

最近の臨床分離菌に対する Acrinol の抗菌力と光の影響¹薄木玲子^{*2}, 佐治 守², 秋本眞喜雄³, 葉山修陽⁴, 大國寿士⁵日本医科大学付属千葉北総病院薬剤科², 同第二内科⁴関東学院大学工学総合研究所³, メデカジャパン総合研究所⁵Antibacterial Activity of Acrinol against Organisms Isolated from
Clinical Materials and Influence of Light on
Antibacterial Activity of Acrinol¹Reiko Usuki^{*2}, Mamoru Saji², Makio Akimoto³, Naoaki Hayama⁴ and Hisashi Ohkuni⁵Section of pharmaceuticals², Department of Second Internal Medicine⁴

Chiba Hokusou Hospital of Nippon Medical School, Institute of

Science and Technology, Kanto Gakuin University³, Clinical Laboratory, Medeca Japan⁵〔Received April 18, 2003
Accepted October 12, 2003〕

The sensitivity of 16 species of bacteria (68 strains) isolated from clinical materials to Acrinol was investigated from 2000 to 2001. Acrinol was effective against *Staphylococcus aureus* and other gram-positive cocci. The minimum inhibitory concentration (MIC) of Acrinol for *S. aureus* including MRSA ranged from 100 to 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$. However, Acrinol was less effective against gram-negative rods than for gram-positive cocci. The MIC of Acrinol for *Escherichia coli* was 200–800 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and it was over 1,600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for *Proteus vulgaris* and *Proteus mirabilis*. On the other hand, Acrinol was effective against the multiple drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, and the MIC of Acrinol for all strains of *P. aeruginosa* (including some resistant to almost all antibiotics) ranged from 200–1,600 $\mu\text{g}/\text{mL}$, the commonly used concentration range of Acrinol. When exposed to light of 500 lx for 90 days, Acrinol changed color but its antibacterial activity was maintained. These results suggest that Acrinol is a useful drug for the treatment of infected skin lesions.

Key words — Acrinol, antibacterial activity, MIC, effect of light, *Pseudomonas aeruginosa*

緒 言

MRSA や多剤耐性緑膿菌 (*P. aeruginosa*) による感染を生じた褥瘡や熱傷から、これらの耐性菌を除菌することは、治療上の有用性のみならず、院内感染源を排除する上で重要である¹⁾。MRSA や *P. aeruginosa* 感染褥瘡や熱傷に対し抗生物質による治療がなされているが必ずしも満足できる効果は得られていない。また、povidone-iodine は広範囲な抗菌スペクトルと短時間における殺菌力を持つものの、これらの外皮感染巣に存在する浸出液や膿などの生体成分により殺菌力は著しく低下する²⁾。殺菌力の低下を補うために高濃度の povidone-iodine を使用すると創部の肉芽形成が遅延すると考えられる。一方、色

素剤の抗菌力は深達性であり、浸出液や膿などの生体成分で減弱せず、持続した抗菌力を持ち、さらに生体組織に刺激が少ないなどの特徴を有する^{3,4)}。

私どもは色素の特徴に着目し、MRSA あるいは *P. aeruginosa* の感染治療剤となりうる色素剤を探索することを目的に、色素剤を単なる消毒剤としての観点からでなく、感染治療剤としての抗菌力の検討を行ってきた^{5–12)}。Acridine 系色素剤に属する Acrinol が *P. aeruginosa* の外膜の透過性を亢進する作用があり、外膜透過性が低いために *P. aeruginosa* に対し抗菌力が弱いとされてきた Gentian violet (日局名：塩化メチルロザリニン)¹³⁾ や Tetracycline^{14,15)} などの薬剤も Acrinol と併用することにより *P. aeruginosa* に対する抗菌力が増強されることを報告した^{8,9,12)}。今回、最近の各種臨床分離菌株に

¹ 本論文の要旨は医療薬学フォーラム2002/第10回クリニカルファーマシーシンポジウム(2002, 千葉)において発表した。

^{2,4} 千葉県印旛郡印旛村鎌苅1715; 1715, Kamakari, Inba-mura, Inba-gun, Chiba, 270-0016 Japan

³ 神奈川県横浜市金沢区六浦町4834; 4834, Mutsuura-cho, Kanazawa-ku, Yokohama-shi, Kanagawa, 236-8501 Japan

⁵ 埼玉県鴻巣市天神3-673; 3-673, Tenjin, Konosu-shi, Saitama, 365-8511 Japan

対する Acrinol の抗菌力ならびに Acrinol の抗菌力に及ぼす光の影響について検討を行ったので報告する。

材料と方法

1. 使用薬剤

Acrinol (小堺製薬株), Tetracycline hydrochloride (ICN Biochemicals) を使用した。

2. 使用菌株

2000年から2001年にかけて日本医科大学付属千葉北総病院ならびにその関連病院の細菌検査室において各種臨床材料から分離した臨床分離菌 *Staphylococcus aureus* 12株 [methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA) 7株, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) 5株], *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) 4株, *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) 2株, *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) 2株, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) 13株, *Escherichia coli* (*E. coli*) 12株, *Enterobacter cloacae* (*E. cloacae*) 6株, *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) 4株, *Serratia marcescens* (*S. marcescens*) 3株, *Klebsiella oxytoca* (*K. oxytoca*) 2株, *Stenotrophomonas maltophilia* (*S. maltophilia*) 2株, *Morganella morganii* (*M. morganii*) 2株, *Burkholderia cepacia* (*B. cepacia*) 1株, *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis*) 1株, *Proteus vulgaris* (*P. vulgaris*) 1株と検定用標準菌 *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 をそれぞれ用いた。

3. 使用培地

ミューラーヒントン液体培地 (Difco, MH 液体培地) およびミューラーヒントン寒天培地 (Difco, MH 寒天培地) を増菌ならびに薬剤感受性試験用培地として用いた。

4. 最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration: MIC) の測定

MIC の測定は寒天培地希釈法¹⁶⁾ に準じて測定した。すなわち、薬剤を秤量後、滅菌精製水で2倍希釈系列を作製し、その2 mL を MH 寒天培地18 mL に混釈し、各々所定濃度の寒天平板培地を作った。被験菌株は MH 液体培地に接種後、37℃で、18時間培養し、その培養液を菌液 (10^8 CFU/mL) とした。薬剤被験液を含む MH 寒天平板培地に菌液 $10 \mu\text{L}$ を塗抹し (10^6 CFU/plate), 37℃, 18時間培養後、菌の発育がまったく認められなかった最小発育阻止濃度を MIC とした。

5. 併用効果の測定

被験菌に対する2剤併用効果の検討はチェッカーボード法¹⁷⁾を用いた。すなわち実験4と同様な方法で Acrinol

単独, Tetracycline 単独, Acrinol と Tetracycline の2剤を各々所定濃度を含む MH 寒天平板培地を作り、それらの平板培地に37℃, 18時間培養後の菌液 (10^8 CFU/mL) を $10 \mu\text{L}$ 塗抹し (10^6 CFU/plate), 菌の発育の有無を観察した。この結果を基に Acrinol, Tetracycline の希釈系列によるチェッカーボードを作成し、各々の薬剤の MIC を求めた。これらの MIC 値から FIC Index (Fractional Inhibitory Concentration Index)^{17,18)} を求め、併用効果を判定した。

$$\text{FIC Index} = \frac{\text{併用時における Acrinol の MIC 値}}{\text{単独時における Acrinol の MIC 値}} + \frac{\text{併用時における Tetracycline の MIC 値}}{\text{単独時における Tetracycline の MIC 値}}$$

なお、FIC Index が0.5以下 (FIC Index ≤ 0.5) を相乗作用、FIC Index が0.5以上、1.0以下 ($0.5 < \text{FIC Index} \leq 1$) を相加作用、FIC Index が1.0以上、2.0以下 ($1 < \text{FIC Index} \leq 2$) を無関係、FIC Index が2以上 ($2 < \text{FIC Index}$) を拮抗するとした基準に準じた。

6. 0.1% Acrinol の色の変化の測定

0.1% Acrinol 水溶液を透明ガラス製の共栓シリンダー (直径25mm, 高さ240mm, 厚さ3 mm) に入れ、照度500lx の光源下に放置した。一定期間放置後、これより経時的に一定量採取し、Acrinol 水溶液の色の変化を検討した。視覚所見を定量化するために、試料を厚さ10mm の石英セルに入れ、ビデオカメラを用いた画像による色の測定装置 (Image colorimeter)¹⁹⁻²¹⁾ を用いて測定した。測定した色の RGB 値を色の三属性 (色相, 明度, 彩度) に対応した色の座標に変換し、Commission Internationale del' Eclairage (CIE)-L*a*b*系*) の色彩表現を利用し色相を検討した。色相は X 軸に赤—緑, Y 軸に黄—青の色合を取り、Psychometric chroma coordinates (a^* , b^*) で表示した。

7. Acrinol の抗菌力におよぼす光の影響

MH 寒天平板培地希釈法による Acrinol の MIC の測定 ($25 \sim 1,600 \mu\text{g/mL}$) において、Acrinol を $1,600 \mu\text{g/mL}$ 含有する MH 寒天平板培地を作製するためには被験濃度の10倍高い濃度の Acrinol 水溶液が必要となることから、1.6% Acrinol 水溶液を調製し、これを実験6と同一条件下で光源下に放置したものを被験原液とした。

1) 光照射後の Acrinol の MIC の変化

0, 10, 30, 50, 70, 90日間、一定光源下で放置した被験原液から2倍希釈系列を作製し、実験4と同様な方法により *S. aureus* ATCC 25923 および *E. coli* ATCC 25922 に対する Acrinol の MIC を測定した。経時的に測定した MIC 値の変化から Acrinol の抗菌力におよぼす光の影響を検討した。

2) *P. aeruginosa* に対する Acrinol と Tetracycline の併用効果におよぼす光の影響

臨床分離菌 *P. aeruginosa* #40-1 を被験菌とした。90日間光源下に放置した Acrinol 被験原液を用い、*P. aeruginosa* に対する照射処理後の Acrinol と Tetracycline との併用効果を実験5の方法で測定した。光未照射の Acrinol と Tetracycline との併用効果を対照とし、2剤併用効果におよぼす光の影響について検討した。なお、Acrinol の *P. aeruginosa* に対する外膜透過性亢進作用を確認し、数量化するために Acrinol と Tetracycline の2剤併用効果を用いた。すなわち、Tetracycline は細菌のリボソーム30S サブユニットに特異的に結合することにより抗菌力を示すが、*P. aeruginosa* の外膜の透過障壁によって、その作用部位に到達できないため *P. aeruginosa* に抗菌力がないとされている^{14,15)}。しかし、Tetracycline に Acrinol を併用すると、Tetracycline の抗菌力が増大する。このことは、Acrinol が *P. aeruginosa* の外膜透過性を亢進させることにより、Tetracycline が菌体内作用部位に到達できたものと考えた¹²⁾。

結 果

1. 各種臨床分離菌に対する Acrinol の抗菌力

Table 1 に16種類の臨床分離菌に対する Acrinol の抗菌力を示した。Acrinol は200 µg/mL で MRSA を含む *S. aureus* の全被験菌株の発育を抑制した。腸球菌においては、*E. faecium* の方が *E. faecalis* より Acrinol に対し高い感受性を示した。いずれにしても Acrinol は400 µg/mL でグラム陽性菌の全被験菌株を抑制した。グラム陰性菌に対し、Acrinol は800 µg/mL で *E. coli*, *E. cloacae* などグラム陰性菌全被験株48株中37株(77.1%)を抑制し

た。また *P. aeruginosa* は Acrinol 1,600 µg/mL で全被験菌株が抑制されたが、*K. pneumonia* 4株のうち3株、*S. marcescens* 3株のうち2株、*P. vulgaris*, *P. mirabilis* および *M. organii* は1,600 µg/mL においても抑制されなかった。なお、標準菌 *S. aureus* ATCC 25923 と *E. coli* ATCC 25922 はそれぞれ Acrinol 100 µg/mL と200 µg/mL で抑制され臨床分離株と同等の感受性を示した。

2. 光による Acrinol の色の変化

0.1% Acrinol 水溶液を照度500lx の光源下に置き、その色の変化を経時的に観察した。肉眼による所見では、緑がかった蛍光を帯びた黄色であった Acrinol 水溶液が照射後10日目頃からやや褐色を帯び始め、以後照射日数の増加とともに褐色の度合いを増し、30日経過後には淡黄褐色になった。さらに照射50日後から淡褐色となった。90日後には褐色の度合いを増したが、沈殿物は認められなかった。Image colorimeter により Acrinol の色の変化を測定した。色相の変化を Fig. 1 に示した。照射時間とともに a* 値の増加と b* 値の減少が認められた。なお、同一期間、遮光保存した Acrinol には色の変化は認められなかった。

3. Acrinol の抗菌力におよぼす光の影響

1) Acrinol の MIC におよぼす光の影響

被験菌 *S. aureus* ATCC25923 および *E. coli* ATCC25922 に対する照射前の Acrinol の MIC は各々100 µg/mL, 200 µg/mL であった。照射後10, 30, 50, 70, 90日目の Acrinol を経時的に採取し、被験菌株に対する MIC を測定した。最長90日間照射後においても、Acrinol の両株に対する MIC に変化が認められなかった。

2) *P. aeruginosa* に対する Acrinol と Tetracycline の併

Table 1. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of Acrinol to Organisms Isolated from Clinical Materials.

Organism (No. of strains)	MIC (µg/mL) of Acrinol						
	25	50	100	200	400	800	1,600
<i>S. aureus</i> (MSSA) (7)			2	5			
<i>S. aureus</i> (MRSA) (5)			2	3			
<i>S. epidermidis</i> (4)			2	2			
<i>E. faecium</i> (2)			2				
<i>E. faecalis</i> (2)				1	1		
<i>P. aeruginosa</i> (13)				3	3	5	2
<i>S. maltophilia</i> (2)						2	
<i>B. cepacia</i> (1)						1	
<i>E. coli</i> (12)				2	8	2	
<i>Salmonella</i> spp. (1)					1		
<i>K. pneumoniae</i> (4)						1	3
<i>K. oxytoca</i> (2)						2	
<i>E. cloacae</i> (6)					1	5	
<i>S. marcescens</i> (3)						1	
<i>P. vulgaris</i> (1)							2
<i>P. mirabilis</i> (1)							1
<i>M. organii</i> (2)							2

The minimum inhibitory concentration (MIC) of Acrinol against 64 clinical isolates were determined by the agar plate dilution method. The solution (2mL) of two-fold dilution of Acrinol was added to 18 mL of a Mueller Hinton agar medium. Ten microliters of bacterial suspension (10^8 CFU/mL) was plated onto the agar plate, and incubated for 18 h at 37°C.

用効果におよぼす光の影響

被験菌 *P. aeruginosa* #40-1 に対する Acrinol と Tetracycline の併用効果による抗菌効果をチェッカーボードで示した (Fig. 2). 左図が90日間照射処理した Acrinol と Tetracycline との併用による抗菌効果のパターンである. Acrinol 単独では被験菌の発育を抑制するのに最低 $400\mu\text{g/mL}$ の Acrinol を必要とし, Tetracycline 単独では最低 $50\mu\text{g/mL}$ を必要とした. しかし, Acrinol $100\mu\text{g/mL}$ と Tetracycline $12.5\mu\text{g/mL}$ を併用することにより菌の発育を抑制した. いずれの薬剤も併用時における MIC 値が単独時の MIC 値の $1/4$ であることから, FIC Index が 0.5 であり, 相乗作用が認められた.

チェッカーボードで示した照射処理後の Acrinol と Tetracycline との併用効果のパターンを未処理の Acrinol と Tetracycline との併用効果のパターン(対照)と比較しても変化が見られず, 相乗作用 (FIC Index = 0.5) も変わらず, Acrinol の Tetracycline の併用効果に光による影響は認められなかった.

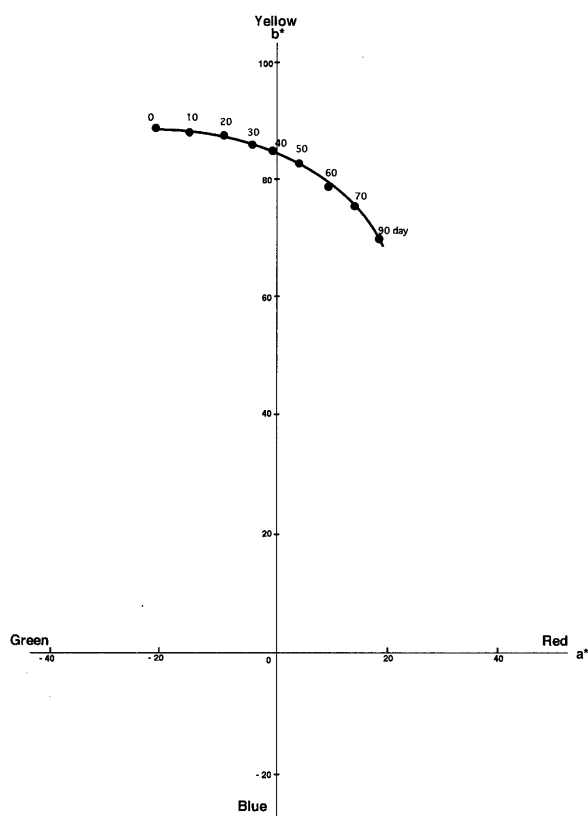


Fig. 1. Changing Patterns in Color of Acrinol Exposed to the Light.

Each 0.1% Acrinol solution was kept under constant illumination at 500 lx. At designated day, the color of Acrinol exposed was measured by CIE-L*a*b* method using the Image colorimeter. The a* shows the parameter for evaluating the degree of redness and the b* also shows that of yellowness, respectively.

考 察

私どもは生体消毒剤 (antiseptic) を浸出液や膿のある外皮感染病巣に感染治療剤として用いる場合, 短時間における殺菌力よりも, むしろ病巣部からの浸出液や膿によって不活化されない持続した抗菌力を有することが必要であると考え, 臨床使用を目的に色素剤の抗菌力に関する検討を行ってきた. MRSA に対し, Gentian violet が極めて強い抗菌力を示すことより, Gentian violet 含有軟膏を難治性の MRSA 感染褥瘡や熱傷症例に用い, MRSA を除菌する効果の上で極めて有用性が高いことを報告した^{5-7,10,11)}. しかし, Gentian violet はグラム陰性菌には抗菌力が弱く, MRSA 除菌後の症例において, しばしば環境由来と思われる *P. aeruginosa* による菌交代症が認められた. Aldrich RH は Gentian violet を含む 2 種類の Triphenylmethane 系色素と Acriflavine (Acridine 系色素剤) との 3 種類の色素を併用することにより, グラム陰性菌に対して強い抗菌力が生じることを報告している²²⁾. *P. aeruginosa* 感染に対する対策として, Gentian violet と Acriflavine の誘導体である Acrinol との 2 剤併用による抗菌力の検討を行ったところ, *P. aeruginosa* に対し強い抗菌力が生じることを確認し, *P. aeruginosa* に対する Gentian violet の抗菌力の増強に Acrinol の外膜透過作用が深く関与している可能性があることを報告した^{8,9,12)}.

今回の結果から, 最近の臨床分離菌に対する Acrinol の抗菌力を検討すると, Acrinol $\leq 200\mu\text{g/mL}$ で MRSA を含む *S. aureus* の全被験菌株の発育を抑制するなどグラム陽性菌に対し強い抗菌力を示したが, グラム陰性菌に対してはグラム陽性菌よりも弱い抗菌力しか示さず, $800\mu\text{g/mL}$ において *E. coli* や *E. cloacae* などのグラム陰性菌全被験株の 77.1% (37/48) の発育を抑制した. *P. aeruginosa* に対しては $200\text{--}1,600\mu\text{g/mL}$ で抑制するなど菌株間により感受性の差は認められるが, 多剤耐性株をも含めた全被験株を Acrinol $1,600\mu\text{g/mL}$ で抑制した. 1998 年臨床材料から分離した *P. aeruginosa* の臨床分離株において, Acrinol と抗生物質に対する感受性を検討したところ, 多くの抗生物質に耐性を示した株が Acrinol に感受性を示し, 逆に抗生物質に感受性を示した株が Acrinol に耐性であった¹²⁾. *P. aeruginosa* の薬剤に対する感受性に外膜が深く関与しているものと考えられる. このことから, *P. aeruginosa* 感染が想定される褥瘡などの皮膚病巣の除菌を目的に, Acrinol を使用する際には, 0.2% ($2,000\mu\text{g/mL}$) が適切であると考えられる. しかし, 腸内細菌叢に含まれる *P. vulgaris*, *P. mirabilis* および *Proteus* 属に類似性状を持つ *M. morganii* は Acrinol $1,600\mu\text{g/mL}$ においても発育を抑制されないことから, 便が付着しやすい仙骨部瘡面においては, これらの

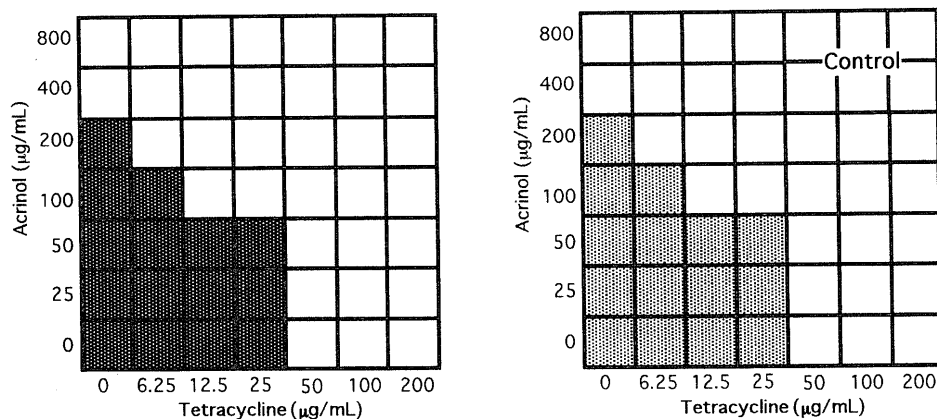


Fig. 2. Antibacterial Effect of Combined Treatment with Acrinol Exposed to the Light and Tetracycline on *P. aeruginosa*.

Acrinol solution has been exposed to the illumination at 500 lx for 90 day. Determination of the MIC of the combined Acrinol exposed and Tetracycline treatment against *P. aeruginosa* #40-1 from clinical specimen was performed by the agar plate dilution method. A series of two-fold dilutions of each agent was prepared. Equal volumes (1 mL) of the diluted solutions of two agents were mixed, added to 18 mL of a Mueller-Hinton agar medium. Ten microliters of bacterial suspension (10^8 CFU/mL) was plated onto the agar plate, and incubated for 18 h at 37°C and the colonies were counted on the plate. Black boxes indicate bacterial growth on the plates, and white boxes indicate no bacterial growth on the plates. Each experiment was performed in duplicate.

菌種による感染には注意が必要であると考え、つぎに、照度500lxの光源存在下に放置した0.1% Acrinol水溶液を用いて、Acrinolの色の変化を色相の面からとらえると、照射時間の増加とともに緑色が赤色に変化し、黄色が青色に変化することが認められた。一定時間内では、緑色が赤色に変化する量は黄色が青色に変化する量の約2倍で推移した。したがって、Acrinolの色の変化は黄色が消失する速度よりも緑色が赤色に変化する速度が速いため淡褐色に見えた。被験菌 *S. aureus* および *E. coli* に対し、500lxの光源を最長90日間連続照射処理したAcrinolのMICは対照とした未処理のAcrinolのMICと変わらない値を示した。また *P. aeruginosa* に対するTetracyclineとの併用効果においても、照射処理したAcrinolはTetracyclineとの2剤間に相乗作用(FIC Index = 0.5)を生じるなど対照とした未処理のAcrinolを用いた場合と変わらない作用を示した(Fig. 2)。一方、詳細なデータは示さないが、照射処理したAcrinol水溶液よりAcrinolの芳香族アミノ部位で二量化したアゾ化合物(分子量520)と思われる暗褐色の物質を検出した(投稿準備中)。この暗褐色の物質が溶液中に拡散浮遊することにより、溶液全体が淡褐色に見えるものと考えられた。

Acrinol溶液に色の変化が見られても抗菌力に変化が認められなかった理由として、抗菌力を減弱させないだけの十分なAcrinolが残存する可能性あるいは暗褐色を呈した物質がAcrinolと同等な抗菌力を有する可能性が考えられる。また、暗褐色を呈した物質の毒性について

の検討も必要である。

今日、感染症の治療に対しては抗生物質が頻用され、これが新たな耐性菌を生む。例えば、多剤耐性菌に感染した褥瘡や熱傷の除菌に抗生物質を持ってあたることはさらに高度耐性化した菌を出現させる可能性が懸念される。今回の実験において、Acrinolは日常光源下に長期間放置しても抗菌力は変わらず、常用濃度内で臨床分離菌 *P. aeruginosa* の全被験株の発育を抑制することが明らかとなった。

引用文献

- 1) M.E. Mulligan, K.A. Leisure, B.S. Ribner, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-A consensus review of microbiology, pathogenesis, and epidemiology with implications for prevention and management, *Am. J. Med.*, **94**, 313-328(1993).
- 2) E. Larson, Guideline for use of topical antimicrobial agents, *Am. J. Infect. Control*, **16**, 253-266(1988).
- 3) 日本公定書協会, アクリノール, “日本薬局方(解説書)第14改訂”, 廣川書店, 東京, 2001, pp. 19-23.
- 4) 宮野直之, 尾家重治, 神谷晃, アクリノールの抗菌活性, *病院薬学*, **18**, 472-476(1992).
- 5) 佐治守, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* 感染病巣に対する gentian violet の局所治療剤としての検討, *感染症誌*, **66**, 914-922(1992).
- 6) 田口桜子, 佐治守, 向坂元秀, 葉山修陽, 大藺英一, 内山喜一郎, 星健二, 大國寿士, Methicillin-resistant

- Staphylococcus aureus* 感染局所治療剤としての各種色素剤の抗菌効果に関する検討, *Chemotherapy*, **41**, 935-940(1993).
- 7) 佐治守, 田口桜子, 葉山修陽, 大園英一, 小林陽二, 内山喜一郎, 金川卓郎, 大國寿士, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) 感染褥瘡に対するゲンチアナバイオレットの除菌効果の検討, *日老医誌*, **30**, 795-801(1993).
 - 8) 佐治守, 田口桜子, 大國寿士, *Pseudomonas aeruginosa* 感染病巣に対する gentian violet と acrinol の併用による抗菌効果に関する基礎的検討, *感染症誌*, **68**, 953-959(1994).
 - 9) 佐治守, 田口桜子, 式田竜司, 大國寿士, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* およびグラム陰性桿菌に対する色素剤 Gentian violet と Acrinol の併用による殺菌効果に関する基礎的検討, *感染症誌*, **68**, 1287-1289(1994).
 - 10) M. Saji, S. Taguchi, K. Uchiyama, E. Osono, N. Hayama and H. Ohkuni, Efficacy of gentian violet in the eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from skin lesion, *J. Hosp. Infect.*, **31**, 225-228 (1995).
 - 11) 佐治守, 赫彰郎, MRSA 感染褥瘡の治療, *老年医学*, **34**, 1039-1043(1996).
 - 12) M. Saji, K. Fujii, H. Ohkuni, N. Irie, E. Osono and F. Kato, Synergistic bactericidal effects of acrinol and tetracycline against *Pseudomonas aeruginosa*, *J. Infect. Chemother.*, **6**, 86-92 (2000).
 - 13) P. Gustafsson, K. Nordstrom, S. Normark, Outer penetration barrier of *Escherichia coli* K-12, Kinetics of the uptake of gentian violet by wild type and envelope mutants, *J. Bacteriol.*, **116**, 893-900(1973).
 - 14) E. Joan, J.G. Kapusik-Uner, S.A. Merle and H.F. Chambers, "Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics 9th ed" ed by J.G. Hardman, McGraw-Hill book, New York, 1995, pp. 1123-1130.
 - 15) 山口明人, 澤井哲男, 抗生物質の細菌細胞膜透過機構, *ファルマシア*, **28**, 867-871(1992).
 - 16) 日本化学療法学会 MIC 小委員会, 最小発育阻止濃度(MIC)測定法(改訂), *Chemotherapy*, **29**, 76-79(1981).
 - 17) 後藤元, 島田馨, 併用の概論, *臨床と微生物*, **20**, 256-260(1998).
 - 18) 地主豊, 木村美司, 宗景正, 吉田勇, 佐々木繁, MRSA に対する vancomycin と β -ラクタム薬の in vitro 併用効果, *Chemotherapy*, **47**, 296-301(1999).
 - 19) M. Akimoto, K. Kawamura, H. Namiki and S. Kikuyama, Evaluation of adaptability of "Space Frog" candidates to background color, *Biological Science in Space*, **5**, 212-214(1992).
 - 20) 畑三恵子, 秋本眞喜雄, 川名誠司, 三浦祐理子, 沼野香世子, 岩切香奈, 弓削真美子, 尾見徳弥, Image colorimeter による皮膚色の定量—第1報, *日皮会誌*, **109**, 2237-2241(1999).
 - 21) S. Takata, Y. Miura, M. Akimoto, L. Yang, M. Ota, M. Hata and M. Miyakawa, *Bioimages*, **9**, 79-85(2001).
 - 22) R.H. Aldrich, Treatment of burn with a compound of aniline dyes, *New Eng. J. Med.*, **217**, 911-914(1937).