

ウエッシュクリーンの生物学的同等性試験

<社 内 資 料>

試験薬:ウエッシュクリーン

対照薬:先発品

当資料は大阪府立公衆衛生研究所 薬事指導部の協力のもとに実施した試験の結果に基づき作成した。

ニプロ株式会社

試験は、エタノールを溶剤とした手指消毒剤である両剤の生物学的同等性を証明するために、特定菌種を選定した *in vitro* 試験及び手指に存在する細菌を対象とし、実際の手指を用いた *in vivo* 試験の両方法で行った。

1. *in vitro* における生物学的同等性試験

試験は、最小発育阻止濃度(以下、MICと略記)の測定、フェノール係数の測定、Kelsey-Sykes 改良法による有効濃度測定の方法で行った。

この3方法を採用したのは、すでに英国の公的機関で採用されている方法であり、殺菌消毒剤の同等性試験を行うのに相応しい方法であると考えられるためである。

試験を行うに当たり、まず初めに手指の常在菌である Staphylococcus aureus を含め、最近問題となっている院内感染起因菌のうち、代表的な下記の菌種を選定した。

Pseudomonas aeruginosa IFO 13275

Proteus vulgaris IFO 3988

Escherichia coli IFO 3806

Staphylococcus aureus IFO 12732

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA) *

Staphylococcus epidermidis IFO 12993

Enterobacter cloacae IFO 13535

*メチシリン(DMPPC)に対するMIC値が200 µg/mLを示す株を使用

(1) MIC の測定

供試菌として上記の7菌株を用い、日本化学療法学会の標準法である寒天平板希釈法¹⁾に従って測定した結果、表1のとおり7菌株に対して試験薬及び対照薬は同じMICを示した。

表1 最小発育阻止濃度(MIC)

供 試 菌	MIC (µg / mL)	
	試 験 薬	対 照 薬
<u>P. aeruginosa</u> IFO 13275	200	200
<u>P. vulgaris</u> IFO 3988	100	100
<u>E. coli</u> IFO 3806	100	100
<u>S. aureus</u> IFO 12732	1.56	1.56
メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)	1.56	1.56
<u>S. epidermidis</u> IFO 12993	1.56	1.56
<u>E. cloacae</u> IFO 13535	100	100

塩化ベンザルコニウムの濃度(µg/mL)として

(2) フェノール係数の測定

供試菌のうち、MIC測定試験の結果より、最も抵抗性を示した *P. aeruginosa* を用い、常法²⁾に従って、フェノール係数を測定したところ、試験薬及び対照薬ともフェノール係数 0.1 を示した。

(3) Kelsey-Sykes 改良法³⁾による有効濃度の測定

供試菌のうち、MIC測定試験の結果より、最も抵抗性を示した *P. aeruginosa* を用い、Kelsey-Sykes 法を一部改良した方法によって、清潔な状態及び不潔な状態での有効濃度を測定した。

その結果、試験薬及び対照薬とも、清潔な状態では 0.03w/v%、不潔な状態では 0.067w/v%が有効濃度となった。

以上の結果より、MIC、フェノール係数、Kelsey-Sykes 改良法による有効濃度の測定において、試験薬と対照薬は同じ値を示し、in vitro において両製剤が同等であることが証明された。

2. in vivo における生物学的同等性試験

in vitro 試験では、特定の細菌について2製剤の効力評価を行ったが、外用殺菌消毒剤の効果を評価する場合、実際に使用する部位での殺菌効果についても検討することが理想であり、本薬剤の場合、使用部位が手指皮膚であるため、実際に人の手指を用いた in vivo 試験を同時に実施した。

外用殺菌消毒剤の in vivo 試験としては、現在、スタンプアガー法、ベースン法、グローブジュース法⁴⁾⁵⁾等があるが、今回は、その中で特に定量的な評価において優れており、FDA(米国食品医薬品局)が外科用手指消毒薬の有効性試験法として推奨しているグローブジュース法を一部改変した方法⁶⁾により生物学的同等性試験を行った。

被験者8名を4名ずつ2群に分け、さらに左右の手をそれぞれ独立した検体とし、1群8検体の2×2型ラテン方格で割付け、クロスオーバー法により試験を行った。

なお、同等性の判定は、測定した菌数の対数値をもとに、経口投与製剤と同様の統計解析^{7)~9)}をし、検定を行った。

統計解析の結果、試験薬と対照薬との消毒後手指菌数の対数値平均の差は1回目は3.50%、2回目は5.13%とそれぞれ対照薬の20%以内であり、分散分析においては、1回目及び2回目ともに群又は持込み、時期、薬剤間に有意差は認められなかった。(なお、1回目及び2回目ともに被験手間及び被験手/群において有意差が認められたが、これは個体差によるものと思われる。)このことより、試験薬と対照薬が生物学的に同等であることが証明された。

また、実験精度において、検出力、最小検出差、信頼区間はすべて基準を満たしていることより、この実験法が同等性試験を行うのに適切な方法であったことがわかる。

参考として、消毒前及び消毒後の手指菌数の測定結果を表2、表3に示す。

表2 消毒前菌数及び対数値

(1回目)

検体	菌数 (個/手)		対数値 (log)	
	右	左	右	左
1	2.38×10^7	5.63×10^5	7.377	5.751
2	2.09×10^6	1.38×10^5	6.320	5.140
3	1.17×10^5	1.40×10^5	5.068	5.146
4	7.81×10^6	3.81×10^6	6.893	6.581
5	5.41×10^6	8.05×10^6	6.733	6.906
6	5.36×10^5	8.52×10^5	5.729	5.930
7	1.46×10^6	8.87×10^5	6.164	5.948
8	5.20×10^6	7.77×10^6	6.716	6.890
合計			51.000	48.292

(2回目)

検体	菌数 (個/手)		対数値 (log)	
	右	左	右	左
1	6.35×10^5	1.70×10^7	5.803	7.230
2	7.79×10^5	1.80×10^6	5.892	6.255
3	4.70×10^5	6.66×10^4	5.672	4.823
4	1.89×10^7	5.65×10^6	7.276	6.752
5	5.56×10^6	4.03×10^6	6.745	6.605
6	1.22×10^5	1.40×10^5	5.086	5.146
7	3.36×10^6	6.74×10^5	6.526	5.829
8	8.39×10^6	4.28×10^6	6.924	6.631
合計			49.924	49.271

表3 消毒後菌数及び対数値

(1回目)

検体		期		期			
		菌数(個/手)	対数値(log)	菌数(個/手)	対数値(log)		
群	1 - 右	試	3.76×10^4	4.575	対	1.26×10^6	6.100
	2 - 右		6.47×10^5	5.811		3.37×10^5	5.528
	3 - 右		4.68×10^3	3.670		3.00×10^3	3.477
	4 - 右		1.74×10^6	6.241		4.84×10^6	6.685
	1 - 左	薬	2.41×10^5	5.382	照	4.95×10^5	5.695
	2 - 左		3.60×10^3	3.556		3.19×10^4	4.504
	3 - 左		7.80×10^2	2.892		1.02×10^3	3.009
	4 - 左		2.00×10^5	5.301		6.69×10^5	5.825
	合計			37.428			40.823
群	5 - 右	対	5.75×10^5	5.760	試	1.21×10^6	6.083
	6 - 右		5.15×10^4	4.712		1.99×10^5	5.299
	7 - 右		7.97×10^5	5.901		5.16×10^5	5.713
	8 - 右		2.71×10^6	6.433		2.95×10^5	5.470
	5 - 左	薬	4.39×10^4	4.642	験	2.59×10^5	5.413
	6 - 左		3.88×10^4	4.589		1.64×10^4	4.215
	7 - 左		9.72×10^4	4.988		2.24×10^5	5.350
	8 - 左		3.27×10^4	4.515		3.32×10^4	4.521
	合計			41.540			42.064

(2回目)

検体		期		期			
		菌数(個/手)	対数值(log)	菌数(個/手)	対数值(log)		
群	1 - 右	試験	5.74×10^4	4.759	対照	2.84×10^5	5.453
	2 - 右		7.28×10^5	5.862		1.67×10^5	5.223
	3 - 右		9.60×10^2	2.982		1.80×10^2	2.255
	4 - 右		2.70×10^6	6.431		3.19×10^6	6.504
	1 - 左	薬	6.83×10^4	4.834	薬	3.05×10^6	6.484
	2 - 左		1.25×10^5	5.097		2.43×10^5	5.386
	3 - 左		7.80×10^3	3.892		2.28×10^3	3.358
	4 - 左		1.14×10^6	6.057		1.05×10^5	5.021
	合計			39.914			39.684
群	5 - 右	対照	2.65×10^6	6.423	試験	2.94×10^5	5.468
	6 - 右		5.17×10^4	4.713		1.50×10^3	3.176
	7 - 右		1.75×10^5	5.243		2.99×10^5	5.476
	8 - 右		1.75×10^6	6.243		1.53×10^6	6.185
	5 - 左	薬	2.86×10^5	5.456	薬	4.15×10^4	4.618
	6 - 左		1.01×10^4	4.004		3.60×10^2	2.556
	7 - 左		1.21×10^4	4.083		1.61×10^4	4.207
	8 - 左		1.09×10^4	4.037		1.54×10^4	4.188
	合計			40.202			35.874

3. 結果

以上の結果から、in vitro 試験により、手指常在菌である *S. aureus* を含めた特定菌株に対しての試験薬と対照薬の同等性が証明され、また、in vivo 試験により、実際に使用する条件下での両製剤の同等性が証明された。

- 文献 -

- 1) 五島 瑳智子他:CHEMOTHERAPY, 29, 76 - 79(1981)
- 2) 厚生省編集:衛生検査指針[], 38 - 48(1952)
- 3) J.C.Kelsey et al.:The Pharmaceutical Journal, 30, 528 - 530(1974)
- 4) Federal Register, 39, 33137 - 33139(1974)
- 5) Federal Register, 43, 1242 - 1243(1978)
- 6) 山崎 浩史 他:防菌防黴, 16, 443 - 448(1988)
- 7) 江島 昭 他:医薬品研究, 13, 1106 - 1119(1982)
- 8) 江島 昭 他:医薬品研究, 13, 1267 - 1271(1982)
- 9) 江島 昭 他:医薬品研究, 15, 123 - 133(1984)