発生にも影響を及ぼす可能性がある。

(イ) 追加試験

これらの試験は、化合物の構造、系統、作用機序に基づく安全性の懸念に対応するために要求される。これらの試験の例を以下に示す。

① ヒト腸内細菌叢に及ぼす影響試験

抗菌活性のある化合物については、残留薬剤のヒト腸内細菌叢に及ぼす影響を明らかにするための情報が要求される。

② 薬理作用試験

一部の動物用医薬品は、毒性応答がなくとも、又は毒性を誘発するのに必要な容量よりも低い用量で薬理作用を引き起こす。薬理学的 NOAEL は識別され、薬剤の ADI 設定に取り入れられるべきである。

③ 免疫毒性試験

β -ラクタム抗生物質のような一部の系統の薬剤については、感受性個体においてアレルギー反応を誘発する可能性を調査すべきである。その他の動物用医薬品についても、他の試験の成績が免疫学的ハザードの可能性を示している場合には、免疫毒性試験が要求されることがある。

④ 神経毒性試験

反復投与毒性試験において神経毒性の可能性が認められることがあり、さらなる試験、例えば、OECD テストガイドライン 424 "Neurotoxicity Study in Rodents" に従った試験が行われるきっかけになる場合がある。

⑤ がん原性試験

潜在的がん原性物質と考えられる化合物については、経口投与によるがん原性試験が要求される。がん原性試験を要するとの判断は、遺伝毒性試験成績、構造活性相関 (SAR) の情報、並びに反復投与及び成績を含む、あらゆる入手可能なデータに基づく。がん原性試験は、がん原性バイオアッセイを用いて実施することが勧められる。しかしながら、がん原性と慢性毒性を組み合わせた情報も受け入れられよう。

(ウ) 特殊試験

特殊試験とは、その薬物の作用機序を理解するために実施され、基本的及び/又は追加試験で得られたデータの関連性の説明、又は評価を助けるために行われる試験を指している。

(2) 反復投与 (90 日) 毒性試験 (VICH GL31)

ア 緒言

(ア) 目的

ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を確立するに当たって、様々な毒学的評価が実施される。このガイドラインの目的は、国際的に調和した 90 日反復投与試験についての勧告を確立することにある。

(イ) 背景と適用範囲

このガイドラインは、ヒト食品中残留動物用医薬品の一日許容摂取量 (acceptable daily intake ; ADI) の決定に必要な安全性データの相互受け入れを促進するために作成した一連のガイドラインの一つである。このガイドラインは、EU、日本、米国、オーストラリア、ニュージーランド及びカナダにおけるヒト食品中動物用医薬品を評価するための現行の方法を考慮して作成された。

このガイドラインは動物用医薬品の 90 日毒性試験についての枠組みを勧告するが、試験の設計には柔軟性をもたせることが重要である。このガイドラインの内容については、化合物を 90 日間投与した後に毒性の用量反応性

と NOAEL (no-observable adverse effect level、無毒性量) を適切に確立できるように、試験を組み立てるべきである。

(ウ) 一般原則

親化合物及び／又は代謝物に対する反復ばく露の影響について評価するには、十分な毒性試験が不可欠である。毒性を示さない用量も確かめるべきである。他のタイプの毒性試験と同様に、その化合物に関する入手可能な情報を、試験設計において利用すべきである。反復毒性試験は、感受性の／適切な動物種で実施すべきである。動物種を選択には、必ずヒトの代謝、薬物動態及び薬力学を考慮に入れるべきであるが、一般に受け入れられている標準的な動物種はラットと犬である。ばく露は、試験動物の成長相を包含させるために、生涯の早い時期に開始すべきである。一般に、毒性を引き起こす十分な用量を最高用量とすべきである。この試験から得たデータは、動物用医薬品についての NOAEL 設定に用いられることがある。

イ ガイドライン

(ア) 反復投与 (90 日) 毒性試験

① 目的

反復投与 (90 日) 毒性試験は、a) 標的器官及び毒性学的エンドポイントを識別するため、b) 反復投与 (慢性) 毒性試験に使用する用量レベルの設定を助ける情報を提供するため、及び場合によっては c) 続いて行う反復投与 (慢性) 毒性試験に最も適切な動物種を識別するために、げっ歯類 1 種と非げっ歯類 1 種で実施すべきである。それぞれの反復投与 (90 日) 毒性試験の成績から、NOAEL を識別すべきである。

② 90 日毒性試験の実験設計

反復投与 (90 日) 毒性試験は、OECD テストガイドライン 408 "Repeated Dose 90-Days Oral Toxicity Study in Rodents" 及び 409 "Repeated Dose 90-Days Oral Toxicity Study in Non-rodents" に従って実施すべきである。

a 病理的検査

剖検と病理組織学的検査は、OECD テストガイドライン 408 及び 409 に従って実施すべきであるが、非げっ歯類については、すべての群のすべての動物の標準的な組織セットと肉眼病巣について病理組織学的評価を行う。

(3) 反復投与 (慢性) 毒性試験 (VICH GL37)

ア 緒言

(ア) 目的

ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を確立するに当たって、様々な毒性学的評価が実施される。このガイドラインの目的は、国際的に調和した反復投与慢性毒性試験についての勧告を設定することにある。

(イ) 背景と適用範囲

このガイドラインは、ヒト食品中残留動物用医薬品の一日許容摂取量 (ADI) の決定に必要な安全性データの相互受け入れを促進するために作成した一連

のガイドラインの一つである。このガイドラインは、EU、日本、米国、オーストラリア、ニュージーランド及びカナダにおけるヒト食品中残留動物用医薬品を評価する現行の方法を考慮して作成された。また、亜慢性及び慢性毒性試験から得られるデータも考慮した。

このガイドラインは、動物用医薬品の慢性毒性試験の枠組みを勧告するが、この試験の設計には融通性が残されている点が重要である。このガイドラインは、なぜ慢性毒性試験を提出する必要があるかについての科学的根拠を含めて、同等に安全性を保証するであろう代替法の可能性を排除するものではない。このガイドラインにおいては、慢性投与によって見られる毒性について有害な影響が観察されないレベル（NOAEL；no-observed adverse effect level；無毒性量）の用量反応関係を十分に確立するように試験を組み立てるべきである。

（ウ）一般原則

適切な毒性試験は、親化合物及び／又は代謝物に対する長期ばく露の影響を評価するため、慢性ばく露による化合物の毒性作用を明らかにするため、及び毒性をもたらさない最高用量を確認するために、反復投与する必要がある。慢性毒性試験の設計には、その化合物に関する入手可能な情報を利用すべきである。この試験で得られるデータは、動物用医薬品の NOAEL を設定するために使用されることがある。

イ ガイドライン

（ア）反復投与（慢性）毒性試験

① 目的

慢性毒性試験は、a) 化合物及び／又はその代謝物に対する長期ばく露による毒性作用を明らかにするため、b) ばく露の用量及び／又は期間に関連する標的器官及び毒性学的エンドポイントを識別するため、c) 毒性的及び生物学的反応を伴う用量を明らかにするため、及びd) NOAEL を設立するために実施される。

② 試験動物種の選択

動物種の選択には、必ずヒトにおける代謝、薬物動態及び薬力学を考慮すべきである。一般に受け入れられる標準的なげっ歯類はラット、標準的な非げっ歯類は犬である。

各種化合物に関する入手可能なデータのレビューは、慢性毒性試験に必要な動物種の数の選択に関して結論を出せなかった。さらにデータを分析すれば、この問題を明確にできるかもしれない。日本では、2種による慢性毒性試験が要求される。しかし、適切な科学的妥当性の説明があれば、慢性毒性試験は1種だけで実施できるかもしれない。EU 及び米国では、少なくとも1種の試験動物を用いるべきである。慢性試験は、90日試験を含め、入手可能なすべての科学的データに基づいて選択した、最も適切な動物種で実施する必要がある。受け入れられる標準的な動物種はラットである。

③ 実験設計

慢性毒性試験は OECD テストガイドライン 452“Chronic Toxicity Studies”¹⁾ に従って実施すべきである。

④ 病理学的検査

肉眼的剖検及び病理組織学的検査を、以下の改訂を加えて、OECD テストガイドライン 408 (“Repeated Dose 90-day Oral Toxicity Study in Rodents”²⁾) 及び 409 (“Repeated Dose 90-day Oral Toxicity Study in Non-rodents”³⁾) に従って実施すべきである。

- 以下の組織も検査する必要がある骨（胸骨、大腿骨及び関節）、陰核腺及び包皮腺（げっ歯類のみ）、ハーダー腺、涙腺、喉頭、鼻腔、視神経、咽頭、及びジンバル腺（げっ歯類のみ）
- 非げっ歯類については、病理組織学的検査はすべての動物の上述のすべての組織と肉眼病巣について実施する。

ウ 引用文献

1. OECD. 1981. Test Guideline 452. Chronic Toxicity Studies. In :OECD Guidelines for the testing of chemicals Organization for Economic Cooperation & Development, Paris.
2. OECD.1998. Test Guideline 408. Repeated Dose 90-day Oral Toxicity Study in Rodents. In : OECD Guidelines for the testing of chemicals. Organization for Economic Cooperation & Development, Paris.

(4) 生殖毒性試験 (VICH GL22)

ア 緒言

(ア) 目的

ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を確立するに当たり、生殖に対するあらゆるリスク評価を含めての多数の毒性学的評価が要求される。このガイドラインの目的は、食品中残留動物用医薬品の存在によって起こるかもしれない長期、低用量ばく露に起因する生殖に対するリスクを評価するのに適切な生殖試験の国際的ハーモナイゼーションを確立することにある。

(イ) 背景

ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性の確立に使われている EU、日本及び米国の生殖及び発生毒性試験には、かなりの重複がある。それぞれの地域ごとに、細部に幾つかの相違があるが、いずれも少なくともげっ歯類1種を用いる多世代試験を要求し、最初の親 (P₀) から始めて少なくともその後2代 (F₁ 及び F₂) にわたって継続投与される。3地域いずれにおいても、発生毒性（催奇形性）試験も要求している。発生毒性試験は、別のガイドラインの課題であり、多世代試験の一部として発生毒性相を含めることを推奨しないという注記を除いて、ここではこれ以上述べない。

動物用医薬品の生殖及び発生毒性試験に対するこのアプローチは、幾つかの点で International Conference on Harmonisation of technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) が採用したそれとは異

なる。ICH ガイドラインは、投与期間を短くして、親の受精から初期胚の発生、出生前後の発生並びに胚―胎児発生から成る三つの試験の組合せを推奨している。このようなアプローチは大多数のヒト用医薬品には適当と考えられるが、ヒト食品中残留動物用医薬品に対するばく露は、生涯にわたるばく露を含んでの長期間に及ぶことがある。長期間、低用量ばく露には、投与を1世代を超えて延長する多世代試験がより適切と考えられる。このガイドラインは、ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性評価のための多世代試験の中軸要件についてハーモナイズされた指針を提供する。

このガイドラインは、関連規制当局によってヒト食品中残留動物用医薬品の一日許容摂取量（ADI）の決定に必要とされる安全性データの相互受け入れを促進するために作成される一連のガイドラインの一つである。このガイドラインは、「9-1 ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を評価する試験」の「(1) 試験への一般的アプローチ」（VICH GL33）と一緒に読むべきである。このガイドラインは、ヒトに使用する医薬品のための既存の ICH ガイドライン“Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products”とその追加である“Toxicity to Male Fertility”、並びに EU、日本、米国、オーストラリア、ニュージーランド及びカナダにおけるヒト食品中残留動物用医薬品を評価する現行の方法を考慮して作成した。

(ウ) 適用範囲

この文書は、ヒト食品中に残留する動物用医薬品についての多世代試験の中軸要件に関する指針を提供する。しかしながら、生殖機能に関してヒト食品中残留物の安全性を確立するために実施されるであろう試験を制限することを意図するものではない。また、なぜこのようなデータを提出する必要があるかとの科学的理由を含めて、安全性を同等に保証するであろう代替法の可能性を排除するものではない。このガイドラインは、対象動物種における生殖に関しての動物用医薬品の安全性を確立するために要求されるかもしれない情報を含めることは意図していない。

(エ) 一般原則

多世代生殖毒性試験の目的は、哺乳動物の生殖に対する親化合物又はその代謝物のあらゆる影響を検出することにある。これらには、雌雄の性機能、交尾、妊娠、着床、妊娠を最後まで維持する能力、分娩、泌乳、生存、産子の出生から離乳までの成長と発達、性成熟及び産子の親としての生殖機能が含まれる。奇形の産子が出生子に母動物によって殺されることがあるので、多世代試験は特に発生異常を検出するように設計されていないが、このような試験は、出生子の同腹子数、出生子体重又は出生後最初の数日の生存が減少すれば、発生毒性の指標を提供することがある。

1 世代を超える試験は、親の生殖に対する影響だけでなく、子宮内又は出生直後のばく露によるその後の世代に対する影響の検出も可能にする。成熟後の生殖能力に影響する発生の重要な局面は、出生前及び出生直後に生じる。この重要な時期に投与された性ホルモン及びその類似体が雌雄の生殖器の発

達及び機能に及ぼす有害な影響はよく知られている。最近では、内分泌崩壊能を有する他の化学物質の試験で、発生初期のばく露が成熟後の生殖機能に重大な役割を担っていることが明らかにされている。このため、最初の親の世代に比較して、それに続く後の世代の生殖能力に対する影響の方がずっと大きくなり得る。1世代を超える試験は、試験物質の生物蓄積による生殖に対する影響も検出できることがある。発生途中の生殖器に対する生物蓄積の干渉は、連続する世代における有害影響の程度又は重度の増加として現れることがある。

この試験の設計は、生殖に対するあらゆる影響が検出され、その用量と有害影響を起こさない用量を明確に識別できるようにすべきである。観察によっては、応答の性質又は用量-反応関係の性質を十分特徴付けるために、さらなる試験を必要とすることがある。

イ ガイドライン

(ア) 動物種の数

1動物種による多世代試験で通常十分である。現実には、すべての系統の化合物について多世代試験は大多数がラットで実施されており、ラットは疑いなく将来のほとんどの試験に選択され続ける動物種となるであろう。多産な系統を用いれば、ラットは一般にマウスよりも一定した生殖能力を示す。また、ラットにははるかに大量の歴史的データベースがある。必要ならば、その化合物の全体的な試験バッテリーの中で、ラットによる動態、代謝及び毒性試験の成績を参照することができる。しかし、最初は別の目的に用いられていて、後になって動物用医薬品に提案された化合物の試験は、歴史的な理由で時にマウスで実施されている。あるいはマウスで試験を実施する科学的理由（例えば、代謝がヒトのそれと類似していることが既知）があるかもしれない。生殖能力が満足できれば、マウスを受け入れ可能な動物種にすべきではないという一般的理由はない。

一般的には、1種のげっ歯類、望ましくはラットで試験を実施することが勧告される。

(イ) 世代数

1世代だけの試験がヒト用医薬品についての通常の試験要件であるが、この場合には、主な懸念が短期投与期間中のばく露である。しかし、食品添加物並びに農薬や動物用医薬品の残留のような食品汚染物についての通常の要件は、古くから2又は3世代の多世代試験であった。最初の産子の世代が離乳するときに投与を終了する1世代試験では、性成熟まで出生前に試験物質にばく露された動物の生殖能力に及ぼす影響まで評価できない。したがって、1世代を超える試験が必要と考えられる。

1世代を超える試験は、第1代に見られたあらゆる影響の確認、又は試験のいずれかの時期に見られたあいまいな影響の明確化をも可能にする。また、生物蓄積による影響の指標となることがある。

明確、かつ説明可能な成績を得るのに必要な最少の世代数は、大多数の例

で2世代と考えられる。初期の多世代試験プロトコールは、一部の系統の化学物質について3世代を要求したことがあるが、現在は3世代で明瞭になる影響は2世代でも十分検出できると考えられている。

したがって、2世代の試験の実施が勧告される。

(ウ) 世代当たりの腹数

全く影響がないこと、又は明確な無毒性レベルが存在する有害影響のあることを試験成績が明確に示すならば、世代当たり1腹の試験で十分であろう。しかし、場合によっては、2腹目を作るように試験を拡大することが適当であろうし、必要に応じて、このような判断ができるように、試験成績はよく監視されることが推奨される。2腹目の価値は、処置の結果、又は偶然、あるいは処置とは無関係な生殖能力の悪さによるかもしれない、1腹目についての何らかの明らかに用量に相関した、又はあいまいな影響の意義を明瞭にする助けになるかもしれないことにある。対照における生殖能力の悪さは、親(P₀)世代の体重のばらつきが大きすぎないようにすることにより栄養問題及びその他の障害を避けることによって、また、若すぎたり高齢すぎる動物を交尾させないことによって最小限にできる。

したがって、一般に世代当たり1腹の試験を実施することが勧告される。上述の事情がある場合には、2腹目を作って試験を拡大する必要があるかもしれない。

(エ) 推奨される試験プロトコール

OECD テストガイドライン 416“Two-Generation Reproduction Toxicity Study”が、ヒト食品中のすべての残留動物用医薬品の安全性を確立するに当たっての多世代試験の適切な参照とされる試験法である。この OECD テストガイドラインは、ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を評価するための動物用医薬品の試験に関連のある、試験動物の選定、用量の選定、処置開始のタイミング、交尾のタイミング、観察と成績の報告についての考察をすべて含んでいる。このテストガイドラインは現在更新されつつある。1983年のテストガイドライン 416に従って実施される多世代試験に含まれる通常の観察項目に加えて、Revised Draft Guideline 416 (1999 et seq.)は、成熟動物の精子のパラメーター、産子の性成熟及び産子の機能的調査の評価も含んでいる。これらの追加パラメーターの導入は、動物用医薬品を現在の基準で試験するのに適切と考えられる。

(5) 発生毒性試験 (VICH GL32)

ア 緒言

(ア) 目的

ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を確立するに当たり、出生前の発生に対する影響の識別を含む多数の毒性学的評価が要求される。このガイドラインの目的は、国際的に調和されたガイドラインに従って、発生毒性の評価が行われることを保証する点にある。このガイドラインは、妊娠動物及び出生前ばく露を受けた発生中の組織体に及ぼす作用に関する情報提供をするた

めに設計された試験法について述べている。

(イ) 背景

発生毒性の可能性の評価は、ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性の評価で考慮すべき重要領域の一つとして認識されている。

動物用医薬品の生殖及び発生毒性試験の方法は International Conference on Harmonisation of technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) が採択したそれとは異なる。ICH ガイドラインは、交尾前から受胎、受胎から着床、着床から硬口蓋の閉鎖、硬口蓋の閉鎖から妊娠の終わり、出生から離乳、離乳から性的成熟までを含む多くの段階にわたる三つの試験の組合せを推奨している。このような方法はほとんどのヒト医薬品には適当と考えられるが、ヒト食品中残留動物用医薬品へのばく露は長期、おそらく生涯にわたることがある。このため、このガイドラインは、「9-1の(4)生殖毒性試験」(VICH GL22)とならんで、ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を評価するのにふさわしいと考えられる。このガイドラインは、着床から妊娠期間を通して帝王切開の前日までの、ばく露の可能性のある時期に焦点をあてている。このガイドラインは、ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性評価のための発生毒性試験の実施に関する調和指針を提供するものであり、中核要件でもある。

このガイドラインは、ヒト食品中残留動物用医薬品の一日許容摂取量 (acceptable daily intake ; ADI) を決定するのに必要な安全性データの相互受け入れを促進するために作成される一連のガイドラインの一つである。このガイドラインは、「9-1 ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を評価する試験」の「(1)試験への一般的アプローチ」(VICH GL33)と合わせて読むべきである。このガイドラインは、ヒト医薬品の既存の ICH ガイドライン “Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products” 並びに EU、日本、米国、オーストラリア、ニュージーランド及びカナダにおけるヒト食品中残留動物用医薬品の安全性評価の現行の方法を考慮して作成した。

(ウ) 適用範囲

この文書は、食用動物に使用する動物用医薬品についての発生毒性試験の指針を提供する。しかしながら、発生毒性に関するヒト食品中残留物の安全性を確立するために実施されるであろう試験法を制限するものではない。このガイドラインは、なぜ発生毒性データを提出する必要がないと考えられるかという科学的理由を含めて、安全性を同等に保証するであろう代替法の可能性を排除するものではない。

(エ) 一般原則

発生毒性試験の目的は、雌動物が着床から妊娠全期間を通して帝王切開の前日までばく露されたことによって、妊娠雌動物並びに胚及び胎子の発生に及ぼす有害な影響を検出することにある。このような有害作用には、非妊娠動物に観察されるそれと比較して毒性が増加すること、胚-胎子死亡、胎子成長の変化及び胎子における構造的変化が含まれる。このガイドラインの目

的として、催奇形性とは、生存が可能か否かにかかわらず、動物に有害と考えられる胎子における構造的変化を起こす能力と定義する。

試験設計は、発生に及ぼすいかなる有害作用も検出され、その用量及び有害作用を起こさない用量が明瞭に識別できるように行うべきである。試験成績によって、応答又は用量－反応関係の性状を完全に特徴付けるために、さらなる試験が必要になることもある。

伝統的に、発生毒性試験には2種の動物、1種のげっ歯類と1種の非げっ歯類が使用されている。2種の動物は、今でもヒト医薬品についての発生毒性試験としてICHガイドラインの下で勧告されている。

しかしながら、動物用医薬品の広範囲なデータベースを見直した結果、層別アプローチにおいて、動物用医薬品の発生毒性を評価するに十分なデータが得られ、試験に用いる動物数を減らせることが認められた。食用動物に用いられる動物用医薬品の発生毒性試験についての層別戦略は、EU 動物用医薬品委員会の要約報告及び食品中残留動物用医薬品に関する FAO/WHO 添加物委員会報告書を基に作成された。これらのデータは以下のことを示した： a) 試験動物種間のかんりの一致： b) 常に感受性が高いという1種類の動物種はなかった： c) ウサギがラットよりも感受性が高かった場合、感受性の違いは種間のばらつきの考慮に使われる安全係数 10 倍以内であった。

この試験法を以下に記載する。

イ ガイドライン

(ア) 動物種の数

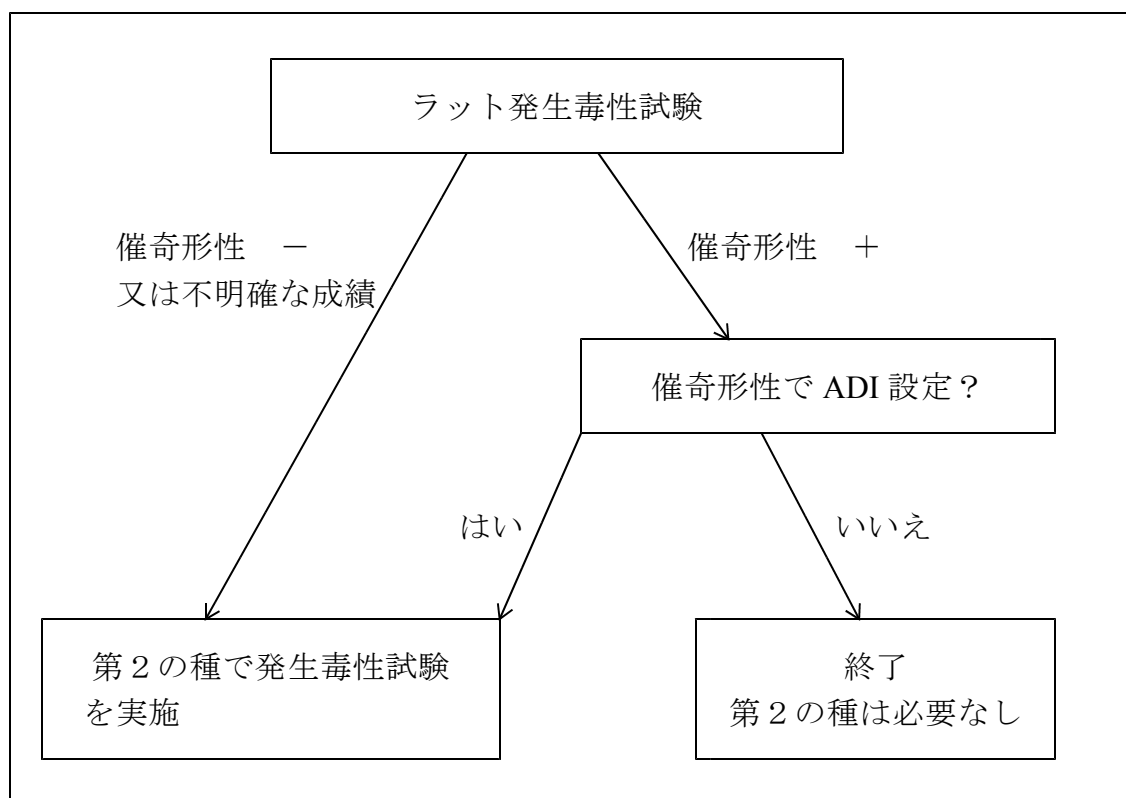
層別アプローチ（図1参照）はラットの発生毒性試験から開始する。母動物に対する毒性にかかわらず、催奇形性の明瞭な証拠が観察されれば、次に述べる事情を除いて、第2種で試験をする必要はないであろう。ラットに観察される催奇形性が陰性又は不明確であれば、第2の動物種、望ましくはウサギで発生毒性試験を実施すべきである。ラットで催奇形性が認められない場合には、例えラットにおいて他の発生毒性の徴候（例えば胎子毒性又は胚死亡）が認められても、第2種における発生毒性試験が必要であろう。

中核試験のすべてを検討した結果、ADIがラットに生じた催奇形性試験に基づくことが明白な場合には、第2の動物種が発生毒性に高い感受性を示すかどうかを調べるため、他の動物種を用いて発生毒性試験を実施すべきである。したがって、ラットによる試験から開始する層別アプローチが勧告される。最初の試験の結果が、第2の動物種による発生毒性試験が必要かどうかを示すことになる。

(イ) 勧告される試験プロトコール

OECDテストガイドライン 414“Prenatal Developmental Toxicity Study”は、食用動物に使用する動物用医薬品のヒト食品安全性を確立するための発生毒性試験として適切な参照法である。この試験ガイドラインは、試験動物数、投与期間、用量の選択、母動物の観察、胎子の検査及び成績の報告についての考察を含んでいる。

図 1



(6) 遺伝毒性試験 (VICH GL23)

ア 緒言

(ア) 目的

ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を確立するに当たり、遺伝毒性作用による潜在的危険性の検討を含めて、多くの毒性学的評価が要求される。多くのがん原性物質には遺伝毒性的な作用機序があり、これはそうではないという信頼できる証拠がない限り、遺伝毒性物質は潜在のがん原性物質とみなすのが賢明である。加えて、繁殖及び／又は発生毒性を起こさせる物質は、遺伝毒性学的メカニズムを含む作用機序を有していることがある。遺伝毒性試験の成績は、一日許容摂取量 (ADI) の数値に影響しないのが普通であるが、ADI を設定できるかどうかの判断に影響することがある。

このガイドラインの目的は、遺伝毒性試験法の国際的ハーモナイゼーションを確実にすることである。

(イ) 背景

ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を確立するための EU、日本及び米国の遺伝毒性試験の要件には相違がある。

このガイドラインは、ヒト食品中残留動物用医薬品の ADI 設定に必要な安全性データを、関連する規制当局が相互に受け入れることを促進するために作成される一連の VICH ガイドラインの一つである。これは「9-1 ヒト食品中残留動物用医薬品を評価する試験」の「(1) 試験への一般的アプローチ」(VICH GL33) とあわせて読むべきである。このガイドラインは、

ヒト用医薬品の既存のガイドライン：“Genotoxicity: A Standard Battery of Genotoxicity Testing of Pharmaceuticals”及び“Guidance on Specific Aspects of Regulatory Genotoxicity Tests for Pharmaceuticals”を検討した後に作成された。OECD Guidelines for Testing of Chemicals並びにEU、日本、米国、オーストラリア、ニュージーランド及びカナダにおける各国／地域のガイドライン及びヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を評価する現行の方法も考慮した。

(ウ) 適用範囲

このガイドラインは、動物用医薬品の遺伝毒性の評価に使用できる標準的な試験の組合せを勧告する。ほとんどの場合において、試験成績は試験物質に遺伝毒性があるか否かを明確に指摘する。しかし、試験の標準的な組合せは、特定の系統の動物用医薬品には適当でない。例えば、一部の抗菌薬は、細菌の遺伝子突然変異に使用する試験菌株に対して毒性を示すことがある。このガイドラインは、このような薬物の試験に必要な、試験の基本的組合せの修正を助言する。試験の標準的又は修正組合せの成績が不明確又はあいまいな場合があれば、成績の評価及び解釈について助言する。ある場合には追加試験を要求されることがあり、例えば異数性を示す及び／又は生殖細胞に影響を示す物質がそうである。

ほとんどの場合において、試験されるのは親化合物であるが、時には食品中に残留する一つ又はそれ以上の主要代謝物も試験する必要がある。代謝物を試験する必要がある例として、代謝物が親化合物の分子構造に存在しない構造的な警告を示す場合、及び食品中残留物が主として親化合物と基本的に異なる分子構造をもつ代謝物の場合がある。塩、エステル、包合体及び結合型の残留物は、逆のことが証明されない限り、通常、親化合物と同じ遺伝毒性があると仮定される。

イ 試験の標準的組合せ

三つの試験から成る以下の組合せを動物用医薬品の遺伝毒性のスクリーニングに使うことが勧告される。

- I. 細菌の遺伝子突然変異試験
- II. *in vitro* 哺乳動物細胞染色体異常試験
- III. *in vivo* げっ歯類造血細胞染色体異常試験

細菌の遺伝子突然変異試験として、*Salmonella typhimurium* と *Escherichia coli* の菌株を用いた遺伝子突然変異を調べる細菌復帰突然変異試験の非常に膨大なデータベースが構築されている。最もよくバリデートされている菌株は *Salmonella typhimurium* TA1535、TA1537 (又は TA97 又は TA97a)、TA98 及び TA100 である。これらの菌株は、一部の酸化的変異原性物質及び架橋形成物質を検出できないことがあり、これを修正するために、*Escherichia coli* WP2 (pKM101)、WP2*uvrA* (pKM101) 又は *Salmonella typhimurium* TA102 も細菌試験に使用すべきである。しかしながら、細菌の遺伝子突然変異試験は、遺伝子突然変異を誘発する固有の可能性を持つ化合物を検出する効果的な一次スクリーニングではあるが、潜在的変異原性を持つすべての化合物を検出するわけ

ではない。一部のクラストゲンはサルモネラ試験で突然変異を起こさない(例えば無機の砒素化合物)。

第二の試験は化合物が染色体異常を誘発する可能性を評価すべきものである。EU では、クラストゲニシティーと異数性誘発能の両方を検出する、分裂中期細胞の解析を用いる *in vitro* 細胞遺伝学的試験が好まれる。米国では、マウスリンフォーマ試験が好まれる。これは、改良により遺伝子突然変異と染色体異常の両方を検出できる。日本では、どちらの試験も受け入れられる。

第三の試験は、試験の標準的組合せがすべての潜在変異原性物質を検出するというをさらに確実にするために、試験の標準的組合せに追加されている。VICH は幾つかの系統の化合物の試験に、幾つかの当局が最初に *in vitro* 試験だけから成る突然変異試験の組合せを使用し、*in vitro* の組合せで陽性又はあいまいな成績が出たときにだけ *in vivo* 試験を必要とする方法を勧告していることを知っている。VICH はこのアプローチを考慮したが、ヒト用医薬品の遺伝毒性を試験するための ICH の要件と調和させるために、試験の基本組合せに *in vivo* 試験を含めることを選んだ。この試験は小核試験又は細胞遺伝学的試験のいずれかとする事ができる。

ウ 標準的組合せの部分的修正

ほとんどの物質は試験の標準的組合せで十分なはずであるが、試験法の選択又は個々の試験のプロトコールの修正が必要な場合がある。物質の物理化学的性質(例えば、揮発性、pH、溶解性、安定性など)が時に標準的な試験条件を不適當にする。試験を実施する前に考慮することが不可欠である。標準的な条件が偽陰性の結果をもたらすことが明らかな場合には、修正したプロトコールを用いるべきである。遺伝毒性試験のための OECD Guidelines for Testing of Chemicals には、試験物質の物理的特性による個々の試験法の感受性について助言があり、採用する余地のある補正手段についての助言もある。遺伝毒性試験の代替組合せを用いて試験する薬剤は、ケースバイケースに考慮される。試験の標準的組合せを用いない場合には、科学的妥当性を説明すべきである。

(ア) 抗菌剤

一部の抗菌剤は細菌に対して過剰な毒性を示すため、細菌試験で試験をすることが困難である。この場合には、細胞毒性を示す限度までの濃度で細菌試験を実施し、哺乳動物細胞を用いた遺伝子突然変異をみる *in vitro* 試験で細菌試験を補うことが適当であろう。

(イ) 代謝的活性化

代謝活性系の存在下と非存在下で *in vitro* 試験を実施すべきである。最も汎用されている代謝活性系は、酵素誘導剤 (Aroclor 1254 又はフェノバルビタールと β -ナフトフラボンの併用) を投与したラットの肝臓から採取した S9 である。代謝の代謝活性系を選択する場合には、科学的根拠を説明すべきである。

エ 試験の実施

(ア) 細菌試験

細菌の復帰変異原性試験は、OECD テストガイドライン 471 に設定されているプロトコールに従って実施すべきである。

(イ) *in vitro* 哺乳動物細胞染色体異常試験

染色体異常試験は、OECD テストガイドライン 473 に従って実施すべきである。これらの細胞遺伝学的試験はクラストゲニシティーを検出するはずであり、異数性も検出することがある。倍数性の誘発を検出するには、より長時間の連続処理（例えば、正常細胞周期の3倍）を行うことにより、感受性を高めることができる。細胞遺伝学的試験における高倍数性と倍数性の発生率及び／又は分裂指数の変化を記録することで、異数性誘発能の潜在性に関する限られた情報が得られる。異数性誘発能の指標（例えば、倍数性の誘発）があれば、FISH（fluorescence *in situ* hybridization）又は染色体ペインティングのような適当な染色法を用いて、これを確認すべきである。染色体の明らかな消失が人為的に起こることがあるので、高倍数性だけを異数性誘発の明確な指標とみなすべきである。

マウスリンフォーマ tk 法を実施する場合、小コロニーと大コロニーの両方の測定を含めるようにプロトコールを修正すべきである。プロトコールは OECD テストガイドライン 476 に設定されている基準に合わせるべきで、適切な陽性対照（クラストゲン）を使用すべきである。

(ウ) *in vitro* 哺乳動物細胞遺伝子突然変異試験

in vitro 哺乳動物細胞遺伝子突然変異試験を用いる場合には、OECD テストガイドライン 476 に従って実施すべきである。

(エ) *in vivo* 染色体異常試験

哺乳動物赤血球小核試験（OECD テストガイドライン 474）又は哺乳動物骨髄染色体異常試験（OECD テストガイドライン 475）を遺伝毒性試験の最初の組合せの一部として実施するのがよいであろう。哺乳動物赤血球小核試験は骨髄あるいは末梢血のいずれかの分析で実施できよう。末梢血を用いて実施する場合、試験動物種はラットではなく、マウスにすべきである。これはラットでは脾臓において循環血液中の小核赤血球が除去されるからである。

これらの試験は、物質が *in vivo* で遺伝毒性を現すかどうかという質問に定性的回答を与えるために設計されるもので、無影響量を確認するためではない。

オ 試験成績の解釈

化合物の潜在的遺伝毒性の評価は、知見を総合的に考慮し、*in vitro* 及び *in vivo* 試験の両方の固有値及び限界を認識した上で行うべきである。

試験の標準的な組合せに含まれる一連の遺伝毒性試験で、明らかな陰性結果が得られれば、通常、遺伝毒性がないことの十分な証拠とされる。

in vitro では明らかな遺伝陽性結果を示すが、骨髄を用いて実施する *in vivo* 遺伝毒性試験では明らかに陰性を示す物質は、骨髄以外の標的組織を用いる他の *in vivo* 遺伝毒性試験によって、遺伝毒性の有無を確認する必要がある。も

つとも適切な試験法をケースバイケースで選択する必要がある。

試験の標準的組合せでその他の陽性又はあいまいな成績が出た場合には、更なる試験の必要性をケースバイケースで判断すべきである。

カ 用語集

異数性誘発能 (Aneugenicity) : 異数性を起こさせる能力

異数性 (Aneuploidy) : 染色体の完全なセットの数の増加又は減少以外の、細胞又は生物の染色体の種類の数数的逸脱

クラストゲン (Clastogen) : 通常、光学顕微鏡検査で検出可能な染色体の構造的変化を起こさせる物質

クラストゲニシティー (Clastogenicity) : 染色体の構造的変化 (染色体異常) を起こさせる能力

細胞遺伝学 (Cytogenetics) : 染色体が凝縮されて染色すると光学顕微鏡で見える時期に、通常、分裂細胞で実施される細胞の染色体分析

遺伝子突然変異 (Gene mutation) : 単一遺伝子又はその制御連鎖内の検出可能な永久的変化。変化には点突然変異、挿入、欠失などがある。

遺伝毒性 (Genotoxicity) : 変化を誘発した機序にかかわらず、遺伝物質のすべての有害な変化をいう広義な用語

異数性 (Heteroploidy) : 細胞又は生物内の染色体の数の異常。これは倍数性、異数性、高数性などを含む一般的用語

高倍数性 (Hyperploidy) : 細胞又は生物の染色体の正常数を超える異常

小核 (Micronucleus) : 顕微鏡的に検出可能な核 DNA を含む細胞内小粒子 : 丸ごとの染色体あるいは染色体の中心部分又は中心街部分を含むことがある。小核の大きさは通常、主核の $1/5$ 未満で、 $1/20$ 以上と定義される。

変異原性 (Mutagenicity) : 生物又は細胞の特性の変化をもたらすことのある生物又は細胞内遺伝物質の量又は構造の永久的変化を起こさせる能力。この変化には核酸内の塩基の連鎖の変化 (遺伝子突然変異)、染色体の構造的変化 (クラストゲニシティー) 及び/又は細胞内の染色体の数の変化 (異数性又は倍数性) を含むことがある。

倍数性 (Polyploidy) : 染色体の完全なセットの数の増加又は減少

(7) がん原性試験 (VICH GL28R)

ア 緒言

(ア) 目的

ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を確立するに当たり、腫瘍を誘発する可能性の評価を含む多数の毒性学的评价が要求される。このガイドラインの目的は、ヒト食品中残留動物用医薬品に対するヒトのばく露に適切な潜在的がん原性評価を確実にすることにある。

(イ) 背景

潜在的がん原性評価は、ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性評価に考慮すべき重要な領域の一つと認識されている。残留動物用医薬品のばく露は、極めて低レベルで起こるのが普通であるが、長期間、おそらく生涯にわたる

可能性がある。適切なばく露レベルで潜在的がん原性を発揮できる物質の十分な評価を保証するには、遺伝毒性、代謝運命、動物種差及び細胞の変化を含む多数の問題を考慮する必要がある。

(ウ) 適用範囲

このガイドラインは、がん原性試験実施の必要性を決定するに当たり、データに基づく判断経路を決定することにある。さらに、がん原性試験の実施に関する指針を提供する。

イ がん原性評価

(ア) 全体的アプローチ

がん原性試験実施の必要性を判断するには、a) 遺伝毒性試験の成績、b) 構造活性相関、及びc) 長期試験における腫瘍に関連するかもしれない全身毒性試験の所見を考慮すべきである。試験動物種、対象動物種及び及びヒト間の代謝の違いも考慮すべきである。

(イ) 遺伝毒性化合物

多くのがん原性物質には遺伝毒性による作用機序があることから、そうではないという信頼できる証拠がない限り、遺伝毒性物質はがん原性物質とみるのが賢明である。遺伝毒性試験の成績が明らかに陰性であれば、遺伝毒性機序による潜在的がん原性がないことの十分な証拠とされるのが通例である。

(ウ) 非遺伝毒性化合物

一般に、非遺伝毒性化合物ががん原性を発揮するには閾値用量があり、残留動物用医薬品のヒトへのばく露は低度であると考えられていることから、非遺伝毒性物質はルーチンにがん原性試験を行う必要はない。しかし、例えば1) その化合物が動物又はヒトのがん原性物質であることが知られている化合物に類する、2) 入手可能な全身毒性試験でその化合物におそらく前腫瘍性病変又は腫瘍を示す所見が認められている、あるいは3) その化合物の全身毒性試験でヒトに関連するがん原性のエピジェネティック (DNA の塩基配列の変化を伴わず細胞分裂後も継承される遺伝子機能) の機序につながる事が知られている作用が認められた場合には、このような試験が必要であろう。

(エ) *in vivo* がん原性試験

① 既存の関連ガイドライン

OECD テストガイドライン 451“Carcinogenicity Studies” に実験動物を使用するがん原性試験のための試験プロトコールガイドラインと試験化合物へのアプローチが含まれている。この文書は、以下のパラグラフに示す説明とともに動物薬のがん原性試験の基礎になる。

注：がん原性と慢性毒性を合わせた試験 (OECD テストガイドライン 453“Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Studies”) も受け入れられよう。

② 長期がん原性試験のための動物種の選択

一般に2年のラット試験と18か月のマウス試験から成るがん原性バイオアッセイが必要とされる。適切な科学的妥当性の説明があれば、げっ歯

類 1 種、望ましくはラットでがん原性試験を実施してもよい。いずれかの試験動物種に陽性応答があれば、潜在的がん原性の指標と考えられる。

③ 動物数と投与経路

OECD テストガイドライン 451 及び一般に行われている方法と同じく、がん原性試験には雌雄それぞれ少なくともラット及び／又はマウス 50 匹／用量（同時対照を含む）が適切である。ヒト食品中残留動物用医薬品のがん原性試験の投与経路は経口、望ましくは飼料添加である。その他の投与経路は、ヒト食品中残留動物用医薬品のリスク評価に当たっては一般に適切ではない。

④ がん原性試験のための用量の選択

a 全般

定型的なげっ歯類のがん原性試験には、少なくとも 3 用量レベルの他に同時対照群を使用することが推奨される。

b 用量の選択

高用量は、がん原性以外の作用によって生存性に影響を及ぼすことなしに最小限の毒性作用を示すように設定すべきである。がん原性試験において生存率あるいは生理的恒常性に影響を及ぼすことなく何らかの毒性作用が認められた場合は、動物が十分に被検物質にばく露され、陰性結果に信頼性があったことを保証するものである。

その他の用量を設定するに当たり考慮すべき要因には、薬物動態の直線性、代謝経路の飽和、予測されるヒトのばく露レベル、試験動物種における薬力学、試験動物種における閾値効果の可能性、利用可能な機序情報及び短期げっ歯類試験で観察される予測できない毒性の進行が含まれる。最少用量設定が困難な場合には、最少用量は明らかな毒性を誘発しない量であり、かつその用量が最高用量の 10 % 以下に設定しないという方法がもっとも一般的に受け入れられている。

(オ) 生存中観察と病理検査

動物用医薬品のがん原性試験には OECD テストガイドライン 451 による生存中観察と病理検査が適当である。臨床病理検査（血液検査、尿検査及び臨床科学）は、腫瘍原性エンドポイントの評価に必要又は寄与するとは考えられない。

(8) 微生物学的一日許容摂取量 (ADI) 設定の一般的アプローチ (VICH GL36)

ア 緒言

(ア) 目的

ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を確立するために、様々な毒性学的評価が行われる。動物用抗菌剤について調べる必要のある課題として、ヒト腸内菌叢に対する残留物の安全性がある。このガイドラインの目的は、a) 微生物学的一日許容摂取量 (ADI) 設定の必要性を決定するステップを概説すること、b) 健康上の懸念に対するエンドポイントを決定するための有害な影響が観察されない濃度 (NOAEC ; non-observable adverse effect

concentration、無毒性濃度) と有害な影響が観察されないレベル (NOAEL ; no-observable adverse effect level 無毒性量) を決める試験系と方法を勧告すること、及び c) 微生物学的 ADI を決定する手順を勧告することである。別の試験が有用かもしれないことも認められる。勧告する試験から得られた経験によって、いずれこのガイドラインとその勧告が変更されることがある。

(イ) 背景

腸内菌叢は、個体の健康の維持と保護に重要な役割を果たしている。この菌叢は、宿主に対して a) 内因性及び外因性化合物並びに食餌成分の代謝、b) 後で吸収される化合物の生産、及び c) 病原性微生物の侵入とコロニー形成に対する防御などの重要な機能を提供している。

摂取された抗菌剤は、腸内菌叢の生態を変化させる可能性がある。これらは吸収不完全なために、あるいは吸収され、体内を循環した後で胆汁中に排泄されるか又は腸粘膜から分泌されて、結腸に到達することがある。

微生物学的 ADI を設定する場合に考慮すべき、現在の公衆衛生上の懸念となる微生物学的エンドポイントは以下のとおりである：

定着障壁の崩壊：定着障壁 (colonization barrier) とは、外来微生物の結腸における定着並びに内因性の潜在性病原菌の過剰増殖を制限する正常腸内菌叢の機能である。一部の抗菌剤がこの障壁を崩壊させる能力はよく明らかにされており、ヒトの健康に影響することが知られている。

耐性菌のポピュレーション増加：このガイドラインの目的から、耐性を試験薬又は他の抗菌剤に非感受性である腸管内細菌のポピュレーションの増加と定義する。この影響は、以前は感受性であった微生物による耐性の獲得、又はその薬剤に既に感受性が低くなっている微生物のポピュレーションの相対的増加によるらしい。

広範囲に文献をレビューしたが、正常なヒト腸内菌叢における抗菌剤耐性菌の比率が変化した結果として生じるヒトの健康に対する影響 (例えば、抗菌剤治療の延長、入院日数の延長、感染し易さ、治療の失敗など) の報告は見られなかった。しかし、抗菌剤に対する耐性の発現は世界的な懸念になっていることから、このエンドポイントを考慮する責務がある。明らかにこの領域の研究は必要である。

食品中残留抗菌剤のヒト腸内菌叢に及ぼす影響は、長年にわたって懸念されていたが、この菌叢に有害な妨害をもたらさずであろう閾値用量を定める統一的なアプローチはなかった。国際規制機関は、ヒト腸内細菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) に基づいて、微生物学的 ADI を数式で出す方法を用いてきた。腸内菌叢の複雑さのために、この数式には伝統的に不確定係数が取り込まれてきた。しかし、これらの不確定係数の使用は、控え目な推定値をもたらすので、これらの係数を用いずに微生物学的 ADI のもっと実際的な推定を可能にするより適切な試験系が考えられた。

このガイドラインは、ヒト腸内菌叢の複雑さに対応して、微生物学的 ADI を決定する際の不確定係数を減らす試みである。このガイドラインは、微生

物学的 ADI の必要性を決定するための過程を概説し、ヒト腸内菌叢の複雑さを考慮に入れた試験系について考察する。これらの試験系は、規制の目的でヒト腸内菌叢に及ぼす残留抗菌剤の影響を取り扱うために用いることができる。

このガイドラインで考察するすべての試験系の信頼性と確実性を確認するには、さらなる研究が必要であるからことから（付記A参照）、このガイドラインはいずれか一つの試験系を規制的意思決定のために用いることを推奨しない。このガイドラインは、そうではなく、微生物学的 ADI を設定するためのハーモナイズした方法を勧告し、試験法を特定せずに試験の選択肢を提起する。

（ウ）適用範囲

この文書は、ヒト腸内菌叢に及ぼす影響に関して、ヒト食品中残留動物用抗菌剤の安全性を評価するためのガイダンスを提供する。しかし、ヒト腸内菌叢に及ぼす有害作用に関するヒト食品中残留物の安全性を確立するために実施されるであろう試験をこれらに限定するものではない。このガイダンスは、なぜ微生物学的試験を提出する必要がないと考えるかという科学的根拠に基づく理由も含めて、安全性を同等に保証するであろう代替アプローチの可能性を排除するものではない。

イ ガイドライン

食料生産動物に使用する抗菌活性を有する薬剤の試験は、それらの残留物の安全性に対処すべきである。抗菌活性残留物質がヒトの結腸に到達しない場合には、標準的な毒性学的試験からのデータを用いて ADI を算出すべきである。

（ア）微生物学的 ADI の必要性を決定するステップ

微生物学的 ADI の必要性を決定する場合には、以下の一連のステップによることが勧められる。データは実験的に、公表された文献又はその他の情報源から得られるかもしれない。

ステップ 1. 薬剤及び（又は）その代謝物の残留物は、ヒト腸内菌叢の代表的細菌に対して微生物学的に活性があるかどうかを調べる。

・推奨されるデータ：

- 以下の腸内細菌に関連する属（*E. coli*, 及び *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Eubacterium (Collinsella)*, *Fusobacterium*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus/Peptococcus* の菌種）について得られた標準的試験法による MIC データ

- これらの細菌の相対的重要性の理解は不完全であり、これらの細菌の分類学的位置が変わり得ることが認められている。細菌の選択には現時点の科学的知識を考慮すべきである。

・情報が入手できない時には、その化合物及び（又は）その代謝物は微生物学的に活性があると仮定する。

ステップ 2. 残留物はヒトの結腸に入るかどうかを調べる。

・推奨されるデータ：

- 吸収、分布、代謝、排泄 (ADME)、生物学的利用能 (bioavailability)、又は関連するデータが、結腸内に入ることになる摂取された残留物のパーセンテージに関する情報を提供することがある。

・ヒトにおける情報が入手できなければ、適切な動物のデータを利用する。情報を入手できない場合には、摂取された残留物の 100 %が結腸内に入ると仮定すべきである。

ステップ 3. ヒト結腸内に入る残留物に、微生物学的活性が残っているかどうかを調べる。

・推奨されるデータ：

- 糞便と一緒に培養する薬剤の *in vitro* 不活化試験から微生物学活性の消失を示すデータあるいは動物の糞便又は結腸内容物に薬物の微生物学的活性のあることを評価する *in vivo* 試験からのデータ。

1、2、又は3のステップのいずれかの質問に対する回答が“いいえ”であれば、ADIは微生物学的エンドポイントに基づかないので、以下のステップに対応する必要はない。

ステップ 4. 懸念のエンドポイントのいずれか一つ又は両方を試験する必要性を排除する科学的妥当性があるかどうかを調べる。コロニー形成バリアの崩壊及びその薬剤に対する耐性出現に関する入手可能な情報を考慮する。入手可能な情報によって判断ができなければ、両方のエンドポイントを調べる必要がある。

ステップ 5. ステップ 4 で定められた懸念のエンドポイントの NOAECs/NOAELs を決定する。最も適切な NOAEC/NOAEL を微生物学的 ADI の決定に用いる。

(イ) 懸念のエンドポイントの NOAECs 及び NOAELs を決定するための勧告

① 定着障壁の崩壊

a 定着障壁崩壊の検出

細菌のポピュレーションの変化は、定着障壁が崩壊する可能性の間接的指標である。これらの変化は、様々な試験系の様々な計数手法によって監視できる。障壁崩壊のもっと直接的な指標は、病原体による腸内生態系の定着又は過剰増殖である。*in vivo* 試験系又は複雑な *in vitro* 試験系（例えばフェッドバッチ、連続又は半連続培養システム）は、試験系に添加した攻撃菌の定着によって認められる障壁崩壊を評価することができる。

攻撃菌（例えば *Salmonella*, *Clostridium*）は、試験薬に非感受性の菌株にすべきである。攻撃菌の接種計画には、薬剤処置に関連する攻撃のタイミング、攻撃量当たりの菌数、及び試験系を攻撃する回数を考慮すべきである。

b 試験系と試験設計

(a) *in vitro* 試験

ある薬剤が定着障壁を崩壊させる可能性を評価するのに MICs を用

いる方法は、ヒト腸内菌叢の複雑性を考慮していない。したがって、その薬剤が活性を示す最も適切な属の MIC₅₀ (アの (イ) 参照) は、定着障壁の崩壊を示す NOAEC の控え目な推定値になる。この NOAEC の推定値は、他にも理由があるが、特に接種菌量の桁数が腸管内の細菌のポピュレーションより低いことによって、控えめになる^り。したがって、これは ADI 設定の選択肢の一つと考える程度のものであろう。分離菌株は複数の健康なヒトから、アの (イ) に示した属のそれぞれについて少なくとも 10 株を含むようにすべきである。

適切なある分離菌株の純培養について調べたそれぞれの MIC 検査は、一菌種の単一菌株についてのデータを提供する。その他の *in vitro* 試験系は、各糞便接種材料の数百の菌種 (菌数 > 10⁸/g) についての情報を提供する。各接種材料は、処置の影響を明らかにするために反復して試験できる。上記のすべてに基づいて、糞便バッチ培養を用いる *in vitro* 系は MIC 検査系よりも本質的に頑健であり、適切である。

以下に述べる他の試験系は、腸内菌叢をよくモデル化しており、より適切な NOAEC とおそらくより高い ADI をもたらすであろう。

糞便スラリーは、薬剤に短期ばく露後の定着障壁崩壊の NOAEC を算出するための単純な試験系となるものであり、用量検出 (dose-titration) 試験には適当であろう。これらのスラリーで、細菌ポピュレーションと短鎖脂肪酸 (SCFA) 生産の変化を監視することができる。これら二つの応答変数を一緒に監視すれば、障壁崩壊の間接的指標として使うことができる。この試験系から算出した NOAEC は、障壁崩壊の控え目な推定値であることが証明されるかもしれない。

糞便を接種して行う半連続、連続及びフェッドー バッチ培養は、その薬剤に長期ばく露後の定着障壁の崩壊を評価するには適切であろう。しかしながら、連続及び半連続培養を用いた 索研究では、プロトコールに違いがあったために、障壁崩壊について様々な NOAECs 値を示した。したがって、試験設計には付記 A に提起した問題点を考慮すべきである。

糞便スラリー、糞便材料の半連続及び連続培養、並びにフェッドー バッチ培養の場合、接種糞便 (個体差及び性差) の影響、希釈率、薬剤ばく露の期間及び試験の再現性のような未解決の問題がある。

(b) *in vivo* 試験

ヒト菌叢定着 (human flora-associated ; HFA) 及び普通 (conventional) 実験動物を用いる *in vivo* 試験系は、定着障壁の崩壊を評価するには適当かもしれない。普通実験動物と比較すると、HFA 動物の腸内菌叢は細菌ポピュレーションと代謝活性の両方でずっとヒトの腸内菌叢に近い。しかし、ヒト由来の腸内菌叢は HFA 動物体内で安定しないことがある。移植菌叢の安定性、及びその菌叢の個々の組成の相対的重要性は不明である。技術的な理由から、普通実験動物は多数で試験

ができ、ずっと頑健な統計的分析が可能である。

試験設計には動物種、性別、提供者からの接種材料のばらつき、動物数/群、食餌、処置群の無作為化、糞食の最小化／排除、アイソレーター内の動物の囲い、アイソレーター内の相互汚染及び投与経路(強制経口か、飲水添加か)のような因子を考慮すべきである。無菌動物に、まず *Bacteroides fragilis* を1株接種し、次いで糞便を接種すべきである。

② ヒト結腸内耐性菌ポピュレーションの増加 (アの (イ) で定義)

a 耐性菌ポピュレーションの変化の検出

耐性出現を評価する試験では、腸管内において懸念される微生物とその系統の抗菌剤に認められている耐性機序を考慮すべきである。ヒト腸内菌叢における耐性に関する予備的情報、例えば各個体の日間変動や個体間の変動が、耐性出現を評価するための基準の作成に有益なことがある。懸念される感受性及び既知の耐性菌の MIC 分布は、糞便サンプル中の耐性菌を計数するため、どの程度の薬剤濃度を選択培地に使用すべきかを決定するに当たっての基礎に用いることができる。微生物に対する薬剤の活性は試験条件によって異なるので、選択培地上に発育する微生物の MIC は標準法 (例えば National Committee for Clinical Laboratory Standard[NCCLS]²) によって測定した MIC と比較すべきである。処置前、処置の間及び処置後における耐性菌ポピュレーションの変化は、表現型法及び分子的方法を用いて、抗菌剤を含む培地と含まない培地における計数手法で評価できる。

抗菌剤耐性の変化は、薬剤ばく露以外の因子 (例えば動物のストレス) に影響されることがあるので、動物試験系ではそれを考慮すべきである。

b 試験系と試験設計

(a) *in vitro* 試験

細菌のポピュレーションにおいて耐性が発現するために要するばく露期間は、薬剤、耐性機序の性質、いかに性状が進化するか (例えば、細胞間の遺伝子伝達による、遺伝子突然変異によるなど) に依存する。これらの理由から、エンドポイントの評価するための純培養の急性試験は適当とは思われない。したがって、耐性ポピュレーションの増加についての NOAEC を決定するのに、MIC 試験は使えない。

限定培養 (defined culture) が、一つの分離菌株における突然変異及び／又は分離菌株間の遺伝子伝達による耐性ポピュレーションの発現の可能性を明らかにする有益な情報を提供することがある。しかし、これらの試験系は耐性ポピュレーションの変化を評価するには設計されておらず、したがって推奨されない。

糞便スラリーを薬剤に短期ばく露する試験系は、試験期間が耐性ポピュレーションの変化を評価するには不適當なことから、耐性出現試験には奨められない。

糞便を接種する連続及び半連続培養並びにフェッドバッチ培養は、細菌の長期薬剤ばく露を評価するのに有益な手段を提供する。試験の実施及びデータの評価において配慮しなければならない事項は付記Aを参照されたい。

(b) *in vivo* 試験

耐性ポピュレーションの変化は HFA げっ歯動物で評価できる。一般的な試験設計とそれを支持するプロトコールはイの (イ) の①の b の (b) で述べた勧告に従うべきである。この試験系には複雑な菌叢が入っており、遺伝的耐性決定因子の起源になるであろう。この系は、連続又は半連続培養系より多くの繰り返しに適合するが、フェッドバッチ培養よりは少ない。HFA げっ歯動物試験のばらつきは評価されていないが、性差を識別するために有用である。普通実験動物で耐性試験を実施することにも幾つかの実際的な利点がある。

HFA げっ歯動物及び普通実験動物は、試験薬に対する細菌の長期ばく露による耐性出現の可能性を評価する手段を提供する。試験の実施及びデータの評価において配慮しなければならない事項は付記Aを参照されたい。

(ウ) 一般的勧告

- ・ヒト提供者からの糞便サンプル又は分離菌株は、少なくとも3か月間は抗菌剤のばく露を受けたことのないことが分かっている健康者から入手すべきである。
- ・*in vivo* 試験の場合には、a) 最大限の独立した繰り返し、b) 両性での試験、c) 分析のために十分量の糞便の採取、及びd) 最小限の糞食、を可能にする試験動物種を選択すべきである。
- ・残留抗菌剤の試験を設計する際に考慮すべき統計的問題は、一般毒性試験のそれと明らかに相違する (付記Bを参照)。
- ・OECD が 1996 年³ から開発しているようなプレーバリデーション及びバリデーションの過程は、ヒト腸内菌叢に及ぼす抗菌剤の影響を評価する試験系のその後のバリデーションのために考慮されるべきである。その手順はバリデートされる試験系に従ってこれを使用するために適合され、改変されるべきである。

(エ) 微生物学的 ADI の算出

微生物学的 ADI について二つ以上の値が算出された場合には、以下に考察する方法に従って、(ヒトに対して) 最も適切な値を使用すべきである。

① 定着障壁の崩壊

a *in vitro* データからの ADI の算出

もし、懸念されるエンドポイントが定着障壁の崩壊であれば、ADI は MIC データ、糞便スラリー、半連続、連続及びフェッドバッチ培養試験系から算出できるかもしれない。

MIC データからの ADI 算出：

$$ADI = \frac{MIC_{calc} \times \text{結腸内容物の量 (220 g / 日)}}{\text{微生物が利用可能な経口用量の分画} \times 60 \text{ kg のヒト}}$$

MIC_{calc}：試験薬に活性のある最も関連のある属（少なくとも 10 分離株／属）の平均 MIC₅₀ の 10 %信頼限界の低い方の片側の値。ほとんど／すべての菌株又は分離菌株がその試験薬に本来耐性である属の MIC₅₀ は、計算に含めてはならない。関連する細菌属については、イの（ア）のリストを参照されたい。この方法は、異なる細菌属間の MIC₅₀ が必ずしも正規分布しないことが認められているが、推奨される。

その他の *in vitro* 試験系からの ADI 算出：

$$ADI = \frac{NOAEC \times \text{結腸内容物の量 (220 g / 日)}}{\text{微生物が利用可能な経口用量の分画} \times 60 \text{ kg のヒト}}$$

NOAEC：これらの試験系の平均 NOAEC の 10 %信頼限界の低い方の片側の値を、データのばらつきの説明に使用すべきである。したがって、この式には、微生物学的 ADI を算出するための不確定係数は一般には必要とされない。

結腸内容物の量：220 g という数字は、事故の 者について測定した結腸内容物に基づいている。

微生物が利用する経口用量分画：結腸内微生物が利用する経口用量の分画は、薬剤を経口投与した後の *in vivo* 測定値に基づくべきである。さもない限り、十分なデータがある場合には、結腸内微生物菌が利用する用量分画を、1 尿中に排泄された（経口投与量の）分画として計算できる。ヒトのデータが好ましいが、2 種以上の動物のデータでもよい。データが欠如している場合には、代謝物は親化合物と同じ抗菌活性を持つと仮定する。申請者が腸管通過中にその薬剤が不活化されることを示す定量的な *in vitro* 又は *in vivo* データを提出すれば、この分画を下げることができよう。

b *in vivo* データからの ADI 算出

微生物学的 ADI は NOAEL を不確定係数で除して算出する。

in vivo 試験での不確定係数は、化合物の系統、プロトコール、提供者の数、及び測定した結果のばらつきを考慮して、適切に設定すべきである。

② 耐性菌ポピュレーションの増加

a *in vitro* データからの ADI 算出

懸念されるエンドポイントが耐性菌ポピュレーションの増加であれば、半連続、連続及びフエッドバッチ培養試験系から算出した NOAECs を微生物学的 ADI の設定に使用できよう。

$$NOAEC \times \text{結腸内容物の量 (220 g / 日)}$$

$$\text{ADI} = \frac{\text{微生物が利用可能な経口用量の分画} \times 60 \text{ kg のヒト}}{\text{NOAEC}}$$

NOAEC : *in vitro* 系から求めた NOAEC の 90 %信頼限界の下限值から得た NOAEC を、データのばらつきの説明に使用すべきである。したがって、この数式には、微生物学的 ADI を算出するための不確定係数は一般には必要とされない。しかし、NOAEC の計算に用いた *in vitro* データの質又は量が不十分なことから懸念が生じる場合には、不確定係数を組み込む必要があるかもしれない。

b *in vivo* データからの ADI 算出

微生物学的 ADI は NOAEL を不確定係数で除して算出する。

in vivo 試験での不確定係数は、化合物の系統、プロトコール、提供者の数、及び測定した結果のばらつきを考慮して、適切に設定すべきである。

ウ 用語集

この用語集には本文だけでなく付記中の用語を含む。

一日許容摂取量 [Acceptable Daily Intake] (ADI) : 健康に対して感知できるリスクなしに、生涯にわたって毎日摂取できる物質の量の推定値で、体重ベースとして表す。

抗菌活性 [Antimicrobial Activity] : 細菌のポピュレーションに及ぼす抗菌剤の作用

抗菌剤 [Antimicrobial] : 主たる効果として、生物学的又は化学的に作られた抗菌活性のある薬剤

合いのとれた設計[Balanced Design] : 設計に含まれるすべての因子（処置因子、性別のような重要な因子、あるいは妨害因子）の組合せが同じ回数生じれば、統計的設計は 合いがとれている。部分的に 合いのとれている設計は、 合いがとれてはいないが、処置とその他の因子の組合せが規則的に生じるので、分析が比較的簡単である。

バッチ培養[Batch Culture] : 培養が終わるまで基質も、 廃物も除去されない培養で、通常は短期間培養であり、一般には 24 時間までである。

妨害因子[Blocking Factor] : 類似する又は類似の応答をすると予測できる実験単位群の値又はレベルを規定する実験因子。妨害の中の体系的変動は統計的分析における過誤の推定から除去することができ、精度が上がる。実験単位である数頭の動物を含むケージ、あるいは数個のケージを含むアイソレーターがその例である。

攻撃菌[Challenge organism] : 定着障壁の崩壊を評価するために試験系に実験的に添加する細菌

定着[Colonization] : 腸管内に微生物が定着すること。

定着障壁[Colonization Barrier] : 外来細菌による結腸内定着並びに内因性の潜在性病原細菌の過剰増殖を制限する正常腸内菌叢の機能

完全設計[Complete Design] : 設計における因子の組合せ又はグループが少な

くとも 1 回観察される統計的設計は完全である。不完全設計は一部の因子の組合せに観察が行われない。

連続培養[Continuous Culture]：栄養素の供給と使用済み培地の除去を同時に行って微生物の連続的発育を維持し、一定の培養容量内に一定の微生物負荷を維持する培養法

普通実験動物[Conventional Laboratory Animal]：自然の固有腸内菌叢を持つ動物

糞食[Coprophagy]：糞便の摂食

限定培養[Defined Culture]：すべての菌種が既知である微生物培養

希釈速度（流速）[Dilution (Flow) Rate]：連続培養系における培地供給と除去の速度。希釈速度は連続培養系内の微生物の発育速度をコントロールする。

提供者（糞便）接種材料[Donor (Fecal) Inocula]：ヒトボランティアから採取し、試験系に接種するために用いる糞便菌叢。腸内菌叢に等しいと考えられる。

残留薬剤[Drug Residue]：食品内又は食品上に残存するすべての誘導體、代謝物及び分解産物を含めた薬剤

実験単位[Experimental Unit]：処置を行い、測定を行う実験材料の標準量。動物全体、又は特定の臓器又は組織、数頭の動物が入っているケージ、細胞培養又は個々のケモスタットが例としてあげられる。

因子設計[Factorial Design]：処置因子を含む、それぞれ 2 段階又はそれ以上の多くの因子の組合せを含む実験設計。その他の因子として層化因子（例えば性別）あるいは阻害因子（例えばケージ）が含まれることがある。典型的には、結果のばらつきは、様々な因子をそれぞれの組合せレベルとする実験単位の数に基づき測定される。データの統計的分析は、多因子分散分析による。

糞便スラリー[Fecal Slurry]：希釈されたヒト糞便又は糞便固形物

フェッドバッチ培養[Fed-Batch Culture]：栄養培地を連続的又は半連続的に供給するバッチ培養。フェッドバッチ培養の一部をあらかじめ定めた間隔で取り出すことができる。一定の培養容量は維持できない。

ヒト菌叢定着（HFA）動物[Human Flora-Associated (HFA) Animal]：ヒト糞便菌叢を移植した無菌動物

交互作用の影響[Interaction Effect]：他の因子の存在によって修飾される処置の影響。例えば、処置の影響が雌より雄の方が大きい又は小さいことがあり、あるいは時間とともに変化することがある。

腸内菌叢[Intestinal flora]：結腸内の正常微生物叢

最少発育阻止濃度（MIC）[Minimum Inhibitory Concentration (MIC)]：標準化された試験法によって測定される、試験微生物の発育を阻止する抗菌剤の最少濃度

50 %最少発育阻止濃度[MIC₅₀]：適切な属の試験分離菌の 50 %の株を発育を

阻止する抗菌剤の濃度

微生物学的 ADI[Microbiological ADI]：微生物学的データに基づいて設定される ADI

無毒性濃度 (NOAEC) [No-Observable Adverse Effect Concentration (NOAEC)]：特定の試験において、いかなる有害な影響も観察されない最高濃度

無毒性量 (NOAEL) [No-Observable Adverse Effect Level (NOAEL)]：特定の試験において、いかなる有害な影響も観察されない最高投与量

結果のばらつき[Outcome Variable]：実験において測定される特定のパラメーター。特定の結果のばらつきは、プロトコールの一部として規定されなければならない、試験において実際に測定される。

半連続培養[Semi-continuous Culture]：基質及び/又は 廃物を半連続的に添加及び/又は除去して、一定の培養容量を維持する培養法

短鎖脂肪酸 (SCFA) [Short chain Fatty Acid (SCFA)]：腸内菌叢が生産する炭素原子 2 - 6 個を含む揮発性脂肪酸。主要な酸は、酢酸、プロピオン酸及び 酸である。

固形相[Solid Phase]：*in vitro* 試験系内の粒子状物質

体系的ばらつき[Systematic Variation]：結果のばらつきに影響する因子。このようばらつきは確かに存在する影響を表していることから、体系的である。体系的変動は予測不可能なランダムなばらつきと区別される。体系的ばらつきは性別のような関心の対象である因子に起因することもあり、特定のアイソレーターのようなそうでない因子に起因することもある。

試験系[Test System]：ヒト腸内菌叢に及ぼす残留抗菌剤の影響を明らかにするために用いる方法

エ 引用文献

1. Cerniglia, C.E., and Kotarski, S. 1999. Evaluation of Veterinary Drug Residues in Food for their Potential to Affect Human Intestinal Microflora. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 29, 231-261.
2. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2000. Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria; Approved Standard - Fifth Edition. NCCLS document M11-A5. NCCLS 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA, USA.
3. OECD. 2001. Series of Testing and Assessment No. 34, Environment, Health and Safety Publications. Draft Guidance Document on the Development, Validation and Regulatory Acceptance of New and Updated Internationally Acceptable Test Methods and Hazard Assessment. Paris.

付記 A 試験系開発において検討が必要な問題点

1. 実験条件

連続流動、半連続流動及びフェッドバッチ試験から生じるデータは、発育条件（例えば、発育培地、pH、希釈速度）の影響を受ける。菌種によっては、試

験系に用いる実験条件下において発育速度が異なる。培養物の希釈速度がある菌種の発育速度を えると、この菌種は最終的に試験培地から消失する。試験系は各種の細菌が最大限に 留し、最初の接種材料の複雑さが維持されるように設計すべきである。

試験抗菌剤が様々な細菌グループの発育速度に影響することがある。発育速度が試験系に用いる希釈速度より低くなると、菌叢の構成細菌の一部が混合培養から洗い出されることがある。この問題は、希釈速度を下げる試験条件を開発することによって最小限になろう。

抗菌剤感受性はばく露される細菌の菌体の状態に左 され、試験系で用いる発育条件に左 されよう。このことに基づけば、コロニー形成バリア崩壊及び耐性菌ポピュレーションの増加から得た NOAECs に及ぼす発育条件の影響を明らかにする検討がさらに必要である。

in vivo 試験系のプロトコールにおいては多くの因子を考慮すべきである。これらの試験の複雑さとジャームフリーアイソレーター内で動物試験を実施するに当たっては、交差汚染が主要な問題となる。交差汚染を最小限にするようにプロトコールを設計すべきである。

2. 接種材料

腸内菌叢の構成は、個体間で細菌グループ及び耐性菌については違いがあろう。細菌のポピュレーションは単一個体内では比較的安定しているが、耐性菌グループでは必ずしもそうではない。

腸内菌叢に及ぼす残留抗菌剤の影響を明らかにするデータは、個体別に提供者から採取した糞便接種材料を用いる試験系から得ることが好ましい。個体間の菌叢の違いを説明するには、複数の提供者を用いるべきである。プールした接種材料は、個体間の菌叢の違いを説明できない。試験成績を解釈する場合には、提供者の接種材料の構成を考慮すべきである。

3. 試験期間

糞便バッチ培養における細菌ポピュレーションの変化を監視するための最適な培養時間を明かにする必要がある。同様に、複雑な長期 *in vitro* 又は *in vivo* 試験系の場合には、腸内菌叢の統合性と複雑性が安定に維持される期間を明らかにすることが重要である。

付記 B 残留抗菌剤の試験を設計するときに考慮すべき統計的問題

現在公衆衛生上の懸念とされている二つの一般的なエンドポイントとして、コロニー形成バリアの崩壊と耐性菌ポピュレーションの増加が知られている。実験設計は、これらのどちらを対象にするかによらなければならない、特定の結果のばらつきを考慮すべきである。これらの試験系の設計のパラダイムには、試験系の選択、処置の適用及び試験系の経時的追 が含まれる。MIC 試験は設計が単純であるから、以下に考察する問題の多くはこの方法には当てはまらない。

設計の中心要素は実験単位の定義である。例えば、*in vivo* 試験系では、この単位は個々の動物あるいはケージまるごとのことがある。アイソレーターの中でケ

ージをグループ分けするとすれば、各アイソレーター内の異なるケージに一部又は全部の処置を適用することができる。この場合、同じアイソレーター内のケージは同様な仕方で応答すると予想されるから、アイソレーターが妨害因子になる。妨害因子の使用は体系的ばらつきを減らす重要なルールである。関連する質問は、性別のような、含めなければならない他の体系的因子がないか、すなわち因子設計をしなければならないかということである。複数の因子がある場合には、設計に因子のどういう組合せを含めるべきかの選択を入れる。これは出来上がった設計が 合いのとれているように行うことが重要である。完全な、 合いのとれた設計では、すべての組合せがあつて、それらが同じ回数生じる。不完全な設計並びに様々な種類の部分的 合いによることも可能である。このような設計では、ばらつきの分析が必要かもしれないが、例えば実験資源が限定されている場合には有用なことがある。不完全設計の例は標準的な 2 期間交差設計である。

実験単位にいかなる処置を適用すべきかを決定しなければならない。薬剤処置と細菌攻撃を含む 2 段階処置が必要な場合もある。少なくとも三つの薬剤処置群に加えて適切な対照群を加えるべきである。抗菌剤処置レベルの選択は希望する用量範囲によるが、影響のあるレベルと無影響レベルの両方を含めるべきである。薬剤投与の期間と方法は試験系による。一部の試験で重要な点は経時的な影響の増進であり、結果のばらつきを繰り返し測定する必要があるかもしれない。一般的問題は測定タイミングと間隔及び欠損データに起因するバイアスである。

生物学的ばらつきと測定誤差によるランダムなばらつきのコントロールは、実験単位の数とサンプル数による。この数は、可能であれば過去の経験から、又はサンプルサイズのコンピューター計算による、その試験系の以前の知識及び結果のばらつきを用いて、決定できる。処置の影響と適切な相互作用、例えば処置の影響の経時的な変化、を正確に測定するために、十分な繰り返しを含めるべきである。試験によっては、このような相互作用を統計的分析の一部として調べることが重要かもしれない。繰り返しの別の形は一つのケージ内の動物からの糞便サンプルのプール又は異なる提供者からの糞便サンプルのプールである。いずれも平均化の利点はあるが、繰り返し間のばらつきを推定する能力がない。プールは（処置及び/又は接種材料）の個々の影響をあいまいにすることがあり、したがってその使用は試験の目的に応じて考慮しなければならない。

付記 C MIC_{calc} の計算

薬剤がその菌に対して活性を有する関連のある属の平均 MIC₅₀ の 90 %信頼限界の下限值から、MIC_{calc} を算出する。90 %信頼限界の下限值は、対数変換データから計算する。したがって、平均値と標準偏差は、対数変換した MIC₅₀ 値を用いることにより計算される。このことはまた、正確な値を得るためには、90 %信頼限界の下限値を指数変換する必要のあることを意味している。信頼限界の計算式は以下のとおりである:

$$90\% \text{信頼限界の下限} = \text{平均 MIC}_{50} - \text{Std Dev} / \sqrt{n} \times t_{0.10,df}$$

ただし: 平均 MIC₅₀ は、対数変換した MIC₅₀ 値の平均、

Std Dev は、対数変換した MIC₅₀ 値の標準偏差、

n は、計算に用いた MIC₅₀ の数、

t_{0.10,df} は、自由度 df の t-分布の中心から 90% の値、df = n-1

適切な属の MIC₅₀ を調べる (2.1.参照)。MIC_{calc} は、その化合物に対して本来耐性でない適切な属について得られた値に基づく。したがって、MIC_{calc} はその化合物が活性であるそれらの属の MIC₅₀ に基づくことになる。MIC_{calc} の計算に用いるには、すべての MIC₅₀ 値に不等号が入っていないことを確かめる。

計算の例

いかなる MIC₅₀ 値の対数変換した底も使用することができる。しかし、薬剤を二倍希釈することにより MIC 試験が行われている場合には、二を底とした対数変換は計算を行うに当たって整数になるので便利である。以下の例では、次のように MIC₅₀ 値を変換した：

$$\text{Log}_2 (\text{MIC}_{50}) - \text{Log}_2 (\text{最小} (\text{MIC}_{50}) / 2)$$

MIC _{calc} の計算例								
<i>Bifidobacterium</i>	<i>Eubacterium</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>Fusobacterium</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Peptococcus/Peptostreptococcus</i>	<i>Lactobacillus</i>
0.03125	0.25	0.25	8.0	32	2.0	>128	0.25	1.0
平均 (Log ₂ (MIC ₅₀) - Log ₂ (0.03125/2))								
1	4	4	9	11	7	R*	4	6
平均 (Log ₂ (MIC ₅₀) - Log ₂ (0.03125/2)) = 5.75								
標準偏差 (Log ₂ (MIC ₅₀) - Log ₂ (0.03125/2)) = 3.196								
t _{0.10,7} = 1.415								
90% 信頼限界の下限 = 5.75 - 3.196 / sqrt(8) * 1.415 = 4.15								
MIC _{calc} に指数変数 = 2 ^{(4.15 + log₂ (0.03125/2))} = 0.277								
MIC _{calc} = 0.277								
* 本来耐性である属の MIC ₅₀ 値は計算に含まれない。								

10 動物用医薬品のための安全性試験法ガイドライン

本ガイドラインは、動物用医薬品の承認申請等の目的で実施される安全性試験について、標準的な実施方法を示し、動物用医薬品の安全性の適正な評価に資することを目的とする。

しかし、本来、すべての動物用医薬品について一律の試験方法を定めることは合理的ではなく、また、試験の進展に応じて新たな実験を追加する必要があることも少なくない。したがって、得られた所見が臨床上の安全性評価に資することができるものである限り必ずしもここに示した方法を固守するよう求めるものでない。

原則としてすべての新動物用医薬品について、対象動物を用いて試験を実施すること。

(1) 動物

ア 検体の適用を予定している対象動物（養殖水産動物を含む。）であって、飼料及び動物用医薬品の使用歴並びに試験開始前における飼養方法等が明らかなるものを用いる。

養殖水産動物にあつては、試験期間中の飼育水温は、それぞれの試験動物ごとに、次の範囲内であることを基準とする。

ぶり、まだい、こい、うなぎ：22～28℃

にじます：12～18℃

あゆ：19～25℃

イ 動物用生物学的製剤のうちワクチン、血清及び動物に直接使用する診断液（以下「ワクチン等」という。）にあつては、アの要件に加え、次の要件に適合する対象動物を用いる。なお、妊娠動物に対する使用を予定しているワクチン等にあつては、非妊娠動物及び妊娠動物の両方を用いる。

(ア) 適用を予定している日齢のうち障害が最も強く発現する日齢の対象動物

(イ) 品種、系統及び規格（SPF等）並びに保有している抗体の種類及びその量について確認した対象動物

(2) 動物数

各用量群について、哺乳動物にあつては3例以上、鶏にあつては10以上及び養殖水産動物にあつては20尾以上を用いる。

(3) 投与経路

原則として臨床適用経路とするが、複数ある場合には障害が最も強く発現する経路で実施して差し支えない。ただし、アジュバントを含有するワクチンについては、臨床適用経路が複数ある場合であっても、すべての臨床適用経路で実施する。

(4) 用量段階

ア 2段階以上の試験群を設定するとともに、別に対照群を置く。

イ 試験群の投与量は、副作用が現われる量（又は投与可能最高量）及び無影響量とする。この場合、ワクチン等の投与可能最高量とは次の量を目安とし、物

理的な障害を動物に与えないよう必要に応じ分割して投与する。

(ア) 生ワクチンであって投与時に調整するもの：100 用量分

(イ) (ア) 以外のもの：10 用量分

(5) 投与期間

ア ワクチン等以外の検体にあつては、臨床適用の最長投与期間以上とする。臨床適用が1～2日に限られている場合にあつても3日以上投与が必要である。ただし、臨床適用の期間が長期の場合には、投与期間を短縮して差し支えない。

イ

(ア) ワクチンにあつては、その適用を予定している投与期間及び投与回数の投与を行った後、更に2か月間隔で1回以上の投与を行う。ただし、生涯投与回数が2回以内に限定されるものについては、適用を予定している投与期間及び投与回数の投与のみを行うこととしても差し支えない。

(イ) 血清及び動物に直接使用する診断液にあつては、2か月間隔で2回以上投与する。

(6) 観察事項

ア 試験群の全例について、一般状態を多元的に毎日観察し、必要により全部又は一部について、血清学的検査及び生化学的検査（血液生化学的検査、尿検査等）を実施する。

イ 試験期間中の死亡例については、速やかに剖検し、器官・組織の肉眼的観察を行い、必要に応じて重量の測定及び病理組織学的検索を行う。

ウ 試験期間中に死期の迫った例については、速やかにと殺剖検し、器官・組織の肉眼的観察を行い、必要に応じて重量の測定及び病理組織学的検索を行う。

なお、と殺時に血液を採取して、血液学的検査及び血液生化学的検査を行う。

エ 試験終了後の生存例については、全部又は一部についてと殺剖検し（ただし、局所作用剤又は最高投与量で、一般状態及び臨床検査成績に異常が認められない場合は除く。）器官・組織の肉眼的観察、重量の測定及び病理組織学的検索を行う。

なお、と殺時に血液を採取して、血液学的検査及び血液生化学的検査を行う。

オ 妊娠動物に対する使用を予定しているワクチン等にあつては、試験に用いた妊娠動物の産子についても、試験群に準じて観察を行う。また、アジュバントを含有するワクチンにあつては、通常の病理組織学的検索項目に加えてアジュバント等異物の消長についても観察を行う。

11 動物用医薬品溶出試験法ガイドライン

(1) 適用範囲

経口投与剤のうち、有効成分の作用が緩和な製剤（ビタミン剤、消化管剤等）で、先発医薬品とその処方が同一又はほぼ同一な医薬品とし、毒、薬等の安全域の広い製剤、腸溶剤、徐放化製剤など特殊な製剤設計をした製剤、臨床投与量付近において非線形動態を示す製剤のほか薬物動態上特殊な製剤は除くものとする。

(2) 溶出試験

ア 参照製剤及び試験製剤の選定

参照とする先発医薬品の3ロットについて、イに示す溶出試験により試験を行い、ロット間で溶出試験の差が最も大きくなる条件において、中間の溶出性を示したものを選定し、これを参照製剤とする。また、試験製剤は、実生産規模の製剤であることが望ましいが、製法が同じで実生産規模の品質を反映していることが他の試験において確かめられていれば実生産規模以外の製剤を用いてもよい。

イ 試験法

(ア) 溶出試験に使用する製剤量等

1条件の溶出試験につき、原則として30gを上限とする下表1の量を標準的な製剤使用量とし、6ベッセル以上の試験を行う。ただし、難溶性薬物を含む製剤（界面活性剤を含まないすべての試験液で、参照製剤の平均溶出率が、6時間までに85%に達しないものをいう。以下同じ。）については薬物の溶解度の30%程度の量を使用製剤量とする。

試験時間は、最高6時間とする。ただし、参照製剤の平均溶出率が85%をえた時点で試験を終了することができる。

表1 1条件の溶出試験に用いる標準的製剤使用量

適用動物種	使用製剤量
馬	体重40kg当たりの臨床常用量
牛	体重3kg当たりの臨床常用量
豚	体重30kg当たりの臨床常用量
犬	体重10kg当たりの臨床常用量
猫	体重10kg当たりの臨床常用量
鶏	体重20kg当たりの臨床常用量

注：数種類の動物について適応する製剤の場合を含め、最大の使用製剤量とする。また、錠剤等の場合は1個を単位とする。

(イ) 試験条件

次の条件により試験を行う。

- ① 装置：パドル法
- ② 試験液の量：原則として 900 mL
- ③ 試験液：原則として、次の 3 種類の pH（規定値の ± 0.05 ）に調整した試験液。なお、対象動物の生理的条件を包含する試験液を選択すること。
 - a pH 1.2 試験液
 - b pH 3.0-5.0 のうち最適な pH 試験液
 - c pH 6.8-8.0 のうち最適な pH 試験液

pH1.2 には日本薬局方（JP14）崩壊試験の第 1 液を、また、pH6.8 には同第 2 液を用いる。その他の pH の試験液は、0.05mol/L リン酸一水素ナトリウムと 0.025mol/L クエン酸を用いて pH を調整した McI-Ivaine の緩衝液などを用いる。

なお、難溶性薬物を含有する製剤など、試験が不可能な場合に限り、試験液にポリソルベート 80 等の界面活性剤を加えることができる。界面活性剤は原則としてポリソルベート 80 とし、これが使えない場合には他の界面活性剤とする。ただし、その場合においても界面活性剤の添加濃度は試験が可能な限り低い濃度とする。

- ④ 数：毎分 50 回転（ $\pm 4\%$ ）
- ⑤ 試験液の温度： $37 \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$

(3) 溶出挙動の同等性の判定

参照製剤と試験製剤との平均溶出率を比較する。すべての溶出試験条件での成績が次のいずれかに適合するときは参照製剤と試験製剤との溶出挙動は同等と判定する。

ア 参照製剤の平均溶出率が規定時間内に 85 %に達する場合

(ア) 参照製剤の溶出に明確なラグ時間がない場合

- ① 参照製剤が 15 分以内に平均 85 %以上溶出する場合には、試験製剤は 15 分以内に平均 85 %以上溶出するか、又は参照製剤の平均溶出率が 85 %付近の時点において、試験製剤の平均溶出率は参照製剤の平均溶出率の $\pm 15\%$ の範囲にある。
- ② 参照製剤が 15 分～ 30 分に平均 85 %以上溶出する場合には、参照製剤の平均溶出率が 60 %及び 85 %付近の 2 時点において、試験製剤の平均溶出率は参照製剤の平均溶出率の $\pm 15\%$ の範囲にある。

(イ) 参照製剤の溶出にラグ時間があり、かつ、参照製剤と試験製剤のラグ時間の差が 10 分以内の場合

- ① 溶出ラグ時間以降 15 分以内に参照製剤が平均 85 %以上溶出する場合には、試験製剤は溶出ラグ時間以降 15 分以内に平均 85 %以上溶出するか、又は参照製剤の平均溶出率が 85 %付近の時点において、試験製剤の平均溶出率は参照製剤の平均溶出率の $\pm 15\%$ の範囲にある。
- ② 溶出ラグ時間以降 15 分～ 30 分に参照製剤が平均 85 %以上溶出する場合には、参照製剤の平均溶出率が 60 %及び 85 %付近の 2 時点におい

て、試験製剤の平均溶出率は参照製剤の平均溶出率の± 15 %の範囲にある。

前述のラグ時間は、便宜上薬物が 5 %溶出するまでの時間で表す。

(ウ) 上記以外の場合

参照製剤の平均溶出率が 40 %及び 85 %付近の適当な 2 時点において、試験製剤の平均溶出率は参照製剤の平均溶出率の± 15 %の範囲にある。

イ 参照製剤の平均溶出率が規定された試験時間以内に 85 %に達しない場合

参照製剤が規定された試験時間における平均溶出率の 1 / 2 の平均溶出率を示す適当な時点、及び 6 時間目において、試験製剤の平均溶出率は参照製剤の平均溶出率の± 8 %の範囲にある。

(4) 成績試験の取りまとめ

成績資料は次の項目に沿って取りまとめる。

ア 参照製剤並びに試験製剤の名称及び製造番号又は製造記号

イ 剤型

ウ 参照製剤の成分及びその分量並びに試験製剤の成分及び分量

エ 有効成分の定量法

オ 溶出試験

(ア) 採用した溶出試験の条件及びその妥当性を示す根拠

- ① 原薬の最大溶解量
- ② 使用製剂量及び試験液の pH
- ③ 参照製剤及び試験製剤の選定

(イ) 成績

- ① 参照製剤及び試験製剤の成績
- ② 判定及び考察

カ 参考事項

pKa 及び物理化学的安定性、難溶性薬物にあつては原薬の粒子径あるいは比表面積及びそれらの測定法、結晶多形がある場合は多形の種類とその溶解性など、その他評価を行うに有用となる事項の概要

12 動物用医薬品の臨床評価に関する一般指針

(1) 目的

この指針は、動物用医薬品の製造販売承認申請等の目的で実施される臨床試験について、標準的な実施方法を示し、当該医薬品の有効性及び安全性の適正な評価に資することを目的とする。

なお、本来、すべての動物用医薬品について一律の試験方法を定めることは科学的妥当性がなく、また、個々の試験の進展に応じて新たな試験を追加する必要が生じることもあり得る。したがって、動物用医薬品としての有効性及び安全性を評価するための十分な試験成績が得られるならば、本指針以外の方法によることもできるものとするが、その場合は、十分な科学的根拠を持って、その試験の妥当性を主張することが必要である。

(2) 試験の進め方

ア 動物用医薬品の臨床試験の実施に関する基準の遵守

動物用医薬品の承認申請資料等の収集のための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」という。）を遵守すること。

イ 非臨床試験の実施

臨床試験の実施に当たっては、あらかじめ毒性試験、安全性試験、用量反応試験、残留試験等の非臨床試験を実施し、その結果から、薬効、毒性及び副作用の可能性などを十分に評価した上で、動物用医薬品としての有用性が期待できると判断された薬物のみを試験対象とすること。

ただし、臨床試験において最終の用量確認を行う場合には、用量反応試験は、あらかじめ基礎的な試験を行うことで差し支えないものとする。

ウ 治験実施計画書の作成

臨床試験の実施に当たっては、あらかじめ作成された治験実施計画書に沿って、適切に実施されることが必要である。したがって、治験実施計画書の作成に当たっては、それまでに集積された情報について十分な評価検討を行い、必要な項目について規定しておくこと。

なお、この際必要に応じ統計学的手法を用いることにより試験の観的評価を確保すること。

エ 臨床試験の実施

臨床試験の実施に当たっては、試験群の適切な無作為化、記録の徹底等による観性の確保を図り、科学的かつ合理的な正当性を主張できるものであることを原則とし、定められた事項は治験実施計画書に明示しておくこと。

(ア) 対象動物

臨床試験に用いる対象動物は、検体の適用を予定している動物であって、飼料及び医薬品の使用歴並びに検体の使用開始前における飼養方法等が明らかで、かつ、検体の有効性及び安全性を評価する上で適切なものを用いること。ただし、外で実施された臨床試験の対象動物は、検体の適用が予定さ

れている国内の現境にできるだけ類似した飼養条件下で飼育されたものであること。

(イ) 症例数

検体の有効性を評価する上で適切な統計処理が可能となる例数とすること（他に規定がない場合は、原則として、表1によるものとするが、臨床評価における妥当性が十分示される場合にはこの限りでない。）。

(ウ) 試験群（対照群を含む）の選定

試験群の選定に当たっては、あらかじめ選定基準を設定し、その基準に従って選定し、試験実施計画書に規定された方法で無作為化すること。対照群としては、薬効領域に応じ陽性対照群及び陰性対照群又はそのいずれか一方をおくこと。ただし、投与群の試験結果のみで医薬品の有効性及び安全性が判断できる場合は、対照群を省略してもよい。

なお、陽性対照群に用いる薬剤は、原則として日本において承認された薬剤（又はこれと同等な薬剤）とする。

(エ) 検体

検体は、原則として最終製品とし、適切を名称（記号等）を表示し、その取扱い、保管方法等を明示すること。

(オ) 試験実施方法

① 投与方法

臨床適用する検体の投与方法（経路、投与回数等）を設定すること。

② 投与量

非臨床試験等の成績から、妥当な投与量の推定を行い、臨床適用する検体の量を設定すること。

③ 投与期間

投与期間は、検体の臨床適用を予定している期間とする。投与期間に幅のある場合には、最短及び最長投与期間における有効性及び安全性が評価できる試験設計とすること。

また、投与期間を設定しない動物用医薬品については、当該医薬品の有効性及び安全性を 観的に評価するために十分な期間の試験計画の作成を行うこと。

④ 併用療法

効果の判定に影響を及ぼす併用療法は行わないこととするが、やむを得ず、併用療法を行うことが想定される場合には、その試験結果に及ぼす影響を考慮し、試験動物の除外、試験の中止基準等に反映させること。

(カ) 観察、測定又は評価項目とその方法及び期間

検体の有効性を主張するために必要な項目は、その評価方法について観察者の主観をできる限り排除し、より 観的な方法により評価されるよう具体的に設定しておくこと。

また、検体の安全性を適切に評価するための項目として、必要な臨床観察方法あるいは臨床検査方法をあらかじめ具体的に設定しておくこと。

さらに、検体の有効性及び安全性を評価するために十分な観察期間を設定すること。

(キ) 臨床効果の評価方法、その基準及びその記録方法

あらかじめ評価方法の妥当性について検討し、統一した判定基準を設定すること。また、評価に際しての記録方法を定めておくこと。

(ク) 除外、脱落、中止等の基準

試験対象からの除外、試験中の脱落及び試験の中止等に関する基準をあらかじめ設定しておくとともに、基準に変更があった場合には、その理由を明記すること。

(ケ) 評価に用いる統計解析方法

あらかじめ試験成績の統計解析方法の統計学的妥当性について検討し、当該検体に関する有効性等が適切に判断される方法を選択すること。

(コ) 試験終了後の動物の取扱い

試験終了後の対象動物については、その処分方法についてあらかじめ決定しておくとともに、その記録を保存すること。

特に食用に供される場合には、休薬期間の遵守等が図られるよう配慮すること。

(サ) 休薬期間

検体が食用に供される動物に投与される場合には、残留試験成績に基づき、十分な休薬期間を設定し、安全性を確保すること。また、設定した休薬期間については関係者への周知徹底を図ること。

(シ) 試験施設の条件

試験は、検体の有効性等を評価するために十分な設備を有する2か所以上の施設で行うこと。この場合、動物用医薬品に係る臨床試験にあつては、少なくとも1か所以上は国内の施設であること。

ただし、臨床試験を外国の施設で実施した場合であつて、測定項目又は作用原理が全く新しいものであるとき、被検微生物の血清型が多様であるため当該試験成績を直ちに国内の対象動物に適用することが困難なとき又は通常の飼養条件下から著しくかけ離れた条件下で試験が行われたとき等にあつては、国内の施設（動物用医薬品に係る臨床試験にあつては国内の施設又は国内の試験条件に類似した試験施設）における臨床試験成績を補完データとして要求することがある。

表 1 臨床試験の症例数

動 物 種	症 例 数
牛 馬 めん羊、山羊 豚 犬 猫 等	当該動物に対する効能につき 60 頭以上
家きんその他の動物	当該動物に対する効能につき 200 (頭) 以上
乳房炎の治療を目的とする 注入剤等の場合	40 頭 60 分房以上
養殖水産動物	養殖経営体における最小単位 (飼育面積 10 m ² 程度の最も小さなサイズの養殖 いけす等で差し支えない。)

12 - 1 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

(1) 目的

この指針は、動物用抗菌性物質製剤の製造販売承認申請等の目的で実施される臨床試験における有効性の評価方法を示し、対象疾病に対する当該製剤の有効性を適正に評価することを目的とする。

なお、本来、すべての動物用抗菌性物質製剤の臨床試験について、有効性の判定を一定の基準で行うことは合理的でなく、また、個々の試験の進展に応じて新たな試験を追加する必要性が生じることもあり得る。したがって、有効性の評価方法は、本指針に定められたものに限らない。

(2) 試験群（対照群を含む。）の選定

臨床試験の実施に当たっては、原則として、被験薬投与群の他に対照群として無投与対照群及び対照薬投与群又はそのいずれか一方を設定する。供試する対照薬は、日本において承認された薬剤（又はこれと同等な薬剤）であって、効能及び効果が被験薬と類似のものとする。

なお、上記以外の試験群の設定を行う場合は、その科学的妥当性を明確に示すこととする。

(3) 臨床徴候の評価法

当該製剤の対象疾病に対する臨床上的有効性を評価するために必要かつ妥当な臨床徴候については、観察者の主観をできる限り排除し、より観的な方法により評価されるよう、各臨床徴候ごとに具体的な評価基準を設定し、その評価基準に従って臨床徴候をスコア化する。その際、スコアの配点は正常状態を0、異常の程度により加算していくこととし、その配点の根拠を明確に示すこととする。また、死亡例のスコアの配点は、設定された各項目の最高スコアの合計点とする。

(4) 各検体における有効性の判定

各検体における臨床上的有効性については、次の式により各検体のスコアから臨床スコア改善率を求め、臨床スコア改善率が85%以上となった場合を「著効」、85%未満70%以上となった場合を「有効」、70%未満となった場合を「無効」と判定することとする。

$$\text{臨床スコア改善率} = \frac{\text{投薬前スコア合計点} - \text{投薬後スコア合計点}}{\text{投薬前スコア合計点}} \times 100$$

(5) 被験薬の有効性の判定

被験薬の有効性については、次の式により被験薬投与群の有効率を求め、アからエまでに従って判定する。

$$\text{被験薬投与群の有効率} = \frac{\text{著効例数} + \text{有効例数}}{\text{判定可能な例数}} \times 100$$

ア 無投与対照群及び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%以上かつ対照薬投与群に比べ同等以上であって、無投与対照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。

イ 無投与対照群のみ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、かつ無投与対照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。

ウ 対照薬投与群のみ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。

エ その他

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。

(6) その他の有効性評価資料

当該製剤の対象疾病に対する臨床上の有効性を評価するための資料として、臨床試験資料には原則として次のものを添付することとする。

ア 剖検所見成績

効果判定の後に、供試した検体を用いて病変を検索した成績。

イ 菌分離成績

効果判定の後に、供試した検体から起因菌を分離し、その消長を検索した成績

ウ 薬剤感受性試験成績

臨床試験期間中に分離した起因菌について、当該製剤と他の抗菌性物質との薬剤感受性の比較をした成績

エ 転帰に関する成績

判定後の状態により、再発の有無を観察した成績

オ その他

必要に応じて、経済効果、治癒の早さ等の検討を行った成績

13 駆虫薬有効性評価ガイドライン

13-1 駆虫剤の有効性評価基準：一般ガイドライン（VICH GL7）

（1）はじめに

承認取得のために用意されるデータセットにおいて、異なった資料が要求されることが減ったりなくなったりすることによって、研究開発経費は著しく減少し、製品の承認手続には前向きな影響を及ぼす。試験が不必要に重複されなくなることは、動物用駆虫薬の安全性と有効性を証明する試験に必要な動物の頭数を減らすことになり、動物の福祉にも役立つであろう。さらに、少量動物種の治療に用いる製品の承認を取得する場合にも資料が一組で足りるという利点が生じる。

政府規制当局も統一基準を受け入れることによって、承認手続の簡素化及び作業の合理化につながる。

この一般ガイドラインは、飼育動物における新駆虫剤及び後発品の評価に用いられる方法の標準化と簡素化に大きく貢献する。この一般ガイドラインは、牛、羊、山羊、馬、豚、犬、猫及び家禽の動物種別ガイドラインによって補足されている。これらの個別ガイドラインは、他種の動物には用いられない。

ガイドラインは、以下の条件を満たす。

ア 各国内で有効性の適正基準を作成する政府担当官にとって、モデルとなること。

イ 駆虫剤の有効性を効率的に証明するための基本計画を立てる研究者を助けること。

ウ 薬剤の試験回数と試験に用いる実験動物の頭数を最適化すること。これは、全体的な経費の削減に役立つだけでなく、重要な動物福祉への配慮でもある。

本ガイドラインの目的は、厳格な規制を課すものではなく、必要な最小限度の基準を明確に提示することである。本来、ガイドラインは、多数の項目を規定するものであるが、あらゆる状況を網羅しているわけではない。個々の事例についてそのメリットを考える必要があり、特別な状況において別の方法がより適切と思われたら、逸脱の合理的論拠を用意し、試験を開始する前に関係当局と話し合うべきである。公表されたデータも有効性の主張を裏付ける重要な証拠として利用できることがある。この代わりとなる方法については、あらかじめ関係規制当局と話し合っておくべきである。国際的データの受け入れが、VICHガイドラインの重要な論点であることを強調する。

（2）一般ガイドライン

本ガイドラインは、一般的事項と特定の評価試験の二つの項目に分けられている。一般的事項の項目には、臨床試験の実施に関する基準（GCP）、有効性データの評価、感染のタイプと寄生虫株、製品の同等性、有効性の計算についての勧告、有効性の基準及び虫の効能の定義が含まれる。特定の評価試験の項目には、用量決定、用量確認、野外有効性試験及び持続効果試験が含まれる。

ア 一般的事項

(ア) GCP

すべての臨床試験に GCP の原則を適用すべきであり、試験の依頼者は、GCP 勧告の原則の範囲内で行動すべきである。非 GCP 試験は、非中心的なものであり、補助的データとして用いてもよい。

(イ) 有効性データの評価、自然感染又は人工感染の使用、実験室（虫）株と野外株の定義

有効性データの評価は、用量決定及び用量確認試験では虫体数（成虫、虫）に基づいて行い、野外試験の有効性の評価では虫卵数又は虫の同定が望ましい方法である。用量決定及び用量確認試験は、いずれも対照を置いた試験と厳密試験が受け入れられる。しかし、対照を置いた試験が望ましく、厳密試験による試験を選択した場合には試験依頼者の説明によって裏付ける必要がある。

有効性の試験を行う場合に自然感染と人工感染のどちらを用いるかは、寄生虫のタイプ及び試験の依頼者が意図する効能によって決定される。少であるが家畜伝染病として重要な寄生虫の場合に、人工感染が唯一の方法である場合がある。

人工感染を行う場合には、一般に最近分離した野外株が望ましいが、実験室株を使用できる場合もある（用語集参照）。野外株は、自然界における寄生虫の現在の状況をより正確に反映すると考えられる。試験に使用する実験室株については、由来、維持方法、薬剤感受性、継代数及び対象宿主における予測定着率のような特性を、最終報告書に含めなければならない。野外分離株についても、由来、分離した日付、場所、過去の駆虫剤ばく露及び維持方法を含む特性を記載することが必要である。

(ウ) 製品の同等性

製品の同等性の原則は、同じ既承認活性成分を含む2製品、例えば後発品が同じ用量、同じ投与経路で同じ宿主に用いられる場合に利用できる。同じ既承認成分で、対象となる寄生虫の好発部位だけでなく薬物の動態特性が変わらない既承認製品の処方変更には、製品の同等性を明らかにする試験法を用いるべきである。

血中濃度が測定可能で体内に吸収される薬物の場合、もしくは血中濃度が測定可能で薬物動態のパラメーターと有効性が相関している薬物の場合には、血中薬物濃度の生物学的同等性試験を用いることは可能である。特に薬物動態パラメーターが有効性と相関しない場合には、臨床的効能のために用量限定寄生虫を用いた2回の用量確認試験及び（又は）種ごとの効能を示す2回の持続効果試験が代わりに必要となる。

(エ) 有効性の計算についての勧告

有効性を裏付ける寄生虫のデータの解析には、治療効果を反映すると考えられる糞便中虫卵数及び虫体数等の幾つかの寄生虫学的指標が用いられる。大多数の自然感染及びそれよりは少ないが人工感染において、同様に治療した動物のデータ値の間に大きなばらつきが認められる。このため、例数を増

やすための追加試験の実施が必要とされる場合もある。

① データ解析についての勧告

試験の統計的解析は、2段階の手順による。治療群と対照群の間に統計的有意差があること及び算出された有効率が90%であることが駆虫剤の承認のために必要である。

統計的解析の方法は、データ解析を行う以前のプロトコルの段階で試験依頼者が決定しておかなければならない。ノンパラメトリック法でもパラメトリック法でもよい。試験依頼者は、治療群と対照群の間に統計的有意差を証明できたら、次に幾何平均を用いて有効率(%)を計算する。製品が承認されるためには算出された有効率が少なくとも90%でなければならない(有効性の基準を参照)。

② 幾何平均か算術平均か

幾何平均と算術平均のどちらを用いるかによって、有効率に差がみられる場合がある。しかし、ハーモナイゼーションするために、平均値を計算するための唯一の方法を勧告する必要がある。対数変換した虫体数又は虫卵数は、対数変換しない場合よりも、正規分布に近づく傾向があるので、算術平均より幾何平均のほうが中心の傾向を推定するのに適しており、誤解の可能性が少ない。有効性の評価に算術平均を使用すると、製品の治療効果がより控え目に推定されるので、より厳しい基準と考えられていて、算術平均は特別な状況のみに用いられるかもしれない。

幾何平均による有効率の計算は、用量決定、用量確認、野外及び持続効果の各試験に必要である。算術平均の使用が受け入れられる状況もあり得る。

③ 動物の頭数(用量決定、用量確認及び持続効果試験)

各試験群に必要な動物の頭数は重要な点である。動物の頭数は、適切な統計的解析法に従ってデータを統計的に処理できなくてはならないが、各試験群に少なくとも6頭の動物を用いることを最低の条件とする。

④ データのプール

データのプールは、一定の基準に従った場合に認められる。データのプールを意図している試験依頼者は、用量確認、野外及び持続効果の各試験に適用する総括プロトコルが標準化されていることを確認する必要がある。動物又は動物群の数、寄生虫の数、動物のタイプ及び実験条件を同一にしなくてはならない。データをプールして用いる場合には、異常な結果について規制当局に説明しなければならない。

データのプールは、2回以上の試験を行い(イの(イ)以下に定義されたように)、そのほとんどの試験が90%以上の有効率である場合に用いることができるものとする。言い換えれば、最小3実験のうち2実験以上は90%以上の有効性がなければならない。プールされたデータの最終的な有効率は、90%以上でなくてはならない。

少寄生虫については、別の方式を使わなければならない(すなわち、

試験回数を増やす必要があるかもしれない)。

幾何平均はすべての対照値を用いて計算しなくてはならない。つまり、対照群の寄生虫数ゼロの個体とそれに対応する数の治療動物をデータから脱落させることは許されない。

⑤ 感染の十分さ

感染の十分さについての普遍的な定義は、評価すべき 虫の属、種及び株が多 にわたることから、明確にできない。さらに、試験に供される株は、感染性と病原性が ニークな特性を持っていることがある。しかしながら、試験プロトコールの作成に当たっては感染の十分さについて記述すべきであり、特に個々の対照動物の感染レベル並びに感染が成立した対照動物数の統計的、寄生虫学的及び臨床的な適切さの点について記述されなければならない。対照動物における感染のレベルとその分布は、統計的及び生物学的な確信と信頼を満たす適切な基準に合致しなくてはならない。しかしながら、各 虫種が許容される最小限の感染に達していれば、複数種感染でもよい。

対照群すべての動物が感染している場合には、対照群の幾何平均虫体数の 95 %信頼限界の下限値を計算する統計的方法を用いることができる。この値が対照群の幾何平均虫体数の 10 %を えていれば、感染は十分であるといえる。対照群の動物の一部が感染していない（虫体数ゼロ）場合には、幾何平均の代わりに中央値を用いるべきであり、95 %信頼限界は対照群の虫体数の中央値によるべきであろう。しかしながら、関連する各動物種のガイドラインに示されているように（少なくとも）6頭（ ）の動物は十分に感染している必要がある。

⑥ 部分標本の大きさ

寄生虫数を計数するための部分標本の大きさは、少なくとも全体の2%にすべきである。部分標本の大きさをもっと小さくするときには、妥当性の説明が必要である。

(オ) 有効性の基準

ある化合物の有効性を述べるためには、表示する各寄生虫に対する有効率がデータの幾何平均の計算によって 90 %以上であり、かつ対照動物と治療動物の寄生虫数の間に統計的有意差があることが必要である。しかしながら、特定の寄生虫感染の流行している地域ではもっと高い有効率を求める場合があり、特に薬剤の効能が 野の汚染の防止を目的にしているときはその必要がある。これらについては動物種ごとのガイドラインに記載する。一方、承認を求める寄生虫に有効な治療法が全くない場合には、90 %未満の有効率でも認められることがある。

(カ) 虫の効能の定義

表示しようとする効能のタイプは、寄生虫の同定によって決まる。成虫については、種の効能が強く推奨される。しかし、未成熟虫については、その属に2種以上の種がある場合に特定できないので、属の効能も受け入れるべ

きである。種の効能を取得する場合、それぞれの寄生虫種について2回の用量確認試験が必要である。

イ 特定の評価試験

すべての新しい駆虫剤の評価に、用量決定、用量確認及び野外有効性の3種類の評価試験が用いられる。駆虫剤の持続効果を明らかにするためには、そのための特別な試験が必要である。

(ア) 用量決定試験

用量決定試験（以前は用量設定試験と呼ばれていた。）の目的は、個々の対象動物に推奨される用量を決定することである。この試験は、最終処方を用いて実施してもよく、そうでなくてもよい。しかし、最終処方を用いない場合には、処方変更の妥当性を科学的に説明しなければならない。一部の規制当局は、投与量を支持する代わりにデータがあれば、用量決定試験を要求しない場合がある。後発品については、活性成分の最適投与量が既に一般的に認められている場合には、用量決定試験は必要ない。

ある駆虫剤について広範囲な効能を取得する場合には、効能に含まれる用量限定種が浸率の高い種か低い（希少）種かとは無関係に、その用量限定種を用量決定試験に含めなくてはならない。試験依頼者は、家畜衛生に対する影響を考慮して寄生虫種を選択すべきである。効能を取得しようとする寄生虫種に対する有効性の確認は、用量確認試験においてなされる。

一種の寄生虫（例えば *Dirofilaria immitis*）だけを効能にする場合には、寄生虫種の数及び用量限定種についての考察は不要である。

用量決定試験には、少なくとも用量の異なる三つの治療群と、一つの無治療対照群を含めるべきであり、例えば、予期する用量の0、0.5、1及び2倍とする。用量の範囲は、予備試験に基づいておよその有効量を含むように選択すべきである。用量を選択した場合、その根拠を説明する必要がある。選定した各寄生虫について、治療群と無治療群は、少なくとも6頭の十分に感染した動物で構成すべきであるが、感染レベルに何らかの疑いがある場合には、適宜、動物数を増やすべきである（データ解析を参照）。

用量決定試験は、ある寄生虫の虫期が用量を決定するという情報が存在するあるいは効能が特定の寄生虫の虫期だけを標的にする（例えば、*Dirofilaria immitis*）場合を除いて、成虫を用いて実施すべきである。用量決定試験は、自然感染を用いて実施してもよいが、人工感染が望ましい。人工感染には実験室株でも、最近の野外分離株（用語集参照）でも使うことができる。

(イ) 用量確認試験

本試験は、その薬剤の市販しようとする最終処方を用いて実施すべきであり、また、既知の薬剤耐性寄生虫株で実施すべきではない。成虫に対する有効性を調べる場合には、自然感染動物が望ましいが、1回の試験は、最近の野外分離株を用いる人工感染でもよい。少寄生虫種については、実験室株を用いてもよく、その製品の承認を取得しようとする地域の外で試験を行っ

てもよい。虫期に対する用量確認試験は、人工感染を用いて行うべきである。試験依頼者は、この勧告から逸脱する場合は説明する必要がある。発育休止期に対しては、自然感染だけを用いることが勧められる。

個々の効能について少なくとも2回の対照を置いた、あるいは、そのほうが適当なら、厳密な用量確認試験が必要である（単独又は複数種感染）。異なった地域、気候、各畜産環境において行われた動物試験において、種々の寄生虫種に対する有効性を立証する2回の試験は最低限必要である。この試験のうち1回は、登録される適用地においてなされるべきであり、これらの試験は、承認を得ようとする地域の種々の条件を十分に反映した条件下で実施すべきである。特定の地域で寄生虫が特に希である場合には、2回の試験をその地域の外で実施してもよい。最終処方を用い、表示の推奨どおりに投与した用量決定試験は、用量確認試験の一つの代わりとすることができる。

各試験は、治療群に少なくとも6頭の十分に感染している動物で行うべきである。感染の十分さは、プロトコルの段階で規定しておくべきである。試験開始時にその寄生虫あるいはそのステージの虫に十分感染している動物を少なくとも1頭確保するためには、治療の前に十分な数の自然感染動物を検査すべきである（有効性の計算の勧告を参照）。

(ウ) 野外有効性試験

本試験は、市販しようとする製品の最終処方を用いて、有効性と安全性を確認するために行われる。実施すべき野外試験の回数及び各試験に供する動物は、a) 動物種、b) 適用地域及びc) 国又は地域の状況によって異なる。対照、すなわち無治療動物又は効能既知の既承認の駆虫剤で治療する動物は、治療する動物数の少なくとも25%と同等な頭数にすべきである。国又は地域とは、ある国及び（又は）その連合体の中で、気候及び（又は）飼養管理が似ている地域を意味する（用語集参照）。要求される頭数に到達するために、国／地域における多施設での分割試験を実施してもよい。試験及び（又は）動物数（動物福祉への配慮）の追加（又は減少）についての各国規制当局による要求は、妥当性を十分に説明する必要がある。製品の試験は、必ず製剤の表示に示した治療の対象となる動物の品種、年齢範囲、クラス、用途について実施すべきである。

(エ) 持続効果試験

最近の広範囲抗寄生虫化合物は、治療動物体内に親化合物又は代謝物の残存効果があるために、持続有効性を示すことがある。これらの効能は、糞便1g当たりの虫卵数によってではなく、実際の虫体の計数によってのみ明らかにできる。7日未満の活性は、持続効果と考えるべきではなく、持続効果を効能とする場合には、日数を明記すべきである。プロトコルのタイプは動物種によって異なるので、個々の対象動物種のガイドラインで定める。

持続性の効能（期間と寄生虫種について）をいうためには、無治療群と治療群のそれぞれについて、虫体数計測による2回の試験を行うべきである。治療群には少なくとも6頭の十分に感染した動物を用いるべきである。持続

性の効能は、種ごとに与えるべきであろう。

(3) 用語集

- 十分な感染 : 投与動物と対照動物の寄生虫学的指標 (例えば、虫体数) を比較したときに、薬剤の治療効果の評価が可能となる、試験プロトコールに規定された自然又は人工感染のレベル
- 部分標本の大きさ : 寄生虫数を計数するために採取する消化管又はその他 (肺など) の内容物の (既知量の) 標本
- 効能 : ある駆虫剤に感受性 (90 %以上の有効率) が証明されて、表示に記載されている寄生虫種又は属 (成虫及び (又は) 虫)
- 対照を置いた試験 : 薬剤の有効性を試験する方法の一つ。十分に寄生している動物を各治療群と対照群に用いる。治療後に適当な期間において動物を剖検し、寄生虫を計数し、同定する。化合物の有効率は、 $[(\text{対照群の虫体数の幾何平均}) - (\text{治療動物の虫体数の幾何平均})] \div [\text{対照群の虫体数の幾何平均}] \times 100 = \text{その寄生虫又は発育期 虫に対する有効率} (\%)$ 、で計算する。この試験は、最も広く使用されており、標本の大きさが同じであるときに用いることができる。
- 厳密試験 : 治療後の動物から回収された寄生虫数と剖検時に腸内にいた寄生虫数を加えて、治療時に動物体内にいた寄生虫の総数と考えることで行われる試験法。有効率は、 $[\text{排出された虫体数}] \div [(\text{排出された虫体数}) + (\text{残存していた虫体数})] \times 100 = \text{個々の動物における有効率} (\%)$ で計算する。
- 用量確認試験 : 選定した用量の有効性を確認する *in vivo* 試験。実験室で実施してもよく、野外で実施してもよい。
- 用量決定試験 : 動物用医薬品の至適用量又は用量範囲を決定する *in vivo* 試験
- 用量限定寄生虫 : 90 %の有効率を示す薬剤の用量を決定するための用量決定試験中に認識される寄生虫。その用量以下で宿主体内の他の寄生虫を十分治療できても (90 %以上の有効率)、用量限定寄生虫に対する有効率は 90 %を下回るようになる。
- 有効性 : 対照を置いた試験のプールしたデータの幾何平均の計算に基づいて、少なくとも 90 %の有効率を示す十分なデータで裏付けられ、メーカーがラベルに表示する効果の程度
- 野外有効性試験 : 動物用医薬品の有効性と安全性を実際の使用条件下で明らかにするための大規模試験
- GCP : 試験データの質と妥当性を向上させることを意図した一連の勧告。組織 成の手順並びに試験を計画し、実施し、

	監視し、記録し、報告する条件が含まれている。
後発医薬品	：後発医薬品は、既承認の動物用医薬品と活性成分や投与量が同じで、既承認の動物用医薬品製剤と生物学的に同等であるということの証明により承認される。地域の既成条件に従って提出されなければならない。
適用地域	：このガイドラインが施行されるであろう地域、例えば、日本、EU、米国、オーストラリア及びニュージーランド
野外分離株	：野外から分離して 10 年未満の、薬剤の有効性試験を実施するための 虫の亜集団。これらの 虫は、野外における現在の寄生虫感染を代表すると考えられ、特性（由来、分離の日付、場所、以前の駆虫剤ばく露歴及び維持方法）が明らかにされているもの
実験室株	：野外から分離されてから少なくとも 10 年を経過した 虫の亜集団で、実験室において特性が明らかにされ、特定の抗寄生虫化合物に対する耐性のような特殊な研究領域のために実験室に集められているもの
少寄生虫	：浸 率の低い寄生虫種で、明らかな 患及び臨床症状をもたらすこともあり、そうでないこともあり、多くは特定の地域に限局して存在する。
地域	：適用地域内における気象条件、対象動物の飼育管理及び耐性寄生虫の流行によって規定される区域
VICH	：動物用医薬品規制のハーモナイゼーションに関する国際協力

13 - 2 駆虫剤の有効性評価基準：牛ガイドライン（VICH GL12）

（1）はじめに

牛についての本ガイドラインは、VICH 駆虫剤ガイドライン作業部会が作成した。本ガイドラインは、駆虫剤の有効性を証明する中心的データに関して一般的な見地から作成された「13 - 1 駆虫剤の有効性評価基準：一般ガイドライン」（VICH GL7。以下「一般ガイドライン」という。）と合わせて読むべきである。この文書は、両方の文書の読者が読み比べ易いように一般ガイドラインと同様の構成にしてある。

本ガイドラインは、一般ガイドラインを補足するものであり、a) 一般ガイドラインでは考察しなかった牛に特有な幾つかの問題を詳しく述べ、b) 有効性データの要件における一般ガイドラインとの違いを明らかにし、c) 一般ガイドラインとの違いを説明することが目的である。

試験を行う上での技術的方法は、このガイドラインの目的ではないことに注意することも重要である。試験依頼者は、関連する方法について詳細に記述された他の公表資料、例えば WAAVP Second Edition of Guidelines for Evaluating the Efficacy of Anthelmintics in Ruminants (Bovine, Ovine, Caprine), Veterinary Parasitology 58 : 181-213, 1995 を参照することを勧める。

（2）一般的事項

ア 有効性データの評価

厳密試験は、一般に反 動物では信頼性があるとは考えられないので、成虫 / 虫の虫体数に基づく対照を置いた試験だけが用量決定試験及び用量確認試験として認められる。虫卵測定 / 虫の同定は、野外有効性試験での有効性評価のために推奨される方法である。長時間作用製剤又は徐放製剤は、他の治療用駆虫剤と同じ評価手順に従う。寄生虫感染の十分さは、地域的な流行あるいは歴史的及び（又は）統計的データに応じて試験設計書の中に定義しておく。

イ 自然又は人工感染の使用

用量決定試験は、一般に実験室株又は最近野外から分離した株による人工感染を用いて実施すべきである。*Toxocara vitulorum*、条虫類及び *Dicrocoelium dendriticum* は、経験が少ないので、人工感染ではなく自然感染を行うのがよいかもしれない。

用量確認試験は、自然感染動物を用いるべきであるが、人工感染又は自然感染動物に既に感染している寄生虫に干渉しない寄生虫を更に人工感染させて実施することもできる。この方法は広範囲の寄生虫に対して許可される。四期子虫に対する効能は人工感染で行う。発育休止期の 虫に対する効能には、自然感染を用いる。試験依頼者は、試験動物において対象とする特定の寄生虫種の発育休止期の 虫が最大限に蓄積する時期を うべきである。これは地方又は地域によって異なるであろう。各地域での特徴の詳細については、ケースバイケースに専門家から情報を入手する。動物は、いずれの場合にも（再感染を避けるために）治療前少なくとも2週間は舎飼いする必要がある。

持続効果試験は、最近野外から分離した株の人工感染を用いる。

人工感染試験に使用した寄生虫の経歴を、最終報告書に含む。

ウ 人工感染に推奨される感染型寄生虫の数

用いる寄生虫数は、大まかなものであり、使用する分離株によっても異なってくる。感染に使用した 虫の最終的な数を最終報告書に含まなくてはならない。感染モデルが存在する寄生虫種について、表 1 に推奨される数を示す。

表 1 駆虫剤評価のために牛に十分な感染を起こさせる感染期虫体数

寄生虫	虫卵、虫体数
第四胃	
<i>Haemonchus placei</i>	5,000 – 10,000
<i>Ostertagia ostertagi</i>	10,000 – 30,000
<i>Trichostrongylus axei</i>	10,000 – 30,000
腸	
<i>Cooperia oncophora</i>	10,000 – 30,000
<i>C. punctata</i>	10,000 – 15,000
<i>T. colubriformis</i>	10,000 – 30,000
<i>Nematodirus spathiger</i>	3,000 – 10,000
<i>N. helvetianus</i>	3,000 – 10,000
<i>N. battus</i>	3,000 – 6,000
<i>Oesophagostomum radiatum</i>	1,000 – 2,500
<i>O. venulosum</i>	1,000 – 2,000
<i>Chabertia ovina</i>	500 – 1,500
<i>Bunostomum phlebotomum</i>	500 – 1,500
<i>Strongyloides papillosus</i>	1,000 – 200,000
<i>Trichuris</i> spp.	1,000
肺	
<i>Dictyocaulus viviparus</i>	500 – 6,000
肝	
<i>Fasciola hepatica</i> (メタセルカリア)	
成牛の場合	1,000
牛の場合	500 – 1,000

エ 有効性の計算についての勧告

(ア) 効能を認める基準

効能を認めるためには、以下の中心的データが含まれる必要がある。

- ① 少なくとも 6 頭の十分に感染した非治療対照群と 6 頭の十分に感染した治療群をそれぞれ使用した 2 回の用量確認試験；
- ② 治療動物と対照動物の虫体数の差が統計的に有意 ($p < 0.05$) であること。
- ③ 変換 (幾何平均) データを用いて算出した有効率が 90 % 以上であること。

と；

④ 試験に用いた動物の感染が歴史的及び寄生虫学的及び（又は）統計的基準に基づいて十分と考えられること。

有効性の基準（90 %以上）は、宿主動物から取り出した寄生虫数から計算する。しかし、胃腸内寄生虫の流行により 場の汚染を予防する目的で駆虫剤を用いる場合は、より高い有効性基準を用いてもよい。試験依頼者は、試験開始前に規制当局と相談すべきである。

(イ) 動物数（用量決定、用量確認及び持続性試験）

各実験群に必要な最少動物数は、重要な点である。動物数は、適切な統計的解析法によって統計的にデータを処理できる可能性にもよるが、ハーモナイゼーションを達成するために、各実験群に少なくとも6頭の動物を含めることを最低条件とする。

対照群に十分に感染した動物を6頭含んでいない幾つかの試験がある場合（例えば、重要な希少寄生虫）に、それらの試験で得られた成績を12頭分集めてプールし、統計的有意性を計算してもよい。差が有意であれば（ $p < 0.05$ ）、有効率が計算でき、感染が十分であると思われれば、効能が認められることがある。集団の成績を適切かつ意味のある推定と認めるためには、試験を行った実験室間の採材手技及び虫体数の評価を同じようにしておかねばならない。

(ウ) 感染の十分さ

最少限の十分な数について、最終報告書を提出するときに統計的及び歴史的データ、文献検索あるいは専門家の証言に基づいて判断すべきであろう。効能を認めるのに十分と考えられている牛の 虫（成虫）数の範囲は種によって異なる。一般に十分と考えられる線虫の最少平均虫体数は100である。

Bunostomum spp.、*Oesophagostomum* spp.、*Trichuris* spp.及び*Dictyocaulus* spp.についてはもっと少数でもよいと考えられる。*Fasciola* sp.については、平均20の成虫で十分と考えられる。

(エ) 効能表示

成虫の効能を取得するには、一般原則として、感染後21～25日未満で投薬すべきではなく、ほとんどの種は28～32日が最適である。主な例外は*Oesophagostomum* spp.（34～49日）、*Bunostomum* spp.（52～56日）、*Strongylode papillosus*（14～16日）及び*Fasciola* spp.（8～12週）である。L4の効能を取得するには、一般原則として、感染後以下の日数で治療を行うべきである；*Strongyloides papillosus*（3～4日）、*Haemonchus* sppと*Trichostrongylus* sppと*Cooperia* spp.（5～6日）、*Ostertagia* spp.と*Dictyocaulus viviparus*（7日）、*Nematodirus* spp.（8～10日）、*Oesophagostomum* spp.（15～17日）。*Fasciola* spp.においては、初期 虫（1～5週）、後期 虫（6～9週）とすべきである。

オ 治療法

製品の投与方法（経口、非経口、外用、徐放など）、処方及び活性の強さが

試験計画を設計する上で重要である。外用剤の有効性については、天候や動物相互の関係を考慮することが望ましい。徐放剤については、例えば提案する治療期間のすべての時点で血中濃度が安定状態にあるというような情報が加わることで検査が不要であることが示されない限り、提案する有効期間の全体にわたって検査をすべきである。

治療経路。飲水中又はプレミックスに添加して投与される薬剤は、できる限り、表示どおりに行う。メディケートドプレミックスには好性試験が必要な場合がある。薬剤を添加した水又は飼料から試料を採取して、薬剤濃度を確認する。各動物に投与した薬剤添加飲水または飼料の量を記録して、治療が表示どおりに行われていることを確認する。外用する製剤については、有効性の評価に天候（降、紫外線）及び被毛の長さの影響を含む。

カ 動物の選別、割り付け及び取扱い

試験動物は臨床的に健康で、効能を主張しようとする動物の年齢、性別及び類別を代表するものにすべきである。一般に、動物は、3か月齢以上の反を
している牛にする。動物は、無差別に各治療群に割り付ける。体重、性別、年齢及び（又は）寄生虫ばく露によるブロック化は、繰り返し試験においてばらつきを減らすのに役立つかもしれない。糞便中の虫卵／虫数も実験動物の割り付けに適当な方法である。

人工感染の場合には、虫未感染の動物を用いることを推奨する。虫がいない環境で飼育された動物でない場合には、化学的に試験製剤と相互関係のない既承認の駆虫剤で感染寄生虫を駆除し、糞便検査を行ってその動物に虫がいないことを確認する。

畜舎、餌及び飼育は動物福に従うべきであり、動物は、各国の衛生基準に従ってワクチンを接種する必要がある。この情報は、最終報告書に記載する。少なくとも7日の順化期間をとることが勧められる。畜舎と飼料－水は、各地域に応じて適切なものにすべきである。動物は、毎日観察して副作用を明らかにする。

(3) 特定の評価試験

ア 用量決定試験

動物種に特異的な事柄なし。

イ 用量確認試験

用量確認試験はそれぞれの効能を裏付ける必要がある。：成虫、虫及び、それが当てはまるなら、発育休止期の虫について。

ウ 野外有効性試験

動物種に特異的な事柄なし。

エ 持続有効性試験

持続有効性の効能を調べるために、二つの基本的試験設計が使用されている。一つは単回攻撃を用いるものであり、他方は治療後に毎日、複数回の攻撃を行うものである。両方の方法のための標準化されたプロトコールは開発されていない。試験を行う場合、プロトコールの詳細を以下のような事柄の間に含む。

：試験期間中の子虫の生存、子虫攻撃の根拠、と殺時点の正当性。寄生虫に未感染の牛はこれらの試験に推奨される。試験のデザインは自然状態に最も近い複数回投与を推奨する。

持続性の効能を取得する最低限の要件は（それぞれの期間及び寄生虫について）、それぞれに非治療群と一つ以上の治療群を含む2回の試験（虫体数による）を行うことである。治療群には十分感染している動物が少なくとも6頭含まれているべきである。持続性の効能は、種ごとにしか認められない。

複数回攻撃法を用いる場合、各動物群に投薬し、その後7、14、21日又はそれ以上にわたって毎日、自然又は人工的に攻撃にばく露し、最後（又はそれ以前の）の攻撃から約3週間後に動物の虫体数を調べる。攻撃の間隔と計画はより特効性の製剤の場合は変更される。

持続性の効能は、幾何平均による少なくとも90%の有効率で裏付けられるべきである。

13 - 3 駆虫剤の有効性評価基準：羊ガイドライン（VICH GL13）

（1）はじめに

羊についての本ガイドラインは、VICH 駆虫剤ガイドライン作業部会が作成した。本ガイドラインは、駆虫剤の有効性を証明する中心的データに関して一般的な見地から作成された「13 - 1 駆虫剤の有効性評価基準：一般ガイドライン」（VICH GL7。以下「一般ガイドライン」という。）と合わせて読むべきである。この文書は、両方の文書の読者が読み比べ易いように一般ガイドラインと同様の構成にしてある。

本ガイドラインは、一般ガイドラインを補足するものであり、a) 一般ガイドラインでは考察しなかった羊に特有な幾つかの問題を詳しく述べ、b) 有効性データの要件における一般ガイドラインとの違いを明らかにし、c) 一般ガイドラインとの違いを説明することが目的である。

試験を行う上での技術的方法は、このガイドラインの目的ではないことに注意することも重要である。試験依頼者は、関連する方法について詳細に記述された他の公表資料、例えば WAAVP Second Edition of Guidelines for Evaluating the Efficacy of Anthelmintics in Ruminants (Bovine, Ovine, Caprine), Veterinary Parasitology 58 : 181-213, 1995 を参照することを勧める。

（2）一般的事項

ア 有効性データの評価

厳密試験は、一般に反 動物では信頼性があるとは考えられないので、成虫 / 虫の虫体数に基づく対照を置いた試験だけが用量決定試験及び用量確認試験として認められる。虫卵測定 / 虫の同定は、野外有効性試験での有効性評価のために推奨される方法である。長時間作用製剤又は徐放製剤は、他の治療用駆虫剤と同じ評価手順に従う。寄生虫感染の十分さは、地域的な流行あるいは歴史的及び（又は）統計的データに応じて試験設計書の中に定義しておく。

イ 自然又は人工感染の使用

用量決定試験は、一般に実験室株又は最近野外から分離した株による人工感染を用いて実施すべきである。感染モデルが存在しない寄生虫 (*Protostorongylidea*、条虫類、*Dicrocoelium* spp.) の場合には、人工感染の代わりに自然感染を用いるのがよい。

用量確認試験は、自然感染動物を用いるべきであるが、人工感染又は自然感染動物に既に感染している寄生虫に干渉しない寄生虫を更に人工感染させて実施することもできる。この方法は広範囲の寄生虫に対して許可される。四期子虫に対する効能は人工感染で行う。発育休止期の 虫に対する効能には、自然感染を用いる。試験依頼者は、試験動物において対象とする特定の寄生虫種の発育休止期の 虫が最大限に蓄積する時期を うべきである。これは地方又は地域によって異なるであろう。各地域での特徴の詳細については、必要ならばケースバイケースに専門家から情報を入手する。動物は、いずれの場合にも（再感染を避けるために）治療前少なくとも2週間は舎飼いする必要がある。

持続効果試験は、最近野外から分離した株の人工感染を用いる。

人工感染試験に使用した寄生虫の経歴を最終報告書に含む。

ウ 人工感染に推奨される感染型寄生虫の数

用いる寄生虫数は、大まかなものであり、使用する分離株によっても異なってくる。感染に使用した 虫の最終的な数を最終報告書に含まなくてはならない。感染モデルが存在する寄生虫種について、表 1 に推奨される数を示す。

表 1 駆虫剤評価のために羊に十分な感染を起こさせる感染期虫体数

寄生虫	虫卵、虫体数
第四胃	
<i>Haemonchus contortus</i>	400 – 4,000
<i>Teladorsagia circumcincta</i>	6,000 – 10,000
<i>Trichostrongylus axei</i>	3,000 – 6,000
腸	
<i>Cooperia curticei</i>	3,000 – 6,000
<i>T. colubriformis</i> & <i>T. vitrinus</i>	3,000 – 6,000
<i>Nematodirus</i> spp.	3,000 – 6,000
<i>Oesophagostomum</i> spp.	500 – 1,000
<i>Chabertia ovina</i>	800 – 1,000
<i>Bunostomum trigonocephalum</i>	500 – 1,000
<i>Strongyloides papillosus</i>	80,000
<i>Gaigeria pachyscelis</i>	400
<i>Trichuris</i> spp.	1,000
肺	
<i>Dictyocaulus filaria</i>	1,000 – 2,000
肝	
<i>Fasciola hepatica</i> (メタセルカリア)	100 – 200 (慢性) 1,000 – 1,500 (急性)

エ 有効性の計算についての勧告

(ア) 効能を認める基準

効能を認めるためには、以下の中心的データが含まれる必要がある。

- ① 少なくとも 6 頭の十分に感染した非治療動物（対照群）と 6 頭の十分に感染した治療動物（治療群）をそれぞれ使用した 2 回の用量確認試験
- ② 治療動物と対照動物の虫体数の差が統計的に有意 ($p < 0.05$) であること。
- ③ 変換（幾何平均）データを用いて算出した有効率が 90 % 以上であること。
- ④ 試験に用いた動物の感染が歴史的及び寄生虫学的及び（又は）統計的基

準に基づいて十分と考えられること。

有効性の基準（90 %以上）は、宿主動物から取り出した寄生虫数から計算する。しかし、胃腸内寄生虫の流行により 場の汚染を予防する目的で駆虫剤を用いる場合は、より高い有効性基準を用いてもよい。試験依頼者は、試験開始前に規制当局と相談すべきである。

(イ) 動物数（用量決定、用量確認及び持続性試験）

各実験群に必要な最少動物数は、重要な点である。動物数は、適切な統計的解析法によって統計的にデータを処理できる可能性にもよるが、ハーモナイゼーションを達成するために、各実験群に少なくとも6頭の動物を含めることを最低条件とする。

対照群に十分に感染した動物を6頭含んでいない幾つかの試験がある場合（例えば、重要な希少寄生虫）に、それらの試験で得られた成績を12頭分集めてプールし、統計的有意性を計算してもよい。差が有意であれば（ $p < 0.05$ ）、有効率が計算でき、感染が十分であると思われれば、効能が認められることがある。集団の成績を適切かつ意味のある推定と認めるためには、試験を行った実験室間の採材手技及び虫体数の評価を同じようにしておかねばならない。

(ウ) 感染の十分さ

最少限の十分な数について、最終報告書を提出するときに統計的及び歴史的データ、文献検索あるいは専門家の証言に基づいて判断すべきであろう。効能を認めるのに十分と考えられている羊の 虫（成虫）数の範囲は種によって異なる。一般に十分と考えられる線虫の最少平均虫体数は100である。*Bunostomum* spp.、*Oesophagostomum* spp.、*Trichostrongylus* spp.、*Gaigeria Pachyscelis* 及び *Dictyocaulus filaria* についてはもっと少数でもよいと考えられる。*Fasciola* sp.については、平均20の成虫で十分と考えられる。

(エ) 効能表示

成虫の効能を取得するには、一般原則として、感染後21～25日未満で投薬すべきではなく、ほとんどの種は28～32日が最適である。主な例外は *Oesophagostomum* spp.（28～41日）、*Bunostomum* spp.（52～56日）、*Strongyloides papillosus*（14～16日）及び *Fasciola* spp.（8～12週）である。L4の効能を取得するには、一般原則として、感染後以下の日数で治療を行うべきである；*Strongyloides papillosus*（3～4日）、*Haemonchus* spp と *Trichostrongylus* spp と *Cooperia* spp.（5～6日）、*T. (O.) circumcincta*（7日）、*Nematodirus* spp.と *D. filaria*（8～10日）、*Oesophagostomum* spp.（15～17日）。未成熟という表示は認められない。*Fasciola* spp.においては、初期 虫（1～4週）、後期 虫（6～8週）とすべきである。

オ 治療法

製品の投与方法（経口、非経口、外用、徐放など）、処方及び活性の強さが試験計画を設計する上で重要である。外用剤の有効性については、天候や動物相互の関係を考慮することが望ましい。徐放剤については、例えば提案する治

療期間のすべての時点で血中濃度が安定状態にあるというような情報が加わることで検査が不要であることが示されない限り、提案する有効期間の全体にわたって検査をすべきである。

治療経路。飲水中又はプレミックスに添加して投与される薬剤は、できる限り、表示どおりに行う。メディケータッドプレミックスには 好性試験が必要な場合がある。薬剤を添加した水又は飼料から試料を採取して、薬剤濃度を確認する。各動物に投与した薬剤添加飲水又は飼料の量を記録して、治療が表示どおりに行われていることを確認する。外用する製剤については、有効性の評価に天候（降、紫外線）及び被毛の長さの影響を含む。

カ 動物の選別、割り付け及び取扱い

試験動物は臨床的に健康で、効能を主張しようとする動物の年齢、性別及び類別を代表するものにすべきである。一般に、動物は、3か月齢以上の反を している羊にする。動物は、無差別に各治療群に割り付ける。体重、性別、年齢及び（又は）寄生虫ばく露によるブロック化は、繰り返し試験においてばらつきを減らすのに役立つかもしれない。糞便中の虫卵／ 虫数も実験動物の割り付けに適当な方法である。

人工感染の場合には、 虫未感染の動物を用いることを推奨する。 虫がない環境で飼育された動物でない場合には、化学的に試験製剤と相互関係のない既承認の駆虫剤で感染寄生虫を駆除し、糞便検査を行ってその動物に 虫がないことを確認する。

畜舎、餌及び飼育は動物福 に従うべきであり、動物は、各国の衛生基準に従ってワクチンを接種する必要がある。この情報は、最終報告書に記載する。少なくとも7日の順化期間をとることが勧められる。畜舎と飼料－水は、各地域に応じて適切なものにすべきである。動物は、毎日観察して副作用を明らかにする。

(3) 特定の評価試験

ア 用量決定試験

動物種に特異的な事柄なし。

イ 用量確認試験

用量確認試験はそれぞれの効能を裏付ける必要がある。：成虫、 虫、及びそれが当てはまるなら、発育休止期の 虫について。

ウ 野外有効性試験

動物種に特異的な事柄なし。

エ 持続有効性試験

持続有効性の効能を調べるために、二つの基本的試験設計が使用されている。一つは単回攻撃を用いるものであり、他方は治療後に毎日、複数回の攻撃を行うものである。両方の方法のための標準化されたプロトコールは開発されていない。試験を行う場合、プロトコールの詳細を以下のような事柄の間に含む。

：試験期間中の子虫の生存、子虫攻撃の根拠、と殺時点の正当性。寄生虫に未感染の羊はこれらの試験に推奨される。試験のデザインは自然状態に最も近い

複数回投与を推奨する。

持続性の効能を取得する最低限の要件は（それぞれの期間及び寄生虫について）、それぞれに非治療群と一つ以上の治療群を含む2回の試験（虫体数による）を行うことである。治療群には十分感染している動物が少なくとも6頭含まれるべきである。持続性の効能は、種ごとにしか認められない。

複数回攻撃法を用いる場合、各動物群に投薬し、その後7、14、21日又はそれ以上にわたって毎日、自然又は人工的に攻撃にばく露し、最後（又はそれ以前の）の攻撃から約3週間後に動物の虫体数を調べる。攻撃の間隔と計画はより特効性の製剤の場合は変更される。

持続性の効能は、幾何平均による少なくとも90%の有効率で裏付けられるべきである。

13 - 4 駆虫剤の有効性評価基準：山羊ガイドライン（VICH GL14）

（1）はじめに

山羊についての本ガイドラインは、VICH 駆虫剤ガイドライン作業部会が作成した。本ガイドラインは、駆虫剤の有効性を証明する中心的データに関して全般的な見地から作成された「13 - 1 駆虫剤の有効性評価基準：一般ガイドライン」（VICH GL7。以下「一般ガイドライン」という。）と合わせて読むべきである。この文書は、両方の文書の読者が読み比べ易いように一般ガイドラインと同様の構成にしてある。

本ガイドラインは、一般ガイドラインを補足するものであり、a) 一般ガイドラインでは考察しなかった山羊に特有な幾つかの問題を詳しく述べ、b) 有効性データの要件における一般ガイドラインとの違いを明らかにし、c) 一般ガイドラインとの違いを説明することが目的である。

試験を行う上での技術的方法は、このガイドラインの目的ではないことに注意することも重要である。試験依頼者は、関連する方法について詳細に記述された他の公表資料、例えば WAAVP Second Edition of Guidelines for Evaluating the Efficacy of Anthelmintics in Ruminants (Bovine, Ovine, Caprine), Veterinary Parasitology 58 : 181-213, 1995 を参照することを勧める。

山羊は、希少動物種であるので、完全な駆虫剤開発計画に従った場合に要する開発資金が、山羊用駆虫剤の開発を阻害している。山羊の寄生虫種は、羊と同一でもあるので、承認を得るための試験計画の簡略化を考慮することを推奨する。

（2）一般的事項

ア 有効性データの評価

厳密試験は、一般に反 動物では信頼性があるとは考えられないので、成虫 / 虫の虫体数に基づく対照を置いた試験だけが用量決定試験及び用量確認試験として認められる。虫卵測定 / 虫の同定は、野外有効性試験での有効性評価のために推奨される方法である。長時間作用製剤又は徐放製剤は、他の治療用駆虫剤と同じ評価手順に従う。寄生虫感染の十分さは、地域的な流行あるいは歴史的及び（又は）統計的データに応じて試験設計書の中に定義しておく。

イ 自然又は人工感染の使用

用量決定試験は、一般に実験室株又は最近野外から分離した株による人工感染を用いて実施すべきである。感染モデルが存在しない寄生虫 (*Protostoronglyidea*、条虫類、*Dicrocoelium* spp.) の場合には、人工感染の代わりに自然感染を用いるのがよい。

用量確認試験は、自然感染動物を用いるべきであるが、人工感染又は自然感染動物に既に感染している寄生虫に干渉しない寄生虫を更に人工感染させて実施することもできる。この方法は広範囲の寄生虫に対して許可される。四期子虫に対する効能は人工感染で行う。発育休止期の 虫に対する効能には、自然感染を用いる。試験依頼者は、試験動物において対象とする特定の寄生虫種の

発育休止期の 虫が最大限に蓄積する時期を うべきである。これは地方又は地域によって異なるであろう。各地域での特徴の詳細については、ケースバイケースに専門家から情報を入手する。動物は、いずれの場合にも（再感染を避けるために）治療前少なくとも2週間は舎飼いする必要がある。

持続効果試験は、最近野外から分離した株の人工感染を用いる。

人工感染試験に使用した寄生虫の経歴を最終報告書に含む。

ウ 人工感染に推奨される感染型寄生虫の数

用いる寄生虫数は、大まかなものであり、使用する分離株によっても異なってくる。感染に使用した 虫の最終的な数を最終報告書に含まなくてはならない。感染モデルが存在する寄生虫種について、表1に推奨される数を示す。

表1 駆虫剤評価のために山羊に十分な感染を起こさせる感染期虫体数

寄生虫虫卵、	虫体数
第四胃	
<i>Haemonchus contortus</i>	400 – 4,000
<i>Teladorsagia circumcincta</i>	6,000 – 10,000
<i>Trichostrongylus axei</i>	3,000 – 6,000
腸	
<i>Cooperia curticei</i>	3,000 – 6,000
<i>T. colubriformis</i> & <i>T. vitrinus</i>	3,000 – 6,000
<i>Nematodirus</i> spp.	3,000 – 6,000
<i>Oesophagostomum</i> spp.	500 – 1,000
<i>Chabertia ovina</i>	800 – 1,000
<i>Bunostomum trigonocephalum</i>	500 – 1,000
<i>Strongyloides papillosus</i>	80,000
<i>Gaigeria pachyscelis</i>	400
<i>Trichuris</i> spp.	1,000
肺	
<i>Dictyocaulus filaria</i>	1,000 – 2,000
肝	
<i>Fasciola hepatica</i> (メタセルカリア)	100 – 200 (慢性) 1,000 – 1,500 (急性)

エ 有効性の計算についての勧告

(ア) 効能を認める基準

効能を認めるためには、以下の中心的データが含まれる必要がある。

- ① 少なくとも6頭の十分に感染した非治療動物（対照群）と6頭の十分に感染した治療動物（治療群）をそれぞれ使用した2回の用量確認試験；

- ② 治療動物と対照動物の虫体数の差が統計的に有意 ($p < 0.05$) であること。
- ③ 変換（幾何平均）データを用いて算出した有効率が 90 %以上であること；
- ④ 試験に用いた動物の感染が歴史的及び寄生虫学的及び（又は）統計的基準に基づいて十分と考えられること。

有効性の基準（90 %以上）は、宿主動物から取り出した寄生虫数から計算する。しかし、胃腸内寄生虫の流行により 場の汚染を予防する目的で駆虫剤を用いる場合は、より高い有効性基準を用いてもよい。試験依頼者は、試験開始前に規制当局と相談すべきである。

(イ) 動物数（用量決定、用量確認及び持続性試験）

各実験群に必要な最少動物数は、重要な点である。動物数は、適切な統計的解析法によって統計的にデータを処理できる可能性にもよるが、ハーモナイゼーションを達成するために、各実験群に少なくとも 6 頭の動物を含めることを最低条件とする。

対照群に十分に感染した動物を 6 頭含んでいない幾つかの試験がある場合（例たとえば、重要な希少寄生虫）に、それらの試験で得られた成績を 12 頭分集めてプールし、統計的有意性を計算してもよい。差が有意であれば ($p < 0.05$)、有効率が計算でき、感染が十分であると思われれば、効能が認められることがある。集団の成績を適切かつ意味のある推定と認めるためには、試験を行った実験室間の採材手技及び虫体数の評価を同じようにしておかねばならない。

(ウ) 感染の十分さ

最少限の十分な数について、最終報告書を提出するときに統計的及び歴史的データ、文献検索あるいは専門家の証言に基づいて判断すべきであろう。効能を認めるのに十分と考えられている山羊の 虫（成虫）数の範囲は種によって異なる。一般に十分と考えられる線虫の最少平均虫体数は 100 である。

Bunostomum spp.、*Oesophagostomum* spp.、*Trichuris* spp.、*Gaigeria pachyscelis* 及び *Dictyocaulus filaria* についてはもっと少数でもよいと考えられる。

Fasciola sp.については、平均 20 の成虫で十分と考えられる。

(エ) 効能表示

成虫の効能を取得するには、一般原則として、感染後 21 ~ 25 日未満で投薬すべきではなく、ほとんどの種は 28 ~ 32 日が最適である。主な例外は *Oesophagostomum* spp. (28 ~ 41 日)、*Bunostomum* spp. (52 ~ 56 日)、*Strongylodes papillosus* (14 ~ 16 日) 及び *Fasciola* spp. (8 ~ 12 週) である。L4 の効能を取得するには、一般原則として、感染後以下の日数で治療を行うべきである；*Strongyloides papillosus* (3 ~ 4 日)、*Haemonchus* spp と *Trichostrongylus* spp と *Cooperia* spp. (5 ~ 6 日)、*T. (O.) circumcincta* (7 日)、*Nematodirus* spp. と *D. filaria* (8 ~ 10 日)、*Oesophagostomum* spp. (15 ~ 17 日)。未成熟という表示は認められない。*Fasciola* spp.においては、初期 虫 (1 ~ 4 週)、後期 虫 (6 ~ 8 週) とすべきである。

オ 治療法

製品の投与方法（経口、非経口、外用、徐放など）、処方及び活性の強さが試験計画を設計する上で重要である。外用剤の有効性については、天候や動物相互の関係を考慮することが望ましい。徐放剤については、例えば提案する治療期間のすべての時点で血中濃度が安定状態にあるというような情報が加わることで検査が不要であることが示されない限り、提案する有効期間の全体にわたって検査をすべきである。

治療経路。飲水中又はプレミックスに添加して投与される薬剤は、できる限り、表示どおりに行う。メディケータッドプレミックスには 好性試験が必要な場合がある。薬剤を添加した水又は飼料から試料を採取して、薬剤濃度を確認する。各動物に投与した薬剤添加飲水または飼料の量を記録して、治療が表示どおりに行われていることを確認する。外用する製剤については、有効性の評価に天候（降 、紫外線）及び被毛の長さの影響を含む。

カ 動物の選別、割り付け及び取扱い

試験動物は臨床的に健康で、効能を主張しようとする動物の年齢、性別及び類別を代表するものにすべきである。一般に動物は、3か月齢以上の反 をしている山羊にする。動物は、無差別に各治療群に割り付ける。体重、性別、年齢及び（又は）寄生虫ばく露によるブロック化は、繰り返し試験においてばらつきを減らすのに役立つかもしれない。糞便中の虫卵／ 虫数も実験動物の割り付けに適当な方法である。

人工感染の場合には、 虫未感染の動物を用いることを推奨する。 虫がない環境で飼育された動物でない場合には、化学的に試験製剤と相互関係のない既承認の駆虫剤で感染寄生虫を駆除し、糞便検査を行ってその動物に 虫がないことを確認する。

畜舎、餌及び飼育は動物福 に従うべきであり、動物は、各国の衛生基準に従ってワクチンを接種する必要がある。この情報は、最終報告書に記載する。少なくとも7日の順化期間をとることが勧められる。畜舎と飼料－水は、各地域に応じて適切なものにすべきである。動物は、毎日観察して副作用を明らかにする。

(3) 特定の評価試験

ア 用量決定試験

選択された用量が山羊で有効かどうかについて、用量決定試験及び（又は）適切な場合に羊と山羊の比較薬物動態試験により証明される必要がある。

イ 用量確認試験

用量確認試験は、各試験で少なくとも用量限定 虫と用量限定時期において行う必要がある。試験した寄生虫について有効である場合には、羊で有効性が見られたすべての 虫種について有効とすることが可能である。

ウ 野外有効性試験

動物種に特異的な事柄なし。

エ 持続有効性試験

持続有効性の効能を調べるために、二つの基本的試験設計が使用されている。一つは単回攻撃を用いるものであり、他方は治療後に毎日、複数回の攻撃を行うものである。両方の方法のための標準化されたプロトコールは開発されていない。試験を行う場合、プロトコールの詳細を以下のような事柄の間に含む。

：試験期間中の子虫の生存、子虫攻撃の根拠、と殺時点の正当性。寄生虫に未感染の山羊はこれらの試験に推奨される。試験のデザインは自然状態に最も近い複数回投与を推奨する。

持続性の効能を取得する最低限の要件は（それぞれの期間及び寄生虫について）、それぞれに非治療群と一つ以上の治療群を含む2回の試験（虫体数による）を行うことである。治療群には十分感染している動物が少なくとも6頭含まれているべきである。持続性の効能は、種ごとにしか認められない。

複数回攻撃法を用いる場合、各動物群に投薬し、その後7、14、21日又はそれ以上にわたって毎日、自然又は人工的に攻撃にばく露し、最後（又はそれ以前の）の攻撃から約3週間後に動物の虫体数を調べる。攻撃の間隔と計画はより特効性の製剤の場合は変更される。

持続性の効能は、幾何平均による少なくとも90%の有効率で裏付けられるべきである。

13 - 5 駆虫剤の有効性評価基準：馬ガイドライン（VICH GL15）

（1）はじめに

馬についての本ガイドラインは、VICH 駆虫剤ガイドライン作業部会が作成した。このガイドラインは、駆虫剤の有効性を証明する中心的データに関して全般的な見地から作成された「13 - 1 駆虫剤の有効性評価基準：一般ガイドライン」（VICH GL7。以下「一般ガイドライン」という。）と合わせて読むべきである。この文書は、両方の文書の読者が読み比べ易いように一般ガイドラインと同様の構成にしてある。

本ガイドラインは一般ガイドラインを補足するものであり、a) 一般ガイドラインでは考察しなかった馬に特有な幾つかの問題を詳しく述べ、b) 有効性データの要件における一般ガイドラインとの違いを明らかにし、c) 一般ガイドラインとの違いを説明することが目的である。

試験を行う上での技術的方法は、このガイドラインの目的ではないことに注意することも重要である。試験依頼者は、関連のある方法について詳細に記述された他の公表資料、例えば WAAVP Guidelines for Evaluating the Efficacy of Equine Anthelmintics, *Veterinary Parasitology* 30:57-72, 1988 を参照することを勧める。

（2）一般的事項

ア 有効性データの評価

用量決定と用量確認試験には、対照をおいた試験が推奨される。厳密試験も、確かな成熟大線虫、例えば *Parascaris equorum* や *Oxyuris equi* では用いることができる。長時間作用形製剤や徐放製剤は、他の治療用駆虫剤と同様の評価手順に従う。寄生虫感染の十分さは、地域的な流行あるいは歴史的及び（又は）統計的データに応じて試験設定書の中に定義しておく。

Strongyloides westeri の場合には、虫卵数に基づいて有効性データの評価をしてよい（少なくとも2回の野外試験において）。その理由は *S. westeri* が主として若動物に観察され、この時期にはその他の虫感染が非常にであり、虫卵が他の虫種のそれと容易に鑑別できるからである。

イ 自然又は人工感染の使用

寄生虫のいない馬に人工感染をすることが困難なために、大多数の馬の試験は自然感染動物で実施してよい。用量決定試験は、一般に実験室株又は最近野外から分離した株による人工感染又は自然感染を用いて実施すべきである。

広範囲の寄生虫の成虫期に対する用量確認試験は、自然感染動物に前感染寄生虫と干渉しない最近野外から分離した株を人工的に重感染させて行うことができる。最近野外から分離した株による人工感染試験も可能である。発育期子虫（例えば4期虫）に対する効能には、最近の野外分離株による人工感染を用いる。発育休止虫（小円虫の3期初期虫）に対する効能には、自然感染のみを用いる。これらの場合には、再感染を避けるために、治療前少なくとも2週間は舎飼いする必要がある。

發育休止 虫の数を決定するために、大腸の粘膜の消化（digestion）は必要であり、粘膜内の發育 虫（小円虫の3期後期／4期 虫）の数は、消化及びトランスイルミネーション技術により調査する。

持続効果試験は、最近野外から分離した株の人工感染を用いて、若い動物（例えば、12 か月齢より若い馬）で実施する。人工感染試験に使用した寄生虫の経歴を最終報告書に含む。

ウ 人工感染に推奨される感染型寄生虫の数

馬に人工感染を用いることは少なく（前述）、投与する感染 虫数についてのデータは限られている。投与が推奨される感染 虫／虫卵数を以下に示す。

寄生虫	虫卵、虫体数
<i>Parascaris equorum</i>	100 - 500
<i>Trichostrongylus axei</i>	10,000 - 50,000
<i>Strongylus vulgaris</i>	500 - 750
Small strongyles (<i>Cyanostomes</i>)	100,000 - 1,000,000

エ 有効性の計算についての勧告

(ア) 効能を認める基準

効能を認めるためには以下の中心的データが含まれる必要がある。

- ① 少なくとも6頭の十分に感染した非治療動物（対照群）と6頭の十分に感染した治療動物（治療群）をそれぞれ使用した2回の用量確認試験；厳密試験を用いる場合には、各試験に6頭を使用し、これを対照及び試験動物とする。
- ② 治療動物と対照動物の虫体数の差が統計的に有意 ($p < 0.05$) であること。
- ③ 変換（幾何平均）データを用いて算出した有効率が 90 %以上であること；
- ④ 試験に用いた動物の感染が歴史的及び寄生虫学的及び（又は）統計的基準に基づいて十分と考えられること。

(イ) 動物数（用量決定、用量確認及び持続性試験）

各実験群に必要な最少動物数は重要な点である。動物数は適切な統計的解析法によって統計的にデータを処理できる可能性によるが、ハーモナイゼーションを達成するために、各実験群に少なくとも6頭の動物を含めることを最低条件とする。

対照群に十分に感染した動物を6頭含んでいない幾つかの試験がある場合（例えば、重要な希少寄生虫）に、それらの試験で得られた成績を12頭分集めてプールし、統計的有意性を計算してもよい。差が有意であれば ($p < 0.05$)、有意率が計算でき、感染が十分であると思われれば、効能が認められることがある。集団の成績を適切かつ意味のある推定と認めるためには、試験を行った実験室間の採材手技及び虫体数の評価を同じようにしておかねばならない。

(ウ) 感染の十分さ

最少限の十分な数について、最終報告書を提出するときに統計的及び歴史

的データ、文献検索あるいは専門家の証言に基づいて判断すべきであろう。効能を認めるのに十分と考えられている馬の 虫（成虫）数の範囲は種によって異なる。一般に十分と考えられる線虫の最小平均虫体数は 100 である。*Parascaris equorum*、*Dictyocaulus spp.*及び*Fasciola spp.*についてはもっと少数でもよいと考えられる。

(エ) 効能表示

成虫又は 3 期 / 4 期 虫：「未成熟虫」という用語で表示することは、認められない。成虫と 虫の効能を取得するには、効能の対象になる種に適切な生活環の時期に対応して治療を行うべきである。小円虫の場合には、（発育休止）3 期初期 虫、（発育）粘膜内 4 期 虫、第一胃内 4 期 虫と成虫の間が区別されなくてはならない。

寄生虫の識別は、表示したい効能のタイプにより決定する。原則として、種毎に効能を取得する必要がある。小円虫においては、この属に二つ以上の種があり、試験は混合 虫集団について実施されたという一般的前提の下に、属に対する効能でもよい。

オ 治療法

製品の投与方法（経口、非経口、外用、徐放など）、処方及び活性の強さが試験計画を設計する上で重要である。外用剤の有効性については、天候や動物相互の関係を考慮することが望ましい。徐放剤については、例えば提案された治療期間のすべての時点で血中濃度が安定状態にあるというような情報が加わることで検査が不要であることが示唆されない限り、提案される有効期間の全体にわたって検査をすべきである。

飲水中又はプレミックスに添加して投与される薬剤は、できる限り、表示どおりに行う。メディケータッドフィードには 好性試験が必要な場合がある。薬剤を添加した水又は飼料から試料を採取して、薬剤濃度を確認する。各動物に投与した薬剤添加飲水又は飼料の量を記録して、治療が表示どおりに行われていることを確認する。外用する製剤については、有効性の評価に天候（降、紫外線）及び被毛の長さの影響を含む。

カ 動物の選別、割り付け及び取扱い

試験動物は臨床的に健康で、効能を主張しようとする動物の年齢、性別及び類別を代表するものにすべきである。一般に、人工感染を用いる時には、既存の感染を除去するために隔離することができないので、寄生虫がいない場合が多い 3 ~ 12 か月齢の動物にする。自然感染動物の場合には、12 ~ 24 か月齢が望ましく（*Strongylus westeri* を除く）、虫体数の個体差を減らすために、同じ感染 野に少なくとも 5 か月以上一緒に放 することが勧められる。動物は無差別に各治療群に割り付ける。体重、性別、年齢及び（又は）寄生虫ばく露によるブロック化は、繰り返し試験においてばらつきを減らすのに役立つかもしれない。糞便中の虫卵 / 虫数も実験動物の割り付けに適切な方法である。畜舎、餌及び飼育は動物福 に従うべきであり、動物は各国の衛生基準に従ってワクチンを接種する必要がある。この情報は最終報告書に記載する。少なく

とも7日の順化期間をとることが勧められる。畜舎と飼料・水は各地域に応じて適切なものにすべきである。動物は毎日観察して副作用を明らかにする。

(3) 各種評価試験

ア 用量決定試験

動物種に特異的な事項なし。

イ 用量確認試験

用量確認試験はそれぞれの効能を裏付ける必要がある。：成虫、 虫及び、それが当てはまるなら、発育休止期の 虫について。さらなる詳細は、EAGRを参照すること。

ウ 野外有効性試験

動物種に特異的な事項なし。

エ 持続有効性試験

この効能における有効性は、糞便中の1 g 中虫卵数ではなく、実際に虫体数を計数した場合にのみ明らかにされる。

持続性の効能を取得する最少限の要件は（それぞれの期間及び寄生虫について）、それぞれ非治療群と一つ又はそれ以上の治療群を含む（虫体数による）2回の試験を行うことである。対照群（同年齢）には十分感染している動物が少なくとも6頭含まれているべきである。持続有効性の効能は種ごとにしか認められないが、小円虫の場合には属ごとでもよい。

持続有効性の効能を調べるために、二つの基本的試験設計が使用される。一つは治療後に単回攻撃をもちいるものであり、他方は治療後に毎日、複数日の攻撃を行うものである。結果の解釈の一貫性のために、標準の試験デザインは、自然の状態に最も近い複数攻撃を推奨する。

複数回攻撃法を用いる場合、各動物群に投薬し、その後7、14、21日又はそれ以上にわたって毎日、自然又は人工的攻撃にばく露し、最後（又はそれ以前）の攻撃から約3週間後に動物の虫体数を調べる。

持続性の効能は幾何平均による少なくとも90%の有効率で裏付けられるべきである。

オ 虫卵再発現期間（ERP）試験

ERPは、円虫にのみ用いる。ERPは、放牧地汚染の管理の手段であり、各動物の円虫負荷の測定に用いることを意図していない。放牧地の汚染管理において、群飼育に焦点を合わせた馬円虫管理のための新手法である。治療後の確実な期間虫卵を抑制する効能は、治療動物において治療前の虫卵数と比較して少なくとも90%抑制されている場合にのみ十分といえる。これらの試験で、動物は感染野に留める。ERPを調べるために、少なくとも2回の試験が必要である。2回の試験のうち少なくとも1回は登録される適用地においてなされるべきである。これらの試験は、承認が予定される地域の種々の条件を十分に反映して実施する。

13 - 6 駆虫剤の有効性評価基準：豚ガイドライン (VICH GL16)

(1) はじめに

豚についてのこれらのガイドラインは VICH 駆虫剤ガイドライン作業部会が作成した。このガイドラインは、駆虫剤の有効性を証明する中心的データのために全般的な見地から作成した「13 - 1 駆虫剤の有効性評価基準：一般ガイドライン」(VICH GL7。以下「一般ガイドライン」という。)と合わせて読むべきである。この文書は両方の文書の読者が読み比べ易いように一般ガイドラインと同様の構成にしてある。

本ガイドラインは一般ガイドラインを補足するものであり、a) 一般ガイドラインでは考察しなかった豚に特有な幾つかの問題を詳しく述べ、b) 有効性データの要件における一般ガイドラインとの違いを明らかにし、c) 一般的ガイドラインとの違いを説明することが目的である。

試験を行う上での技術的方法は、このガイドラインの目的ではないことに注意することも重要である。試験依頼者は、関連ある方法について詳細に記述された他の公表された資料、例えば WAAVP Guidelines for Evaluating the Efficacy of Anthelmintics in Swine, *Veterinary Parasitology* 21:69-82,1986 を参照することを勧める。

(2) 一般的事項

ア 有効性データの評価

用量決定試験及び用量確認試験には、対照を置いた試験だけが認められる。厳密試験は一般に豚では信頼性があるとは考えられない。

長時間作用形製剤又は徐放製剤は、他の治療用駆虫剤と同じ評価手順に従う。寄生虫感染の十分さは、地域的な流行あるいは歴史的及び(又は)統計的データに応じて試験設計書の中に定義しておく。

イ 自然又は人工感染の使用

用量決定試験は、一般に実験室株又は最近野外から分離した株による人工感染を用いて実施すべきである。

用量確認試験は、自然感染動物を用いるべきである。最近野外から分離した株による人工感染を用いた試験も可能であり、自然感染動物に既に感染している寄生虫に干渉しない寄生虫を重感染させて実施してもよい。この方法は広範囲の寄生虫に対して許可される。

持続効果試験は、最近野外から分離した株の人工感染を用いる。

人工感染試験に使用した寄生虫の経歴を最終報告書に含む。

ウ 人工感染に推奨される感染型寄生虫の数

用いる寄生虫数は大まかであり、使用する分離株によっても異なってくる。感染に使用した 虫又は虫卵の最終的な数を最終報告書に含まなくてはならない。表 1 に推奨される数を示す。

表 1 駆虫剤評価のために豚に十分な感染を起こさせる 3 期 虫又は虫卵の数

寄生虫	虫卵、虫体数
胃	
<i>Ascarops strongylina</i>	200
<i>Hystrongylus rubidus</i>	1,000 - 4,000
<i>Physocephalus sexalatus</i>	500
腸	
<i>Ascaris suum</i> *	250 - 2,500
<i>Oesophagostomum</i> spp.	2,000 - 15,000
<i>Strongyloides ransomi</i>	1,500 - 5,000
<i>Trichuris suis</i>	1,000 - 5,000
肺	
<i>Metastrongylus</i> spp.	1,000 - 2,500
腎	
<i>Stephanurus dentatus</i>	1,000 - 2,000

* 成虫の感染を増やすために、少数の虫卵を少しずつ感染させる。

エ 有効性の計算のための勧告

(ア) 効能を認める基準

効能を認めるためには、以下の中心的データが含まれる必要がある。

- ① 少なくとも6頭の十分に感染した非投薬動物（対照群）と6頭の十分に感染した投薬動物（治療群）をそれぞれ使用した2回の用量確認試験；
- ② 治療動物と対照動物の虫体数の差が統計的に有意 ($p < 0.05$) であること。
- ③ 変換（幾何平均）データを用いて算出した有効率が90%以上であること；
- ④ 試験に用いた動物の感染が歴史的及び寄生虫学的及び（又は）統計的基準に基づいて十分と考えられること。

(イ) 動物数（用量決定、用量確認及び持続性試験）

各実験群に必要な最少動物数は重要な点である。動物数は適切な統計的解析法によって統計的にデータを処理できる可能性によるが、ハーモナイゼーションを達成するために、各実験群に少なくとも6頭の動物を含めることを最低条件とする。

対照群に十分に感染した動物を6頭含んでいない幾つかの試験がある場合（例えば、重要な希少寄生虫）に、それらの試験で得られた成績を12頭分集めてプールし、統計的有意性を計算してもよい。差が有意であれば ($p < 0.05$)、有効率が計算でき、感染が十分であると思われれば、効能が認められることがある。集団の成績を適切かつ意味のある推定と認めるためには、試験を行った実験室間の採材手技及び虫体数の推定を同じようにしておかねばならない。

(ウ) 感染の十分さ

最少限の十分な数について、最終報告書を提出するときに統計的及び歴史

的データ、文献検索あるいは専門家の証言に基づいて判断すべきであろう。効能を認めるのに十分と考えられている豚の寄生虫（成虫）の範囲は種によって異なる。一般に十分と考えられる線虫の最少平均虫体数は 100 である。*Ascaris suum*、*Ascarops strongylina*、*Physocephalus sexalatus*、*Stephanurus dentatus*、*Metastrongylus* spp.及び *Fasciola* spp.はより少数でもよいと考えられる。

(エ) 効能表示

未成熟虫という用語で表示することは認められない。成虫の効能を取得するには、一般原則として、*Ascarops strongylina* は 35 日未満、*Hyostongylus rubidus* は 26 日未満、*Physocephalus sexalatus* は 55 日未満、*Ascaris suum* は 65 日未満、*Strongyloides ransomi* は 10 日未満、*Oesophagostomum dentatum* と *Oesophagostomum quadrisponulatum* は 28 ～ 45 日未満、*Trichuris suis* は 50 日未満、*Metastrongylus* spp.は 35 日未満、*Stephanurus dentatus* は 10 か月未満で治療を行ってはならない。

4 期 虫の効能を取得するには、一般原則として、感染後 7 ～ 9 日に治療を行うべきであるが、例外として *S. ransomi* は 3 ～ 4 日、*A. suum* は 11 ～ 15 日、*T. suis* は 16 ～ 20 日に治療を行う。

S. ransomi 移行 虫の経乳垂直伝播に対する効能を取得するには、自然又は人工感染妊娠豚を分娩前の様々な時点で治療し、乳汁中の 虫数と産まれた子豚の小腸内虫体数を数えて有効性を調べる。

オ 治療法

投与方法（経口、非経口など）、処方及び活性の強さが試験計画を設計する上で重要である。徐放剤については、例えば提案された治療期間のすべての時点で血中濃度が安定状態にあるというような情報が加わることで検査が不要であることが示されない限り、提案される有効期間の全体にわたって検査をすべきである。

飲水中又はプレミックスに添加して投与しようとする薬剤は、できる限り、表示どおりに行う。メディケータッドフィードには 好性試験が必要な場合がある。薬剤を添加した水又は飼料から試料を採取して、薬剤濃度を確認する。各動物に与えた薬剤添加飲水又は飼料の量を記録して、治療が表示に合っていることを確認する。

カ 動物の選別、割り付け及び取扱い

試験動物は臨床的に健康で、効能を主張しようとする動物の年齢、性別及び類別を代表するものにすべきである。一般に、動物は 2 ～ 6 か月齢を用いる。動物は無差別に各治療群に割り付ける。体重、性別、年齢及び（又は）寄生虫ばく露によるブロック化は、繰り返し試験においてばらつきを減らすのに役立つかもしれない。糞便中の虫卵／ 虫数も実験動物の割り付けに適当な方法である。

人工感染の場合には、 虫未感染の動物を用いることを推奨する。 虫がいない環境で飼育された動物でない場合には、科学的に試験製剤と相互関係のな

い既承認の駆虫剤で感染寄生虫を駆除し、糞便検査を行ってその動物に 虫がいないことを確認する。

畜舎、餌及び飼育は動物福祉 に従うべきであり、動物は各国の衛生基準に従ってワクチンを接種する必要がある。この情報は最終報告書に記載する。少なくとも7日の順化期間をとることが勧められる。畜舎と飼料-水は各地域に応じて適切なものにすべきである。動物は毎日観察して副作用を明らかにする。

(3) 各種評価試験

ア 用量決定試験

動物種に特異的な事柄なし。

イ 用量確認試験

用量確認試験はそれぞれの効能を裏付ける必要がある。：成虫及び 虫について。さらなる詳細は、EAGR を参照すること。

ウ 野外有効性試験

動物種に特異的な事柄なし。

エ 持続有効性試験

持続有効性の効能を調べるために、二つの基本的試験設計が使用されている。一つは治療後に単回攻撃を用いるものであり、他方は治療後に毎日、複数日の攻撃を行うものである。結果の解釈の一貫性のために、標準の試験デザインは、自然の状態に最も近い複数攻撃を推奨する。

持続性の効能を取得する最少限の要件は（それぞれの期間及び寄生虫について）、それぞれ非治療群と一つ又はそれ以上の治療群を含む（虫体数による）2回の試験を行うことである。対照群には十分感染している動物が少なくとも6頭含まれているべきである。持続性の効能は種ごとにしか認められない。

複数回攻撃法を用いる場合、各動物群に投薬し、その後7、14、21日又はそれ以上にわたって毎日、自然又は人工的攻撃にばく露し、最後（又はそれ以前）の攻撃から約3週間後に動物の虫体数を調べる。

持続性の効能は幾何平均による少なくとも90%の有効率で裏付けられるべきである。

13 - 7 駆虫剤の有効性評価基準：犬ガイドライン (VICH GL19)

(1) はじめに

犬についての本ガイドラインは、VICH 駆虫剤ガイドライン作業部会が作成した。本ガイドラインは、駆虫剤の有効性を証明する中心的データのために一般的な見地から作成した「13 - 1 駆虫剤の有効性評価基準：一般ガイドライン」(VICH GL7。以下「一般ガイドライン」という。)と合わせて読むべきである。この文書は、両方の文書の読者が読み比べ易いように一般ガイドラインと同様の構成にしてある。

本ガイドラインは、一般ガイドラインを補足するものであり、a) 一般ガイドラインでは考察しなかった犬に特有な幾つかの問題を詳しく述べ、b) 有効性データの要件における一般ガイドラインとの違いを明らかにし、c) 一般ガイドラインとの違いを説明することが目的である。

試験を行う上での技術的方法は、このガイドラインの目的ではないことに注意することも重要である。試験依頼者は、関連のある方法について詳細に記述された他の公表資料、例えば WAAVP Guidelines for Evaluating the Efficacy of Anthelmintics for dogs and cats, *Veterinary Parasitology* 52:179-202,1994 を参照することを勧める。

(2) 一般的事項

ア 有効性データの評価

有効性データの評価は、用量決定試験及び用量確認試験では虫体数(成虫、虫)に基づいて行い、野外試験での有効性評価のためには虫卵数/虫同定が望ましい方法である。

対照を置いた試験が、駆虫剤の評価に最も広く認められている試験手順である。しかし、一部の腸内寄生虫、例えば *ascarids* には厳密試験も適当かもしれない。十分な寄生虫感染は、地域的な流行あるいは歴史的及び(又は)統計的データに応じて試験設計書の中に定義しておく。

イ 自然又は人工感染の使用

用量決定試験は、一般に実験室株又は最近野外から分離した株による人工感染を用いて実施する。

用量確認試験は、自然又は人工感染動物を用いるべきであるが、少なくとも一つの試験は、表示する効能ごとに自然感染動物で実施すべきである。*Echinococcus* spp. と *Dirofilaria* spp. の試験は、エヒノコッカス症の公衆衛生上の配慮及び犬 状虫の効能の複雑さのために、人工感染動物を用いて実施してよい。*Echinococcus* spp. が動物寄生虫上重要であることより、この感染試験は高度なバイオセキュリティ施設で行うことが必要である。

以下の寄生虫も、十分な数の感染動物の入手が困難なので、人工感染が製品の有効性を明らかにする唯一の方法かもしれない。: *Filaroides milksi*, *F. hirthi*, *Dicrophyma renale*, *Capillaria aerophila*, *C. plica*, *Spirocerca lupi*, *Physaloptera* spp., *Mesocestoides* spp. 及び *Crenosoma vulpis*。 虫期の試験は、人工感染のみ

で行ってよい。

人工感染試験に使用した寄生虫の経歴を、最終報告書に含む。

ウ 人工感染に推奨される感染型寄生虫の数

用いる寄生虫数は、大まかなものであり、使用する分離株によっても異なってくる。感染に使用した 虫の最終的な数を最終報告書に含まなくてはならない。表 1 に推奨される数を示す。

表 1 駆虫剤評価のために犬に十分な感染を起こさせる感染期虫体数

寄生虫	範囲
小腸	
<i>Toxocara canis</i>	100 – 500 *
<i>Toxoscaris leonina</i>	200 – 3,000
<i>Ancylostoma caninum</i>	100 – 300
<i>Ancylostoma buraziliense</i>	100 – 300
<i>Uncinaria stenocephala</i>	1,000 – 1,500
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1,000 – 5,000
<i>Echinococcus granulosus</i>	20,000 – 40,000
<i>Taenia</i> spp.	5 – 15
大腸	
<i>Trichuris vulpis</i>	100 – 500
心臓	
<i>Dirofilaria immitis</i>	30 – 100 **

* ほ乳犬又は 5 ヶ月齢以下の犬

** 成虫やマイクロフィラリア試験のために、5 – 15 対の成虫を移植する。

エ 有効性の計算についての勧告

(ア) 効能を認める基準

効能を認めるためには、以下の中心的データが含まれている必要がある。

- ① 少なくとも 6 頭の十分に感染した非投薬動物（対照群）と 6 頭の十分に感染した投薬動物（治療群）をそれぞれ使用した 2 回の用量確認試験；
- ② 治療動物と対照動物の虫体数の差が統計的に有意 ($p < 0.05$) であること。
- ③ 変換（幾何平均）データを用いて算出した有効率が 90 % 以上であること；*E. granulosus* と *D. immitis* は公衆動物の福祉と臨床の関連から、より高い有効性標準（すなわち 100 % と同等）が課される場合がある。製品を申請する地域の規制当局と相談すべきである。
- ④ 試験に用いた動物の感染が歴史的及び寄生虫学的及び（又は）統計的基準に基づいて十分と考えられること。
- ⑤ 寄生虫に対する有効性は、糞中又は血中の寄生虫構成要素の存否を求める試験で評価される。*Echinococcus* spp. は、公衆衛生の観点から、野外試験は不要である。

(イ) 動物数（用量決定、用量確認及び持続性試験）

各実験群に必要な最少動物数は、重要な点である。動物数は、適切な統計的解析法によって統計的にデータを処理できる可能性によるが、ハーモナイゼーションを達成するために、各実験群に少なくとも6頭の動物を含めることを最低条件とする。

対照群に十分に感染した動物を6頭含んでいない幾つかの試験がある場合（例えば、重要な希少寄生虫）に、それらの試験で得られた成績を12頭分集めてプールし、統計的有意性を計算してもよい。差が有意であれば（ $p < 0.05$ ）、有効率が計算でき、感染が十分であると思われれば、効能が認められることがある。成績を集団に適切かつ意味のあるように外挿するためには、試験を行った実験室間の採材手技及び虫体数の推定を同じようにしておかねばならない。

(ウ) 感染の十分さ

最小限の十分な寄生虫数に関しては、歴史的データ、文献検索又は専門家の証言に基づいて最後の報告書を提出するときに定義される。一般的に、猫における線虫の最小数は5から20で十分であると言われている。*A. caninum* と *U. stenocephala* では、より多く必要と考えられている。

(エ) 効能表示

各寄生虫の発育期に対する有効性の表示には、それぞれ自然感染の場合はその段階、人工感染の場合には日齢を記載すべきである。表2に推奨される人工感染の治療時期について示す。

大多数の寄生虫は治療終了後剖検まで約7日で十分である。以下の寄生虫は例外である。:

- *Physaloptera* spp., *S. lupi*, *C. plica*, *D. renale*, *E. granulosus*, *Taenia* spp., *D. caninum*, *Mesocestodes* spp. : 10-14 日
- *C. vulpis*: 14 日
- *F. milksi*, *F. hirthei* : 42 日
- *F. osleri* : 半数の動物は 14 日で、残りは 28 日
- *D. immitis* : 試験デザインによる。

表2 -推奨される感染後の治療の期間

寄生虫	成虫期	発育期
<i>S. stercoralis</i>	5-9 日	
<i>T. vulpis</i>	84 日	
<i>A. caninum</i>	>21 日	6-8 日 (L4) *
<i>A. braziliense</i>	>21 日	6-8 日 (L4)
<i>U. stenocephala</i>	>21 日	6-8 日 (L4)
<i>T. canis</i>	49 日	3-5 日 (L3/L4) 及び 14-21 日 (L4/L5)
<i>T. leonina</i>	70 日	35 日 (L4)
<i>D. immitis</i>	180 日	2 日 (L3)、20-40 日 (L4)

70-120 日 (L5)、220 日 (ミクロフィラリア)

E. granulosus >28 日

Taenia spp. >35 日

* 移行 虫のために、出産前 2 日以内に治療

注) L5: 5 期 虫、L4: 4 期 虫、L3: 3 期 虫

T. canis 移行 虫の経胎盤及び (又は) 経乳垂直伝播に対する効能を取得するには、自然又は人工感染妊娠犬を分娩前の様々な時点で治療し、乳汁中の虫数と産まれた子犬の小腸内虫体数を数えて有効性を調べる。

オ 治療法

製品の投与方法 (経口、非経口、外用など)、処方及び活性の強さが試験計画の設計に影響する。外用剤の有効性については、天候や動物間の関係を考慮することが望ましい。

経口投与剤では、好性試験は製剤の有効性評価試験の場合には常に行われるべきである。外用する製剤については、有効性の評価に天候 (降、紫外線)、入及び被毛の長さの影響を含む。

カ 動物の選別、割り付け及び取扱い

一般的には、約 6 か月齢の動物が有効性試験に適している。以下の場合には例外である。:

- *S. stercoralis* : 6 か月齢以下
- *A. caninum*、*A. braziliense*、*U. stenocephala* : 6-12 週齢
- *T. canis*、*T. leonina* : 2-6 週齢
- *D. caninum* : 3 か月齢又はそれ以上
- *Mesocestoides* spp. : 8 週齢又はそれ以上
- *U. stenocephala*、*T. vulpis* : より年取った犬も使用できる。

自然感染動物は、消化管内寄生虫については排泄虫卵又は排泄片節によって、また、*D. immitis* については寄生虫学的及び (又は) 免疫学的方法で選定する。これらを適切な方法を用いて各群に割り付け、繰り返しをすべきであり、その方法を最終報告書に記載する。繰り返しは、その製剤の有効性の最終的評価において影響するかもしれない要因をカバーするようにする。動物の収容、給餌及び管理は犬の福祉に関する厳しい要件に従って実施する。動物は、実験設備と担当者に少なくとも 7 日間順化させるべきである。動物は、毎日観察して副作用を明らかにする。

(3) 特定の評価試験

ア 用量決定試験

動物種に特異的な事柄なし。

イ 用量確認試験

動物種に特異的な事柄なし。

ウ 野外有効性試験

野外 (病院) 試験は、原則として *Echinococcus* spp. に感染した犬では行って

はいけない。

エ 持続有効性試験

犬において、寄生虫の生物学上の多様性やこれらの寄生虫に対する持続有効性における経験の不足より、推奨される方法は記載しない。

13 - 8 駆虫剤の有効性評価基準：猫ガイドライン（VICH GL20）

（1）はじめに

猫についての本ガイドラインは、VICH 駆虫剤ガイドライン作業部会が作成した。本ガイドラインは、駆虫剤の有効性を証明する中心的データのために一般的な見地から作成した「13 - 1 駆虫剤の有効性評価基準：一般ガイドライン」（VICH GL7。以下「一般ガイドライン」という。）と合わせて読むべきである。この文書は、両方の文書の読者が読み比べ易いように一般ガイドラインと同様の構成にしてある。

本ガイドラインは、一般ガイドラインを補足するものであり、a) 一般ガイドラインでは考察しなかった猫に特有な幾つかの問題を詳しく述べ、b) 有効性データの要件における一般ガイドラインとの違いを明らかにし、c) 一般ガイドラインとの違いを説明することが目的である。

試験を行う上での技術的方法は、このガイドラインの目的ではないことに注意することも重要である。試験依頼者は、関連する方法について詳細に記述された他の公表資料、例えば WAAVP Guidelines for Evaluating the Efficacy of Anthelmintics for dogs and cats, *Veterinary Parasitology* 52 : 179-202, 1994 を参照することを勧める。

（2）一般的事項

ア 有効性データの評価

有効性データの評価は、用量決定試験及び用量確認試験では虫体数（成虫、虫）に基づいて行い、野外試験での有効性評価のためには虫卵数／虫同定が望ましい方法である。

対照を置いた試験が、駆虫剤の評価に最も広く認められている試験手順である。しかし、一部の腸内寄生虫、例えば *ascarids* には厳密試験も適当かもしれない。十分な寄生虫感染は、地域的な流行あるいは歴史的及び（又は）統計的データに応じて試験設計書の中に定義しておく。

イ 自然又は人工感染の使用

用量決定試験は、一般に実験室株又は最近野外から分離した株による人工感染を用いて実施する。

用量確認試験は、自然又は人工感染動物を用いる。一般に人工感染を用いる場合には、少なくとも一つの試験は、表示する効能ごとに、自然感染動物で実施すべきである。*Echinococcus multilocularis* と *Dirofilaria sp.* の試験は、エヒノコッカス症の公衆衛生上の配慮及び犬 状虫の効能の複雑さのために、人工感染動物を用いて実施してよい。*Echinococcus multilocularis* が動物寄生虫上重要であることより、この感染試験は高度なバイオセキュリティ施設で行うことが必要である。

以下の寄生虫も、十分な数の感染の入手が困難なので、人工感染が製品の有効性を明らかにする唯一の方法かもしれない。：*Capillaria aerophila*、*Physaloptera spp.* 及び *Crenosoma vulpis*。 虫期の試験は人工感染のみで行って

よい。

人工感染試験に使用した寄生虫の経歴を、最終報告書に含む。

ウ 人工感染に推奨される感染型寄生虫の数

用いる寄生虫数は、大まかなものであり、使用する分離株によっても異なってくる。感染に使用した 虫の最終的な数を最終報告書に含まなくてはならない。表 1 に推奨される数を示す。

表 1 駆虫剤評価のために猫に十分な感染を起こさせる感染期虫体数

寄生虫	範囲
小腸	
<i>Toxocara cati</i>	100 – 500
<i>Toxoscaris leonina</i>	200 – 3,000
<i>Ancylostoma tubaeforme</i>	100 – 300
<i>Ancylostoma braziliense</i>	100 – 300
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1,000 – 5,000
<i>Taenia taeniaeformis</i>	5 – 15
大腸	
<i>Trichuris campanula</i>	100 – 500
心臓	
<i>Dirofilaria immitis</i>	30 – 100*

* 成虫やマイクロフィラリア試験のために、5 – 15 対の成虫を移植する。

エ 有効性の計算についての勧告

(ア) 効能を認める基準

効能を認めるためには、以下の中心的データが含まれている必要がある。

- ① 少なくとも 6 頭の十分に感染した非投薬動物（対照群）と 6 頭の十分に感染した投薬動物（治療群）をそれぞれ使用した 2 回の用量確認試験；
- ② 治療動物と対照動物の虫体数の差が統計的に有意 ($p < 0.05$) であること。
- ③ 変換（幾何平均）データを用いて算出した有効率が 90 % 以上であること；*Echinococcus multilocularis* と *D. immitis* 等幾つかの寄生虫には、公衆動物の福祉と臨床の関連から、より高い有効性標準（すなわち 100 % と同等）が課される場合がある。製品を申請する地域の規制当局と相談すべきである。
- ④ 試験に用いた動物の感染が歴史的及び寄生虫学的及び（又は）統計的基準に基づいて十分と考えられること。
- ⑤ 寄生虫に対する有効性は、糞中又は血中での寄生虫構成部位の存否を明らかにする試験で評価する。*Echinococcus multilocularis* は、公衆衛生の観点から、野外試験は不要である。

(イ) 動物数（用量決定、用量確認及び持続性試験）

各実験群に必要な最少動物数は、重要な点である。動物数は、適切な統計

的解析法によって統計的にデータを処理できる可能性にもよるが、ハーモナイゼーションを達成するために、各実験群に少なくとも6頭の動物を含めることを最低条件とする。

対照群に十分に感染した動物を6頭含んでいない幾つかの試験がある場合（例えば、重要な希少寄生虫）に、それらの試験で得られた成績を12頭分集めてプールし、統計的有意性を計算してもよい。差が有意であれば（ $p < 0.05$ ）、有効率が計算でき、感染が十分であると思われれば、効能が認められることがある。成績を集団に適切かつ意味のあるように外挿するためには、試験を行った実験室間の採材手技及び虫体数の推定を同じようにしておかねばならない。

(ウ) 感染の十分さ

最小限の十分な寄生虫数に関しては、歴史的データ、文献検索又は専門家の証言に基づいて最後の報告書を提出するときに定義される。一般的に、猫における線虫の最小数は5から20で十分であると言われている。

A. tubaeforme では、より多く必要と考えられている。

(エ) 効能表示

各寄生虫の発育期に対する有効性の表示にはそれぞれ自然感染の場合はその段階、人工感染の場合には日齢を記載すべきである。表2推奨される人工感染の治療時期について示す。

大多数の寄生虫は治療終了後剖検まで約7日で十分である。以下の寄生虫は例外である。:

- *Physaloptera* spp., *C. aerophila*, *Echinococcus multilocularis*,
Taenia taeniaeformis, *D. caninum* : 10 ~ 14 日
- *C. vulpis* : 14 日
- *D. immitis* : 試験デザインによる。

表2 推奨される感染後の治療の期間

寄生虫	成虫期	発育期
<i>S. stercoralis</i>	5-9 日	
<i>T. campanula</i>	84 日	
<i>A. tubaeforme</i>	>21 日	6-8 日 (L4)
<i>A. buraziliense</i>	>21 日	6-8 日 (L4)
<i>T. cati</i>	60 日	3-5 日 (L3 / L4)、28 日 (L4 / L5)
<i>T. reonina</i>	70 日	35 日 (L4)
<i>D. immitis</i>	180 日	2 日 (L3)、20-40 日 (L4) 70-120 日 (L5)、220 日 (ミクロフィラリア)
<i>T.taeniaeformis</i>	>35 日	

注) L5 : 5期 虫、L4 : 4期 虫、L3 : 3期 虫

T. cati 移行 虫の経乳垂直伝播に対する効能を取得するには、自然又は人工感染妊娠猫を分娩前の様々な時点で治療し、乳汁中の 虫数と産まれた子猫の

小腸内虫体数を数えて有効性を調べる。

オ 治療法

製品の投与方法（経口、非経口、外用など）、処方及び活性の強さが試験計画の設計に影響する。外用剤の有効性については、天候や動物間の関係を考慮することが望ましい。

経口投与剤では、好性試験は製剤の有効性評価試験の場合には常に行われるべきである。外用する製剤については、有効性の評価に天候（降、紫外線）、入及び被毛の長さの影響を含む。

カ 動物の選別、割り付け及び取扱い

一般的には、約6か月齢の動物が対照を置いた試験に適しているが、よりいた又はより若い動物も用いることができる。以下の場合には例外である。:

- ・ *S. stercoralis* : 6か月齢以下
- ・ *A. braziliense*、*A. tubaeforme* : 6-16週齢
- ・ *T. cari*、*T. leonina* : 4-16週齢
- ・ *D. caninum* : 3か月齢又はそれ以上

自然感染動物は、消化管内寄生虫については排泄虫卵又は排泄片節によって、また、*D. immitis* については寄生虫学的及び（又は）免疫学的方法で選定する。これらを適切な方法を用いて各群に割り付け、繰り返しをすべきであり、その方法を最終報告書に記載する。繰り返しは、その製剤の有効性の最終的評価において影響するかもしれない要因をカバーするようにする。動物の収容、給餌及び管理は猫の福祉に関する厳しい要件に従って実施する。動物は、実験設備と担当者に少なくとも7日間順化させるべきである。動物は、毎日観察して副作用を明らかにする。

(3) 特定の評価試験

ア 用量決定試験

動物種に特異的な事柄なし。

イ 用量確認試験

動物種に特異的な事柄なし。

ウ 野外有効性試験

野外（病院）試験は、原則として *E. multilocularis* と (*D. immitis*) に感染した猫では行ってはいけない。

エ 持続有効性試験

猫において、寄生虫の生物学上の多様性やこれらの寄生虫に対する持続有効性における経験の不足より、推奨される方法は記載しない。

13 - 9 駆虫剤の有効性評価基準：鶏ガイドライン (VICH GL21)

(1) はじめに

鶏についての本ガイドラインは、VICH 駆虫剤ガイドライン作業部会が作成した。本ガイドラインは、駆虫剤の有効性を証明する中心的データのために一般的な見地から作成した「13 - 1 駆虫剤の有効性評価基準：一般ガイドライン」(VICH GL7。以下「一般ガイドライン」という。)と合わせて読むべきである。この文書は、両方の文書の読者が読み比べ易いように一般ガイドラインと同様の構成にしてある。

本ガイドラインは、一般ガイドラインを補足するものであり、a) 一般ガイドラインでは考察しなかった鶏に特有な幾つかの問題を詳しく述べ、b) 有効性データの要件における一般ガイドラインとの違いを明らかにし、c) 一般ガイドラインとの違いを説明することが目的である。しかし、技術的方法を記述するのは、このガイドラインの目的ではなく、適切な方法は現在まで報告されていないので幾つかの詳細のみ示す。

(2) 一般的事項

ア 有効性データの評価

厳密試験は一般に鶏では信頼性があるとは考えられないので、成虫/ 虫の虫体数に基づく対照を置いた試験だけが用量決定試験及び用量確認試験として認められる。属の同定を伴う虫卵数測定は、野外有効性試験での有効性評価のために推奨される方法である。十分な寄生虫感染は、地域的な流行あるいは歴史的及び(又は)統計的データに応じて試験設計書の中に定義しておく。

イ 自然又は人工感染の使用

用量決定試験は、一般に実験室株又は最近野外から分離した株による人工感染を用いて実施すべきである。

用量確認試験は、自然感染動物に前感染寄生虫と干渉し合わない寄生虫を人工的に重感染させて実施してもよい。この方法は広範囲の寄生虫に対して可能であろう。また、1回の実験には、人工感染も認められる。虫期の試験は人工感染のみで行う。

人工感染試験に使用した寄生虫の経歴を最終報告書に含む。

ウ 人工感染に推奨される感染型寄生虫の数

表1に分離されるだろう虫卵と擬囊尾虫(cysticercoïds)の推奨される数を示した。感染に使用した擬囊尾虫又は虫卵の最終的な数を最終報告書に含まなくてはならない。

表1 駆虫剤評価のために鶏に十分な感染を起こさせる感染期虫卵又は虫体数

寄生虫	虫卵、擬囊尾虫体数
<i>Ascaridia galli</i>	200-500
<i>Capillaria obsignata</i>	100-300
<i>Heterakis gallinarum</i>	200-300

Raillitina cesticillus 50-100

Syngamus trachea 200-600

鶏における人工感染の場合に考慮すべき 幾つかのファクター：

- a) 試験には、若い鶏を使用すべきである。
- b) 最大限の感染を成立させるために、少数の感染期の虫体又は虫卵の使用が推奨される。
- c) ストレスは、寄生虫を感染させるのに必要ではない（例えば餌不足）。
- d) 無用な感染を避ける住環境にする。

エ 有効性の計算についての勧告

(ア) 効能を認める基準

効能を認めるためには、以下の中心的データが含まれている必要がある。

- ① 少なくとも 6 の十分に感染した非投薬動物（対照群）と 6 の十分に感染した投薬動物（治療群）をそれぞれ使用した 2 回の用量確認試験；
- ② 治療動物と対照動物の虫体数の差が統計的に有意 ($p < 0.05$) であること。
- ③ 変換（幾何平均）データを用いて算出した有効率が 90 % 以上であること；
- ④ 試験に用いた動物の感染が歴史的及び寄生虫学的及び（又は）統計的基準に基づいて十分と考えられること。

(イ) 動物数（用量決定、用量確認及び持続性試験）

各実験群に必要な最少動物数は、重要な点である。動物数は、適切な統計的解析法によって統計的にデータを処理できる可能性によるが、ハーモナイゼーションを達成するために、各実験群に少なくとも 6 の動物を含めることを最低条件とする。

(ウ) 感染の十分さ

最少限の十分な数について、最終報告書を提出するときに統計的及び歴史的データ、文献検索あるいは専門家の証言に基づいて判断すべきであろう。効能を認めるのに十分と考えられている鶏の 虫（成虫）数の範囲は種によって異なる。一般に十分と考えられる *Ascaridia galli* 成虫の数は 20 匹である。*Heterakis gallinarum*、*Capillaria obsignata* 及び *Raillietina cesticillus* では、より少数と考えられている。解剖は治療後 10 日以内に行う。

(エ) 効能表示

成虫の効能を取得するには、一般原則として、感染後 28 日未満で投薬すべきではない。治療を開始する前に 虫の数と特徴を定めるために少なくとも 6 の確認鶏を含むことを推める。L4 の効能を取得するには、一般原則として、*A.galli* と *H. gallinarum* は感染後 16 日で、その他は感染後 7 日で治療を行う。

オ 治療法

製品の投与方法（経口、非経口、外用、徐放など）、処方及び活性の強さが試験計画の設計に影響する。

飲水中又はプレミックスに添加して投与しようとする薬剤は、できる限り、表示どおりに行うべきである。メディケータッドプレミックスには 好性／消費試験が必要な場合がある。薬剤を添加した水又は飼料から試料を採取して、薬剤濃度を確認する。各動物に与えた薬剤添加飲水又は飼料の量を記録して、治療が表示に合っていることを確認する。

カ 動物の選別、割り付け及び取扱い

試験動物は臨床的に健康で、効能を主張しようとする動物の年齢、性別及び類別を代表するものにすべきである。一般に、若い動物を使用し、感染しやすい状態で育てる。動物はランダムに割り付ける。体重、性別、年齢及び（又は）寄生虫ばく露によるブロック化は繰り返し試験ごとのばらつきを減らすのに役立つかもしれない。糞便中の虫卵も実験動物の割り付けに適切な方法である。対照の鶏は治療群と同じ体重、年齢、飼養状況、性、及び履歴でなければならない。人工感染のためには、寄生虫に未感染な鶏の使用を推奨する。

畜舎、餌及び飼育は動物福祉に従うべきであり、動物は、各国の衛生基準に従ってワクチンを接種する必要がある。この情報は、最終報告書に記載する。少なくとも 10 日の順化期間をとることが勧められる。畜舎と飼料－水は、各地域に応じて適切なものにすべきである。動物は、毎日観察して副作用を明らかにすべきである。

(3) 特定の評価試験

ア 用量決定試験

もし、治療に長期投与が必要ならば、有効性のための最短治療期間を決める 1 回又はより多い試験が必要である。

イ 用量確認試験

動物種に特異的な事柄なし。

ウ 野外有効性試験

商業上の制限によりこれらの試験の実験単位は例外なく小屋／畜舎単位であろう。一つの小屋／畜舎は一つの処理、例えば対照と治療を行う。

臨床観察、産卵の変化及び死亡記録は保存され、市販品で確立された歴史的データと比較する。試験動物の数が不明確な場合には、と殺検査結果は、最終報告書に含む。

14 動物用医薬品のための残留試験法ガイドライン

本ガイドラインは、動物用医薬品の承認申請等の目的で実施される残留試験について、標準的な実施方法を示し、動物用医薬品の安全性の適正な評価に資することを目的とする。

しかし、本来、すべての動物用医薬品について一律の試験方法を定めることは合理的ではなく、また、試験の進展に応じて新たな実験を追加する必要があることも少なくない。したがって、得られた所見が臨床上の安全性評価に資することができるものである限り必ずしもここに示した方法を固守するよう求めるものでない。

原則として食用動物（養殖水産動物を含む。）に使用される新動物用医薬品（食品衛生法（昭和22年法律第233号。以下「食衛法」という。）第11条第3項の規定により人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして厚生大臣が定める物質を除く。）について、異なる2か所以上の施設であって少なくとも1か所は国内施設で実施すること。

(1) 動物

検体の適用を予定している対象動物（養殖水産動物を含む。）であって、飼料及び動物用医薬品の使用歴並びに試験開始前における飼養方法等が明らかなものを用いる。

養殖水産動物にあつては、試験期間中の飼育水温は、それぞれの試験動物ごとに、次の範囲内であることを基準とする。

ぶり、まだい、こい	: 18 ~ 24 °C
うなぎ	: 20 ~ 28 °C
にじます	: 8 ~ 14 °C
あゆ	: 15 ~ 21 °C

(2) 動物数

検体の消長を明らかにするために統計学的に適切な解析が実施可能な数とする。

(3) 投与経路

原則として臨床適用経路とし、その経路が複数ある場合にはその経路を選択した根拠を明確にした上で、最長の残留期間が予想される経路で実施して差し支えない。

(4) 用量段階

原則として臨床最高適用量とする。

(5) 投与期間

臨床適用の最長投与期間とする。ただし臨床適用の期間が長期の場合には、残留量が一定値に到達することを推定できる期間まで投与期間を短縮して差し支えない。

(6) 試料の採取

ア 検体の消長を明らかにするため、統計学的に適切な解析が実施可能な採取時

点を設定する。ただし、原則としていずれの採取時点においても少なくとも3試料から分析対象が検出されるよう設定する。

イ 食品、添加物等の規格基準（昭和34年12月28日厚生省告示第370号）第一食品の部A 食品一般の成分規格の項の6の（1）の表（以下「食品一般の成分規格の表」という。）中第1欄に掲げるものを有効成分として含有する検体にあつては、試験動物をと殺して得る試料の採取時点は、検体の投与終了後に消失期に入った時点と、器官又は組織中の残留濃度が食品一般の成分規格の表中第3欄に定める量（以下「残留基準値」という。）以下となる時点との間に少なくとも一時点の採取時点を設定する。食品一般の成分規格の表中第1欄に掲げるもの以外を有効成分として含有する検体にあつては、必要に応じて農林水産省消費・安全局畜水産安全管理課又は動物医薬品検査所に採取時点について相談されたい。

ウ と殺を必要としないで得る試料（血液、卵、乳汁など）の採取時期は、できる限り頻度を多く設定する。

エ 試料の採取部位は、原則として残留のおそれのある可食部位（筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、小腸、卵、乳汁、注射部位など）とする。

オ 畜舎等に使用される検体で、畜・鶏体に吸収される可能性のあるものについては、血液、卵及び乳汁を採取する。この場合、残留が認められなければ他の可食部位の採取を実施する必要はない。

カ 試料の採取に当たっては、同一器官又は組織中であっても、採取部位により検体の残留濃度が異なる場合があるので、十分留意する。

キ 試料は、速やかに分析に供する。

なお、やむを得ず速やかに分析に供しない場合には、試料を凍結保存し、保存中及び凍結・解凍の過程で検体が分解しないよう留意すること。

（7）分析

ア 「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について」（平成17年1月24日付け食安発第0124001号厚生省医薬食品局食品安全部長通知）において個別試験法が定められている物質にあつては、当該試験法又はこれと同等以上の精度及び感度等を持つ試験法によること。

個別試験法が定められていない物質にあつては、相当の感度、精度及び再現性を有する分析法を確立すること。この場合における相当の感度、精度及び再現性とは、定量限界は残留基準値が定められている物質にあつてはその値以下、その他の物質にあつては推定される残留基準値以下であつて、1～2 ppm の添加回収実験における回収率が70～120%、変動係数（（標準偏差／平均値）×100）が10%程度のもをいう。

イ 分析対象は、原則として検体の有効成分とする。ただし、代謝生成物が明らかで、かつ、残留のおそれがある場合には、これらについても分析対象とする。

ウ 添加回収実験における添加量は、残留基準値又は推定される残留基準値付近の濃度を用い、分析値からは対照値を差し引かずそのまま記載する。また、回

収率の補正は行わない。

エ 検出限界 (a ppm) 以下の場合には「検出せず。」と記載せず「 a ppm」と記載する。

(8) 統計学的解析

ア 休薬期間の設定には、適切な統計学的手法を用いること。

(ア) 組織等からの薬物最終排泄の数学モデルとしては、次の指数型減衰曲線が知られている。

$$C_t = C_0 e^{-vt} \cdots \cdots (a)$$

(a) 式の C_t は t 時点の測定値で、その自然対数 $\log_e C_t = \log_e C_0 - vt$ を $\log_e C_t = Y(t)$ 、 $\log_e C_0 = a$ 、 $v = -b$ と置き換えると、

$$Y(t) = a + bt \cdots \cdots (b)$$

の直線回帰式に変換される。(b) 式及び測定データは、図 1 及び表 1 のように表示される。

(イ) 直線回帰分析

() から () に示した回帰仮説が正しいものであるとの確認を行うこと。

() データを図にプロットし、各時点ごとのデータのばらつきや、全体の減衰直線傾向を観察する。著しくかけ離れたデータがあった場合は、試験設計、採材、薬物測定等の過程における異常を精査し、異常理由の明らかなものはそのことを申請資料に記述して、以後の解析から除外してよい。

しかし、これらのデータが全データの 10 %以上を める場合は、試験をやり直さなければならない。

() 各時点の分散 V_i の等分散性を Cochran の検定又は Bartlett の検定で確認しておくこと。

() 次の回帰による分散分析を行い、直線性の検定、回帰統計量の算出を行う (表 2 参照)。

直線性、曲線性の F 検定は、有意水準 $P=0.025$ (2.5 %) で行い、直線性の有意性、曲線性の非有意性を確認してから、曲線性と残差の平方和を併合して、次のように直線の誤差分散 (V_e) を求める。

$$V_e = s^2 = (S_{TL} + S_R) / (N-2)$$

次の回帰統計量を求める。

$$\text{直線回帰係数 } b = S_{ty} / S_{tt}$$

$$\text{切片 } a = Y_{..} - bt_{..}$$

イ 休薬期間の評価方法

(ア) 特定の採材時間 t_i における直線の最大許容濃度の上限は、次式によって推定する。

$$Y(t_i) = a + bt_i + ks \cdots \cdots (c)$$

ここで、 s は直線の誤差分散 S^2 の平方根、 k は $k = h \cdot t$ ($N-2, c$) によって求められる統計量であり、

$$h=[1/N+ (t_i - t_{..})^2/Stt]^{1/2}$$

$$d=Z_p/h$$

Z_p は、標準正規分布の上側 100 (1 - p) % 点の値であるが、ここでは、 $p=0.01$ 、上側 99 % 点の値

$Z_p=2.3264$ を用いる。

$t(N - 2, c)$ は、自由度 $N - 2$ の非心度 d の t 分布における上側 100 (1 - c) % 点の値であるが、ここでは $c=0.05$ として最大許容濃度域 100 (1 - c) = 95 % 点の値を用いることとする。非心度 d の t 分布は、常用されている中心 ($d=0$) t 分布とは異なるので、Owen の統計数値表などにより求める。

等の求値によって計算する。

(イ) 任意の t_i により求めた最大許容濃度の上限 $Y(t_i)$ が、定められた残留基準値の対数値を超えているかどうかを調べる。もし超えていれば、より多い t_i に変えて (c) 式の計算を反復する。 $Y(t_i)$ が定められた残留基準値の対数値を下回った最初の t_i までを、休薬期間とし、 $e^{Y(t_i)}$ の真数に変換して推定濃度を確認する。これは測定濃度 Y が正規分布であることを前提に、(c) 式の $Y(t_i)$ が残留基準値の自然対数を下回る確率が 99 (1-0.01) % 以上であることを 95 (1-0.05) % 以上の確率で保証したものであり、その上限値が最大許容濃度である。

ウ なお、食衛法第 11 条第 1 項及び第 3 項の基準値又は検出限界値及び吸収排泄等試験での検体の消長から、休薬期間の設定が不要であると推定される場合及び分析対象の消失が極めて速やかである場合にあっては、統計学的解析を行う必要はない。

図1 残留試験の統計学的解析における直線回帰式

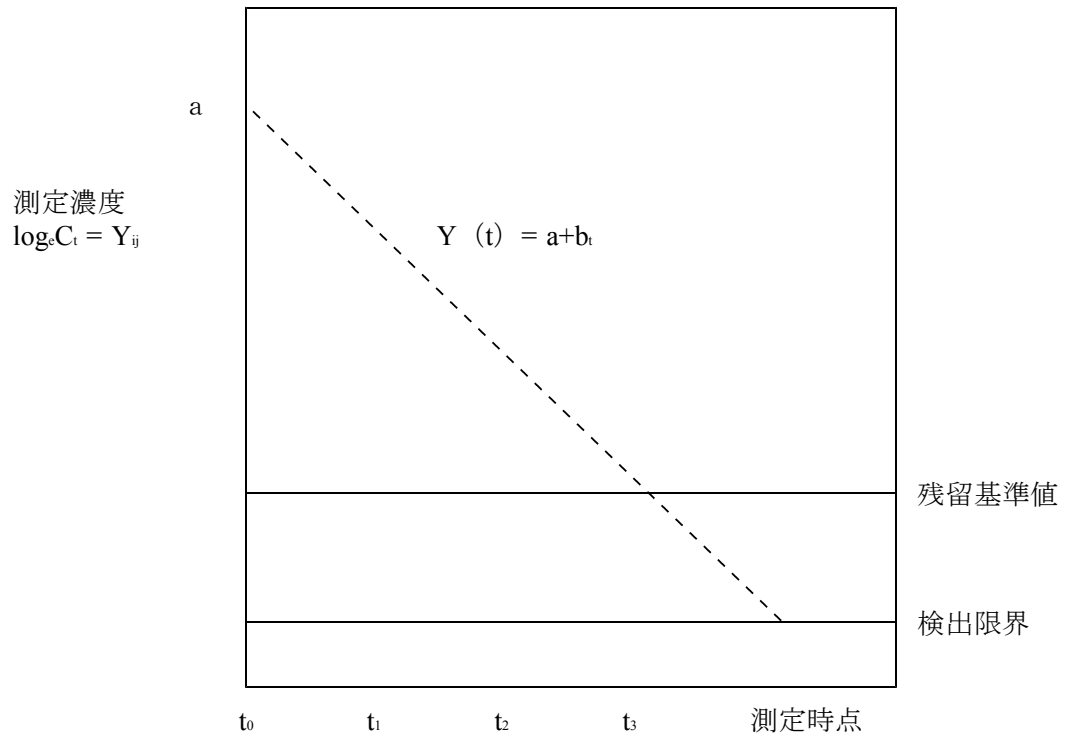


表 1 残留試験の統計学的解析における測定データ

採材時点 t_i	測定濃度 C_{ij}	自然対数変換 $Y_{ij} = \log_e C_{ij}$	平均値	分散
t_1	C_{11}	Y_{11}	$Y_1 = Y_{1j}/n_1$	$V_1 = (Y_{1j} - Y_1)^2 / (n_1 - 1)$
	C_{12}	Y_{12}		
	\cdot	\cdot		
t_2	C_{1n2}	Y_{1n1}	$Y_2 = Y_{2j}/n_2$	$V_2 = (Y_{2j} - Y_2)^2 / (n_2 - 1)$
	C_{21}	Y_{21}		
	C_{22}	Y_{22}		
\cdot	\cdot	\cdot	\cdot	\cdot
	\cdot	\cdot		
	C_{2n2}	Y_{2n2}		
t_m	C_{m1}	Y_{m1}	$Y_m = Y_{mj}/n_m$	$V_m = (Y_{mj} - Y_m)^2 / (n_m - 1)$
	C_{m2}	Y_{m2}		
	\cdot	\cdot		
	C_{mnm}	Y_{mnm}		

表 2 残留試験の統計学的解析における直線回帰分析

変動因 Fv	平方和 ss	自由度 df	不偏分散 Ms	分散比の F 検定	
直線性	S_L	1	$V_L=S_L/1$	V_L/V_R	F (1,N-m,.025)
曲線性	S_{TL}	m-2	$V_{TL}=S_{TL}/m-2$	V_{TL}/V_R	F (m-2,N-m,.025)
残 差	S_R	N-m	$V_R=S_R/N-m$		

全データ数	$N= \sum n_i$
採材時間の総平均	$t_{..}= \sum t_{ij}/N$
測定値の総平均	$Y_{..}= \sum Y_{ij}/N$
採材時間の偏差平方和	$S_u= \sum (t_{ij} - t_{..})^2$
測定値の偏差平方和	$S_{yy}= \sum (Y_{ij} - Y_{..})^2$
積和	$S_{uy}= \sum (t_{ij} - t_{..})(Y_{ij} - Y_{..})$
直線性の平方和	$S_L= (S_{uy})^2/S_u$
採材時間の平方和	$S_T= \sum n_i (Y_i - Y_{..})^2$
曲線性の平方和	$S_{TL}=S_T - S_L$
残差平方和	$S_R=S_{yy} - S_T$

15 内因性感染症に適用するワクチンの製造販売承認申請に際して添付すべき資料について

(1) 物理的、化学的試験の資料

物理的、化学的試験の資料のうち規格及び検査方法設定資料について、ワクチンで通常用いられている免疫学的手法による力価試験の設定が困難な場合には、次のいずれかを力価試験とした資料を添付すること。

ア 生菌数試験、ウイルス含有量試験又は抗原定量試験

イ 他種の感染症の増悪を指標として当該内因性感染症に対する効果が間接的に判定できると考えられるものについては、他種の感染症の増悪防止に関する試験

ウ ア及びイ以外の方法で、検体の力価を明らかにすることができると考えられる試験

(2) 臨床試験の資料

検体投与群と非投与群について、検体の効果（飼料効率、増体率、産卵率の改善等）に関する統計学的処理を行い、両群の有意差を明らかにした資料を添付すること。

16 水産動物への使用を目的とする動物用医薬品の製造販売承認申請のための各試験の実施細則

この実施細則は、水産動物への使用を目的とする動物用医薬品（以下「水産用医薬品」という。）の製造販売承認等の目的で実施される試験のうち、水産動物や水産養殖業の特性を考慮することが必要な項目について 10 の「動物用医薬品のための安全性試験法ガイドライン」及び 14 の「動物用医薬品のための残留試験法ガイドライン」に示した試験の実施方法に加える実施方法等の細部にわたる指針及び推奨事項を示すことを目的とする。

しかし、本来すべての水産用医薬品について一律の試験方法を定めることは合理的でなく、また、試験の進展に応じて新たな実験を追加する必要性も少なくない。したがって、医薬品の有用性が評価できるものである限り、必ずしもここに示した方法等を固守するよう求めるものではない。

(1) 各試験の実施方法

ア 安定性試験

水産養殖業の特性を考慮して、自然環境に存在しない化学物質を有効成分とした飼料添加剤及び薬剤の場合は以下の試験を行う。

なお、観魚用医薬品であって、家庭内等で小規模に使用されることを想定としたもの場合は以下の試験を省略してよい。

(ア) 水中又は水中における分解性試験

対象とする養殖水産動物が産の場合は水、水産の場合には水に検体濃度が 1 ~ 10 μ g/mL の範囲内となるように水又は水に溶解又は懸濁後、2 L 容ビーカーに 1 L 入れ、これを室温 25 °C 前後に保った室内において、以下の 3 条件の試験を行う。いずれの試験においても、蒸発による水の減量は蒸留水を補充することによって補正する。

なお、水は人工水を用いてもよい。

試験 1 : 条件及び静止条件

試験 2 : キセノンランプ等による 2 万ルクスの明条件及びかくはん条件

試験 3 : 検体溶解液に養殖場付近の を約 100g 添加し、試験 2 と同条件

いずれも開始 10 日、20 日、30 日後に、保存液中の検体濃度を求め、保存開始時の濃度に対する分解率を求める。

分析は、日本薬局方等の一般に公定されている方法を用いることが望ましいが、水中又は水中における変化を知ることができる公知の分析方法を用いてもよい。

イ 安全性試験

(ア) 動物

1 か月以上抗菌性物質等試験に影響のある物質を投与していないものを用いることが望ましい。

飼育槽は、室内水槽、野外の やいけす等、いずれでもよい。

試験前には予備飼育を行う。これにより、死亡のみられないこと及び摂餌、体色、遊泳等健康状態について異常のないことを確認するとともに試験環境に十分馴致することが望ましい。

予備飼育期間及び試験期間中は給餌する。給餌方法としては飽食を基本とし、残餌がなく試験動物がむらなく摂餌できるよう留意する。投与する飼料は当該養殖水産動物に用いられているものを使用し、原料及び配合割合を明らかにする。

ぶり、まだい、こい、うなぎ、にじます、あゆ以外の養殖水産動物を用いたときの飼育水温は、次の範囲内であることを基準とする。

にしん目魚類：12～18℃

こい目魚類、うなぎ目魚類、すずき目魚類、かじか目魚類、かれい目魚類、ふぐ目魚類、十 目甲 類：22～28℃

(イ) 用量段階

試験群の投与量は、水産動物の場合、大量に投与しても副作用がみられないことが多いことから、臨床最高投与量 10 倍量を上限としてよい。

(ウ) 観察事項

試験群の全例について、一般状態を多元的に毎日観察した結果、臨床最高投与量に比べ相当程度の水準の用量段階で摂餌、体色、遊泳等の異常といった外見上の副作用がみられず、医薬品の安全性が判断できる場合は、と殺剖検や血液の採取による各種検査はそれぞれの必要性に応じて全部又は一部を省略してよい。

ウ 薬理試験（効力を裏付ける試験資料）

(ア) 対象病原菌を用いた感受性試験

本試験は抗菌性医薬品に限って実施する。対象病原菌の検体に対する感受性を測定し、検体の有効性を試験する。

① 供試菌株

当該養殖水産動物からの野外分離菌株おおむね 50 株以上を用いる。供試菌株は、1 流行期 1 養殖場当たりの野外分離株を 5 株以内とするなど、採取時期、採取場所などに偏りのないよう広く収集することが望ましい。

② 方法

検体の各供試菌に対する最小発育阻止濃度を「日本化学療法学会標準法」に準じて、天平 希釈法により測定する。

③ その他

検体の投与により抗菌活性のある代謝生成物が認められる場合であって、代謝生成物の効果を標 する場合には、その代謝生成物について上記の方法によって感受性試験を行い、対象病原菌等に対する抗菌活性を明らかにする。

(イ) 用量設定試験

本試験は抗菌性医薬品の臨床試験及び安全性試験における投与量を設定す

ることを目的とする。対象病原菌を試験動物に接種した後、検体を投与し効果を試験する。なお、臨床試験において投与量を設定する場合、又は他の資料により投与量が設定できる場合は、本試験は省略してよい。

① 動物

検体の適用を予定している養殖水産動物であって、飼料及び飼育歴並びに試験開始前における飼養方法等が明らかなものを用いる。1か月以上抗菌性物質等試験に影響のある物質を投与していないものを用いることが望ましい。

飼育槽は、病原体の拡散による環境への悪影響がない限り、室内水槽、野外の やいけす等、いずれでもよい。

試験前には予備飼育を行う。これにより、死亡のみられないこと及び摂餌、体色、遊泳等健康状態について異常のないことを確認するとともに試験環境に十分馴致することが望ましい。

予備飼育期間及び試験期間中は給餌する。給餌方法としては飽食を基本とし、残餌がなく試験動物がむらなく摂餌できるよう留意する。投与する飼料は当該養殖水産動物に用いられているものを使用し、原料及び配合割合を明らかにする。

飼育水温は、当該疾病の発生が予想される水温範囲内とする。

② 動物数

各用量群について、おおむね20尾以上を用いる。

③ 感染

人為的感染を実施する。

予備試験を行って供試菌株の LD_{50} を求め、これを基準に接種量を設定し、接種量を明記する。また本試験においては、無投与対照群の死亡率がおおむね70%以上になるように接種量を設定し、最高投与群の有効率がおおむね70%以上になるように用量群を設定する。

なお、この場合の有効率の算出方法は次のとおりとする。

$$\text{有効率 (\%)} = (1 - (\text{投薬群死亡率} / \text{対照群死亡率})) \times 100$$

ただし、既存医薬品投与群を対照群とする場合は、上記の死亡率及び有効率の基準にとられる必要はない。

④ 投与経路

臨床適用経路とする。経口投与である場合には強制経口投与であってもよい。

⑤ 投与開始時期

人為感染後2時間以内に1回目の投与を行う。

⑥ 用量段階

臨床適用量の半量及び2倍量を含む3段階の試験群を設定するとともに、別に対照群を設ける。

⑦ 観察事項

各試験群における死亡の有無を毎日観察する。死亡個体又は死個体に

ついて、速やかに剖検し、必要に応じて細菌学的検査を行い病原体を検索して、当該病原菌によることを確認する。

エ 吸収等試験

(ア) 新医薬品申請の場合の吸収排せつ試験

① 動物

検体の適用を予定している養殖水産動物であって、飼料及び飼育歴並びに試験開始前における飼養方法等が明らかなものを用いる。1か月以上抗菌性物質等試験に影響のある物質を投与していないものを用いることが望ましい。

飼育槽は、室内水槽、野外の池、いけす等のいずれでもよい。

試験前には予備飼育を行う。これにより、死亡のみられないこと及び摂餌、体色、遊泳等健康状態について異常のないことを確認するとともに試験環境に十分馴致することが望ましい。

予備飼育期間及び試験期間中は給餌する。給餌方法としては飽食を基本とし、残餌がなく試験動物がむらなく摂餌できるよう留意する。投与する飼料は当該養殖水産動物に用いられているものを使用し、原料及び配合割合を明らかにする。なお、検体を強制経口投与した後に動物が摂餌行動を示さなくなった場合は、給仕は中止してよい。

飼育水温は、当該疾病の発生が予想される水温範囲内とする。

② 動物数

1採取時点における採取尾数が3尾以上とする。

③ 投与経路

臨床適用経路とする。経口投与である場合には強制経口投与であってもよい。

④ 用量段階

臨床最高投与量の1段とする。

⑤ 投与期間

1回投与とする。

⑥ 試料の採取

試料の採取の時期は、血漿及び各臓器における検体の増加、減少の変化及び最高値が把握できるよう設定する。抗菌活性のある代謝生産物が検出される場合であって代謝生産物の効果を標榜する場合には、これについての経時的変化も同様に明らかにする。

試料は、魚類の場合は、血漿、筋肉、肝臓及び腎臓とし、甲殻類の場合は、筋肉及び中腸腺とする。

試料は個体別に分析するが、1個体から採取した試料が検体の検出に十分量でない場合は、複数個体分の混合試料であってもよい。この場合は、1採取時点で1試料としてもよい。

試料は速やかに分析に供する。なお長期保存する場合には、凍結保存とするが、凍結・解凍の過程で検体が分解しないよう注意するとともに、保

存のために用いる器材などが分析値に影響を及ぼさないように留意する。

⑦ 試料の採取方法

筋肉・魚類の場合は、左側第1背ビレ基部の側線より上部の筋肉で皮膚及び血合い肉を含まない。

血漿・背大動（静）脈、心臓又はキュビエ氏管から採血後速やかに遠心分離を行い血漿を分離する。血漿に代えて全血を分析試料としてもよい。

内臓・魚類の場合は、胆のうを傷つけないように目的とする臓器を採取する。胆のうを傷つけ、胆汁が漏れた場合には生理的食塩水等でよく洗浄し、その旨を備考欄に記入する。

⑧ 分析

検体及び抗菌活性のある代謝生成物の生体内における経時的変化を明らかにできる方法で行う。

分析値は試料別に記載する。また、平均値も記載することとするが、検出限界以下の測定値が含まれているものについては平均値を記載しない。別に経時的変化を図示する。

(イ) 後発医薬品申請の場合の生物学的同等性試験

① 試験動物

検体の適用を予定している養殖水産動物であって、試料及び飼育歴並びに試験開始前における使用方法等が明らかなものを用いる。1か月以上抗菌性物質等試験に影響のある物質を投与していないものを用いることが望ましい。

飼育槽は、室内水槽、野外の やいけす等、いずれでもよい。

試験前には予備飼育を行う。これにより、死亡のみられないこと及び摂餌、体色、遊泳等健康状態について異常のないことを確認するとともに試験環境に十分馴致することが望ましい。

予備飼育期間及び試験期間中は給餌する。給餌方法としては飽食を基本とし、残餌がなく試験動物がむらなく摂餌できるよう留意する。投与する飼料は当該養殖水産動物に用いられているものを使用し、原料及び配合割合を明らかにする。なお、検体を強制経口投与した後に動物が摂餌行動を示さなくなった場合は、給仕は中止してよい。

飼育水温は、当該疾病の発生が予想される水温範囲内とする。

② 動物数

1採取時点における採取尾数が5尾以上とする。

③ 投与経路

臨床適用経路とする。経口投与である場合には強制経口投与であってもよい。

④ 用量段階

臨床最高投与量の1段とする。

⑤ 投与期間

1回投与又は臨床的用の最長投与期間のいずれかとする。

⑥ 試料の採取

試料の採取時期及び回数は、検体の濃度の増加過程に1回、最高値を示す時期の付近に2回、消失過程に3回以上の計6回以上とする。

試料は、魚類の場合は、血漿（又は全血）、甲類の場合は筋肉とする。

試料は個体別に分析するが、1個体から採取した試料が検体の検出に十分量でない場合は、複数個体分の混合試料であってもよい。この場合は、1採取時点で試料数が5試料以上とする。

採取方法は、吸収排せつ試験に準ずる。

オ 臨床試験

(ア) 動物

検体の適用を予定している養殖水産動物であって、飼料及び飼育歴並びに試験開始前における飼養方法等が明らかなものを用いる。

給餌方法としては、養殖業において通常行われている方法による。投与する飼料は養殖業において試験動物に実際に用いられているものを使用し、原料及び配合割合を明らかにする。

(イ) 動物数

養殖経営体における最小単位（飼育面積 10m² 程度の最も小さなサイズの養殖、いけす等で差し支えない。）を1試験群とすることが望ましい。

(ウ) 用量段階

臨床適用量の1段階とする。

臨床的用量に幅のある場合には最低用量投与群と最高用量投与群の2段階を設定する。

死亡数の推移等、投与群の試験結果のみで医薬品の有効性が判断できる場合は、対照群は省略してよい。

なお、投与量の根拠がまったくない場合、又は薬理試験その他の資料において、臨床試験のための投与量の設定に幅のあるデータが得られた場合、臨床試験において複数の用量を設定した試験を行うことによって製造承認申請書に記載される用法、用量の設定根拠を明確にする。

(エ) 投与期間

臨床適用を予定する投与期間とする。

臨床適用を予定する投与期間に幅のある場合には、最短及び最長投与群の2段階を設定する。

(オ) 試験の設定数

用量段階、投与期間等の設定により、試験条件が1とおりのみの場合は、その条件の試験を2か所で行うが、2とおりに以上となった場合は、各条件の試験は1か所ずつでよい。

(カ) 観察及び測定

各試験群における死亡の有無を毎日観察し、供試魚群の遊泳状況、摂餌状況、体色、症状等の変化に注目する。死亡個体のある場合には死亡原因が対象病原菌によることを確認するためにすみやかに剖検し、必要に応じて細菌

学的検査を行う。

カ 残留性試験

人の健康に悪影響のない医薬品及び観 魚用医薬品の場合は、本試験の実施は要しない。

(ア) 試験動物

1か月以上抗菌性物質等試験に影響のある物質を投与していないものを用いることが望ましい。

飼育槽は、室内水槽、野外の 、いけす等のいずれでもよい。

試験前には予備飼育を行う。これにより、死亡のみられないこと及び摂餌、体色、遊泳等健康状態について異常のないことを確認するとともに試験環境に十分馴致することが望ましい。

予備飼育期間及び試験期間中は給餌する。給餌方法としては飽食を基本とし、残餌がなく試験動物がむらなく摂餌できるよう留意する。投与する飼料は当該養殖水産動物に用いられているものを使用し、原料及び配合割合を明らかにする。

ぶり、まだい、こい、うなぎ、にじます、あゆ以外の養殖水産動物を用いたときの飼育水温は、次の範囲内であることを基準とする。

にしん目魚類：8～14℃

こい目魚類、うなぎ目魚類、すずき目魚類、かじか目魚類、かれい目魚類、ふぐ目魚類、十 目甲 類：18～24℃

(イ) 動物数

1採取時点における採取尾数が5尾以上とする。

(ウ) 試料の採取

試料の採取回数は、3回以上とする。

試料の採取部位は、一般的な人の食習 を考慮して次のとおりとする。

にしん目魚類（ 水中で飼育するもの）、すずき目魚類、かれい目魚類、ふぐ目魚類：筋肉（皮膚を含まない）、肝臓及び腎臓

あゆを除くにしん目魚類（ 水中で飼育するもの）、かじか目魚類：筋肉（皮膚を含む）、肝臓及び腎臓

あゆ、こい目魚類：筋肉（皮膚を含む。）、内臓（肝臓、腎臓、脾臓、胃、腸の混合）

うなぎ目魚類：筋肉（皮膚を含む。）、内臓（肝臓、胃、腸の混合）

十 目甲 類：筋肉（ を含まない。）、中腸腺

筋肉とは魚類の場合、魚体の左側第1背ビレ基部で側線より上の血合肉を含めた筋肉とする。皮膚を含む場合は、筋肉の採取部分の外側を覆う皮膚をすべて含ませるようにし、試料によって皮膚の混合割合に大きなばらつきが出ないように留意する。内臓は対象とする臓器を採取後、混合させたものとする。複数の部位、臓器の混合試料の場合は、細切してミンチにし、完全に均一とした後、一定量を分析試料とする。試料は個体別に採取するが、1個体から採取した試料が検体の検出に十分量でない場合は、複数個体分の混合

試料であってもよい。この場合も、1採取時点での試料数は3試料以上とする。

(2) 試験対象魚の区分

ア 養殖水産動物用の抗菌性医薬品

安全性試験、薬理試験、吸収等試験、臨床試験及び残留性試験は、表1のA欄に掲げた動物に使用することを目的とするものは、対応するB欄の動物の試験資料により代表させることができる。この場合、安全性試験、薬理試験及び吸収等試験はいずれか1種について各1か所、臨床試験及び残留性試験はいずれか1種について2か所又はいずれか2種について各1か所ずつ計2か所とするが、にしん目魚類（水中で飼育するもの）の残留性試験は、にじます及びあゆについて各1か所ずつとし、すずき目魚類の残留性試験は、ぶりについて1か所以上含むこととする。

なお、薬理試験及び臨床試験については、効能、効果の対象とする病原菌が同じ場合に限る。

また、薬理試験の中の対象病原菌を用いた感受性試験については、効能、効果の対象とする病原菌が同じ場合、硬骨魚類全体について表1のB欄の分類学上の目の異なる複数の魚種を用いた試験資料により代表させることができる。

イ 養殖水産動物用の抗菌性でない医薬品（生物学的製剤を除く。）

魚類については、硬骨魚類全体について表1のB欄の分類学上の目の異なる複数の動物についての試験資料により代表させることができる。

甲 類については、十目甲類全体についてくるまえばいについての試験資料により代表させることができる。

ウ 観魚用の医薬品

観魚全体について分類学上の目の異なる複数の観魚についての試験資料により代表させることができる。

薬理試験及び吸収等試験については、他の脊椎動物（水産動物に限らない。）についての試験資料がある場合は、観魚についての試験資料の提出は要しない。

表 1 試験対象魚の区分

A	B
にしん目魚類 (水中で飼育するもの) にしん目魚類 (水中で飼育するもの) こい目魚類 うなぎ目魚類 すずき目魚類 かじか目魚類 かれい目魚類 ふぐ目魚類 十 目 甲 類	ぎんざけ にじます、あゆ こい うなぎ ぶり、まだい、まあじ めばる、くろそい ひらめ とらふぐ くるまえび

注：にしん目魚類 (水中で飼育するもの) はぎんざけ等の 性魚類の 水飼育期のものを含む。