

緑膿菌色素ピオメラニンの抗生物質の抗菌活性に及ぼす影響について

新井 武利・佐藤 利夫

昭和薬科大学微生物学教室

桑 原 章 吾

東邦大学医学部微生物学教室

(昭和 55 年 9 月 22 日受付)

われわれは *P. aeruginosa* の褐色色素であるピオメラニンを抽出し、その抗生物質の抗菌活性に与える影響を放線菌メラニンおよび人毛髪メラニンと比較検討した。ピオメラニンは carbenicillin (CBPC), gentamicin (GM) の *P. aeruginosa* に対する活性を低下させ、kanamycin (KM) の場合もやや抑制がみられた。chloramphenicol (CP), tetracycline (TC) には影響が認められず、colistin (CL) ではやや活性の促進がみられた。*E. coli* に対しては、CBPC, GM, CL の活性が高まり、KM の活性もやや高まった。CP, TC には影響が認められなかった。*S. aureus* に対する CBPC, GM, KM, CP, TC の抗菌活性はピオメラニンによって促進された。

放線菌メラニンは *P. aeruginosa* に対する CBPC, GM, KM の抗菌活性を低下させ、*E. coli*, *S. aureus* に対しては CBPC の活性を高めるが、GM, KM には影響が認められなかった。

人毛髪メラニンは *P. aeruginosa* に対する GM の抗菌作用を著しく低下させるが、CBPC, KM の抗菌活性にはあまり影響がみられなかった。*E. coli*, *S. aureus* に対する CBPC の抗菌活性は人毛髪メラニンによって著しく抑制され、また GM, KM の抗菌活性も抑制された。

ピオメラニンは *S. aureus* に対し弱い抗菌力を有する。

緑膿菌のメラニン (ピオメラニン) は、動物メラニンと同様に tyrosine から合成されるが、生合成経路は動物メラニンと異なる¹⁾。ピオメラニン産生株は、mucoid 株に多く²⁾ アルギニン水解、グルコン酸酸化などのような生物学的活性がやや低いといわれている³⁾。

メラニンの生物学的性状についてはほとんど研究されておらず、BARZA⁴⁾ が、合成メラニンが一部の抗生物質の抗菌活性を抑制すると報告し、ROZHAVIN⁵⁾ が、ピオメラニンの抗生物質活性に及ぼす影響について報告している程度である。

われわれはピオメラニン産生緑膿菌培養液からピオメラニンを抽出し、その種々の抗生物質の抗菌活性に及ぼす影響を他のメラニンと比較検討したので報告する。

I. 実験方法

① 使用菌株

臨床分離株であり、フルオレスシンとピオメラニンを産生する *P. aeruginosa* No. 17 をピオメラニン抽出用株として用いた。

抗生物質の抗菌活性測定用として *P. aeruginosa* 臨床分離株 12 株、*E. coli* NIHJ-JC-2 および臨床分離株 8 株、*S. aureus* FDA-209-P および臨床分離株 9 株を用いた。

② ピオメラニンの分離

No. 17 株を普通ブイオンで 37℃ 2 週間培養し、培養後 60℃ 30 分加熱殺菌し、遠心分離し上清を得た。この上清に 20% CuSO₄ soln. を加えピオメラニンを沈殿させ、この沈殿を分取し、1 M-NH₄OH に溶解。溶液を透析し、内液を濃縮後、Sephadex G-50 カラムにかけ蒸留水で溶出。最も褐色の濃い部分を取分取、さらに、Sephadex G-25 カラムにかけ蒸留水で溶出後、蛍光物質を除くためにメチルエチルケトン処理し、水層を酢酸酸性 (pH5.0) とし、生じた黒色無晶形沈殿を洗浄後、精製ピオメラニンとして実験に用いた。

③ 放線菌メラニンの分離

空中より分離した放線菌のメラニン産生株を普通寒天平板を用いて、25℃ 1 週間培養。平板表面から菌体を除き、寒天を細切し蒸留水に浮遊させ、1 N-NaOH で pH9.0 として抽出した。抽出液を 2 N-HCl で中和、ろ紙ろ過し、ろ液をエーテル処理し、水層をメンブランフィルターでろ過し、ろ液を濃縮後、Sephadex G-50 カラムにかけ蒸留水で溶出、最も褐色の濃い fraction を取り (NH₄)₂SO₄ で塩析し、生じた沈殿を 1 M-NH₄OH に溶解し、透析、透析内液をバッチ法により DEAE cellulose に吸着させ、MCLVAIN buffer (pH

8.5) で溶出, 溶出液にエーテルを加え生じた黒色無晶形沈殿を洗浄し, 放線菌メラニンとし, 実験に用いた。

④ 人毛髪メラニンの分離

人毛髪をエタノール, エーテル, 蒸留水で充分洗浄後, 1N-NaOH で6時間煮沸し 2N-HCl で中和後, 濾過, 濾液をエーテル処理し, 水層より $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ で塩析, 以下放線菌メラニンと同様に DEAE cellulose 処理し, 酢酸性で得られた沈殿を人毛髪メラニンとして実験に用いた。

⑤ 感受性測定法

日本化学療法学会標準法で MIC を測定し, 感受性とした。すなわちトリプトソイブイオン (栄研) 培養液の1滴を, 倍数希釈の薬剤を含む HI カンテン平板 (Difco) に接種し, 37℃ 24 時間培養後結果を判定した。

⑥ 抗生物質の抗菌活性に及ぼすピオメラニンの影響

の測定法

ピオメラニン 100 $\mu\text{g/ml}$ および各薬剤の MIC 値を中心にその 64 倍~1/64 の濃度を含む平板系列を作製し, その表面にメラニン非産生株である *P. aeruginosa* No.18, *S. aureus* FDA 209-P, *E. coli* NIHJ-JC-2 の一夜培養液を適当に希釈し, その浮遊液をそれぞれ塗付し, 37℃ 24 時間培養。集落数を測定, ピオメラニン非含有の場合の集落数との比を求め, この比で抗菌活性への影響を判定した。

⑦ ピオメラニンの抗菌力測定法

ピオメラニンの倍数希釈濃度を含んだ寒天平板 (pH 9.4) を作製し, その表面に *E. coli* NIHJ-JC-2, *S. aureus* FDA 209-P, *B. subtilis* ATCC 6633 の浮遊液を接種, 37℃ 24 時間培養後集落数を測定し, ピオメラニン非含有の場合に対する%をもって, ピオメラニンの

Table 1 Sensitivity distribution patterns of test cultures to tested antibiotics

a) *P. aeruginosa* (12 strains)

Drugs	$(\mu\text{g/ml})$													
	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400	
CBPC									2	6	2	2		
GM		1	1	1	7	1	1							
KM						1			6	2	2	1		
CP										8	4			
TC											1	7	4	
CL		5	7											

pH 9.4

b) *E. coli* (9 strains)

Drugs	$(\mu\text{g/ml})$													
	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400	
CBPC							1	1	1	1	5			
GM		1	8											
KM				3	1	3	2							
CP					6	2	1							
TC					1			8						
CL						2	7							

pH 9.4

c) *S. aureus* (10 strains)

Drugs	$(\mu\text{g/ml})$													
	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	400	
CBPC			2	2			3	3						
GM	4	6												
KM				2	3	5								
CP						2	8							
TC							9	1						

pH 9.4

Table 2 Effect of the addition of pyromelanin on the sensitivity of cultures to antibiotics

Drugs	Rate of the change of MIC	<i>P. aeruginosa</i>		<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
		No. of strains	(%)	No. of strains	(%)	No. of strains	(%)
CBPC	4×	4	33.3				
	2	8	66.7				
	1					2	20.
	1/2					2	20.
	1/8			2	22.2	2	20.
	1/16			1	11.1	4	40.
	1/32			3	33.3		
	1/64			3	33.3		
	Average	2.67		0.05		0.35	
GM	4×	4	33.3				
	2	8	66.7				
	1					5	50.
	1/2			5	55.6	5	50.
	1/4			4	44.6		
	Average	2.67		0.39		0.75	
KM	2×	5	41.7				
	1	7	58.3	5	55.6		
	1/2			4	44.4		
	1/8					2	20.
	1/16					3	30.
	1/32					5	50.
	Average	1.42		0.78		0.05	
CP	1×	11	91.7	9	100.	1	10.
	1/2	1	8.3				
	1/4					2	20.
	1/8					7	70.
		Average	0.96		1.0		0.24
TC	4×			1	11.1		
	1	12	100.	2	22.2		
	1/2			6	66.7		
	1/8					9	90.
	1/16					1	10.
	Average	1.0		1.0		0.12	
CL	1×	6	50				
	1/2	6	50	5	55.6	—	—
	1/4			4	44.4		
		Average	0.75		0.39		—

抗菌力とした。

II. 実験結果

① MIC 値に及ぼすメラニンの影響

a) ピオメラニンの影響

CBPC, KM, GM, CP, TC, CL に対する *P. aeruginosa* 12 株, *E. coli* 9 株, *S. aureus* 10 株 (CL を除く) の感受性は Table 1 a)~c) に示す通りである。

ピオメラニン 100 µg/ml 添加した場合における上記菌株の感受性変動をまとめたのが Table 2 である。表中の変動率とは、ピオメラニンを含有した場合の MIC 値を、非含有の場合の MIC 値で除したものである。また表中の平均は各菌株の MIC 値の変動率の平均である。*P. aeruginosa* の CBPC に対する MIC 値はピオメラニン添加によって Table 2 に示すように、2~4 倍上昇し平均の変動率は 2.67 であった。これに対し *E. coli* では MIC 値が低下し、その変動率は 0.05 であり、*S. aureus* では影響のみられなかった菌株が 20% あったが、残りの株の MIC 値は低下し、平均して 0.35 の変動率を示した。GM でもほぼ同様な傾向があり、*P. aeruginosa* ではピオメラニンの添加で MIC 値が上昇し、*E. coli* では低下し、*S. aureus* も変動率 0.75 とやや低下がみられた。KM の場合は、*P. aeruginosa* や *E. coli* に対しては、GM ほど影響は大きくなかったが、*S. aureus* では変動率 0.05 と著しい MIC 値の低下がみられた。CP, TC では、*P. aeruginosa*, *E. coli* と

もピオメラニンの影響はほとんど認められなかったが、*S. aureus* では MIC 値の低下が認められた。CL では *P. aeruginosa* の変動率は 0.75 と MIC 値はやや低下し、*E. coli* でも変動率 0.39 と MIC 値の低下が認められた。

b) 放線菌メラニンの影響

P. aeruginosa, *E. coli*, *S. aureus* の CBPC, GM, KM に対する MIC 値に及ぼす放線菌メラニンの影響は Table 3 に示す通りである。すなわち、CBPC では、*P. aeruginosa* に対し放線菌メラニンの添加でピオメラニンほどではないが MIC 値の上昇 (変動率 1.92) がみられ、*E. coli*, *S. aureus* では MIC 値の低下がみられた。GM, KM の場合は、*P. aeruginosa* では MIC 値の上昇が認められたが、*E. coli*, *S. aureus* については影響は認められなかった。

c) 人毛髪メラニンの影響

人毛髪メラニンの MIC 値に対する影響は Table 4 に示す通りである。CBPC の場合、*P. aeruginosa* では人毛髪メラニンによって、やや MIC 値の上昇が認められた (変動率 1.33) が、*E. coli* では著明な MIC 値の上昇 (変動率 8.44) が認められ、*S. aureus* は *E. coli* より影響は少ないが変動率 4.80 を示した。GM の場合は 3 菌種とも MIC 値の上昇がみられたが、*E. coli* がやや影響は少ない。KM の場合は *P. aeruginosa* では人毛髪メラニンの影響はみられなかったが、*E. coli*, *S. aureus*

Table 3 Effect of the addition of melanin produced by *Streptomyces* on the sensitivity of test cultures to antibiotics

Drugs	Rate of the change of MIC	<i>P. aeruginosa</i>		<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
		No. of strains	(%)	No. of strains	(%)	No. of strains	(%)
CBPC	2	11	91.7				
	1	1	8.3				
	1/2			8	88.9	9	90.
	1/4			1	11.1	1	10.
	Average	1.92		0.47		0.48	
GM	4	3	25.				
	2	2	16.7	1	11.1	1	10.
	1	7	58.3	7	77.8	5	50.
	1/2			1	11.1	4	40.
	Average	1.92		1.06		0.9	
KM	2	6	50.			2	20.
	1	6	50.	9	100.	7	70.
	1/2					1	10.
	Average	1.5		1.0		1.1	

Table 4 Effect of the addition of melanin from human hair on the sensitivity of test cultures to antibiotics

Drugs	Rate of the change of MIC	<i>P. aeruginosa</i>		<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
		No. of strains	(%)	No. of strains	(%)	No. of strains	(%)
CBPC	32			1	11.1		
	8			3	33.5	3	30.
	4			5	55.6	5	50.
	2	4	33.3			2	20.
	1	8	66.7				
	Average	1.33		8.44		4.8	
GM	4	2	16.7			4	40.
	2	10	83.3	6	66.7	6	60.
	1			3	33.3		
		Average	2.33		1.67		2.8
KM	4					6	60.
	2	1	8.3	8	88.9	4	40.
	1	10	83.3	1	11.1		
	1/2	1	8.3				
		Average	1.04		1.89		3.2

Table 5 Effect of the addition of pyomelanin on the bacterial growths on the antibiotic-containing plates

Drugs	Strains								
	<i>P. aeruginosa</i> No. 18			<i>E. coli</i> NIHJ·JC-2			<i>S. aureus</i> FDA 209-P		
	Concent. ($\mu\text{g/ml}$)	No. of colonies	$\frac{P}{O}$	Concent. ($\mu\text{g/ml}$)	No. of colonies	$\frac{P}{O}$	Concent. ($\mu\text{g/ml}$)	No. of colonies	$\frac{P}{O}$
CBPC	62.5	P* 2,416 O** 121	19.9	0.78	P 19 O 13,900	0.001	0.19	P 15 O 927	0.016
GM	0.48	P 12,400 O 168	73.8	0.19	P 193 O 10,100	0.019	0.09	P 0 O 204	
KM	15.6	P 1,624 O 984	1.65	0.09	P 196 O 13,200	0.014	0.09	P 0 O 123	
CP	125	P 683 O 635	1.07	0.9	P 9,752 O 11,000	0.89	0.9	P 4 O 728	0.005
TC	62.5	P 18,100 O 16,200	1.11	7.8	P 431 O 501	0.86	0.9	P 12 O 193	0.062
CL	0.19	P 8,845 O 9,097	0.97	0.39	P 21 O 87	0.24	—	—	—
Control (0)		P 13,500 O 13,400	1.01	(0)	P 14,300 O 14,400	1.02	(0)	P 439 O 1,073	0.41

Concentration of pyomelanin : 100 $\mu\text{g/ml}$

* P : Pyomelanin-containing plate

** O : Pyomelaninless plate

では MIC 値の上昇が認められた。

② 抗生物質含有培地での菌増殖に及ぼすピオメラニンの影響

一定濃度の抗生物質含有平板にピオメラニンを 100 $\mu\text{g/ml}$ 添加し、生菌数で抗生物質活性を検討したのが Table 5 である。すなわちピオメラニン無添加の場合の生菌数に対する比で表わしており、control は抗生物質非含有の場合である。

P. aeruginosa No. 18 株の場合、GM ではピオメラニン無添加に比べて 74 倍、CBPC では 20 倍、KM では 1.65 倍と、生菌数の増加が認められたが、他の薬剤の場合はほとんどピオメラニンの影響は認められなかった。

E. coli NIHJ-JC-2 では CBPC の場合、比は 0.001、KM では 0.014、GM では 0.019、CL では 0.24 と、著しい生菌数の減少が認められた。TC、CP の場合はそれぞれ 0.86、0.89 とほとんど減少は認められなかった。

S. aureus 209-P ではピオメラニン添加の場合に著しい生菌数の減少が得られ、各薬剤の活性の上昇が認められた。

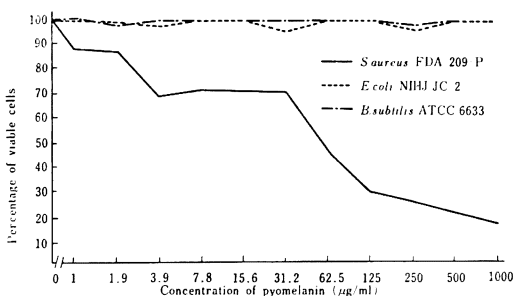
③ ピオメラニンの抗菌力

S. aureus 209-P、*B. subtilis* ATCC 6633、*E. coli* NIHJ-JC-2 を用いて生菌数に与えるピオメラニンの影響を検討したところ、Fig. 1 に示すような結果が得られた。*B. subtilis*、*E. coli* に対してはピオメラニンは影響を示さなかったが、*S. aureus* に対しては弱い抗菌作用が認められた。すなわち、ピオメラニン濃度に伴い生菌数は減少し 1,000 $\mu\text{g/ml}$ ではピオメラニン非含有の場合に比べて 19.3% であった。

III. 考 察

ピオメラニン産生 *P. aeruginosa* の臨床材料からの分離頻度は 1~7%⁸⁻⁹⁾であり、生物学的活性は弱いといわれ、また抗生物質感受性も高い⁹⁾。しかしピオメラニンの性質については不明な点が多い。

Fig. 1 Antibacterial activity of pyomelanin



BARZA⁴⁾ は合成メラニンが aminoglycoside 系抗生物質および TC の *Sarcina lutea* に対する抗菌活性を低下させるが、penicillin G, oxacillin, cephalotin, cefazolin のような β -ラクタム系抗生物質、erythromycin または clindamycin には影響がみられなかったとしており、われわれのピオメラニンの結果と一部一致している。ピオメラニン存在下での MIC 値の上昇は、ピオメラニン存在下で生菌数の増加が認められたことから、*P. aeruginosa* の感受性低下というより、CBPC、GM などの薬剤のピオメラニンによる抗菌活性の低下と考えられ、BARZA⁴⁾ も抗生物質と色素が結合するために活性の低下がおこるのではないかとしている。しかし ROZHAVIN⁹⁾ は、*P. aeruginosa* の固形培地培養から NICHOLS⁹⁾ の方法でピオメラニンを抽出し、*S. aureus* FDA 209-P に対する抗生物質活性に及ぼす影響を検討し、penicillin、TC、oleandomycin、KM、GM に影響が認められなかったと述べている。われわれの実験では、*S. aureus* FDA 209-P の場合も他の *S. aureus* と同様にピオメラニンによる抗菌活性の増強が認められ、ROZHAVIN⁹⁾ とは異なった結果が得られた。これは抽出法が異なるため polymer であるピオメラニンの化学構造上に差異が生じたためではないかと考えられる。

われわれが放線菌メラニン、人毛髪メラニンについて検査した結果では、ピオメラニンと人毛髪メラニンとでは *E. coli*、*S. aureus* に対する影響に差異が認められ、ことに CBPC では著明であった。三者のメラニンを比較すると、放線菌メラニンはピオメラニンと人毛髪メラニンの中間的であるが、ややピオメラニンに類似した態度を示した。これらのことから、メラニンの抗生物質活性に及ぼす影響が、各種メラニンに共通の性質であるかどうかは疑問である。

メラニンは NICOLAUS¹⁰⁾ によれば、動物メラニンである eumelanin、および eumelanin 生成の中間体から生ずる pheomelanin、植物、微生物メラニンである allomelanin に分類され、それぞれ化学構造が異なるとされている。

allomelanin についての研究はおもに植物、および *Aspergillus* について行なわれ、細菌のそれについての報告はほとんどない。したがってピオメラニンと放線菌メラニンの構造上の比較や生成経路の比較もできないが、両者とも生成に plasmid が関与しているといわれている^{11,12)}。抗菌活性に対する影響がピオメラニンと人毛髪メラニンとはかなり異なり、放線菌メラニンはピオメラニンに比較的類似しているという結果から、これらの差異は、eumelanin と allomelanin の性質の差によるといえるかとも思われる。しかし BARZA⁴⁾ の結果と

考えあわせると、必ずしもその差とはいえず、今後さらに検討する必要がある。

前述のように BARZA⁴⁾らは、抗生物質のメラニンによる活性低下は両者の結合によるとしているが、メラニンの種類、薬剤、菌種によって影響が異なることから、他の原因も考えられる。*S. aureus* に対してはピオメラニンが抗生物質活性を増強させるのは、ピオメラニンには *S. aureus* に対する抗菌活性（その機構は不明である）が認められたことから理解できる。しかし、*E. coli* についてのピオメラニンの抗菌活性促進作用の機構は不明である。

ピオメラニンは緑膿菌疾患治療剤として用いられている CBPC, GM の *P. aeruginosa* に対する MIC 値を 2~4 倍上昇させるが、一方、*E. coli*, *S. aureus* の MIC 値を 1/2~1/64 に低下させる。ピオメラニンが体内でどのような形で分泌され、またその組織内濃度などは不明であるが、こうしたことからピオメラニン存在下では、*E. coli*, *S. aureus* が薬剤で除去されやすくなると思われる。したがって菌交代現象の原因の 1 つにピオメラニンがなっているのではないかと思われる。

文 献

- 1) YABUCHI, E. & A. OHYAMA: Characterization of pyomelanin producing strains of *Pseudomonas aeruginosa*. Int. J. System. Bacteriol. 22: 53~64, 1972
- 2) 五島嵯智子, 野藤隆夫, 桑原章吾: 緑膿菌のマウスに対する菌力について。緑膿菌研究会抄録集, 8: 20~21, 1974
- 3) 五島嵯智子, 他 6 名: 各種緑膿菌の生状——ムコ

イド株, メラニン株の生化学的性状, 薬剤感受性, および菌力について ibid. 8: 14~15, 1974

- 4) BARZA, M.; J. BAUM & A. KANE: Inhibition of antibiotic activity *in vitro* by synthetic melanin. Antimicrob. Agents Chemother. 10: 569~570, 1976
- 5) ROZHAVIN, M. A.: Effect of *Pseudomonas aeruginosa* melanin on antibiotic activity (in Russian). Antibiotiki 23(8): 718~720, 1978
- 6) GILARDI, G. L.: Characterization of *Pseudomonas* species isolated from clinical specimen. Appl. Microbiol. 21: 414~419, 1971
- 7) 金子康子, 原田公子, 五島嵯智子, 桑原章吾: 臨床分離緑膿菌の主要生化学的性状について(1)。緑膿菌研究会抄録集 6: 11~13, 1970
- 8) WAHBA, A.: The identification of atypical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. J. gen. Microbiol. 38: 329~342, 1965
- 9) NICHOLS, J. L. & J. N. CAMPBELL: Production of melanin like pigment as a result of cresol inhibition on normal pigmentation in *Micrococcus violagabriellae*. Can. J. Microbiol. 10: 633~640, 1964
- 10) NICOLAUS, R. A.: Melanin, Herman, Paris 1968
- 11) ARAI, T.; H. HAMAJIMA & S. KUWAHARA: Pyomelanin production by *Pseudomonas aeruginosa* I. Transformation of pyomelanin productivity. Microbiol. Immunol. 24: 1~10, 1980
- 12) GREGORY, K. F. & J. C. C. HUANG: Tyrosinase inheritance in *Streptomyces scabies* II, Induction of tyrosinase deficiency by acridine dyes. J. Bacteriol. 87: 1287~1294, 1964

EFFECT OF PYOMELANIN ON THE ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF VARIOUS ANTIBIOTICS

TAKETOSHI ARAI, TOSHIO SATOH, and SHOGO KUWAHARA*

Department of Microbiology

Showa college of Pharmaceutical Sciences

* Department of Microbiology

Toho University, School of Medicine

The effects of pyomelanin, a brown pigment produced by *Pseudomonas aeruginosa*, on antibacterial activity of various antibiotics to several bacteria were studied and compared with those of melanin from *Streptomyces* and of human hair.

The antibacterial activities of carbenicillin (CBPC) and gentamicin (GM) against *P. aeruginosa* were lowered by the addition of pyomelanin to the test medium, whereas that of kanamycin (KM) did not cause any reduction in antibacterial activity. The activity of chloramphenicol (CP) and tetracycline (TC) was not affected, but that of colistin (CL) was slightly enhanced.

The effects of CBPC, GM and CL on *Escherichia coli* was enhanced by an addition of pyomelanin, however to a much lesser extent as compared with that of KM. There was no change in activity of CP and TC respectively. The activity of CBPC, GM, KM, CP and TC respectively against *Staphylococcus aureus* was enhanced by an addition of pyomelanin.

The antibacterial activity of CBPC, GM and KM respectively against *P. aeruginosa* was lowered with melanin from *Streptomyces*. But the activity of CBPC against *E. coli* and *S. aureus* was enhanced, and that of GM or KM did not cause change.

The antibacterial activity of GM against *P. aeruginosa* was markedly reduced with melanin of human hair. That of CBPC and KM respectively was slightly affected. The activity of CBPC against *E. coli* and *S. aureus* was markedly lowered by melanin of human hair, and that of GM and KM were also found to be reduced.