

各種微生物に対するホウ酸の抗菌力

勝川 千尋¹⁾・原田 七寛¹⁾・津上 久弥²⁾・牧野 正直¹⁾¹⁾ 大阪府立公衆衛生研究所*²⁾ 大阪府立万代診療所

(平成5年2月1日受付・平成5年7月29日受理)

皮膚科領域の各種感染症治療における、ホウ酸利用の可能性について検討を行った。この目的のため、標準菌株および臨床患者から分離された病原微生物に対するホウ酸の抗菌力の測定を行い、以下の成績を得た。

1. 検査したすべての細菌および真菌が、ホウ酸1% (wt/vol) の濃度で発育が阻止され、高濃度のホウ酸に耐性の菌は認められなかった。

2. ホウ酸の各種微生物に対する発育阻止濃度は0.125%~1%の範囲に分布し、菌種毎に以下のような特徴がみられた。同一菌種間には似た発育阻止濃度値を示したが、同じ属であっても菌種が異なると、発育阻止濃度も異なった値を示した。総じてグラム陽性菌に対する発育阻止濃度が高く、グラム陰性菌に対しては低かった。しかし、ブドウ球菌属中の *Staphylococcus aureus* だけは異なり、*Staphylococcus epidermidis* や *Staphylococcus hominis* などのコアグラーゼ陰性ブドウ球菌に対する発育阻止濃度が高いのに対して、*S. aureus* に対しては低かった。

3. *S. aureus* は近年、多剤耐性化が問題となっているが、ホウ酸の発育阻止濃度は methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) および methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA) の間に差は認められなかった。また、他の菌種もホウ酸に対して耐性化の傾向は認められなかった。

今回検査したすべての細菌および真菌に対する発育阻止濃度が1%以下であることから、2~3%の低濃度での安全性の高い利用方法を考案することにより、ホウ酸を再び活用できる可能性があると考えられた。特に MRSA に対して耐性化の傾向の認められない点は MRSA 感染予防の1つの打開策となり得ることを示唆している。

Key words: ホウ酸, 抗菌作用, MRSA, 皮膚科領域

ホウ酸は19世紀に Lister によって医療の場に消毒薬として登場し、以後、静菌作用を持つことに加えて皮膚や粘膜に対する刺激が少ないこと、無色であること、緩衝作用を持つことなどから皮膚科領域で広く外用剤として使用されてきた。しかしながら、1950年頃よりホウ酸中毒の症例報告が相次ぎ、死亡例も報告されたことから欧米ではほとんど使用されなくなった。

本邦でも昭和60年の医療用医薬品再評価により、ホウ酸軟膏が局方より除外され、今日では結膜囊の洗浄・消毒のために2%以下の濃度で洗眼または点眼するだけの使用が許可されているにすぎない。

ホウ酸の有効性と副作用を対比させた場合、ホウ酸の有効性である静菌作用がそれほど強力でないことから、副作用のうちの1つである毒性のみがより注目されることにな

った。その結果、抗生物質をはじめとする化学療法剤の進歩に伴って、次第に利用頻度が低下する傾向にあった。しかし、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌やブドウ糖非発酵グラム陰性杆菌などによる難治性感染症が増加した現在では、このような細菌に対して再びホウ酸の適用が見直されようとしている。

そこで、各種臨床材料から分離された細菌および真菌に対するホウ酸の抗菌作用を調べることによって、皮膚科領域における細菌感染症の治療に、ホウ酸が利用可能なものであるか検討する1資料となるべく以下の実験を行った。

1. 材料と方法

1. 供試菌株

1) 標準株として以下の20菌種43株を供試した。
グラム陽性菌

* 大阪市東成区中道1-3-69

Genus <i>Staphylococcus</i>	2 菌種	5 株
Genus <i>Streptococcus</i>	4 菌種	7 株
Genus <i>Enterococcus</i>	3 菌種	4 株
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>		4 株
<i>Propionibacterium acnes</i>		1 株
グラム陰性菌		
<i>Escherichia coli</i>	6 株	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 株	
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 株	
<i>Serratia marcescens</i>	2 株	
Genus <i>Pseudomonas</i>	3 菌種	6 株
<i>Xanthomonas maltophilia</i>	2 株	

真菌

<i>Candida albicans</i>	4 株
-------------------------	-----

2) 臨床分離株

1987 年から 1991 年の間に大阪府立公衆衛生研究所にて取り扱った各種臨床患者の膿、水泡、血液、髄液、鼻咽頭粘液、尿、便より分離された以下の菌株 119 株を供試した。ただし *Staphylococcus aureus* については 1976 年から 1991 年の 16 年間に分離された菌株を使用した。

グラム陽性菌

<i>Staphylococcus aureus</i>		
methicillin-resistant <i>S. aureus</i> (MRSA)	25 株	
methicillin-sensitive <i>S. aureus</i> (MSSA)	35 株	
Coagulase negative <i>Staphylococcus</i>	2 菌種	8 株
Genus <i>Streptococcus</i>	4 菌種	10 株
Genus <i>Enterococcus</i>	2 菌種	6 株
<i>Listeria monocytogenes</i>	3 株	

グラム陰性菌

<i>Escherichia coli</i>	3 株	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3 株	
<i>Enterobacter cloacae</i>	2 株	
<i>Salmonella</i> Enteritidis	1 株	
<i>Proteus mirabilis</i>	1 株	
<i>Serratia marcescens</i>	3 株	
Genus <i>Pseudomonas</i>	2 菌種	12 株
<i>Branhamella catarrhalis</i>	3 株	

<i>Alcaligenes denitrificans</i> subsp. <i>xylosoxidans</i>	1 株
---	-----

真菌

<i>Candida albicans</i>	1 株
<i>Trichophyton rubrum</i>	1 株
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	1 株

2. 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法

化学療法剤の最小発育阻止濃度測定法である寒天平

板希釈法によって測定した。実施法は日本化学療法学会法¹⁾に準じ、若干の修正を加えた。すなわち、Mueller Hinton II agar (BBL) で、35°C 18 時間培養した菌を McFarland No. 3 に調整、これを生理的食塩水で 100 倍に希釈して接種菌液とした。測定用培地は Mueller Hinton II agar に、ホウ酸 (片山化学工業、試薬特級) を 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.063, 0.031% (wt/vol) の 8 段階に希釈したものを使用した。菌の接種は培地表面に白金耳で塗抹し、35°C で 18 時間培養した。その結果、完全に発育が阻止された最小濃度を MIC とした。

また、*S. aureus* の臨床分離株に関しては、tetracycline (TC, 日本レダリー) および erythromycin (EM, 大日本製薬) に対する MIC 値の測定も行った。薬剤濃度は 200 µg/ml から 2 倍希釈系列で 0.05 µg/ml までの 13 段階とした。

II. 結 果

1. 標準株に対するホウ酸の抗菌力

ホウ酸の標準株に対する発育阻止試験の結果を Table 1 に示した。43 株すべての細菌に対するホウ酸の MIC 値は 1% 以下であり、高濃度のホウ酸に耐性の菌は認められなかった。

しかし、菌種により MIC 値には差が認められ、MIC 値は 0.125~1% の範囲に分布した。

同じ属の菌であっても菌種が異なると MIC 値には最高 4 倍の違いが認められたが、同一菌種で複数株検査した場合、それぞれの MIC 値は非常によく似た値を示し、同一菌種で MIC 値が 4 倍以上異なるものは認められなかった。

各菌種に対する MIC 値は比較的狭い範囲に分布していたが、その中でも *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, 腸球菌群 (*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* および *Enterococcus durans*), *E. coli*, *E. cloacae* に対する MIC 値が高く、*S. aureus*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans*, *C. diphtheriae*, *Pseudomonas putida*, *X. maltophilia*, *C. albicans* に対する MIC 値が低い傾向にあった。

2. 臨床分離株に対するホウ酸の抗菌力

臨床分離株に対する発育阻止試験の結果を菌種毎にまとめ、菌種毎の MIC 値の分布をグラム陽性菌、グラム陰性菌および真菌に分けて、Table 2 に示した。

標準株の成績と同様、すべての臨床分離株 119 株に対する MIC 値は 0.125~1% の範囲に分布した。また菌種毎に特徴的な MIC 値を示す傾向にあったのも標準株と同様であった。

総じてグラム陽性菌および腸内細菌科に属する細菌

Table 1. Antibacterial effect of boric acid against standard strain

Gram positive bacteria	Gram negative bacteria and fungi	
	MIC (%: wt/vol)	MIC (%: wt/vol)
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	0.25
	ATCC 6538P	0.25
	ATCC 29213	0.25
	ATCC 10832	0.25
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	IFO 12993 (ATCC 12228)	0.5
	J 17 A4 (ATCC 12385)	1
	NY 5 (ATCC 12351)	0.5
	RIMD 3126001	1
<i>Streptococcus pyogenes</i>	RIMD 3126005	1
	090 R (ATCC 12386)	1
	IFO 13956 (ATCC 9758)	0.25
	IFO 13955 (ATCC 25175)	0.25
<i>Streptococcus mutans</i>	ATCC 29212	1
	RIMD 3116001 (ATCC 19433)	1
	IFO 3181 (ATCC 8043)	1
	NCTC 8307 (ATCC 19432)	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	66	0.25
	TO-15	0.125
	RT-17	0.25
	RIMD 0343044	0.125
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 11827	0.5
<i>Enterococcus durans</i>		
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>		
<i>Propionibacterium acnes</i>		

Table 2. Distribution of MICs of boric acid against gram positive bacteria, gram negative bacteria and fungi isolated from patients

	No. of isolates examined	MIC (%: wt/vol)							
		0.031	0.063	0.125	0.25	0.5	1	2	4
<i>Staphylococcus aureus</i>	60			6	54				
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6					1	5		
<i>Staphylococcus hominis</i>	2						2		
<i>Streptococcus pyogenes</i>	5						5		
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1						1		
<i>Streptococcus</i> Group G	2					1	1		
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2					2			
<i>Enterococcus faecalis</i>	3						3		
<i>Enterococcus faecium</i>	3					1	2		
<i>Listeria monocytogenes</i>	3					3			
<hr/>									
<i>Escherichia coli</i>	3					2	1		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3						3		
<i>Enterobacter cloacae</i>	2					2			
<i>Salmonella</i> Enteritidis	1						1		
<i>Proteus mirabilis</i>	1					1			
<i>Serratia marcescens</i>	3					3			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9				2	7			
<i>Pseudomonas cepacia</i>	3				2	1			
<i>Branhamella catarrhalis</i>	3			2	1				
<i>Alcaligenes denitrificans</i>	1				1				
subsp. <i>xylosoxydans</i>									
<hr/>									
<i>Candida albicans</i>	1				1				
<i>Trichophyton rubrum</i>	1			1					
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	1				1				

に対する MIC 値が高い傾向があり、ブドウ糖非発酵菌は中間値を示し、*B. catarrhalis* および真菌に対する MIC 値は低かった。

しかしグラム陽性菌の中でも *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis* などのコアグラール陰性ブドウ球菌に対する MIC 値は高かったが、*S. aureus* に対する MIC 値は特に低く、0.25% のホウ酸濃度ですべての分離株の発育が阻止された。

また MRSA と MSSA に対するホウ酸、TC および EM の MIC 値の比較を Table 3 に示した。TC および EM に関しては MRSA に MIC 値の高い株が多くみられたが、ホウ酸の MIC 値には差は認められなかった。

III. 考 察

ホウ酸は 19 世紀より、傷の消毒や眼、膀胱、直腸、

腔等の洗浄用におもに皮膚科領域で広く使用されてきた。しかし 1950 年頃より、ホウ酸によると考えられる中毒例があいついで報告されるようになった。Goldbloom らは、外用によって中毒を引き起こした 109 例について報告し、そのうちの 60 例が死亡していることを述べている²⁾。これ以外にも、おむつ皮膚炎にホウ酸末を、火傷、全身の発疹、下腿潰瘍にホウ酸水を、乳児湿疹にホウ酸軟膏を使用した例で中毒の報告がみられる^{3,4)}。また長期使用による慢性中毒の報告もあり⁵⁾、ホウ酸の毒性が大きく取り上げられ、欧米ではほとんど使用されなくなった。本邦でも褥創、火傷、擦過傷、一般創傷、その他湿疹などの皮膚疾患に対するホウ酸の使用は、昭和 60 年の医療用医薬品再評価により、「有効性は認められるが有効性と副作用を対比したとき有効性は認められない」とされ、10%

Table 3. Distribution of MICs against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA)

Drug	No. of isolates examined	MIC (% wt/vol)									
		0.031	0.063	0.125	0.25	0.5	1	2	4		
Boric acid	MRSA			4	21						
	MSSA			2	33						
Drug		MIC (μg/ml)									
		0.10	0.20	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	>200
Tetracycline	MRSA		3	4		6					
	MSSA	4	18	13						8	4
Erythromycin	MRSA			7							18
	MSSA	4	5	22							4

ホウ酸軟膏が局方から除外された。また緩やかな防腐剤として鼻腔・口腔・腫の粘膜患部に用いることも有用性または有効性がないとされ、今日では、ホウ酸は2%以下の濃度での眼科洗眼用の使用にのみ制限されている。

ホウ酸の抗菌作用については Novak⁶⁾, Kingma⁷⁾, Houlsby⁸⁾ らの報告があり、いずれも各種微生物に対するホウ酸の静菌作用を証明しているが、最近の医療現場において問題とされている微生物について検討された報告はほとんど見られない。そこで我々は、ホウ酸の医薬品としての有効性を検討するための資料として、臨床分離病原微生物に対するホウ酸の抗菌作用を、化学療法剤の最小発育阻止濃度の測定法に準じて測定した。

我々が検査した範囲では、標準株および臨床分離株合計 162 株のすべてに対するホウ酸の MIC 値は 1% 以下であり、高濃度のホウ酸に耐性の菌は認められなかった。また標準株と臨床分離株それぞれに対する MIC 値に差はなく、各菌種内の MIC 値は非常にせまい範囲に分布し、各菌種毎に特徴的な MIC 値を示した。

皮膚科領域の感染症原因菌としてもっとも重要な *S. aureus* に関しては 1976 年から 1991 年の 16 年間にかけて分離された菌株について検討を加えた。その間、化学療法剤に対しては高度に耐性化が進み、MRSA などが分離される頻度が高くなってきている。今回検討した菌株についてもメチシリン耐性化に伴って TC および EM に対しても耐性化が進んでいた。これら両薬剤は皮膚科領域で使用されることも多く、耐性菌の蔓延は治療を困難なものとしている。それに対して、ホウ酸の MIC 値は 1976 年から 1991 年の 16 年間にまったく変動がみられず、またさらに興味深いことは MRSA と MSSA の間にもまったく差が認められなかった。

これらの事実から、今回検討した微生物の範囲では、ホウ酸に対する耐性化の傾向が認められないことが明らかにされた。

近年各種化学療法剤に対する細菌の耐性化が問題となっており、特に院内感染の原因菌としてのブドウ球菌やブドウ糖非発酵グラム陰性杆菌に対する感染対策が急務である。このような現状において、1%の濃度で多くの細菌および真菌の発育を抑制できるホウ酸の利用価値は今回得られた結果からも十分再考されるべきであると考えられる。特に皮膚感染症のうちもっとも検出頻度の高い *S. aureus* がすべて 0.25% の低濃度のホウ酸で発育が阻止されることは皮膚外用剤として

の有用性が高いことを強く示唆している。

現在汎用されている化学療法剤の外用剤中への使用濃度はサルファ剤で1~11.2%, マクロライド系およびテトラサイクリン系薬剤で1~3%, 抗真菌剤で1~5%であり, それぞれ特定の微生物を対象に使用されている。これに対してホウ酸は昭和60年に局方から除外されるまでは10%ホウ酸軟膏として使用されていた。しかし, 今回の実験結果より, 10%という高濃度での使用は必要なく, 現在使用されている他の抗菌外用剤と同程度の2~3%の濃度で皮膚表在の各種細菌および真菌の発育を同時に阻止できる可能性がある。

ホウ酸の致死量は乳児では3~6 g, 成人では15~30 gであると報告されている。しかし, 乳児ではこれ以下の量での死亡例も見られており, また, 経口摂取より静脈内・皮下投与の方が致死量は低い⁹⁾ため, 乳児の非経口投与による致死量はさらに低いものと考えられる⁹⁾。

ホウ酸は腎臓から排泄され, 健康な成人にホウ酸を投与しても蓄積されることは少ない⁹⁾。しかし, 単位面積あたりの腎血流量, 糸球体濾過量が成人の1/4程度にしかすぎない乳児や, 成人でも腎機能障害を有する症例や, 腎機能の低下した老人では中毒発現の可能性が高くなる。さらに, ホウ酸による急性中毒は死亡率が高く, 特異的な解毒剤が今のところ存在しないことから利用に制限が加えられることになる。

しかし, 皮膚科領域で, 基礎疾患のない成人を対象として10%程度のホウ酸含有軟膏を外用した場合, ホウ酸がどれほど高率に経皮吸収されても1回使用量から致死量のホウ酸が吸収されることはほとんどありえない。また, ホウ酸は健常皮膚からは吸収されず¹⁰⁾, 病的皮膚からの吸収の程度も基剤によって異なり親水性基剤より油性基剤のほうが吸収は少ない⁹⁾。

以上のような点から適用範囲は制限されることになるが, 基剤の選択を工夫し, 低濃度での安全性の高い利用方法を考案することにより, ホウ酸を皮膚科領域

の外用剤として再び活用できるのではないかと考える。

謝 辞

本研究の実施に当たり, 多数の標準株を分与いただきました大阪府立病院松岡喜美子先生に深く感謝致します。

また本研究は, 財団法人大阪皮膚病研究会の助成金を受けて行ったものであることを付記し, 謝意を表します。

文 献

- 1) 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
- 2) Goldbloom R B, Goldbloom A: Boric Acid Poisoning. The Journal of Pediatrics 43: 631~643, 1953
- 3) Connelly J P, Crawford J D, Soloway A H: Boric Acid Poisoning in an Infant. The New England Journal of Medicine 259: 1123~1125, 1958
- 4) Jordon J W, Crissey J T: Boric Acid Poisoning. A.M.A. Archives of Dermatology 75: 720~728, 1957
- 5) Watson E H: Boric Acid A Dangerous Drug of Little Value, J.A.M.A. 29: 332~333, 1945
- 6) Novak M: Antibacterial Action of Boric Acid and Boron Compounds, Bulletin of The National Formulary Committee 18: 94~109, 1950
- 7) Kingma H: The Pharmacology and Toxicology of Boron Compounds, Canadian Medical Association Journal 78: 620~622, 1958
- 8) Houlby R D, Ghajar M, Chavez G O: Antimicrobial Activity of Borate-Buffered Solutions, Antimicrobial Agent and Chemotherapy 29: 803~806, 1986
- 9) 久保田潔, 高島 巖, 伊集 操: ヒトの血清・尿中の硼素 臨床編 硼酸亜鉛華軟膏からの硼酸の経皮吸収。西日本皮膚 44: 52~61, 1982
- 10) Pfeiffer C C, Hallman L F, Gersh L I: Boric Acid Ointment, J.A.M.A. 26: 266~274, 1945

A study of the antibacterial effect of boric acid

Chihiro Katsukawa*¹, Kazuhiro Harada*¹, Hisaya Tsugami*²
and Masanao Makino*¹

*¹ Osaka Prefectural Institute of Public Health, 1-3-69 Nakamichi,
Higashinari-ku, Osaka 537, Japan

*² Osaka Prefectural Bandai Clinic for STD

The antibacterial effect of boric acid, especially as it relates to dermatological infectious disease, was studied. Boric acid was once one of the most important reagents applied to the treatment of dermatological infectious diseases. Since the 19th century it was widely used and thought to be one of the most effective antibacterial reagents. Since 1950, though, many side effects of boric acid have been strongly pointed out, including accidental death. As a result, use of boric acid was stopped in spite of its usefulness. In this study, we examined the antibacterial effect of boric acid and obtained very interesting results. The growth of all bacteria and fungi tested here was completely inhibited by 1% (wt/vol) of boric acid added to the media. MICs were distributed between 0.125% to 1%, and bacteria belonging to the same species showed similar MICs. Compared with 16 years ago, the antibacterial effect against *Staphylococcus aureus* has not changed at all, and there have been no differences in the MICs between methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) and methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA). This shows that MRSA might have difficulty in acquiring resistance to boric acid. The effect on MRSA suggests that this formerly used reagent might be able to be used to treat infection with MRSA. This study suggests that the antibacterial effect of boric acid should be reevaluated, and that use at appropriate dosages may be beneficial in treating bacterial skin infections.