



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 (11)證書號數：TW I405577B1

(45)公告日：中華民國 102 (2013) 年 08 月 21 日

(21)申請案號：100145489

(22)申請日：中華民國 92 (2003) 年 06 月 13 日

(51)Int. Cl. : A61K36/899 (2006.01)

A61P31/04 (2006.01)

(30)優先權：2002/06/13 日本

2002-173214

2002/12/04 日本

2002-352662

2003/05/06 日本

2003-128196

(71)申請人：鳳凰堂股份有限公司 (日本) HOUOUDOU CO., LTD. (JP)

日本

(72)發明人：土田裕三 TSUCHIDA, YUUZOU (JP)；土田小太郎 TSUCHIDA, KOTAROU (JP)；

土田憲次郎 TSUCHIDA, KENJIROU (JP)；渡邊邦友 WATANABE, KUNITOMO

(JP)；中村良子 NAKAMURA, YOSHIKO (JP)；岩澤篤郎 IWASAWA, ATSUO (JP)

(74)代理人：洪武雄；陳昭誠

(56)參考文獻：

JP 11-137640A

JP 2000-128731A

審查人員：簡正芳

申請專利範圍項數：5 項 圖式數：0 共 0 頁

(54)名稱

抗菌劑

ANTIMICROBIAL AGENT

(57)摘要

本發明係關於含有矮竹(Sasa)萃取物之抗破傷風菌劑，含有矮竹萃取物及有機酸之抗黴菌劑，含有矮竹萃取物之抗病毒劑，含有矮竹單寧之抗菌劑以及含有矮竹萃取物及有機酸之抗菌性組成物。

The present invention provides an antitetanus agent containing sasa extract, an antifungal agent containing sasa extract and organic acid, an antiviral agent containing sasa extract, an antimicrobial agent containing sasa tannin, and an antimicrobial composition containing sasa extract and organic acid.

公告本

發明專利說明書

分
類
案

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫；惟已有申請案號者請填寫)

※申請案號：100145489

※申請日期：92.6.13 ※IPC 分類：

原申請案號：92116048

A61K 36/899 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

抗菌劑

ANTIMICROBIAL AGENT

A61P 31/04 (2006.01)

二、中文發明摘要：

本發明係關於含有矮竹(Sasa)萃取物之抗破傷風菌劑，含有矮竹萃取物及有機酸之抗黴菌劑，含有矮竹萃取物之抗病毒劑，含有矮竹單寧之抗菌劑以及含有矮竹萃取物及有機酸之抗菌性組成物。

三、英文發明摘要：

The present invention provides an antitetanus agent containing sasa extract, an antifungal agent containing sasa extract and organic acid, an antiviral agent containing sasa extract, an antimicrobial agent containing sasa tannin, and an antimicrobial composition containing sasa extract and organic acid.

四、指定代表圖：本案無圖式。

(一)本案指定代表圖為：無。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：無。

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

本案無化學式。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於含有矮竹萃取物之抗菌劑，更詳細而言，係關於含有矮竹萃取物之抗破傷風桿菌劑、抗黴菌劑、抗病毒劑及抗菌性組成物。

【先前技術】

自古以來即已知矮竹萃取物具有抗菌性。例如，曾報導其對為創傷感染症病原菌之細菌如金黃葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、綠膿桿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 及大腸桿菌 (*Escherichia coli*) 具抗菌效果，以及對為胃潰瘍病原菌之幽門螺旋桿菌 (*Helicobacter pylori*) 具抗菌效果。

不過，創傷感染症之病原菌，如為破傷風、氣壞疽、及各種化膿性感染症病因之有芽孢及無芽孢厭氣性菌亦相當重要，然而有關對此等厭氣性菌之抗菌作用之檢討，迄今尚未出現。

在評估具抗菌力物質之際，提早知道該物質對人之病原菌的作用同時存在皮膚、黏膜的有用或對伺機性細菌的作用，是極為重要的。

而乳桿菌屬 (*Lactobacillus* spp.)，已知為口腔內、消化管內及陰道內之常在細菌。眾所周知常在細菌對身體之作用具有正反兩面性質。乳酸桿菌屬亦可從包含血液之臨床材料中分離出，其病原性之意義絕不應過於低估，然而由於其之分離頻率極低，被認為係在各種解剖學部位上有用性高之菌種。對於被評價為對人類有用性高之菌群之乳酸

桿菌屬，矮竹萃取物具有何種程度之抗菌作用為極耐人尋味之點，然而迄今未出現對其之詳細檢討成果。

而皮膚之皮脂腺內存在之痤瘡初油酸桿菌(*Propionibacterium acnes*)為厭氣性無芽孢厭氣性菌，從中度症狀至重症之普通粉刺(*Acne vulgaris*)(痤瘡)中，已知金黃葡萄球菌及表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)同為促使普通粉刺更加惡化之因子。目前在普通粉刺之治療上，雖可使用迄今所知之抗菌藥(如紅黴素、四環黴素及那氟沙星(*Nadifloxacin*)等)之乳霜或洗液，然而由於其等之長期使用造成葡萄球菌屬(*Staphylococcus spp*)及痤瘡初油酸桿菌(*P. acnes*)之耐藥性，現已成為臨床上之問題，世界上關於其對策之討論時有所聞。矮竹萃取物對於痤瘡桿菌(*P. acnes*)之檢討成果則尚未出現。

女性生殖道致病菌(*Prevotella bivia*)及著色之普氏菌屬(*Prevotella spp.*)等偏性厭氣性革蘭氏陰性桿菌，在健康女性陰道內雖只測出界線以下之菌數存在，然而其與以生殖道黴漿菌(*Mycoplasma genitalium*)、人類黴漿菌(*M. hominis*)、陰道加德納氏菌(*Gardnerella vaginalis*)及厭氣消化鏈球菌(*Peptostreptococcus anaerobius*)為主之厭氣性革蘭氏陽性球菌以及卟啉單胞菌屬(*Porphyromonas spp*)等，同被納入細菌性陰道症(BV)狀態(以陰道內乳酸菌減少、陰道內 pH 值降低及乳狀惡臭(胺臭)白帶為特徵)下異常地增加之細菌性陰道症(BV)相關微生物之範疇中，該等偏性厭氣性革蘭氏陰性桿菌為子宮內及骨盤內感染症之病原菌之

極重要細菌。

矮竹萃取物已知具有抗菌作用，然而迄今為止彼等對BV相關細菌群菌種之抗菌作用之檢討完全未出現。

因此，完全不知矮竹萃取物對細菌是否具有有效之抗菌活性，一般亦不知對細菌具有有效抗菌活性之天然萃取物對於如念珠菌(*Candida*)等黴菌是否亦具有抗菌活性。

另一方面，破傷風為破傷風桿菌感染創傷部位，在該處產生之神經毒素引起嚴重之肌肉痙攣、硬直及肌肉反射亢進，為致命率高之毒素性疾病。破傷風桿菌為可在土中、人類及動物糞便中檢測出之厭氣性桿菌，在破傷風之預防及治療方面，類毒素(toxoid)產生之自動免疫及抗毒素血清產生之被動免疫均有效。然而，尚未知矮竹萃取物對破傷風菌具有抗菌活性。

又，病毒本身不能增殖而係寄生於動植物及微生物而增殖之極微小病原體，可分為動物病毒、植物病毒及微生物病毒。病毒性疾病之預防及治療用之各種抗病毒劑雖已開發，然而，無副作用且具有有效抗病毒活性之藥劑仍待尋求。

又，已知各種植物中所含有之單寧(tannin)亦具有抗菌作用。例如，已知從矮竹以外之植物而來之單寧，亦對MRSA(新青黴素耐性金黃葡萄球菌(*methicillin-resistant staphylococcus aureus*))具有抗菌作用，然而其有做為抗菌劑使用之副作用大之問題。

【發明內容】

因此，本發明之目的係為提供抗菌劑，更具體而言，作為提供抗破傷風桿菌劑、抗黴劑及抗病毒劑。

本發明之其他目的係為提供抗菌性組成物。

本發明係提供含有矮竹萃取物之以下抗菌劑及抗菌性組合物。

1. 一種抗菌劑，係含有具有矮竹單寧之矮竹萃取物(以固形物計 1 至 50 質量%)作為活性成分之抗菌劑，其中，矮竹萃取物係將選自由隱竹(*Sasa senanensis* (Franch. et Savat.))、山白竹(*Sasa veitchii*)、庫頁赤竹(*Sasa kurilensis*)、奧山竹(*Sasa cernua* Makino)、蝦夷深山竹(*Sasa tatewakiana* Makino)、粽竹(*Sasa palmata* (Bean) Nakai.)、野卑小竹(*Sasa yahikoensis* Makino.)、大葉竹(*Sasa megalophylla* Makino et Uchida.)、深山竹(*Sasa septentrionalis* Makino.)、仙台竹(*Sasa sendaica*.)、湯川竹(*Sasa kogasensis* Nakai)、阿波竹(*Sasa samaniana* Nakai.)、小奴可竹(*Sasa hibaconuca* Koidz.)所成組群之至少一種矮竹之葉，以 100 至 180°C 之水萃取而得；前述抗菌劑所針對之菌為選自由破傷風桿菌、MRSA(新青黴素耐性金黃葡萄球菌(*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*))、痤瘡初油酸桿菌、氣壞疽菌、無芽胞厭氣性革蘭氏陽性球菌、無芽胞厭氣性革蘭氏陰性桿菌、以及細菌性陰道症相關微生物所成組群之至少一種。
2. 如第 1 項之抗菌劑，其係復含有含有選自由蘋果酸、檸檬酸、乳酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、反丁烯二酸、醋酸、苯甲酸、苯基醋酸、水楊酸以及酚類所成組群之至少一種

有機基者。

3. 如第 1 項或第 2 項之抗菌劑，其中，該氣壞疽菌係梭菌屬 (*Clostridium*)。

4. 如第 1 項或第 2 項之抗菌劑，其中，無芽胞厭氣性革蘭氏陽性球菌係大消化鏈球菌 (*Finegoldia*)、微單胞菌 (*Micromonas*)、消化鏈球菌 (*Peptostreptococcus*)、奇異菌 (*Atopobium*) 或孿生菌 (*Gemella*)。

5. 如第 1 項或第 2 項之抗菌劑，其中，無芽胞厭氣性革蘭氏陰性桿菌係普氏菌 (*Prevotella*)、卟啉單胞菌 (*Porphyromonas*)、嗜膽菌 (*Bilophila*)、脫硫弧菌 (*Desulfovibrio*)、或梭桿菌 (*Fusobacterium*)。

在本說明書中，以下亦將抗破傷風桿菌劑、抗黴菌劑、抗病毒劑及粉刺治療劑等以「抗菌劑」總稱之。

又，在本說明書中，「抗菌劑」亦包含人類以外所使用之抗菌劑及防腐劑。

【實施方式】

實施本發明之最佳形態

本發明為含有矮竹萃取物做為有效成分之抗菌劑。本發明之抗菌劑含有以固形份計之矮竹萃取物 1 至 50 質量%，而以 2 至 25 質量%為較佳，以 4 至 15 質量%為更佳。矮竹萃取物之固形份濃度若不到 1 質量%，則目的抗菌性無法充分表現，另一方面，若超過 50 質量%，則刺激變得太強，而不佳。

先前，矮竹萃取物通常被製造成含有 0.5 至 10 質量%

固形份之萃取物，且被用於各種用途。此種固形份濃度之物，由於通常以為最終製品之約 1 至 10 質量%之方式添加使用，所以最終製品中矮竹萃取物之固形份濃度通常為 0.05 至 0.8 質量%，即使最高濃度亦不足 1 質量%。其理由為矮竹萃取物為比較高價之物，即使如此低濃度，其表現亦已達到某種程度之消炎效果及抗菌效果，而有效成分之添加量若為 10 質量%以上時便不合常理等。然而，此種低濃度之抗菌效果大多不充分。

本發明人發現藉由含有矮竹萃取物固形份濃度 1 至 10 質量%(而以 2 至 8 質量%為較佳，以 3 至 7 質量%為更佳)，在先前低濃度時幾乎未受肯定之對異位性皮膚炎等有顯著的改善效果及止癢效果，又顯著地提高瘡傷治癒效果(WO 02/07745)。本發明人再探索矮竹萃取物對各種菌類之抗菌效果，發現以固形份計，含有矮竹萃取物 1 至 50 質量%(以 2 至 25 質量%為較佳，以 4 至 15 質量%為更佳)者，對綠膿桿菌、金黃葡萄球菌及大腸桿菌以外之菌，亦即破傷風桿菌等厭氣性菌，包括痤瘡初油酸桿菌之初油酸桿菌屬，念珠菌等黴菌類，或疱疹病毒、流感病毒及冠狀病毒等病毒等亦具有顯著抗菌效果，且藉由於矮竹萃取物中含有蘋果酸等有機酸，抗菌性顯著地提高，以致完成本發明。儘管自古以來已知有矮竹萃取物此物，而將其以高濃度使用之試驗迄今未進行之理由雖不確定，然而，令人意外的是藉由比先前濃度高之濃度(10 倍以上)，對破傷風桿菌等厭氣性菌、念珠菌等黴菌類或病毒等亦具有顯著之抗菌效果。

本發明對皮膚軟組織感染症亦有效。若皮膚、骨骼或軟組織受到外傷、缺血或手術造成之損傷，可能成為適合厭氣性菌感染症之環境。皮膚軟組織感染症常在容易被糞便或上呼吸道分泌物污染之部位發生。例如，與腸管手術有關之創傷部位、褥瘡或與被人咬傷有關之創傷。厭氣性菌可從能見到產生氣體之蜂窩組織炎 (crepitant cellulitis)、相乘性蜂窩組織炎 (synergistic cellulitis)、壞疽 (gangrene) 及壞死性肌膜炎等病例中分離出。再者，厭氣性菌可從皮膚之膿瘍、直腸膿瘍及腋下汗腺感染症 (化膿性汗腺炎) 中分離出。厭氣性菌亦經常可從糖尿病患者之足部潰瘍分離出。

皮膚軟組織感染症通常為複數菌感染症。平均而言每病例可分離出 4.8 個菌種，厭氣性菌與嗜氣性菌之比率為 3:2。分離頻率高之菌種為擬桿菌屬 (*Bacteroides* spp.)、消化鏈球菌屬 (*Peptostreptococcus* spp.)、腸球菌屬 (*Enterococcus* spp.)、梭菌屬 (*Clostridium* spp.) 及變形菌屬 (*Proteus* spp.)。若厭氣性菌與此等感染症有關連，則發燒頻率高，患部可見到惡臭，組織內可見到氣體，並且足部可見到潰瘍。

由於厭氣性菌與兼性菌之協同作用產生之壞疽 (協同性壞疽)，其特徵為強烈疼痛、發紅、腫脹及接續引起硬結 (induration)。紅斑以壞死帶為中心而擴大。肉芽性潰瘍隨著壞死與紅斑向外側擴大而於中心部位形成。症狀只有疼痛，發燒並非典型症狀。此種感染症經常由金黃葡萄球菌與消化鏈球菌屬之組合引起。好發部位為腹部之手術創傷

及下肢潰瘍之周邊部位。治療為壞死組織之外科去除及抗菌化學療法。

所謂「壞死性肌膜炎」之急速性擴大之肌膜破壞性疾病雖多為 A 型鏈球菌引起，然而亦有由於如消化鏈球菌及擬桿菌之厭氣性菌而引起者。組織內亦可發現氣體。與此同樣地，肌肉壞死亦與厭氣性菌及兼性菌之混合感染症有關係。外生殖器暴發性壞疽(Fournier's disease)發生於陰囊、會陰部、腹壁前部，複數之厭氣性菌沿著深處之肌膜面(deep external facial planes)擴大，為一種可導致廣泛皮膚缺損之蜂窩組織炎。

本發明係提供一種含有矮竹萃取物之對皮膚軟組織感染症之治療及/或預防劑者。

本發明亦提供一種含有矮竹萃取物之對抗包括痤瘡初油酸桿菌之初油酸桿菌屬之抗菌劑者。

本發明人針對矮竹萃取物之有效成分再檢討之結果，發現矮竹萃取物中含較多量之單寧則具有優良之抗菌作用，以致完成本發明。先前，單寧具有抗菌作用之事雖已有報導，然而由於該等單寧任一種之副作用均甚大，尚未知有實用化者。矮竹萃取物本身自古即可經口攝取，已知對人體不具有副作用。此種矮竹萃取物中含較多量之單寧，而其具有優良抗菌作用者則完全始料未及。

做為本發明抗菌劑之有效成分(即矮竹萃取物)之原料之矮竹，並無特別限定，例如可為屬於所有矮竹屬(Sasa)之矮竹。例如，隱竹、山白竹、庫頁赤竹、奧山竹、蝦夷

深山竹、粽竹、野卑小竹、大葉竹、深山竹、仙台竹、湯川竹、阿波竹及小奴可竹等。其中，市售者之具體例，如隱竹及山白竹(中國矮竹或飛驒矮竹)等。其中以例如北海道天鹽山系7至10月採取之隱竹及山白竹之水萃取物等為較佳。

本發明所使用之矮竹萃取物，以將矮竹之生藥或乾燥葉，於100至180℃之水中，在常壓或加壓下萃取所得到者為較佳。

萃取之方法並無特別限定，可使用例如日本專利特許第3212278號(特開平11-196818號公報)所記載之方法。更具體而言，藉由加壓熱水萃取機在100至180℃處理5至30分鐘，抽取萃取物，將該萃取物藉由水分分離器與含水固形份(含水率40至70%)分離，繼而藉由飽和水蒸氣加熱處理機將該含水固形份於100℃至200℃處理50分鐘至60分鐘後，再度藉由加壓熱水萃取機於100℃至180℃處理5至30分鐘，抽取萃取物，將第一回與第二回之抽取物合併使用。又，亦可使用將矮竹乾燥葉於例如60至100℃之水中萃取約30分鐘至12小時所得到之萃取物。

含有矮竹萃取物固形份為50質量%之市售品，例如有克羅蘭德·莫思里股份有限公司製之「AHSS」，及鳳凰堂股份有限公司製之「TWBES」。

如此方式得到之矮竹萃取物含有硫成分，若將其含量換算為硫，則平均每1g矮竹萃取物含約4至10mg，通常約6至9mg。硫成分中之主要成份推測為含硫胺基酸。

本發明之抗菌劑含有來自矮竹萃取物之硫成分，換算成硫，則每 100g 抗菌劑以含 4 至 500mg 為較佳，以 8 至 250mg 為更佳，而以 16 至 150mg 為最佳。

又，矮竹萃取物含有單寧，其含量為矮竹萃取物之固形份之約 5 至 15 質量%。

本發明抗菌劑含有之矮竹萃取物固形份濃度以 0.05 至 7.5 質量%為較佳，而以 0.1 至 6 質量%為更佳。

本發明之抗菌劑亦可為只以矮竹萃取物做為有效成分者，藉由其併用適量之有機酸，可再提高其抗菌效果。此種有機酸如蘋果酸、檸檬酸、乳酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、反丁烯二酸、醋酸、苯甲酸、苯基醋酸、水楊酸及酚類等。

有機酸之使用量，在本發明之抗菌劑中，以 0.01 至 5 質量%為較佳，以 0.02 至 3 質量%為更佳，以 0.05 至 1.5 質量%為最佳。

本發明之抗菌劑可為矮竹萃取物本身，亦可為與其他成分或載體混合者。

本發明提供含有矮竹萃取物或矮竹萃取物與有機酸混合物之食鹽、砂糖、醬油、味噌、調味汁(sauce)、蛋黃醬、酒、調味酒及調料(dressing)等調味料等。例如，若添加矮竹萃取物或矮竹萃取物與有機酸混合物於食鹽，具有因食鹽使魚類及肉類等保存期格外增長之效果。對食鹽而言，矮竹萃取物之添加量，以固形份計，以 1 至 10 質量%為較佳，而以 2 至 8 質量%為更佳，以 3 至 6 質量%為最佳。

本發明之抗菌劑之劑型，可為液體狀、固體狀或氣體狀之任一種。本發明之抗菌劑可藉由經口或非經口投與之任一種投與形態投與。經口投與形態者，可例舉如錠劑、丸劑、粉劑、液劑、口香糖、(軟)糖、巧克力、麵包、餅乾、蕎麥、烏龍麵及各種飲用劑等食品形態，而非經口投與形態者，可例舉如注射劑、局部投與劑(乳霜及軟膏等)及栓劑等。局部投與劑之劑型之實例者，可例舉如將本發明之抗菌劑含浸於天然纖維或合成纖維製之紗布等載體者，或含於口紅等化妝品者等。

本發明之抗菌劑，不用說人類，即使使用於人類以外之哺乳類、鳥類、魚類及爬蟲類等做為抗菌劑亦有效。因此，本發明之抗菌劑可做為此等動物之抗菌劑(寵物用醫藥及寵物食品等)使用。再者，除動物以外，本發明之抗菌劑亦可做為各種植物之抗菌劑，又，亦可做為防腐劑。

本發明之各種劑型之抗菌劑之製造，除一定量之上述矮竹萃取物之外，可使用醫藥組成物、化妝品及皮膚用組成物等通常使用之油性成分等基材成分、保溼劑及防腐劑等。

抗菌劑所使用之水係自來水、天然水、精製水等，並無特別限定，但通常以離子交換水等高純度之水為佳。

做為油性成分者，如鮫魚油、牛脂、豬脂、馬油、羊毛脂及蜜蠟等動物性油，橄欖油、葡萄籽油、棕櫚油、荷荷芭油(jojoba)及胚芽油(例如米胚芽油)等植物性油，以及流動石蠟、高級脂肪酸酯(例如棕櫚酸辛酯、棕櫚酸異丙

酯、及肉荳蔻酸辛基十二烷酯)及矽酮油等合成油及半合成油。

油性成分，可配合皮膚之保護、賦予潤膚性(emolient)效果(將皮膚表面以薄膜覆蓋，防止乾燥，同時賦予柔軟性及彈力性之效果)及舒爽感等要求性能，適宜地加以組合而使用。鮫魚油、橄欖油及肉荳蔻酸辛基十二烷酯之組合為較佳實例之一。

關於抗菌劑之硬度，為調節流動性，可使用硬脂酸、硬脂醇、二十二烷酸、鯨蠟醇及凡士林等固體油，其中以使用硬脂酸與鯨蠟醇之組合為較佳。

為將本發明之抗菌劑製造成乳霜組成物，可使用能將矮竹萃取物、水及油性成分做成乳霜狀之乳霜化劑。乳霜化劑並無特別限定，一般可組合使用單硬脂酸甘油酯與自行乳化型單硬脂酸甘油酯(於單硬脂酸甘油酯中添加乳化劑者)。

本發明之抗菌劑，依照需要可另含有安定劑、保溼劑、創傷治療劑、防腐劑及界面活性劑等。

做為安定劑者，可例舉如羧基乙烯基聚合物與氫氧化鉀之組合，以及二硬脂酸聚乙二醇酯等。尤其是倍半硬脂酸聚乙二醇酯(二硬脂酸聚乙二醇酯及單硬脂酸聚乙二醇酯之1:1混合物)(聚乙二醇之分子量為1000至2萬)，由於安定性高，水與油不會分離，且製成乳霜組成物塗佈於皮膚時其之硬度可有效地調節，因而特佳。

做為保溼劑者，可例舉如透明質酸鈉(sodium

hyaluronate)、膠原、蘆薈萃取物(尤其以來自樹叢蘆薈之蘆薈萃取物(2)為特佳)、尿素、1,3-丁二醇、甘油、海藻糖(trehalose)、山梨糖醇、胺基酸及吡咯啉酮羧酸鈉等。

做為創傷治療劑者，如脲基海因(arantoin)、甘草酸二鉀、甘草萃取物及艾草萃取物等。

由於矮竹萃取物本身具有抗菌作用，防腐劑係可做為輔助性使用者。例如，苯甲酸鈉、對羥基苯甲酸低級烷酯(例如甲酯、乙酯、丙酯或丁酯等被稱為對羥基苯甲酸酯(Paraben)者)、丙酸鈉、混合脂肪酸酯(癸酸甘油酯、月桂酸聚甘油酯-2及月桂酸聚甘油酯-10之混合物)、苯氧基乙醇、感光素 201 號(黃色色素)及 1,2-戊二醇等，而以對羥基苯甲酸酯(Paraben)、混合脂肪酸酯及 1,2-戊二醇為較佳。

做為界面活性劑者，例如 N-鹽基-L-穀胺酸鈉以及聚氧化乙烯山梨糖醇酐單硬脂酸酯等。

再者，依照需要，亦可含有香味成分，例如橙油、檸檬油、橙皮油及香料等。

在以上之各成分中，添加水及視需要添加有機酸使全部成為 100 質量%。

將本發明之抗菌劑製造成為乳霜組成物時，各成分之較佳添加量(質量%)，如以下表 1 所示。水分以外之各成分的調配量係除去水分之質量者。

表 1

成分	較佳範圍	更佳範圍	最佳範圍
矮竹萃取物	1 至 50	2 至 25	4 至 15
液體狀油性成分	6 至 30	2 至 20	5 至 15
固體狀油性成分	2 至 35	3 至 25	5 至 15
乳霜化劑	1 至 6	1.5 至 4	1.6 至 3
安定劑	0 至 2	0 至 1.5	0 至 1
保溼劑	0 至 10	0.05 至 5	0.1 至 5
創傷治療劑	0 至 2	0.05 至 1	0.1 至 0.5
香味成分	0 至 5	0 至 3	0 至 1
有機酸	0.01 至 5	0.1 至 3	0.5 至 1.5
水	殘餘量	殘餘量	殘餘量

將以上各成分投入具備攪拌葉(較佳為尚具備乳化器)之加熱混合鍋中，於 70 至 90°C 攪拌混合 1 至 2 小時而得到本發明之抗菌劑。

本發明之抗菌劑，除乳霜組成物外，可以軟膏、液狀、膠凍狀、凝膠狀、氣溶膠或其他之形態使用，而以乳霜組成物之形態，既簡便效果亦大。又，亦可為洗髮精、浴皂、或洗臉乳等半固體或液體之形態。

本發明之抗菌劑，可於將患部清潔後，以適量(例如適用乳霜組成物時，每 100cm² 皮膚以 0.1 至 1g 之程度)塗佈，1 日 1 至 5 次(通常 1 至 3 次)。塗佈量及塗佈次數可配合症

狀及創傷之程度適宜地增減。

本發明之抗菌劑，在經口攝取之情況，以矮竹萃取物固形份計，以每 1kg 體重約 0.01 至 0.1g，1 日 1 至 5 次(通常 1 至 3 次)之量攝取較為適當。攝取量及攝取次數可配合症狀適宜地增減。

本發明之抗菌劑，在注射劑等非經口攝取之情況，以矮竹萃取物固形份計，以每 1kg 體重約 0.01 至 0.1g，1 日 1 至 5 次(通常 1 至 3 次)之量攝取較為適當。攝取量及攝取次數可配合症狀適宜地增減。

本發明之抗菌劑，藉由塗佈於保險套，可預防性病及 HIV 感染等。

本發明之抗菌劑有效成分之矮竹萃取物係矮竹屬之萃取物，其之 1.25 質量%水溶液對從人類胎兒腎臟而來之 293 細胞未呈現毒性。

本發明之抗菌劑，含有矮竹萃取物之固形份 1 至 50 質量%，對破傷風桿菌、引起氣壞疽之梭菌屬氣壞疽菌群、念珠菌、白癬菌、毛黴、蜘蛛網黴、麴菌屬菌、隱球菌屬 (*Cryptococcus* spp.) 菌、球孢子菌屬 (*coccidioides*) 菌、人類黴漿菌屬菌、MRSA 等抗生素耐性菌、包括痤瘡初油酸桿菌之初油酸桿菌屬菌，疱疹病毒、流感病毒及冠狀病毒等病毒等呈現顯著效果。

本發明之抗菌劑之較佳實施形態如以下所示。

1. 一種抗菌劑，其含有矮竹萃取物(固形份 1 至 50 質量%)、水、油性成分及乳霜化劑。

2. 如上述第 1 項記載之抗菌劑，其中該油性成分為從動物性油、植物性油、合成油及半合成油組成之群中選出之至少 1 種。
3. 如上述第 1 項記載之抗菌劑，其中該油性成分為從鯨魚油、牛脂、豬脂、馬油、羊毛脂、蜜蠟、橄欖油、葡萄籽油、棕櫚油、荷荷芭(jojoba)油、胚芽油、流動石蠟、棕櫚酸辛酯、棕櫚酸異丙酯、肉荳蔻酸辛基十二烷酯、矽酮油、硬脂酸、硬脂醇、二十二烷酸、鯨蠟醇及凡士林組成之群中選出之至少 1 種。
4. 如上述第 1 至 3 項中任一項記載之抗菌劑，其中該乳霜化劑為單硬脂酸甘油酯與自行乳化型單硬脂酸甘油酯之組合。
5. 如上述第 1 至 4 項之任一項記載之抗菌劑，其另含有從有機酸、安定劑、保溼劑、創傷治癒劑、防腐劑及界面活性劑組成之群中選出之至少 1 種成分。
6. 如上述第 5 項記載之抗菌劑，其中該安定劑為從羧基乙烯基聚合物與氫氧化鉀之組合，及二硬脂酸聚乙二醇酯組成之群中選出之至少 1 種。
7. 如上述第 5 項記載之抗菌劑，其中該保溼劑為從透明質酸鈉、膠原、蘆薈萃取物、尿素、1,3-丁二醇、甘油、海藻糖、山梨糖醇、胺基酸及吡咯啉酮羧酸鈉組成之群中選出之至少 1 種。
8. 如上述第 5 項記載之抗菌劑，其中該創傷治癒劑為從脲基海因(arantoin)、甘草酸二鉀、甘草萃取物及艾草萃取物

組成之群中選出之至少 1 種。

9. 如上述第 5 項記載之抗菌劑，其中該防腐劑為從苯甲酸钠、對羥基苯甲酸低級烷酯、丙酸钠、混合脂肪酸酯、苯氧基乙醇、1,2-戊二醇及黃色色素組成之群中選出之至少 1 種。

10. 如上述第 5 項記載之抗菌劑，其另含有從橙油、檸檬油、橙皮油及香料組成之群中選出之至少 1 種成分。

11. 如上述之抗菌劑，其為含有矮竹萃取物、水、油性成分、乳霜化劑、安定劑、保溼劑、創傷治癒劑、防腐劑及界面活性劑之抗菌劑，其中該油性成分為從鮫魚油、牛脂、豬脂、馬油、羊毛脂、蜜蠟、橄欖油、葡萄籽油、棕櫚油、荷荷芭(jojoba)油、胚芽油、流動石蠟、棕櫚酸辛酯、棕櫚酸異丙酯、肉荳蔻酸辛基十二烷酯、矽酮油、硬脂酸、硬脂醇、二十二烷酸、鯨蠟醇及凡士林組成之群中選出之至少 1 種；該乳霜化劑為單硬脂酸甘油酯與自行乳化型單硬脂酸甘油酯之組合；該安定劑為從羧基乙烯基聚合物與氫氧化鉀之組合，及二硬脂酸聚乙二醇酯組成之群中選出之至少 1 種；該保溼劑為從透明質酸钠、膠原、蘆薈萃取物、尿素、1,3-丁二醇、甘油、海藻糖、山梨糖醇、胺基酸及吡咯啉酮羧酸钠組成之群中選出之至少 1 種；該創傷治療劑為從脲基海因(arantoin)、甘草酸二鉀、甘草萃取物及艾草萃取物組成之群中選出至少 1 種；該防腐劑為從苯甲酸钠、對羥基苯甲酸低級烷酯、丙酸钠、混合脂肪酸酯、苯氧基乙醇及黃色色素組成之群中選出之至少 1 種；以及該

界面活性劑為 N-鹽基-L-穀胺酸鈉。

12. 如上述第 11 項記載之抗菌劑，其另含有從橙油、檸檬油、橙皮油及香料組成之群中選出之至少 1 種成分。

13. 如上述第 1 項記載之抗菌劑，其含有矮竹萃取物、水、鮫魚油、橄欖油、單硬脂酸甘油酯、自行乳化型單硬脂酸甘油酯、羧基乙烯基聚合物、氫氧化鉀、尿素、1,3-丁二醇、脲基海因(arantoin)、羥基苯甲酸低級烷酯、硬脂酸、N-鹽基-L-穀胺酸鈉及檸檬油。

14. 如上述第 1 項記載之抗菌劑，其含有矮竹萃取物、水、鮫魚油、橄欖油、肉荳蔻酸辛基十二烷酯、鯨蠟醇、單硬脂酸甘油酯、自行乳化型單硬脂酸甘油酯、羧基乙烯基聚合物、氫氧化鉀、尿素、1,3-丁二醇、脲基海因(arantoin)、混合脂肪酸酯、硬脂酸、N-鹽基-L-穀胺酸鈉及橙油。

15. 如上述第 1 至 14 項中任一項記載之抗菌劑，其含有倍半硬脂酸聚乙二醇酯。

16. 如上述第 1 至 15 項中任一項記載之抗菌劑，其中該有機酸為從蘋果酸、檸檬酸、乳酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、反丁烯二酸、醋酸、苯甲酸、苯基醋酸、水楊酸及酚類組成之群中選出之至少 1 種。

本發明亦提供含有矮竹萃取物及有機酸之抗菌性組成物。本發明之抗菌性組成物，其較佳形態為油墨、塗料、食品添加物、飲料、寵物食品、塑膠成形品及接著劑。

此等抗菌性組成物之基材，於使用食品添加劑、及飲料(清涼飲料水、水果汁、蔬菜汁及酒類(日本酒、啤酒、

發泡酒、威士忌、燒酒、伏特加、葡萄酒及白蘭地等))等水性基材時，只要將矮竹萃取物及有機酸添加、混合於該等基材中即可。添加時期，可在該基材之製造前、製造中或製造後之任一階段。添加矮竹萃取物及有機酸後，藉由於 70 至 90℃ 進行 1 至 2 小時攪拌混合處理，可再提高抗菌性。食品添加劑及飲料等抗菌性組成物中矮竹萃取物之含量，以 0.1 至 20 質量%為較佳，而以 0.25 至 7 質量%為更佳。

又，此等抗菌性組成物之基材，於採用油墨、塗料、塑膠成形品及接著劑等時，若該等基材為親水性，只要如上述將矮竹萃取物及有機酸添加、混合於基材中即可。添加時期，可在該基材之製造前、製造中或製造後任一階段。另一方面，若該等基材為疏水性(親油性)，矮竹萃取物及有機酸大多難以與其混合。因此，希望將矮竹萃取物或矮竹萃取物與有機酸之混合物，與界面活性劑(乳化劑)或親水性有機溶劑(例如，甲醇、乙醇等之醇類，丙酮等之酮類，醋酸乙酯等之酯類，吡啶及二甲基甲醯胺等)併用，以改善與基材之混合性，或者，將矮竹萃取物或矮竹萃取物與有機酸之混合物預先用親油性基材予以微膠囊化等之方法，以改善與基材之混合性。任一種情況，添加矮竹萃取物及有機酸後，藉由於 70 至 90℃ 進行 1 至 2 小時攪拌混合處理，即可進一步提高抗菌性。

基材為油墨、塗料、塑膠成形品及接著劑等時，本發明之抗菌性組成物中矮竹萃取物之含量，以 1 至 20 質量%

為較佳，而以 3 至 7 質量%為更佳。有機酸之含量，以 0.1 至 10 質量%為較佳，而以 3 至 7 質量%為更佳。

最佳之有機酸為蘋果酸、琥珀酸及檸檬酸等。

本發明之抗菌性組成物，與未含有本發明之抗菌劑者比較，呈現顯著之抗菌性，做為抗菌性建材之油墨及塗料，不只一般家庭，即使做為防止院內感染之醫院及公共建築物用建材亦極為有用。

以下，舉出參考例、實施例及試驗例，更詳細地說明本發明。

參考例 1 矮竹萃取物之製造

將北海道天鹽山系 9 月份採集之矮竹之乾燥葉，放入加壓熱水萃取槽，於 125℃ 處理 10 分鐘，用冷卻水將熱水冷卻至約 80℃，將萃取物與含水固形份用螺桿壓榨機分離，使含水率為約 50 質量%。繼而，將約 50 質量%含水固形份放入高壓鍋中，用 180℃ 飽和水蒸氣進行 10 分鐘加壓熱處理。將處理之含水固形份再度放入加壓熱水萃取槽，於 110℃ 處理 5 分鐘，抽取萃取物。將第 1 次與第 2 次之萃取物合併，進行矽藻土過濾，減壓濃縮至固形份為 50 質量%為止，然後進行 110 至 130℃ 之流動殺菌處理而得矮竹萃取物。

此矮竹萃取物中之硫含量為 3850 $\mu\text{g/ml}$ (7.7mg/固形份 1g)。

參考例 2

分析矮竹萃取物(Bambuseae Sasa)(從鳳凰堂股份有限

公司購入)之成分時，得到下列之結果。

水	59.5 質量%
蛋白質	8.6
脂質	0.6
礦物質	9.0
碳水化合物	19.8
單寧	2.5

實施例 1 至 4

將下列表 2 所示之成分以表 2 所示之質量比混合，投入具備攪拌葉及乳化器之加熱混合鍋中，在 80℃ 攪拌混合 2 小時，得到本發明之抗菌劑。固形份濃度為 8 質量%之矮竹萃取物(將參考例 1 製造之固形份 50 質量%之矮竹萃取物用水稀釋而得者)之添加量，於實施例 1 至 4 中分別為 12.5、25、37.5 及 75 質量%(因此，矮竹萃取物固形份之含量為 1、2、3 及 6 質量%，硫含量為每抗菌劑 100g 中含 7.7mg、15.4mg、23.1mg 及 46.2mg)。

表 2

成分	質量%
鮫魚油	5.0
橄欖油	6.0
檸檬油	1.0
硬脂酸	4.0
單硬脂酸甘油酯	0.8

羧基乙烯基聚合物(Carbopol 940)	0.2
單硬脂酸甘油酯(自行乳化型)	1.0
N-鹽基-L-穀胺酸鈉	0.2
1,3-丁二醇	1.0
尿素	10.0
脲基海因(arantoin)	0.1
對氧苯甲酸甲酯	0.1
對氧苯甲酸丙酯	0.1
矮竹萃取物(固形份 8 質量%)	設定量
氫氧化鉀	0.02
離子交換水(使全部成為 100 質量%之量)	

比較例 1

實施例 1 中，除固形份濃度為 8 質量%之矮竹萃取物(將參考例 1 製造之固形份 50 質量%之矮竹萃取物用水稀釋而得者)之添加量成為 6.2 質量%(因此，矮竹萃取物固形份之含量為 0.5 質量%，硫含量為抗菌劑每 100g 中含 3.8mg)之外，以同樣方式操作，得到比較例 1 之抗菌劑。

實施例 5

將下列表 3 所示之成分以表 3 所示之質量比混合，以與實施例 1 至 4 同樣方式操作，得到本發明之抗菌劑。

表 3

成分	質量%
鮫魚油	1.0
橄欖油	4.0
橙油	1.0
肉荳蔻酸辛基十二烷酯	6.0
硬脂酸	4.0
鯨蠟醇	2.0
二硬脂酸聚乙二醇酯	0.5
單硬脂酸甘油酯	1.0
羧基乙烯基聚合物(Carbopol 940)	0.2
單硬脂酸甘油酯(自己乳化型)	1.4
N-鹽基-L-穀胺酸鈉	0.2
1,3-丁二醇	1.0
尿素	3.0
脲基海因(arantoin)	0.1
混合脂肪酸酯(nicogard DL)	0.5
矮竹萃取物(固形份 8 質量%)	75.0
氫氧化鉀	0.05
離子交換水(使全部為 100 質量%之量)	0.05

此抗菌劑 100g 中之硫含量為 46.2mg。

實施例 6

將下列表 4 所示之成分以表 4 所示之質量比混合，投入具備攪拌葉及乳化器之加熱混合鍋中，在 80℃ 攪拌混合 2 小時，得到本發明之抗菌劑。

表 4

成分	質量%
流動石蠟	10.0
鮫魚油	1.0
橄欖油	1.0
橙油	1.0
肉荳蔻酸辛基十二烷酯	6.0
1,2-戊二醇	0.5
苯氧基乙醇	0.5
鯨蠟醇	1.5
硬脂酸	4.0
單硬脂酸甘油酯	2.0
單硬脂酸甘油酯(自行乳化型)	2.5
二硬脂酸聚乙二醇酯	0.5
羧基乙烯基聚合物	0.3
N-鹽基-L-穀胺酸鈉	0.2
1,3-丁二醇	1.0
乙醇	3.0
三甲基甘胺酸	0.5
透明質酸鈉	1.0

矮竹萃取物(固形份 50 質量%)	12.0
精製水	51.5

此乳霜之 pH 值為 6.00。

實施例 7

將下列表 5 所示之成分以表 5 所示之質量比混合，投入具備攪拌葉及乳化器之加熱混合鍋中，在 80℃ 攪拌混合 2 小時，得到本發明之抗菌劑乳霜。

表 5

成分	質量%
橄欖油	3.0
鮫魚油	1.0
流動石蠟	3.0
鯨蠟醇	1.3
單硬脂酸甘油酯	2.0
單硬脂酸甘油酯(自行乳化型)	5.0
聚氧化乙烯(20)硬脂醚	1.0
聚氧化乙烯(20)鯨蠟醚	1.0
單硬脂酸聚氧化乙酯(140)	1.0
皂土	0.5
黃原膠	0.2
葡萄糖- δ -酸內酯	4.0

dl-蘋果酸	1.0
三乙醇胺	3.3
1,2-戊二醇	0.5
苯氧基乙醇	0.5
1,3-丁二醇	2.0
矮竹萃取物(固形份 50 質量%)	12.0
精製水	57.7

此乳霜之 pH 值為 4.68。

實施例 8 至 10

於實施例 7 中，除不添加 dl-蘋果酸，將矮竹萃取物(固形份含量為 50 質量%)之量調成 16 質量%、20 質量%及 30 質量%，以及調整精製水之量之外，以同樣方式操作，得到矮竹萃取物固形份含量為 8 質量%、10 質量%及 15 質量%之本發明抗菌劑乳霜。

實施例 11 至 13

於實施例 7 中，除將矮竹萃取物(固形份含量 50 質量%)之量調成 16 質量%、20 質量%及 30 質量%，以及調整精製水之量之外，以同樣方式操作，得到矮竹萃取物固形份含量為 8 質量%、10 質量%及 15 質量%之本發明抗菌劑乳霜。

試驗例 1 (對破傷風桿菌之抗菌活性)

使用破傷風桿菌(*Clostridium tetani*)26 菌株。此等菌株為從日本土壤中分離出者。使用大腸桿菌(*Escherichia*

coli)ATCC25922 及金黃葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) ATCC25923 做為對照。

將參考例 1 製造之矮竹萃取物(矮竹萃取物固形份含量為 50 質量%)用滅菌蒸餾水稀釋，製成矮竹萃取物水溶液。

對於各種濃度之矮竹萃取物水溶液，藉由瓊脂平板稀釋法測定阻止繁殖之最小濃度。製作最終濃度成為 12.5、6.25、3.13、1.56、0.78、0.39、0.19 及 0.10 質量%之修改 GAM 瓊脂平板(日水製藥)。將矮竹萃取物水溶液與 2 倍之瓊脂培養基以 1:1 混合，製作含有所設定濃度之矮竹萃取物之瓊脂培養基。為防止破傷風桿菌之迷走，將瓊脂濃度補正為 3%。將用瓊脂調整為 3%之修改 GAM 瓊脂培養基進行 24 小時培養所得到之被驗菌株菌落用白金耳挑取，使其懸浮於厭氣微生物培養液(anaerobe broth) (Difco 公司製)中，並調整成麥法蘭德比濁管 1 號管(Mc Farland No.1)之濁度。將其之 $1\ \mu\text{l}$ (接種量： 10^5cfu)藉由畫線塗抹法接種於含有矮竹萃取物之平板系列上。對照菌株係使用血液瓊脂培養基上之菌落，使其懸浮於厭氣微生物培養液(anaerobe broth)(Difco 公司製)中，並調整為麥法蘭德比濁管 0.5 號管(Mc Farland No.0.5)之濁度，將其之 $1\ \mu\text{l}$ (接種量： 10^5cfu)藉由畫線塗抹法接種。再者，於厭氣實驗工作站(郡是(Gunze)產業製)中，在 35°C 培養 18 小時後，用肉眼觀察有無繁殖。確認繁殖時，判定為(+)。

藉由此種方法測定之矮竹萃取物對於大腸桿菌

ATCC25922 及葡萄球菌 ATCC25923 之阻止繁殖最低濃度均為 3.13 質量%。

對於破傷風桿菌 26 菌株，阻止繁殖最低濃度分佈於 0.78 質量%至 0.19 質量%之間。結果如表 6 所示。阻止所使用之破傷風桿菌菌株之 80%或 50%菌株繁殖之矮竹萃取物濃度(MIC80%及 MIC50%)分別為 0.78%及 0.39%。

表 6

阻止繁殖最少濃度(%)	株數
12.5	0
6.25	0
3.15	0
1.56	0
0.78	11
0.39	14
0.19	1
0.10	0
合計	26

破傷風為存在於土壤中之破傷風桿菌芽孢與土壤共同侵入創傷部位而開始發病之疾病。發病中，芽孢局部發芽，增殖及產生毒素(破傷風痙攣毒素(tetanospasmin))者為必然且不可欠缺的。污染之創傷部位由於芽孢發芽易成為厭氣之環境，預防破傷風發病之基本原理，係進行被稱為「清

創術」之除去侵入異物及壞死組織等適當外科處置，以阻止創傷部位成為厭氣性環境，防止破傷風桿菌之增殖。

如表 6 之記載，矮竹萃取物在 0.78% 之低濃度下可完全阻止所有 26 株破傷風桿菌之增殖。矮竹萃取物對其之抗菌活性顯然為對大腸桿菌及葡萄球菌之抗菌活性之 4 倍以上。

菌之繁殖，於與不含矮竹萃取物之培養基之繁殖無差異之濃度(0.19%)下得到之破傷風桿菌，藉由單染色之顯微鏡觀察時，可觀察到菌體絲狀化及菌體膨脹進行溶菌之影像。又，在菌之繁殖與不含矮竹萃取物之培養基之繁殖相較明顯受到阻止之濃度(0.38%)下，可見到顯色性差之菌體，且可容易地見到具有芽孢之菌體。已在電子顯微鏡下觀察到葡萄球菌中隔壁之形成受到阻止。又在阻止繁殖之最低濃度以下之濃度所見到之絲狀化，為於分裂時向毛鉤形成氣體受到抑制之情況所見到者，此從抗生素之研究得知。

亦可期待矮竹萃取物對於引起破傷風及具有類似發病機構之外傷相關性疾病(即氣壞疽)之幾種厭氣性菌[亦即產氣莢膜梭菌(*Clostridium perfringens*)、敗毒梭菌(*Clostridium septicum*)及雙酶梭菌(*Clostridium bifermentans*)等氣壞疽菌群]具有抗菌活性，以及對於引起化膿性感染症之無芽同孢厭氣性菌具有抗菌活性，。

試驗例 2 (對念珠菌之抗菌活性)

對於實施例 8 至 13 調製之含有矮竹萃取物及矮竹萃取

物與蘋果酸之乳霜組成物，調查對念珠菌(白色念珠菌臨床分離株)之抗菌活性。

使用之培養基

- NB 培養基：添加肉萃取物 0.2%之普通液體培養基(bouillon)(榮研化學製)
- 1/50NB 培養基：將 NB 培養基用磷酸緩衝溶液稀釋 50 倍，調整至 pH7.2±0.2 者。
- SCDLP 液體培養基 (榮研化學製)
- SA 培養基：標準瓊脂培養基(日水製藥製)

菌液之調整

將於試驗實施 1 日前純培養之新鮮培養菌懸浮於 1/50NB 培養基中，並使濁度成為麥法蘭德(Mc Farland)第 0.5 號管之濁度(約 10^8 個/ml)。再者，以 1/50 NB 培養基將菌液稀釋 100 倍(約 10^6 個/ml)。

將乳霜組成物於 60°C 加熱 10 分鐘，使乳霜組成物溶解。將溶解之乳霜組成物，滴在壓克力板(50mm×50mm)上，於室溫放置 10 分鐘且固定。將菌液 0.5 ml 滴在乳霜塗佈面上，其上用壓克力板(45mm×45mm)密貼。將其在高溼度下於 36°C 培養 24 小時。

於滅菌之培養皿(schale)中加入 10ml 之 SCDLP 液體培養基，將培養 24 小時之壓克力板移入其中，將壓克力板用液體培養基沖洗。取其之 100 μ l，滴在 SA 培養基上，均勻地塗抹擴展，培養 48 小時後，測定菌數，換算每 1 片壓克力板之菌數。結果如表 7 所示。

表 7

試驗 編號	乳霜	矮竹萃 取物	蘋果酸	剛接種後	24 小時後
1	-	-	-	1.7×10^4	9.6×10^6
2	對照	-	-		8.5×10^5
3	實施例 8	8%	-		2.3×10^5
4	實施例 9	10%	-		1.8×10^5
5	實施例 10	15%	-		-
6	實施例 11	8%	1%		2.4×10^5
7	實施例 12	10%	1%		1.0×10^3
8	實施例 13	15%	1%		2.0×10^2

對照：實施例 7 中未添加 dl-蘋果酸及矮竹萃取物者。

雖含有矮竹萃取物而不含蘋果酸之乳霜組成物(試驗編號 3 至 5)對念珠菌幾乎不呈現抗菌活性，相對地，含有矮竹萃取物及蘋果酸之乳霜組成物(試驗編號 6 至 8)，尤其矮竹萃取物濃度 10 質量%以上時，呈現高抗菌活性。

試驗例 3(對疱疹病毒之治癒效果)

將實施例 7 製造之乳霜組成物(矮竹萃取物含量 6 質量%)以 1 日 2 次適量塗佈於疱疹病毒感染患者(60 歲，女)之患部(口角)時，經 2 日症狀顯著緩和，經 3 日痊癒。

試驗例 4(來自粉刺患者病灶之菌株之分析)

從粉刺患者之病灶處分離下列金黃葡萄球菌 44 株及

痤瘡初油酸桿菌 26 株。

表 8

表皮葡萄球菌(<i>Staphylococcus epidermidis</i>)	34
人類葡萄球菌(<i>Staphylococcus hominis</i>)	1
頭狀葡萄球菌(<i>Staphylococcus capitis</i>)	1
溶血葡萄球菌(<i>Staphylococcus haemolyticus</i>)	2
金黃葡萄球菌(<i>Staphylococcus aureus</i>)	2
柯氏葡萄球菌(<i>Staphylococcus cohnii</i>)	1
其他	3
痤瘡初油酸桿菌(<i>Propionibacterium acnes</i>)	26

上述 44 株金黃葡萄球菌之抗生素感受性如以下所示。(μg/ml)

表 9

抗生素	MIC 範圍	MIC 50	MIC 90
OFLX	0.19 至 >100	0.39	0.78
NDFX	0.025 至 25	0.05	0.78
TC	0.19 至 >100	0.39	25
MINO	0.10 至 50	0.10	0.10
CLDM	0.025 至 >100	0.10	>100

上述 26 株痤瘡初油酸桿菌屬菌之抗生物質感受性如下所示。(μg/ml)

表 10

抗 生 素	MIC 範圍	MIC 50	MIC 90
OFLX	0.39 至 0.78	0.39	0.39
NDFX	0.10 至 0.39	0.19	0.19
TC	0.19 至 1.56	0.19	0.19
MINO	0.05 至 0.39	0.05	0.39
CLDM	0.025 至 0.78	0.10	0.19

試驗例 5(參考例 2 之矮竹萃取物之抗菌性)

藉由於瓊脂培養基上 2 倍稀釋法，調查參考例 2 之矮竹萃取物(矮竹單寧)與市售之單寧(批號 02060618，Extrasynthese，Geney(法國)製)之抗菌性(MIC(mg/ml)：最低繁殖阻止濃度)。結果如以下所示。

表 11

菌 名	矮竹萃取物 MIC(mg/ml)	單 寧 MIC(mg/ml)
金黃葡萄球菌 (<i>S. aureus</i> ATCC25923)	8 至 1.6 (0.05 至 0.1)	0.02 至 0.04
痤瘡初油酸桿菌 (<i>P. acnes</i> PA-1)	6.4(0.4)	0.08
大腸桿菌 (<i>E. coli</i> ATCC25922)	1.6 至 3.2(0.1 至 0.2)	>0.63

()內之數值為矮竹萃取物之 MIC 值

試驗例 6(參考例 2 之矮竹萃取物之抗菌性)

使用來自粉刺患者之病灶處之葡萄球菌屬細菌 44 株(混合物)及痤瘡初油酸桿菌 26 株(混合物)。藉由於瓊脂培養基上 2 倍稀釋法，調查參考例 2 之矮竹萃取物(矮竹單寧)與市售之單寧(批號 02060618，Extrasynthese，Geney(法國)製)之抗菌性(MIC(mg/ml)：最低繁殖阻止濃度)。結果如以下所示。葡萄球菌屬之菌係於 MH 瓊脂(Mueller Hinton Agar(BBL))培養基上，pH7.0，空氣中，在 37℃ 培養 24 小時，痤瘡初油酸桿菌係於 GAM 培養基上，pH7.0，厭氣中，在 35℃ 培養 48 小時。再者，市售單寧之 MIC80，對葡萄球菌屬群為 0.04mg/ml，對痤瘡初油酸桿菌為 0.08mg/ml。

表 12

菌名	矮竹萃取物			市售單寧
	MIC 範圍	MIC50	MIC80	MIC80
葡萄球菌群 (44 株)	0.1 至 1.6	0.4	0.8	0.04
痤瘡初油酸桿菌 (26 株)	3.2 至 6.4	6.4	6.4	0.08

實施例 14

將參考例 1 製造之矮竹萃取物 6 質量份及 dl-蘋果酸 10 質量份添加於水性油墨 100 質量份中，在 80℃ 進行 2 小時混合加熱處理，得到抗菌性油墨。

實施例 15

將參考例 1 製造之矮竹萃取物 6 質量份及 dl-蘋果酸 10 質量份添加於水性塗料 100 質量份中，在 80℃ 進行 2 小時混合加熱處理，得到抗菌性塗料。

實施例 16

將參考例 1 製造之矮竹萃取物 3 質量份及 dl-蘋果酸 0.25 質量份添加於日本酒 100 質量份中，在 80℃ 進行 3 小時混合加熱處理，得到抗菌性日本酒。

實施例 17

將參考例 1 製造之矮竹萃取物 6 質量份及 dl-蘋果酸 10 質量份添加於水性接著劑 100 質量份中，在 80℃ 進行 2 小時混合加熱處理，得到抗菌性接著劑。

試驗例 7(對氣壞疽菌群之 10 株產氣莢膜梭菌(*Clostridium perfringens*)之抗菌作用)

使用菌株：使用產氣莢膜梭菌(*C. perfringens* ATCC13124)1 株及臨床分離之產氣莢膜梭菌 (*C. perfringens*)9 株 (GAI-92099 、 GAI-92100 、 GAI-92101 、 GAI-92102 、 GAI-92103 、 GAI-92104 、 GAI-92105 、 GAI-92106 及 GAI-92107)合計 10 株。該等臨床分離株係從來自感染症患者之臨床材料中分離出且保存於岐阜大學醫學部附屬厭氣性菌實驗機構(以下稱為「保管機構」)之菌株。再者，抗菌力評價之精確度管理用菌株，係使用大腸桿菌(*E. coli* ATC25922)。

矮竹萃取物溶液之固形份濃度為 50%，由水溶性蛋

白、胺基酸、礦物質、單寧、糖質、水溶性多糖體、羧酸、總葉綠素、矽酸、維生素、脂質、精油及水分所組成。原液之 pH 約 5.0。溶液之稀釋係使用滅菌蒸餾水。

抗菌試驗：依照抗菌藥之抗菌力測定法中使用之瓊脂平板稀釋法，測定最低繁殖阻止濃度%。以最終濃度成為 25% 至 0.2%之方式，製作矮竹萃取物之 2 倍稀釋水溶液系列。將矮竹萃取物稀釋液與修改 GAM 瓊脂培養基(2 倍)以 1:1 混合，製作最終含有 12.5 至 0.1%濃度之矮竹萃取物之修改 GAM 瓊脂培養基。將修改 GAM 瓊脂培養基進行 24 小時培養所得到之被驗菌株菌落，用滅菌棉棒挑取，使其懸浮於厭氣微生物培養液(anaerobe broth) (Difco 公司製) 中，並調整成麥法蘭德比濁管 1 號管(Mc Farland No.1)之濁度。將其之 $10\ \mu\text{l}$ (接種量： $10^6\ \text{cfu}$) 藉由畫線塗抹法接種於含有矮竹萃取物之平板系列上。對照菌株係使用 TSA 瓊脂培養基(Difco 公司製)上之菌落，將其之 $10\ \mu\text{l}$ (接種量： $10^5\ \text{cfu}$)藉由畫線塗抹法接種於厭氣微生物培養液(anaerobe broth)中並調整成麥法蘭德比濁管 0.5 號管(Mc Farland No.0.5)之濁度。再者，於厭氣實驗工作站(郡是(Gunze)產業製)中，在 35°C 培養 18 小時後，用肉眼觀察有無繁殖。觀察到繁殖時，判定為(+)。藉由本方法測得矮竹萃取物對於大腸桿菌(*E. coli* ATC25922)之最低繁殖阻止濃度為 3.13%。

結果

阻止產氣莢膜梭菌(*Clostridium perfringens*)10 株繁殖

所需之矮竹萃取物最低濃度(MIC)於 3.13 至 6.25%之範圍內。使所用之產氣莢膜梭菌(*C. perfringens*)菌株之 80%或 50%之繁殖受到阻止之矮竹萃取物濃度為 6.25%。

表 13 矮竹萃取物對於產氣莢膜梭菌(*C. perfringens*)10 株之抗菌作用

矮竹萃取物之最低繁殖阻止濃度(%)	株數
12.5	0
6.25	8
3.13	2
1.56	0
0.78	0
0.39	0
0.19	0
0.10	0
合計	10

探討

氣壞疽，為存在於土壤中被稱為「氣壞疽菌群」之一群梭菌屬細菌之芽孢與土壤共同地侵入患部所引發之疾病。雖已知有產氣莢膜梭菌(*Clostridium perfringens*)、敗毒梭菌(*Clostridium septicum*)及雙酶梭菌(*Clostridium bifermentans*)等病原菌，但氣壞疽病例之 80%為產氣莢膜梭菌(*C. perfringens*)所造成。氣壞疽雖為藉由急救外科之

適當治療可充分預防之疾病，然而在外科處置過遲之情況，或外科處置不適當時，已知將於受傷 6 小時以後發病，經過激烈之演變，甚至有致死之情形。又，亦有為求活命不得不將四肢等之患部切斷之情形，為醫療上不可輕視之疾病之一。

若依照此次試驗管內檢討之成果，矮竹萃取物對於產氣莢膜梭菌(*C. perfringens*)之抗菌作用，雖不及對於在試驗例 1 中檢討之破傷風桿菌之作用，但在 3.13 以上至 6.25% 以下之濃度下顯然可完全阻止產氣莢膜梭菌(*C. perfringens*)之增殖。因此，含浸該濃度之矮竹萃取物之患部保護布等，由於超過產氣莢膜梭菌(*C. perfringens*)之最低繁殖阻止濃度，因此在受傷後接受外科醫師適當治療前之用於人體的急救措施時，可說是有於受傷部位抑制產氣莢膜梭菌(*C. perfringens*)發芽或發芽後增殖之效果。

試驗例 8(對產氣莢膜梭菌(*Clostridium perfringens*)以外之氣壞疽菌群之抗菌作用)

使用菌株：從來自感染症患者之臨床材料中分離出，或者使用保管機構保存之參考菌株。再者，抗菌力評價之精確度管理用菌株，亦使用大腸桿菌(*E. coli* ATCC25922)及金黃葡萄球菌(*S. aureus* ATCC25923)。試驗液與試驗例 7 者相同。

抗菌試驗：依照抗菌藥之抗菌力測定法中使用之瓊脂平板稀釋法測定最低繁殖阻止濃度%。以使最終濃度成為 8%至 0.125%之方式，製作含有矮竹萃取物之修改 GAM 瓊脂培

養基。調整培養基 pH 為 7.0。將在修改 GAM 瓊脂培養基中培養 24 小時得到之被驗菌株菌落用滅菌棉棒挑取，使其懸浮於厭氣微生物液體培養基(anaerobe broth) (Difco 公司製)中，並調整成麥法蘭德比濁管 1 號管(Mc Farland No.1)之濁度。將其之 $10 \mu\text{l}$ (接種量： 10^6 cfu) 藉由畫線塗抹法接種於含有矮竹萃取物之平板系列上。關於對照菌株大腸桿菌(*E. coli*)及金黃葡萄球菌(*S. aureus*)，係使用 TSA 瓊脂培養基(Difco 公司製)上之菌落，將其之 $10 \mu\text{l}$ (接種量： 10^5 cfu)藉由畫線塗抹法接種於厭氣微生物培養液(anaerobe broth)中並調整為麥法蘭德比濁管 0.5 號管(Mc Farland No.0.5)之濁度。再者，於厭氣實驗工作站(郡是(Gunze)產業製)中，在 35°C 培養 18 小時後，用肉眼觀察有無繁殖。觀察到繁殖時，判定為(+)。結果如表 14 所示。

表 14 矮竹萃取物之對氣壞疽菌群 *Clostridium* spp.的抗菌作用

%	雙酶桿菌 (<i>C. biferm entans</i>)	索氏梭菌(<i>C. sordellii</i>)	諾氏梭菌 (<i>C. novyi</i> Type A)	生孢梭菌(<i>C. sporogenes</i>)	敗毒芽孢梭菌 (<i>C. septicum</i>)	合 計
8						
7	1	2				3
6		1				1
5	2				1	3
4					4	4
3				2	6	8

2				1		1
1			3	4	1	8
0.5			1			1
0.25						
0.125						
合計	3	3	4	7	12	29

探討

矮竹萃取物在 3%之濃度下，顯然會抑制諾氏梭菌(*C. novyi*)與生孢梭菌(*C. sporogenes*)之繁殖，在 3 至 5%之濃度下會抑制敗毒芽孢梭菌(*C. septicum*)之繁殖，在 5 至 7%之濃度下會抑制雙酶桿菌(*C. bifermentans*)及索氏梭菌(*C. sordellii*)之繁殖。亦即，對於與氣壞疽有關係之梭菌屬(*Clostridium* spp.)，矮竹萃取物之抗菌作用雖可認定隨菌種而異，然而若使用 7%之濃度明顯地可抑制所有菌株之增殖。於創傷部位使用本萃取液以圖預防氣壞疽時，以在 pH7 之條件下，設定 7%之濃度為較佳。

試驗例 9(對 16 株痤瘡初油酸桿菌(*Propionibacterium acnes*)之抗菌作用)

使用菌株：使用痤瘡初油酸桿菌(*P. acnes* ATCC11827)及臨床分離株 15 株(GAI-10341、GAI-10342、GAI-10343、GAI-10344、GAI-10345、GAI-10346、GAI-10347、GAI-10348、GAI-10349、GAI-10350、GAI-10351、GAI-10352、GAI-10353、GAI-10354 及 GAI-10355)合計 16

株。該等臨床分離株係從皮膚科感染症患者分離，保存於保管機構之菌株。試驗液與試驗例 7 者相同。稀釋係使用滅菌蒸餾水。

抗菌試驗：以抗菌藥之抗菌力測定法中使用之瓊脂平板稀釋法，依照日本化學療法學會標準法，測定最低繁殖阻止濃度%。以使最終濃度成為 12.5、6.25、3.13、1.56 及 0.78% 之方式，製作含有矮竹萃取物之修改 GAM 瓊脂平板(日水製藥製)。將矮竹萃取物與 2 倍培養基以 1：1 混合，製作含有設定之濃度之矮竹萃取物培養基。而且未實施 pH 之調整。

從在布氏(*Brucella*)HK 半流動培養基(極東製藥製)中培養 48 小時得到之被驗菌株之濃厚繁殖部位挑取 1 白金耳量，藉由畫線塗抹法接種於含有矮竹萃取物之平板系列上。本實驗條件下 1 白金耳量中含有 10^8 /ml 之細菌數。厭氣實驗工作站(郡是(Gunze)產業製)中，在 35℃ 培養 2 日後，用肉眼觀察有無繁殖。確認繁殖時，判定為(+)。

結果

完全阻止 16 株痤瘡初油酸桿菌(*P. acnes*)繁殖所需之矮竹萃取物最低濃度(MIC)為 6.25%(表 15)。矮竹萃取物對痤瘡初油酸桿菌(*P. acnes*)16 株中之 12 株，於 3.13%時雖與不含矮竹萃取物之對照培養基相較，顯著抑制繁殖，但完全阻止濃度必須為 6.25%。

表 15 矮竹萃取物對於 16 株痤瘡初油酸桿菌 (*Propionibacterium acnes*)之抗菌作用

最低矮竹萃取物之最低繁殖阻止濃度(%)	株數
12.5	0
6.25	16
3.13	0
1.56	0
0.78	0
合計	16

探討

阻止與普通粉刺(*Acne vulgaris*)相關之金黃葡萄球菌 (*S. aureus*)所必要之矮竹萃取物濃度雖為 3.13%，然而在此試驗例之檢討中，完全阻止痤瘡初油酸桿菌(*P. acnes*)所有菌株繁殖所必要之矮竹萃取物濃度為從 3.13%以上至 6.25%以下範圍之濃度。考量由於痤瘡初油酸桿菌(*P. acnes*)與金黃葡萄球菌(*S. aureus*)同為普通粉刺(*Acne vulgaris*)之增惡因子，在目的為治療普通粉刺(*Acne vulgaris*)之情況中，以可完全阻止痤瘡初油酸桿菌(*P. acnes*)繁殖之濃度，即 6.25%，較為適當。

對於矮竹萃取物之此種抗菌作用之機制目前雖不明白，然而從植物而來之矮竹萃取物，與迄今從放射菌而來及真菌而來之各種抗菌藥可能具有不同作用機制，從耐性出現之觀點而言，深深值得玩味。

試驗例 10(對 26 株來自粉刺之痤瘡初油酸桿菌(*Propionibacterium acnes*)之抗菌作用)

使用菌株：使用痤瘡初油酸桿菌(*P. acnes*)臨床分離株合計 26 株。此等臨床分離株係從粉刺患者分離而保存於保管機構之菌株。試驗液與試驗例 7 者相同。濃度為 50%之酸性(pH5.0 左右)溶液。稀釋係使用滅菌蒸餾水。

抗菌試驗：以抗菌藥之抗菌力測定法中使用之瓊脂平板稀釋法，測定最低繁殖阻止濃度%。以日本化學療法學會標準法為基準。以使最終濃度成為 8、7、6、5、4、3、2、1 及 0.5%之方式，製作含有矮竹萃取物之修改 GAM 瓊脂平板(日水製藥製)。調整培養基 pH 為 7.0 左右。將 GAM 瓊脂培養基進行 48 小時培養所得之被驗菌株菌落懸浮於厭氣微生物培養液(anaerobe broth)中，並調整成含有設定之菌數之菌液。於厭氣實驗工作站(郡是(Gunze)產業製)中，在 35℃ 培養 2 日後，用肉眼觀察有無繁殖。

結果與探討

雖不是同時進行時的成果，然而仍將對各種抗菌藥之感受性分布表示如下以供參考。此次，與 pH 未實施調整之上次實驗情況不同，終點之判定困難。

表 16 痤瘡初油酸桿菌(*P. acnes*)26 株對矮竹萃取物及各種抗菌藥之感受性

藥物	MIC 50 (μ g/ml)	MIC 80 (μ g/ml)	MIC 範圍 (μ g/ml)
那氟沙星 (nadifloxacin)	0.19	0.19	0.39 至 0.10
歐氟沙星 (ofloxacin)	0.39	0.39	0.78 至 0.39
美諾黴素 (minocycline)	0.05	0.10	0.39 至 0.05
四環素 (tetracycline)	0.19	0.19	1.56 至 0.19
氯潔黴素 (clindamycin)	0.10	0.19	0.78 至 0.025
萃取物	MIC 50(%)	MIC 80(%)	MIC 範圍(%)
矮竹萃取物	6%	6%	8 至 3%

試驗例 11(矮竹萃取物對乳桿菌屬(*Lactobacillus* spp.)之抗菌作用)

使用菌株：使用表 17 所示之保管機構保存之參考菌株。此等菌株為從 ATCC 及 JCM 之保管機構購入之保存菌株。再者，用從罹患細菌性陰道症之婦人陰道內及婦產科領域感染症中以較高頻率分離出之代表性菌種中選出之二路普氏菌(*Prevotella bivia* ATCC29303)、非解糖卟啉單胞菌

(*Porphyromonas assaccharolytica* ATCC25260)及脆弱擬桿菌(*Bacteroides fragilis* N-1 及 N-2)做為對照。又，亦使用大腸桿菌(*Escherichia coli* ATC25922)及金黃葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* ATCC25923)做為感受性測定之精確度管理用菌株。試驗液與試驗例 7 者相同。

再者，將矮竹萃取物用滅菌蒸餾水稀釋，若放置稍久，會有茶褐色沉澱物生成之情形，但可在與培養基混合稀釋時，將其充分攪拌混合而使用。

抗菌試驗：依照抗菌藥之抗菌力測定法中使用之瓊脂平板稀釋法，測定最低繁殖阻止濃度%。以日本化學療法學會標準法為基準。以使最終濃度成為 10、9、8、7、6、5、4、3、2、1 及 0.5%之方式，製作含有矮竹萃取物之修改 GAM 瓊脂平板(日水製藥製)。對於 10%至 6%之高濃度領域，分別將 20%至 12%之矮竹萃取物與 2 倍瓊脂培養基以 1：1 混合而製作(最終 pH5.3 至 5.5)。對於 5%至 0.5%之低濃度領域，分別將 50%至 5%之矮竹萃取物與 1 倍瓊脂培養基以 1：9 混合(最終 pH5.5 至 6.0)，以製作含有矮竹萃取物之瓊脂培養基。

又，此次抗菌力之檢討，除了在酸性(pH5.3 至 6.0)條件下之外，亦在較弱酸性之環境下實施。製作矮竹萃取物添加後之 pH 值用 2N 之 NaOH 水溶液調整成 pH6.5 至 7.0 之培養基。

從在布氏(*Brucella*)HK 血液瓊脂培養基中培養 48 小時得到之被驗菌株之菌落，用滅菌棉棒挑取，使其懸浮於厭

氣微生物液體培養基(anaerobe broth MIC)(Difco 公司製)中，並調整為麥法蘭德比濁管 1 號管(Mc Farland No.1)之濁度。將其之 $10\ \mu\text{l}$ (接種量： $10^6\ \text{cfu}$)藉由畫線塗抹法接種於含有矮竹萃取物之平板系列上。關於對照菌株，使用 TSA 瓊脂培養基上之菌落，將其之 $10\ \mu\text{l}$ (接種量： $10^6\ \text{cfu}$)藉由畫線塗抹法接種於厭氣微生物培養液(anaerobe broth MIC)中並調整成麥法蘭德比濁管 1 號管(Mc Farland No.1)之濁度。此次，對於大腸桿菌(*E. coli* ATC25922)及金黃葡萄球菌(*S. aureus* ATCC25923)，亦同時測定濁度為麥法蘭德比濁管 1/2 號管之菌液、該菌液之 10 倍稀釋液及該菌液之 100 倍稀釋液之 MIC，以檢討接種菌量對於 MIC 之影響。

再者，於厭氣實驗工作站(郡是(Gunze)產業製)中，在 35°C 培養 18 小時後，用肉眼觀察有無繁殖。觀察到繁殖時，判定為(+)。

結果

在 pH 未調整之酸性(pH5.3 至 6.0)實驗條件下測定之矮竹萃取物之最低繁殖阻止濃度，如表 17 所示。對乾酪乳桿菌(*Lactobacillus casei* ss. *casei*)、短乳桿菌(*Lactobacillus brevis* ss. *brevis*)、嗜酸乳桿菌(*Lactobacillus acidophilus*)、唾液乳桿菌(*Lactobacillus salivarius*)等 4 菌種 4 株為 7 至 8%，對除該 4 菌種 4 株外之 5 菌種 5 株為 10%以上。再者，對同時測定之二路普氏菌(*P. bivia* ATCC29303)及非解糖吡啶單胞菌(*P. assaccharolytica* ATCC25260)，最低繁殖阻止濃度均為 0.5%，對於根據本方法測定之矮竹萃取物之精確

度管理用菌株 2 株，即大腸桿菌(*E. coli* ATC25922)及金黃葡萄球菌(*S. aureus* ATCC25923)，最低繁殖阻止濃度同為 4%。

在 pH 調整(pH6.8 至 7.1)實驗條件下測定之矮竹萃取物之最低繁殖阻止濃度，如表 17 所示。對短乳桿菌(*Lactobacillus brevis* ss. *brevis*)及嗜酸乳桿菌(*Lactobacillus acidophilus*)等 2 菌種 2 株為 7%，對除該 2 菌種 2 株外之 7 菌種 7 株為 $\geq 9\%$ 以上。對二路普氏菌(*P. bivia*)為 1%，及對非解糖吡啶單胞菌(*P. assaccharolytica*)為 0.5%。又，又對於大腸桿菌(*E. coli* ATC25922)及金黃葡萄球菌(*S. aureus* ATCC25923)之 MIC 為 6%。

再者，於 pH 調整下(pH6.4 至 7.0)求取 MIC 時，使用大腸桿菌(*E. coli* ATC25922)及金黃葡萄球菌(*S. aureus* ATCC25923)檢討接種菌量對於 MIC 之影響。其結果，金黃葡萄球菌(*S. aureus*)在使用麥法蘭德比濁管 1 至 1/2 號管($>10^8/\text{ml}$)濁度之菌液之 1 白金耳量時，MIC 為 6%，使用麥法蘭德比濁管 1/2 號管之 10 倍($10^7/\text{ml}$)及 100 倍稀釋液($10^6/\text{ml}$)時，讀取之 MIC 為 3%。大腸桿菌(*E. coli*)隨著接種菌量之變化，在低於 subMIC 領域中菌種繁殖程度雖然呈階段性地惡化，但讀取之 MIC 值未變動，任一者均被讀取為 6%。

探討

矮竹萃取物在 6.25 至 3.13% 以下之濃度中，顯然可阻止若干種病原性細菌之繁殖。矮竹萃取物除對此等病原性

細菌之抗菌力外，對蒐集非病原性細菌之抗菌力之資料亦極為重要，因而實施此試驗例。

已知乳桿菌屬 (*Lactobacillus* spp.) 多數從在人類黏膜進行身體防禦之觀點而言，扮演極重要之角色。本發明人等從總數 29 名健康孕婦之陰道分離出乳桿菌屬 (*Lactobacillus* spp.) 91 株，將彼等詳細鑑定之結果，發現捲縮乳桿菌 (*Lactobacillus crispatus*) 48 株 (52.7%) 為最多，加氏乳桿菌 (*Lactobacillus gasseri*) 19 株 (20.85%) 其次，然後為陰道乳桿菌 (*Lactobacillus vaginalis*)、發酵乳桿菌 (*Lactobacillus fermentum*)、植物乳桿菌 (*Lactobacillus plantarum*) 及唾液乳桿菌 (*L. salivarius*) 等。其中，捲縮乳桿菌 (*Lactobacillus crispatus*) 中之 100% 產生過氧化氫，其產量亦多，為乳桿菌屬 (*Lactobacillus* spp.) 之代表性菌種；雖非 100% 但仍被報導存在過氧化氫產生株之加氏乳桿菌 (*L. gasseri*) 及陰道乳桿菌 (*L. vaginalis*) 二菌種，被認定在女性陰道及子宮黏膜內之防禦感染之機構中扮演特別重要之角色。此次檢討中，關於矮竹萃取物對於產生過氧化氫之乳桿菌屬 (*Lactobacillus* spp.) 中之捲縮乳桿菌 (*L. crispatus*) 及加氏乳桿菌 (*L. gasseri*) 之抗菌作用，MIC 為 10% 以上，與對同時實施之大腸桿菌 (*E. coli*) 及金黃葡萄球菌 (*S. aureus*) 為代表之病原性兼性菌之 MIC 為 4%，及對二路普氏菌 (*P. bivia*)、非解糖吡啶單胞菌 (*P. assaccharolytica*) 及脆弱擬桿菌 (*B. fragilis*) 為代表之化膿性厭氣性菌之 MIC 為 0.5 至 4% 相比，顯然極為微弱。

又，已知矮竹萃取物溶液呈現與陰道內環境之 pH 相近之 pH 值，藉由比鹼性更中性、或比中性更酸性之條件下發揮更強之抗菌作用。對大腸桿菌(*E. coli*)及金黃葡萄球菌(*S. aureus*)之參考菌株之抗菌力，即使 pH 降低 2 管左右移至約略中性附近之弱酸性實驗條件下，乳桿菌屬(*Lactobacillus* spp.)之 MIC 並無大幅變化。

再者，本發明人等雖亦從孕婦及新生兒之腸管發現加氏乳桿菌(*L. gasseri*)、發酵乳桿菌(*L. fermentum*)、副乾酪乳桿菌(*L. paracasei*)、植物乳桿菌(*L. plantarum*)、唾液乳桿菌(*L. salivarius*)及捲縮乳桿菌(*L. crispatus*)等以較高頻率被分離，然而此等乳桿菌屬(*Lactobacillus* spp.)中，對從陰道分離率高之捲縮乳桿菌(*L. crispatus*)及加氏乳桿菌(*L. gasseri*)以外之乳桿菌屬(*Lactobacillus* spp.)，顯示 MIC 為 7%以上之高數值。

矮竹萃取物對於為陰道內有用菌及消化管內有用菌之乳桿菌屬(*Lactobacillus* spp.)之抗菌力，與對於被評價為病原性較強之細菌種類之抗菌力相比，較為微弱。此暗示同時於婦產科陰道及消化管使用矮竹萃取物時，採用本物質可能具有極優之特徵。

表 17 矮竹萃取物對乳桿菌屬 (*Lactobacillus* spp.) 之抗菌作用

細菌名	矮竹萃取物之最低繁殖阻止濃度(%)	
	pH 未調整	pH 調整
乳桿菌屬 (<i>Lactobacillus</i>)		
捲縮乳桿菌 (<i>L. crispatus</i> GAI97504)	>10	>=9
加氏乳桿菌 (<i>L. gasseri</i> GAI97505)	>10	>=9
乾酪乳桿菌 (<i>L. casei</i> ss. <i>casei</i> JCM1134)	7	>=9
短乳桿菌 (<i>L. brevis</i> ss. <i>brevis</i> JCM1059)	7	7
嗜酸乳桿菌 (<i>L. acidophilus</i> JCM1132)	7	7
唾液乳桿菌 (<i>L. salivarius</i> ss. <i>salivarius</i> JCM1231)	8	>=9
洛氏乳桿菌 (<i>L. reuteri</i> JCM1112)	>10	>=9
植物乳桿菌 (<i>L. plantarum</i> JCM1149)	>10	>=9
發酵乳桿菌 (<i>L. fermentum</i> JCM1173)	>10	>=9
普氏菌屬 (<i>Prevotella</i>)		
二路普氏菌 (<i>P. bivia</i> ATCC2903)	<=0.5	1
卟啉單胞菌屬 (<i>Porphyromonas</i>)		
非解糖卟啉單胞菌 (<i>P. assaccharolytica</i> ATCC25260)	<=0.5	<=0.5
擬桿菌屬 (<i>Bacteroides</i>)		
脆弱擬桿菌 (<i>B. fragilis</i> N)	4	NT
脆弱擬桿菌 (<i>B. fragilis</i> N-10)	NT	5
大腸桿菌 (<i>Escherichia coli</i> ATC25922)	4	6
金黃葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923)	4	6

*接種菌量：麥法蘭德比濁管 1 號管 (Mc Farland #1) 之 1 白金耳量

試驗例 12(對大腸桿菌(*Escherichia coli*)、新青黴素 I 耐性金黃葡萄球菌(*methicillin resistant Staphylococcus aureus*)及綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)之抗菌作用)

本發明人等發現矮竹萃取物對於為各種化膿性感染症之極重要病原菌之大腸桿菌(*Escherichia coli*)，對各種抗菌藥呈現多劑耐性之新青黴素 I 耐性金黃葡萄球菌(*methicillin resistant Staphylococcus aureus*)(MRSA)，及與 MRSA 同樣對多種抗菌藥有強烈耐性傾向之綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)等顯示抗菌作用。矮竹萃取物對厭氣性菌之抗菌作用，至目前為止本發明人等係用瓊脂平板稀釋法測定，其中以推薦用於厭氣性菌之修改 GAM 瓊脂培養基做為感受性測定培養基。

此試驗例係使用從患者分離之大腸桿菌(*E. coli*)、金黃葡萄球菌(*S. aureus*)及綠膿桿菌(*P. aeruginosa*)之兼性菌及好氣性菌各 10 株以上，矮竹萃取物對此等菌種之抗菌作用以瓊脂平板稀釋法檢討，其中以推薦用於兼性菌之 Mueller Hinton 瓊脂做為測定培養基。

材料與方法

使用菌株：使用保管機構保存之臨床分離株，即大腸桿菌(*E. coli*)14 株、新青黴素 I 耐性金黃葡萄球菌 14 株及綠膿桿菌 13 株。再者，使用大腸桿菌(*E. coli* ATC25922)及金黃葡萄球菌(*S. aureus* ATCC25923)做為感受性測定之精確度管理用菌株。試驗液與試驗例 7 者相同。溶液之稀釋係使用滅菌蒸餾水。

抗菌試驗：

依照抗菌藥之對兼性菌抗菌力測定法中使用之瓊脂平板稀釋法，測定最低繁殖阻止濃度(MIC)。以日本化學療法學會標準法為基準。以使最終濃度成為 7、6、5、4、3、2、1、0.5、0.25、0.125、0.063、及 0.032%之方式，製作含有矮竹萃取物之 Mueller Hinton 瓊脂平板(Difco 公司製)。對於 7%至 6%之高濃度領域，分別將 14%至 12%之矮竹萃取物與 2 倍濃度之瓊脂培養基以 1:1 混合而製作；對於 5%至 0.032%之低濃度領域，分別將 50%至 0.32%之矮竹萃取物與 1 倍濃度之 Mueller Hinton 瓊脂培養基以 1:9 混合，製作含有矮竹萃取物之瓊脂培養基。使用 2N 之 NaOH 水溶液，調整培養基為 pH6.5 至 7.3。

再者，使用修改 GAM 瓊脂培養基(日水製藥製)代替 Mueller Hinton 瓊脂培養基，製作含有矮竹萃取物之瓊脂培養基。使用同一接種菌液，接種大腸桿菌(*E. coli*)及 MRSA，實施一夜之厭氣培養，然後求取 MIC。再者，此時亦使用 2N NaOH 將 pH 調整為 6.7 至 7.3。

接種菌液之調整與判定

將以 TSA 瓊脂培養基培養 24 至 48 小時所得到之被驗菌株之菌落，用滅菌棉棒挑取，使其懸浮於 Mueller Hinton 培養液 (Difco 公司製)中，並調整成麥法蘭德比濁管 1 號管(Mc Farland No.1)之濁度之菌液。將該菌液 10 μ l 懸浮於 Mueller Hinton 培養液 1ml 中，將其之 5 μ l 藉由畫線塗抹法接種於含有矮竹萃取物之平板系列上。

於好氣環境下，在 35℃ 培養 20 小時後，用肉眼觀察有無繁殖。對於厭氣培養之平板，經一夜培養並判定後，再在大氣環境下放置一夜，進行有無再增殖之判定。

結果

在 pH 調整(pH6.5 至 7.3)之實驗條件下測得之矮竹萃取物對於大腸桿菌之最低繁殖阻止濃度(MIC)分布於 2 至 3%，MIC50%為 2%。又，對 MRSA 之 MIC 分布於 0.25 至 0.5%，MIC50%為 0.5%。又，對綠膿桿菌(*P. aeruginosa*)之 MIC 為全菌株之 1%。

又，對於為精度管理用菌株之大腸桿菌(*E. coli* ATC25922)，此次在所謂「Mueller Hinton 培養基之中性環境，好氣性培養」之實驗條件下，MIC 為 2%，對金黃葡萄球菌(*S. aureus* ATCC25923)之 MIC 為 0.5%。

使用修改 GAM 瓊脂培養基，於厭氣性環境下測定之矮竹萃取物對大腸桿菌(*E. coli*)之臨床分離株 14 株之 MIC50%為 8%，對金黃葡萄球菌(*S. aureus*)之臨床分離株 14 株之 MIC50%為 3%；在修改 GAM 瓊脂培養基之中性環境及厭氣性環境中對於精度管理用菌株之 MIC，在大腸桿菌(*E. coli* ATC25922)為 8%，在金黃葡萄球菌(*S. aureus* ATCC25923)為 3%。

探討

此試驗例中，儘可能依照日本化學療法學會 MIC 測定標準法測定矮竹萃取物之 MIC，結果於約略中性之環境中，矮竹萃取物對 MRSA 及綠膿桿菌(*P. aeruginosa*)之任一

者均顯示 MIC 在 1% 以下，可確認有極強之抗菌作用。

眾所週知，某些藥物對細菌之 MIC，隨著測定中使用之培養基成分及 pH，有無血液等添加物，接種菌量及培養環境等各種實驗條件而變動。本發明人等以必須有營養學上之複雜成分，且只在游離酸不存在之厭氣環境下繁殖之厭氣性菌如破傷風桿菌(*Clostridium tetani*)、產氣英膜梭菌(*Clostridium perfringens*)、痤瘡初油酸桿菌(*Propionibacterium acnes*)及脆弱擬桿菌(*Bacteroides fragilis*)等為對象，檢討矮竹萃取物之 MIC。此等測定之時，雖使用大腸桿菌(*E. coli* ATCC25922)及金黃葡萄球菌(*S. aureus* ATCC25923)做為精度管理用菌株，然而矮竹萃取物對此等精度管理用菌株在厭氣性環境下之 MIC，並未與兼性菌原本使用之測定環境下之 MIC 進行比較。此次檢討此點，使其差異變得明確。將修改 GAM 瓊脂培養基做為感受性測定培養基之基礎培養基，在厭氣性環境測定之矮竹萃取物之 MIC，對大腸桿菌(*E. coli* ATCC25922)成為 7% 以上，與以 Mueller Hinton 培養基進行好氣性培養時之 2% 相較，可觀察到向耐性側大幅度轉移。又，對於金黃葡萄球菌(*S. aureus* ATCC25923)而言，在厭氣性環境測得之矮竹萃取物之 MIC 為 3%，與以 Mueller Hinton 培養基進行好氣性培養時之 0.5% 相較，可發現向耐性側大幅度轉移。在與厭氣性菌同樣之測試環境下，矮竹萃取物對於 14 株 MRSA 之 MIC_{90%} 為 3%。厭氣培養之金黃葡萄球菌(*S. aureus*)之增殖，由於形成抑制繁殖之露滴狀菌落，因此終

點變得難以判定。當將一度判定之平板再在好氣環境放置一夜，進行確認露滴狀之菌落是否再增殖之操作時，由於判定繁殖為陽性之點縱使再進行一夜培養亦未見到再增殖之例子有 3 例之經驗，因此測定矮竹萃取物在厭氣性培養下之抗菌力時，以金黃葡萄球菌(*S. aureus* ATCC25923)做為精度管理用而出現露滴狀菌落時，先確認是否有再增殖能力等，再決定 MIC 之方法，被認為有再考量之必要。從以上說明，在與厭氣性菌同樣之條件下測定兼性菌之 MIC 時，MIC 明顯地以 6 至 8 倍向耐性側轉移。此係基於 Mueller Hinton 瓊脂與修改 GAM 瓊脂培養基成分之差異，或者係基於如胺基酸配糖體(一種抗菌藥)之情況所見到之厭氣培養與好氣培養具有差異者，雖為耐人尋味之點，然而從使用 Mueller Hinton 瓊脂進行厭氣培養及好氣培養之 MIC 之比較加以檢討，大腸桿菌(*E. coli* ATCC25922)使用 Mueller Hinton 瓊脂進行厭氣性培養時之 MIC 與以好氣性培養時之 MIC 為相同，然而金黃葡萄球菌(*S. aureus* ATCC25923)儘管與大腸桿菌(*E. coli* ATCC25922)在相同實驗條件下，以厭氣培養之 MIC 比以好氣培養之 MIC 高 4 倍等，可確認隨菌種而異之現象。此種現象，被認為係基於各種要素錯綜複雜之關係。

表 18 矮竹萃取物對大腸桿菌(*Escherichia coli*)、綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)及金黃葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)之 MIC 分布

MIC (%)	大腸桿菌(<i>E. coli</i>)	綠膿桿菌 (<i>P. aeruginosa</i>)	金黃葡萄球菌 (<i>S. aureus</i>) (MRSA)	
	好氣性* 厭氣性*	好氣性 厭氣性	好氣性	厭氣性
8	14*			(14)
7				
6				
5				
4			5*	
3	10		7	
2	4*		2	
1		13*		
0.5			8*	
0.25			6	
0.125				
合計	14	13	14	14
MIC 範圍	3 至 2% 8%	1% ND	0.5 至 4 至 2% 0.25%	
MIC 50%	2% 8%	1% ND	0.5% 3%	

* 好氣性：Mueller Hinton 瓊脂，好氣性培養

厭氣性：修改 GAM 瓊脂培養基，厭氣性培養

未實施綠膿桿菌(*P. aeruginosa*)之厭氣性培養

參考：

表 19 使用 Mueller Hinton 瓊脂做為感受性測定用培養基，並依照日本化學療法學會標準法測定之矮竹萃取物對大腸桿菌 (*Escherichia coli*)、綠膿桿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)及金黃葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)參考菌株 3 株之 MIC 之比較

微生物 ATCC 編號	接種菌量	MIC(%)	
		好氣性	
		pH7.0	pH5.0
大腸桿菌 (<i>Escherichia coli</i> ATCC25822)	高	NT	2
	低	2*	2
綠膿桿菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC)	高	NT	(1)
	低	NT	(1)
金黃葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923)	高	NT	2
	低	0.5**	2

高：麥法蘭德比濁管 1 號管 (Mc Farland No.1) 濁度之菌液 $10\mu\text{l}$ 。

低：麥法蘭德比濁管 1 號管 (Mc Farland No.1) 濁度之菌液之 100 倍稀釋液 $10\mu\text{l}$ 。

(1)：於厭氣培養下雖無法測定，但繼續再進行好氣培養，判定為 1%。

NT：試驗未實施。

表 20 培養基 pH 對 MIC 之影響

菌名		pH5.0	pH7.0
大腸桿菌 (<i>E. coli</i>)	高	≤ 5	8
	低	≤ 5	8
綠膿桿菌 (<i>P. aeruginosa</i>)	高	≤ 5	8
	低	≤ 5	5
金黃葡萄球菌 (<i>S. aureus</i>)	高	≤ 5	≤ 5
	低	≤ 5	≤ 5

表 21 修改 GAM 瓊脂培養基，厭氣性培養，24 小時培養

	矮竹萃取物 大腸桿菌 (<i>E. coli</i>)		矮竹萃取物 金黃葡萄球菌 (<i>S. aureus</i>)		日本哈爾馬 金黃葡萄球菌 (<i>S. aureus</i>)		日本哈爾馬 大腸桿菌 (<i>E. coli</i>)	
	低	高	低	高	低	高	低	高
4	-	-	-	-		-	+	+
3	-	+	-	-		-	+	+
2	+w	+	-	-		-	+	+
1	+	+	-	-		+	+	+
0.5	+	+	-	+		+	+	+
0.25	+	+	+	+		+	+	+
0	+		+		+		+	
	3	4	0.5	1	ND	2	>4	>4

修改 GAM 瓊脂培養基，好氣性培養，24 小時培養

試驗例 13 (對細菌性陰道症相關微生物之抗菌作用)

1. 關於二路普氏菌(*Prevotella bivia*)及著色之普氏菌屬(*pigmented Prevotella spp.*)菌株

在被分類為 BV 相關細菌之細菌中，首先檢討矮竹萃取物對二路普氏菌(*P. bivia*)及著色之普氏菌屬(*Prevotella spp.*)之抗菌作用。

使用菌株：使用二路普氏菌(*P. bivia*)14 株及著色之普氏菌屬(*Prevotella spp.*)(中間普氏菌(*Prevotella intermedia*)、產黑普氏菌(*Prevotella melaninogenica*))9 株。二路普氏菌(*P. bivia*)係於 1990 年代前半期從女性陰道內分離出，又，著色之普氏菌屬(*Prevotella spp.*)係於 2002 年從各種臨床材料中分離出，並保存在保管機構之菌株。亦使用大腸桿菌(*E. coli* ATCC25922)及金黃葡萄球菌(*S. aureus* ATCC25923)做為 MIC 精確度管理用菌株。試驗液與試驗例 7 相同。濃度為 50(w/v)%之酸性(pH5.0 左右)溶液。稀釋係使用滅菌蒸餾水。

抗菌試驗：

藉由抗菌藥之抗菌力測定法中使用之瓊脂平板稀釋法測定最低繁殖阻止濃度。以使最終濃度成為 4、3、2、1、0.5、0.25 及 0.125%之方式，製作含有矮竹萃取物之修改 GAM 瓊脂平板(日水製藥製)。將矮竹萃取物與瓊脂培養基以 1:9 混合，製作含有所設定濃度之矮竹萃取物之瓊脂培養基。再者，使用 2N 之 NaOH 水溶液，實施培養基 pH 之

調整(pH7.0 至 7.3)。

使用以 *Brucella* HK 血液瓊脂培養基(極東製藥製)培養 48 小時所得之被驗菌株之菌落，將其在厭氣微生物培養液(Anaerobe Broth MIC)(Difco 公司製)中之菌液調整成麥法蘭德比濁管 1 號管(Mc Farland No.1)之濁度並稀釋 10 倍後，將其之 1 白金耳量($10\mu\text{l}$)藉由畫線塗抹法接種於含有矮竹萃取物之平板系列上。本實驗條件下 1 白金耳量中含有約 10^4 個細菌。於厭氣實驗工作站(郡是(Gunze)產業製)中，在 35°C 培養 2 日後，用肉眼觀察有無繁殖。觀察到繁殖時，判定為(+)。

再者，在本實驗條件下測得之矮竹萃取物對於大腸桿菌 (*E. coli* ATCC25922) 及金黃葡萄球菌 (*S. aureus* ATCC25923)之 MIC 同樣為 $>5\%$ 。

結果

矮竹萃取物在濃度為 0.5% 下，可完全阻止二路普氏菌 (*P. bivia*)之繁殖，在 1% 下可完全阻止著色普氏菌屬 (*Provatella* spp.)之繁殖。矮竹萃取物對於二路普氏菌 (*P. bivia*)14 株之 MIC 50% 以及對於著色普氏菌屬 (*Provatella* spp.)之 MIC 50% 均為 0.5% 。

表 22 矮竹萃取物對於二路普氏菌(*Prevotella bivia*)14 株及著色之普氏菌屬(*pigmented Prevotella spp.*)9 株之抗菌作用

矮竹萃取物之最低繁殖阻止濃度(%)	二路普氏菌(<i>P. bivia</i>)	著色之普氏菌屬(<i>pigmented Prevotella spp.</i>)
4	0	
3	0	
2	0	
1	0	2
0.5	14	7
0.25	0	
0.125	0	
合計	14	9

探討

健康女性之陰道為厭氣性菌及好氣性菌之溫床。女性產道之正常細菌叢中，扮演保持陰道內清淨度重要角色之乳桿菌屬(*Lactobacillus spp.*)以最大優勢存在。然而，另一方面，已知為趁機生長病原體之厭氣消化鏈球菌(*Peptostreptococcus anaerobius*)等厭氣性革蘭氏陽性球菌，普氏菌屬(*Prevotella spp.*)[產黑普氏菌(*Prevotella melaninogenica*)及中間普氏菌(*Prevotella intermedia*)等]以及擬桿菌屬(*Bacteroides spp.*)等厭氣性革蘭氏陰性桿菌亦

以低菌量存在，已知在「細菌性陰道症」之狀況下彼等會異常增殖，而被稱為「細菌性陰道症(Bacterial Vaginosis)相關連微生物」。細菌性陰道症為產生牛乳狀惡臭白帶之疾病，曾討論其與 STD 易感染性及於早產及前期破水等週產期所見到之各種異常之關係，及與對骨盤內發炎性疾病 PID 進展之關係。

已知二路普氏菌 (*P. bivia*) 及著色之普氏菌屬 (pigmented *Prevotella* spp.)，在細菌性陰道症相關微生物中，亦為與重症度及難治性相關之極重要細菌種類。

從此次檢討，可以明白矮竹萃取物對於此等二路普氏菌 (*P. bivia*) 及著色之普氏菌屬 (pigmented *Prevotella* spp.) 顯示極良好之抗菌作用。

表 23 為婦產科領域感染症原因之病原體一覽表(病名、學名、俗名)

病名	學名	俗名	備註
淋病 淋菌性子宮頸炎	Neisseria gonorrhoea	淋病雙球菌	細菌
子宮頸部衣原體感染 症(子宮頸管炎)	Chlamydia trachomatis	砂眼衣原體(Chlamydia trachomatis)	細菌
念珠菌症 外陰炎 陰道炎	Candida albicans	白色念珠球菌	真菌
陰道毛滴蟲症 陰道炎 尿道炎	Trichomonas vaginalis	陰道毛滴蟲	原蟲
細菌性陰道症(BV)	BV 相關微生物		細菌
	Mycoplasma genitalium	生殖道微漿菌	
	Gardnerella vaginalis	陰道加德納氏菌	
	Prevotella bivia*	二路普氏菌	
	Pigmented Prevotella spp.*	著色之普氏菌屬	
	Porphyromonas spp.*	卟啉單胞菌屬	
	Mobiluncus spp.*	彎曲桿菌屬	
	Peptostreptococcus spp.*	消化鏈球菌屬	
外陰部疱疹	Herpes simplex virus (HSV)	單純疱疹病毒	病毒
梅毒	Treponema pallidum	梅毒螺旋菌	細菌

* 厭氣性菌

試驗例 14 (對細菌性陰道症相關微生物之抗菌作用)

2. 關於陰道加德納氏菌(*Gardnerella vaginalis*)菌株

陰道加德納氏菌(*Gardnerella vaginalis*)雖可在健康女性陰道中檢測出來，然而其菌數很少。陰道加德納氏菌(*G. vaginalis*)為與人黴漿菌(*Mycoplasma hominis*)、厭氣消化鏈球菌(*Peptostreptococcus anaerobius*)、著色之普氏菌屬(*pigmented Prevotella spp.*)、非著色之普氏菌屬(*unpigmented Prevotella spp.*)及卟啉單胞菌屬(卟啉單胞菌屬)共同被列入在細菌性陰道症狀態中異常增殖之「BV 相關微生物」範疇中之細菌之一。並且，亦為產道感染症之極重要病原菌。此試驗係對陰道加德納氏菌(*G. vaginalis*)加以檢討。

材料與方法

使用菌株：使用陰道加德納氏菌(*G. vaginalis*)合計 11 株。其等係由從 NCTC 或 ATCC 購入之 2 株及臨床分離株 9 株所組成。臨床分離株係本發明人等於 1990 年代前半期從女性陰道內分離出並保管在保管機構之菌株。亦使用大腸桿菌 (*E. coli* ATCC25922) 及金黃葡萄球菌 (*S. aureus* ATCC25923) 做為 MIC 精確度管理用菌株。試驗液與試驗例 7 相同。

抗菌試驗：藉由抗菌藥之抗菌力測定法中使用之瓊脂平板稀釋法測定最低繁殖阻止濃度。以日本化學療法學會標準法為基準。以使最終濃度成為 8、7、6、5、4、3、2、1、0.5、0.25 及 0.125% 之方式，製作含有矮竹萃取物之 *Brucella*

HK 血液瓊脂培養基(極東製藥製)。將矮竹萃取物與 Brucella HK 血液瓊脂培養基以 1:1 或 1:9 之比例混合，製作含有所設定濃度之矮竹萃取物之瓊脂培養基。再者，使用 2N 之 NaOH 水溶液，實施培養基 pH 之調整(pH7.0 至 7.3)。

使用以 Brucella HK 血液瓊脂培養基(極東製藥製)培養 48 小時所得之被驗菌株之菌落，將其在厭氣微生物培養液(Anaerobe Broth MIC)(Difco 公司製)中之菌液調整為麥法蘭德比濁管 1 號管(Mc Farland No.1)之濁度，將其之 1 白金耳量($10\mu\text{l}$)藉由畫線塗抹法接種於含有矮竹萃取物之平板系列上。於對照培養基中之繁殖，係以在塗抹部位全體一樣可見之方式設定。

於厭氣實驗工作站(郡是(Gunze)產業製)中，在 35°C 培養 2 日後，用肉眼觀察有無繁殖。觀察到繁殖時，判定為 (+)。

再者，在本實驗條件下測定之矮竹萃取物對於大腸桿菌 (*E. coli* ATCC25922) 及金黃葡萄球菌 (*S. aureus* ATCC25923) 之 MIC 分別為 $>8\%$ 及 8% 。

結果

矮竹萃取物對於陰道加德納氏菌(*G. vaginalis*)11 株之 MIC 範圍分布於 6% 至 4% ，MIC_{50%} 為 6% 。

表 24 矮竹萃取物對陰道加德納氏菌 (*Gardnerella vaginalis*)11 株之抗菌作用

矮竹萃取物之最低繁殖阻止濃度(%)	株數
8	0
7	0
6	7
5	3
4	1
3	0
2	0
1	0
0.5	0
0.25	0
0.125	0
合計	11

探討

從此次之檢討可以明白，矮竹萃取物在 6%之濃度下，可完全阻止為細菌性陰道症相關微生物之一且為重要之兼性厭氣性菌之陰道加德納氏菌(*G. vaginalis*)之繁殖。對其之抗菌力顯然比對 BV 相關微生物中之厭氣性菌，即為非著色普氏菌(non-pigmented *Prevotella*)之二路普氏菌(*P. bivia*)及為著色普氏菌(pigmented *Prevotella*)之產黑普氏菌

(*Prevotella melaninogenica*)之抗菌力弱。已知本萃取物即使在 8%之濃度下亦無法阻止多數乳桿菌屬(*Lactobacillus* spp)菌株之繁殖，使用於身體時，濃度之設定被認為可得到重要之成果。

再者，在一系列之檢討中，為參考菌株之大腸桿菌(*E. coli*)及金黃葡萄球菌(*S. aureus*)之 MIC 顯然隨實驗條件而變動。MIC 雖受感受性測定用培養基之種類、接種菌量及培養條件等因素之影響，然而此次首先使用 *Brucella* HK 血液瓊脂培養基做為感受性測定培養基。使用本培養基之 MIC 與使用修改 GAM 培養基之 MIC 相較，有移向酸性側之傾向。

試驗例 15 (對細菌性陰道症相關微生物之抗菌作用)

3. 關於大消化鏈球菌(*Finegoldia*)、微單胞菌(*Micromonas*)及消化鏈球菌(*Peptostreptococcus*)

為厭氣性球菌之大消化鏈球菌(*Finegoldia magna*)、微小微單胞菌(*Micromonas micros*)及消化鏈球菌屬(*Peptostreptococcus* spp.)，與二路普氏菌(*Prevotella bivia*)、著色之普氏菌屬(*pigmented Prevotella* spp)、卟啉單胞菌屬(*Porphyromonas* spp.)、生殖道黴漿菌(*Mycoplasma genitalium*)及人黴漿菌(*Mycoplasma hominis*)及陰道加德納氏菌(*Gardnerella vaginalis*)，共同被列名特徵為：陰道內乳酸菌減少，陰道內 pH 降低及具有乳狀且惡臭(胺臭)白帶之在細菌性陰道症(BV)狀態中異常增加之細菌性陰道症相關微生物。此試驗例係檢討矮竹萃取物對於被分類

為細菌性陰道症相關細菌之一之厭氣性球菌之抗菌作用。

材料與方法

使用菌株：使用厭氣消化鏈球菌 (*Peptostreptococcus anaerobius*)(5 株)、非解糖消化鏈球菌 (*Peptostreptococcus asaccharolyticus*)(3 株)、大消化鏈球菌 (*Finegoldia magna*)(7 株)及微小微單胞菌 (*Micromonas micros*)(6 株)合計 21 株。亦使用大腸桿菌 (*Escherichia coli* ATCC25922)及金黃葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* ATCC25923)做為 MIC 精確度管理用菌株。試驗液與試驗例 7 相同。

抗菌試驗：藉由抗菌藥之抗菌力測定法中使用之瓊脂平板稀釋法測定最低繁殖阻止濃度。以使最終濃度成為 5、4、3、2、1、0.5、0.25 及 0.125%之方式，製作含有矮竹萃取物之修改 GAM 瓊脂培養基(日水製藥製)。將矮竹萃取物與瓊脂培養基以 1:9 混合，製作含有所設定濃度之矮竹萃取物之瓊脂培養基。再者，使用 2N 之 NaOH 水溶液實施培養基 pH 之調整(pH7.0 至 7.3)。

使用以 *Brucella* HK 血液瓊脂培養基(極東製藥製)培養 48 小時所得之被驗菌株之菌落，將其在厭氣微生物培養液(*Anaerobe Broth* MIC)(Difco 公司製)中之菌液調整為麥法蘭德比濁管 1 號管(Mc Farland No.1)之濁度，然後將其之 1 白金耳量($10\mu\text{l}$)藉由畫線塗抹法接種於含有矮竹萃取物之平板系列上。本實驗條件下 1 白金耳量中含有約 10^6 個細菌。於厭氣實驗工作站(郡是(Gunze)產業製)中，在 35℃ 培養 24 小時後，用肉眼觀察有無繁殖。觀察到繁

殖時，判定為(+)。

再者，在本實驗條件下測定之矮竹萃取物對於大腸桿菌 (*E. coli* ATCC25922) 及金黃葡萄球菌 (*S. aureus* ATCC25923) 之 MIC 同樣為 $\geq 5\%$ 。

結果

矮竹萃取物在 3% 之濃度下，可完全阻止微小微單胞菌 (*M. micros*)、大消化鏈球菌 (*F. magna*)、厭氣消化鏈球菌 (*P. anaerobius*) 及非解糖消化鏈球菌 (*P. asaccharolyticus*) 等厭氣性球菌群 21 株之繁殖。矮竹萃取物對於厭氣性球菌之 MIC_{50%} 為 0.5%。

表 25 矮竹萃取物對於厭氣性球菌群之抗菌作用

最低繁殖阻止濃度(%)	大消化鏈球菌(<i>F. magna</i>)	微小微單胞菌(<i>M. micros</i>)	厭氣消化鏈球菌(<i>P. anaerobius</i>)	非解糖消化鏈球菌 (<i>P. asaccharolyticus</i>)	合計
5	0	0	0	0	
4	0	0	0	0	
3	0	0	0	0	
2	0	2	0	0	2
1	2	3	1	0	6
0.5	5	0	4	3	12
0.25	0	1	0	0	1
0.125	0	0	0	0	
合計	7	6	5	3	21

探討

細菌性陰道症為產生乳狀惡臭白帶之疾病，曾討論其與對性病(STD)之易感染性、早產、前期破水等週產期可見到之各種異常之關係，及與對骨盤內發炎性疾病(PID)進展之關係。細菌性陰道症中，已知健康時扮演保持陰道內清淨度重要角色之乳桿菌屬(*Lactobacillus* spp)顯著地減少，而普氏菌屬(*Prevotella* spp)(產黑普氏菌(*Prevotella melaninogenica*)及中間普氏菌(*Prevotella intermedia* 等)及擬桿菌屬(*Bacteroides* spp)等厭氣性革蘭氏陰性桿菌，及厭氣消化鏈球菌(*P. anaerobius*)等厭氣性革蘭氏陽性球菌，甚至陰道加德納氏菌(*G. vaginalis*)及黴漿菌(*Mycoplasma*)等微生物異常增殖。此等細菌群，被稱為「細菌性陰道症相關微生物」。

如上文所述，矮竹萃取物在所謂「2%之低濃度」下可阻止普氏菌屬(*Prevotella* spp)(二路普氏菌(*P. bivia*)、產黑普氏菌(*P. melaninogenica*)及中間普氏菌(*P. intermedia* 等)之繁殖，及在 6%之濃度下可阻止脆弱擬桿菌屬(*Bacteroides fragilis* group)及陰道加德納氏菌(*G. vaginalis*)之繁殖。從此次檢討，矮竹萃取物顯然在 2%之濃度下亦可阻止厭氣性球菌群所有菌株之繁殖。

試驗例 16 (對細菌性陰道症相關微生物之抗菌作用)

關於彎曲桿菌屬(*Mobiluncus* spp.)

為厭氣性革蘭氏陽性桿菌之彎曲桿菌屬(*Mobiluncus* spp.)，為厭氣性無芽孢革蘭氏陽性厭氣性桿菌，與二路普

氏菌 (*Prevotella bivia*)、著色之普氏菌屬 (*pigmented Prevotella spp*)、卟啉單胞菌屬 (*Porphyromonas spp.*)、生殖道微漿菌 (*Mycoplasma genitalium*) 及人微漿菌 (*Mycoplasma hominis*) 及陰道加德納氏菌 (*Gardnerella vaginalis*) 等同被列名特徵為：陰道內乳酸菌減少，陰道內 pH 降低，及具有乳狀、惡臭(胺臭)白帶之細菌性陰道症狀態中異常增加之細菌性陰道症相關微生物。此試驗例係檢討矮竹萃取物對於彎曲桿菌屬 (*Mobiluncus spp.*) 之抗菌作用。

材料與方法

使用菌株：使用彎曲桿菌屬 (*Mobiluncus spp.*) 12 株。其中包含 *M. curtisii* subsp. *curtisii* ATCC35242、*M. curtisii* subsp. *holmessii* ATCC25241、*M. multii* ATCC35240 及 ATCC35243。又，亦使用金黃葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* ATCC25923) 做為 MIC 精確度管理用菌株。試驗液與試驗例 7 相同。

抗菌試驗：根據抗菌藥之抗菌力測定法中使用之瓊脂平板稀釋法，測定最低繁殖阻止濃度。以使最終濃度成為 8、7、6、5、4、3、2、1、0.5、0.25 及 0.125 之方式，製作含有矮竹萃取物之 *Brucella* HK 血液瓊脂平板。血液係使用藉由凍結溶解使其溶血之羊脫鐵血(日生材公司製)，其以 5% 之比例添加於培養基中。將矮竹萃取物與瓊脂培養基以 1:1 混合，製作含有所設定濃度之矮竹萃取物之瓊脂培養基。再者，使用 2N 之 NaOH 水溶液實施培養基 pH 之調整 ($\text{pH}7.0\pm0.3$)。

使用以 *Brucella* HK 血液瓊脂培養基(極東製藥製)培養 72 小時得到之被驗菌株之菌落，將其在厭氣微生物培養液(Anaerobe Broth MIC)(Difco 公司製)中之菌液調整為麥法蘭德比濁管 1 號管(Mc Farland No.1)之濁度，然後將其之 1 白金耳量($10\mu\text{l}$)藉由畫線塗抹法接種於含有矮竹萃取物之平板系列上。本實驗條件下 1 白金耳量中含有約 10^6 個細菌。

於厭氣實驗工作站(郡是(Gunze)產業製)中，在 35°C 培養 2 日後，用肉眼觀察有無繁殖。觀察到繁殖時，判定為 (+)。

再者，在 pH7.0 之本實驗條件下測定之矮竹萃取物對金黃葡萄球菌(*S. aureus* ATCC25923)之 MIC 為 8%(與對照培養基之繁殖比較，觀察到可顯著阻止繁殖之濃度為 4%)。結果

如表 26 之成果所示。矮竹萃取物在 4%可完全阻止彎曲桿菌屬(*Mobiluncus* spp.)之繁殖。矮竹萃取物對彎曲桿菌屬(*Mobiluncus* spp.)之 MIC50%為 4%。

探討

細菌性陰道症為產生乳狀惡臭白帶之疾病，其對於性病(STD)之易感染性，與早產及前期破水等在週產期出現之各種異常之關係，以及與對骨盤內發炎性疾病 PID 進展之關係曾被討論。細菌性陰道症中，已知健康時扮演保持陰道內清淨度重要角色之乳桿菌屬(*Lactobacillus* spp)顯著地減少，而普氏菌屬(*Prevotella* spp)(產黑普氏菌(*P.*

melaninogenica)及中間普氏菌(*P. intermedia* 等)及擬桿菌屬(*Bacteroides* spp)等厭氣性革蘭氏陰性桿菌，厭氣性革蘭氏陽性桿菌中之彎曲桿菌屬(*Mobiluncus* spp.)，厭氣消化鏈球菌(*P. anaerobius*)等厭氣性革蘭氏陽性球菌，甚至陰道加德納氏菌(*G. vaginalis*)及黴漿菌(*Mycoplasma*)等微生物皆異常增殖。此等細菌群，被稱為「細菌性陰道症相關微生物」。細菌性陰道症相關微生物中，彎曲桿菌屬(*Mobiluncus* spp.)為在 BV 計分(BV score)成為高值狀態下檢出率高之菌種，在本發明人等之研究中亦被確認。

先前，矮竹萃取物以所謂「2%之低濃度」阻止細菌性陰道症相關微生物中之普氏菌屬(*Prevotella* spp)[二路普氏菌(*P. bivia*)、產黑普氏菌(*P. melaninogenica*)及中間普氏菌(*P. intermedia*)等]之繁殖，及以 6%之濃度阻止脆弱擬桿菌群(*Bacteroides fragilis* group)及陰道加德納氏菌(*G. vaginalis*)之繁殖，再者，亦以 2%之濃度阻止厭氣性球菌群之所有菌株之繁殖。在此試驗例中，係對於彎曲桿菌屬(*Mobiluncus* spp.)加以檢討。結果，矮竹萃取物在 4%之濃度下可阻止彼等之繁殖。

表 26 矮竹萃取物對彎曲桿菌屬(*Mobiluncus* spp.)之抗菌作用

矮竹萃取物之最低繁殖阻止濃度(%)	株數
8	
7	

6	
5	
4	6
3	2
2	4
1	
0.5	
0.25	
0.125	
0	
合計	12

試驗例 17 (矮竹萃取物對脆弱擬桿菌(*Bacteroides fragilis*)之抗菌作用)

脆弱擬桿菌(*Bacteroides fragilis*)為從人糞便中分離出之無芽孢厭氣性革蘭氏陰性桿菌，在包括褥瘡及肛門周圍膿瘍等各種皮膚病及皮下軟部組織感染症中，與金黃葡萄球菌(MRSA)、多藥劑耐性綠膿桿菌同為臨床上極重要之菌種。此試驗係檢討矮竹萃取物對於脆弱擬桿菌(*B. fragilis*)之抗菌作用。

使用菌株：使用脆弱擬桿菌(*B. fragilis*)合計 12 株。其等之臨床分離株係於 2002 年從 1 月至 7 月從各種化膿性感染症患者中分離出，並保存在保管機構之菌株。亦使用大腸桿

菌 (*Escherichia coli* ATCC25922) 及 金 黃 葡 萄 球 菌 (*Staphylococcus aureus* ATCC25923) 做為 MIC 精確度管理用菌株。試驗液與試驗例 7 相同。

抗菌試驗：

藉由抗菌藥之抗菌力測定法中使用之瓊脂平板稀釋法測定最低繁殖阻止濃度。以日本化學療法學會標準法為基準。以使最終濃度成為 10、9、8、7、6、5、4、3、2 及 1% 之方式，製作含有矮竹萃取物之修改 GAM 瓊脂平板(日水製藥製)。10 至 6% 為止，係將矮竹萃取物與 2 倍瓊脂培養基以 1:1 混合，5 至 1% 為止，係將矮竹萃取物與瓊脂培養基以 1:9 混合，製作含有所設定濃度之矮竹萃取物之瓊脂培養基。再者，使用 2N 之 NaOH 水溶液實施培養基 pH 之調整(pH6.6 至 7.1)。

使用以 *Brucella* HK 血液瓊脂培養基(極東製藥製)培養 48 小時所得之被驗菌株之菌落，並將其於厭氣微生物培養液(*Anaerobe Broth* MIC)(Difco 公司製)中之菌液調整為麥法蘭德比濁管 1 號管(Mc Farland No.1)之濁度，將其之 1 白金耳量($10\mu\text{l}$) 藉由畫線塗抹法接種於含有矮竹萃取物之平板系列上。在本實驗條件下，1 白金耳量中含有 10^6cfu/ml 之細菌數。

於厭氣實驗工作站(郡是(Gunze)產業製)中，在 35°C 培養 1 或 2 日後，用肉眼觀察有無繁殖。觀察到繁殖時，判定為(+)

再者，在本實驗條件下測得之矮竹萃取物對大腸桿菌

(*E. coli* ATCC25922)及金黃葡萄球菌(*S. aureus* ATCC25923)之 MIC 同為 6%。

結果

矮竹萃取物對脆弱擬桿菌(*B. fragilis*)12 株之 MIC 範圍分布於 4 至 6%，MIC90%為 5%。

表 27 矮竹萃取物對脆弱擬桿菌群(*Bacteroides fragilis* group)12 株之抗菌作用

矮竹萃取物之最低繁殖阻止濃度(%)	株數
10	0
9	0
8	0
7	0
6	1
5	10
4	1
3	0
2	0
1	0
合計	12

探討

脆弱擬桿菌群(*Bacteroides fragilis* group)(尤其脆弱擬桿菌(*B. fragilis*))，為厭氣性無芽孢革蘭氏陰性厭氣性桿

菌，常存在於人類下消化管黏膜。本菌群在黏膜有傷口時，侵入通常無菌之組織與臟器，而引起感染症。在各種化膿性感染症(尤其橫隔膜下部之化膿性感染症)，其為以最高頻率被分離到之厭氣性菌。本菌在感染部位與大腸桿菌等兼性桿菌，葡萄球菌、腸球菌及米勒消化鏈球菌群(*Streptococcus milleri* group)等兼性、微好氣性球菌，以及擬桿菌(*Bacteroides*)以外之無芽孢厭氣性菌等共同存在。亦即，在做為複數菌感染症之構成菌上甚為重要。又，脆弱擬桿菌(*B. fragilis*)，與其他一些兼性菌一樣，多對抗菌藥有自然耐性，對本菌種較有抗菌力之抗菌藥僅限於氯潔黴素(*clindamycin*)、頭黴素(*cephamycin*)及碳青黴烯(*carbapenem*)等。然而，即使對此等數量稀少之抗菌藥，亦變得有「獲得耐性化傾向」之問題。因此在有關脆弱擬桿菌(*B. fragilis*)之感染症之治療中，更廣範圍之抗菌藥或複數種抗菌藥有被長期使用之傾向。然而，由於此種使用方法，不用說本菌種，本菌種以外之其他細菌種類亦有增長抗菌藥耐性化之可能性，在感染症治療上，亦為所謂「極難纏菌種」之菌。

從此次之檢討，可以明白矮竹萃取物對於在做為化膿性複數菌感染症之病原菌上，即使與金黃葡萄球菌(*S. aureus*)、綠膿桿菌(*P. aeruginosa*)及大腸桿菌(*E. coli*)同樣重要之無芽孢厭氣性菌代表性菌群，即脆弱擬桿菌群(*B. fragilis* group)之菌種，在厭氣性條件下亦具有至少與對金黃葡萄球菌(*S. aureus*)及大腸桿菌(*E. coli*)相同程度之抗菌

作用。

試驗例 18 (骨盤內感染症)

健康女性之陰道為厭氣性菌及好氣性菌之溫床。女性產道之正常細菌叢中，厭氣性菌多以好氣性菌 10 倍以上存在。有厭氣性革蘭氏陽性球菌，及擬桿菌屬 (*Bacteroides* spp.) [現在之分類為普氏菌屬 (*Prevotella* spp.) 及擬桿菌屬 (*Bacteroides* spp.)]。厭氣性菌可從與 STD 病原體無關之產道感染症之幾乎所有患者中分離出。主要之厭氣性病原體，有脆弱擬桿菌 (*Bacteroides fragilis*)、二路普氏菌 (*Prevotella bivia*)、棲牙普氏菌 (*Prevotella disiens*)、產黑普氏菌 (*Prevotella melaninogenica*)、厭氣性球菌以及梭菌屬 (*Clostridium* spp.)。厭氣性菌與輸卵管卵巢膿瘍、敗血症性流產、骨盤內膿瘍、子宮內膜炎、術後創部感染症 (尤其帝王切開術後創部感染症) 等有關。此等感染症雖多為厭氣性菌與腸內細菌科之細菌造成之複數細菌感染症，然而只由腸內細菌科之細菌，或其他無法與兼性菌分離之厭氣性菌造成之感染症，在腹腔感染症中更為多見。又，其之特徵為從子宮排出惡臭之膿汁及血液，子宮所在之下腹部全體或骨盤內局部壓痛，以及持續性之發熱及惡寒。亦有合併骨盤靜脈化膿性血栓性靜脈炎，為引起反覆性敗血症性肺栓塞發作之原因。

厭氣性菌被認為係與細菌性陰道炎 (*Bacterial Vaginosis*) 之病因有關之因子。目前尚不明原因之症候群，以洋溢惡臭之分泌物，以及陰道內陰道加德納氏菌

(*Gardnerella vaginalis*)、普氏菌屬(*Prevotella* spp)、彎曲桿菌屬(*Mobiluncus* spp.)、消化鏈球菌屬(*Peptostreptococcus* spp.)以及黴漿菌(*Mycoplasma*)等細菌之異常增加為特徵。厭氣性菌被認定在骨盤內炎症性疾病(PID)之病因中扮演重要角色，曾有專家曾指出細菌性陰道症與進展成 PID 有關。

放線菌屬(*Actinomyces* spp.)為致病因之骨盤內感染症為與子宮內避孕器之使用有關之感染症。

試驗例 19 (矮竹萃取物對於雙歧桿菌屬(*Bifidobacterium* spp.)之抗菌作用)

在評價具有抗菌力之物質時，探知對人之病原菌之作用，同時對常存在於皮膚與黏膜之有用菌或趁機生長細菌之作用極為重要。

雙歧桿菌屬(*Bifidobacterium* spp.)與乳桿菌屬(*Lactobacillus* spp)已知同為消化管內及陰道內常存在之細菌，除已知為呼吸器病原性之齒雙歧桿菌(*Bifidobacterium dentium*)外，未有被指摘為病原意義之菌種，而為有用之細菌。所以關於矮竹萃取物對雙歧桿菌屬(*Bifidobacterium* spp.)具有何種程度之抗菌作用，使用雙歧桿菌菌屬(*Bifidobacterium* spp.)做為參考菌株加以檢討。

材料與方法

使用菌株：使用表 28 所示之保管機構保存之參考菌株。此等菌株為從 ATCC，JCM 購入，或保管機構保存之菌株。再者，以從婦產科領域感染症及消化器感染症高頻率分離

之厭氣性菌種中選出二路普氏菌 (*Prevotella bivia* ATCC29303)、非解糖卟啉單胞菌 (*Porphyromonas assaccharolytica* ATCC25260)及脆弱擬桿菌 (*Bacteroides fragilis* N-1)做為對照。又，亦使用大腸桿菌 (*Escherichia coli* ATC25922)及金黃葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* ATCC25923)同樣目的地做為感受性測定之精確度管理用菌株。試驗液與試驗例 7 相同。溶液之稀釋係使用滅菌蒸餾水。

抗菌試驗：

藉由抗菌藥之抗菌力測定法中使用之瓊脂平板稀釋法測定最低繁殖阻止濃度(MIC)。以日本化學療法學會標準法為基準。以使最終濃度成為 9、8、7、6、5、4、3、2、1 及 0.5%之方式，製作含有矮竹萃取物之修改 GAM 瓊脂平板(日水製藥製)。對於 10%至 6%之高濃度領域，分別將 20%至 12%之矮竹萃取物與 2 倍瓊脂培養基以 1:1 混合而製作(最終 pH5.3 至 5.5)；對於 5%至 0.5%之低濃度領域，分別將 50%至 5%之矮竹萃取物與 1 倍瓊脂培養基以 1:9 混合(最終 pH5.5 至 6.0)，製作含有矮竹萃取物之瓊脂培養基。

接種菌液之調整：

將用布氏(*Brucella*)HK 血液瓊脂培養基培養 48 小時培養得到之被驗菌株之菌落用滅菌棉棒挑取，使其懸浮於厭氣微生物培養液(anaerobe broth MIC)(Difco 公司製)中，然後調整為麥法蘭德比濁管 1 號管(Mc Farland No.1)之濁

度。將其之 $10\mu\text{l}$ (接種量： 10^6 cfu) 藉由畫線塗抹法接種於含有矮竹萃取物之平板系列上。關於對照菌株，亦使用 TSA 瓊脂培養基上之菌落，於厭氣微生物培養液(anaerobe broth MIC)中調整為麥法蘭德比濁管 1 號管(Mc Farland No.1)之濁度，將其之 $10\mu\text{l}$ (接種量： 10^6 cfu)藉由畫線塗抹法接種。再者，於厭氣實驗工作站(郡是(Gunze)產業製)中，在 35°C 培養 18 小時後，用肉眼觀察有無繁殖。觀察到繁殖時，判定為(+)。

結果

於 pH 未調整之酸性(pH5.3 至 6.0)實驗條件下測定之矮竹萃取物之最低繁殖阻止濃度，如表 28 所示。對 5 菌種 5 株一雙歧桿菌屬(*Bifidobacterium* spp.)而言，除 1 株雙歧狀雙歧桿菌(*B. bifidum*)之 MIC 為 4%之外，其餘最低繁殖阻止濃度全部為 7%以上。再者，對同時測定之二路普氏菌(*P. bivia* ATCC29303)及非解糖吡啶單胞菌(*P. assaccharolytica* ATCC25260)，最低繁殖阻止濃度均為 0.5%，藉由本方法測定之 AHSS 精確度管理用菌株 2 株，大腸桿菌(*E. coli* ATC25922)及金黃葡萄球菌(*S. aureus* ATCC25923)，最低繁殖阻止濃度同為 4%。

探討

矮竹萃取物在 6.25%以下(多為 4%左右)之濃度，顯然可阻止任一種病原性細菌之繁殖。矮竹萃取物除對此等病原性細菌之抗菌力外，蒐集對於非病原性細菌之抗菌力之資料亦被認為極為重要，因而實施此次檢討。

從在人類黏膜進行身體防禦之觀點而言，已知乳桿菌屬 (*Lactobacillus* spp.) 及雙歧桿菌屬 (*Bifidobacterium* spp.) 多扮演極重要之角色。本發明人等曾報導關於矮竹萃取物對產生過氧化氫之乳桿菌屬 (*Lactobacillus* spp.) 中之捲縮乳桿菌 (*L. crispatus*) 及加氏乳桿菌 (*L. gasseri*) 之抗菌作用，MIC 為 10% 以上，與對同時進行試驗之以大腸桿菌 (*E. coli*) 及金黃葡萄球菌 (*S. aureus*) 為代表之病原性兼性菌之 MIC 為 4%，以及對以二路普氏菌 (*P. bivia*)、非解糖卟啉單胞菌 (*P. assaccharolytica*) 及脆弱擬桿菌 (*B. fragilis*) 為代表之化膿性厭氣性菌之 MIC 為 0.5 至 4% 相比，顯得極為微弱。

此次，矮竹萃取物顯然對常存在於消化管之雙歧桿菌屬 (*Bifidobacterium* spp.) 5 菌種 5 株，亦與對乳桿菌屬 (*Lactobacillus* spp.) 同樣地呈現微弱之抗菌力。

由此強烈地暗示，矮竹萃取物對陰道內有用菌及消化道內有用菌之抗菌力，與對藉機生長之細菌相比相對地較微弱。

表 28 矮竹萃取物對雙歧桿菌屬群(*Bifidobacterium* spp.)之
抗菌作用

細菌名	最低繁殖阻止濃度(%) pH 未調整
雙歧桿菌屬(<i>Bifidobacterium</i>)	
青春雙歧桿菌(<i>B. adolescentis</i> ATCC15703)	9
雙歧狀雙歧桿菌(<i>B. bifidum</i> JCM1255)	4
短雙歧桿菌(<i>B. breve</i> ATCC15700)	7
長雙歧桿菌(<i>B. longum</i> ATCC15707)	7
假長雙歧桿菌(<i>B. pseudolongum</i> ATCC25526)	8
卟啉單胞菌屬(<i>Porphyromonas</i>)	
非解糖卟啉單胞菌(<i>P. assaccharolytica</i> ATCC25260)	≤ 0.5
擬桿菌屬(<i>Bacteroides</i>)	
脆弱擬桿菌(<i>B. fragilis</i>)	4
大腸桿菌(<i>Escheichia coli</i> ATC25922)	4
金黃葡萄球菌(<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923)	4

*接種菌量：將麥法蘭德比濁管 1 號管(Mc Farland No.1)之
濁度之菌液 1 白金耳量以 1cm 畫線塗抹。

試驗例 20 (對白色念珠菌(*Candida albicans*)及光滑念珠菌
(*Candida glabrata*)之抗真菌作用)

此試驗例係檢討對於為「鷺口瘡」或女性陰道炎或外陰炎原因之白色念珠菌(*Candida albicans*)及光滑念珠菌(*Candida glabrata*)之抗真菌作用。

使用菌株：使用白色念珠菌(*Candida albicans*)及光滑念珠菌(*Candida glabrata*)合計 13 株。其等係於 2002 年從各種臨床材料分離並保存在保管機構之菌株。使用大腸桿菌(*Escherichia coli* ATCC25922)、金黃葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* ATCC25923)及綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853)做為 MIC 精確度管理用菌株。試驗液與試驗例 7 相同。稀釋係使用滅菌蒸餾水。

抗菌試驗：

藉由抗菌藥之抗菌力測定法中使用之瓊脂平板稀釋法測定最低繁殖阻止濃度。以使最終濃度成為 8、7、6、5、4、3、2、1%之方式，製作含有矮竹萃取物之 MH 瓊脂平板(Difco 公司製)。將矮竹萃取物與瓊脂培養基以 1：9 混合，製作含有所設定濃度之矮竹萃取物之瓊脂培養基。再者，使用 2N 之 NaOH 水溶液或 10%氯化氫水溶液實施培養基 pH 之調整(pH7.0 左右及 5.0 左右兩種)。

使用以 Mycocell 瓊脂培養基(BD)培養 48 小時得到之被驗菌株之菌落，將其在 MH 培養液(Difco 公司製)中之菌液調整為麥法蘭德比濁管 1 號管(Mc Farland No.1)之濁度，將其之 1 白金耳量($10\mu\text{l}$)藉由畫線塗抹法接種於含有矮竹萃取物之平板系列上。在本實驗條件下 1 白金耳量

中含有約 10^6 個細菌。

在 35°C 培養 2 日後，用肉眼觀察有無繁殖。觀察到繁殖時，判定為(+)。

再者，在本實驗條件下測定之矮竹萃取物對大腸桿菌 (*E. coli* ATCC25922)、金黃葡萄球菌 (*S. aureus* ATCC25923) 及綠膿桿菌 (*P. aeruginosa* ATCC27853) 於 1 日後之 MIC，在 pH7 分別為 2、 ≤ 1 及 2，在 pH5 全部為 ≤ 1 。又，再 3 日後之 MIC，在 pH7 分別為 3、 ≤ 1 及 3，在 pH5 分別為 2、 ≤ 1 及 ≤ 1 。

結果

表中顯示在 pH5 及 pH7 之環境下，1 日後及 3 日後所判定矮竹萃取物對念珠菌屬 (*Candida* spp.) 之 MIC 之分布。在 pH5，於 24 小時之判定，矮竹萃取物在 5% 之濃度下完全阻止白色念珠菌 (*Candida albicans*) 8 株及光滑念珠菌 (*Candida glabrata*) 4 株之繁殖。而於 3 日後之判定，阻止所有菌株之繁殖必須為 8%。

在 pH7，於 24 小時之判定顯示矮竹萃取物在 5% 之濃度阻止全部白色念珠菌 (*C. albicans*) 之繁殖。對光滑念珠菌 (*C. glabrata*) 之 MIC 不能判定。於 3 日後之判定，阻止包括光滑念珠菌 (*C. glabrata*) 之所有菌株之繁殖必須為 8%。

探討

女性之陰道炎已知有原蟲引起之毛滴蟲陰道炎、真菌引起之念珠菌性陰道炎及細菌引起之細菌性陰道炎(及非特異性陰道炎)。引起陰道炎之念珠菌屬 (*Candida* spp.) 亦為

外陰炎之原因。念珠菌性陰道炎與其他陰道炎不同，其係以乳酪狀白帶為特徵之具有極強烈搔癢感之疾病。治療時可投與抗真菌藥。

從此次之檢討，可確認矮竹萃取物對酵母狀真菌具有阻止繁殖之效果。在酸性下 1 日後測定之 MIC 分布於 5% 至 3%。又，pH 調整後在中性下測定之 MIC，分布於 5% 至 4%。然而，在室溫再放置 3 日後，再度判定 MIC 時，矮竹萃取物對念珠菌屬(*Candida* spp.)於 pH5.0%之 MIC，除 1 株為 8%，12 株從 5 至 3%之範圍轉向 7 至 4%之耐性側範圍。於 pH7.0%之 MIC，所有菌株為從 5 至 4%之範圍轉移為 8%以上。因此，顯示在 1 日後決定之 MIC 或其以上之濃度下矮竹萃取物對真菌之作用為抑菌性，此暗示殺菌必須為更高濃度。又，光滑念珠菌(*C. glabrata*)於中性環境及 37°C 下培養 1 日後雖無法確認充分繁殖，然而隨後於室溫放置 3 日時，可確認充分繁殖，變得可進行 MIC 之判定。在調整為酸性之 Mueller Hinton 培養基中，即使於 37°C 放置 1 日亦可見充分繁殖，而可進行 MIC 之判定。

使用 Mueller Hinton 培養基做為感受性測定用培養基之本實驗，矮竹萃取物對念珠菌屬(*Candida* spp.)之 MIC 為 7 至 4%之濃度，顯然顯示抗真菌作用。其之 MIC 於中性環境呈現比於酸性環境低 1 管左右之值。再者，即使在中性條件下阻止繁殖之濃度頗高，但隨後於室溫放置仍可觀察到念珠菌屬(*Candida* spp.)之繁殖，可知其之作用為抑菌性。即使在酸性條件下，於 1 日後阻止繁殖之濃度，隨後

亦可觀察到念珠菌屬(*Candida* spp.)之繁殖，然而其程度比在中性環境觀察到者較輕微。亦即，本萃取液在酸性條件下對念珠菌屬(*Candida* spp.)顯然比在中性環境下呈現較強之殺菌作用。設定矮竹萃取液之臨床應用濃度時，除有關本萃取液之毒性資料外，亦必須在充分考慮此點下設定使用濃度及使用次數。

從以上所述，強烈暗示除抗菌作用外亦具有抗真菌作用之矮竹萃取液，可充分使用做為念珠菌陰道炎外陰炎及其他念珠菌屬(*Candida* spp.)相關之疾病之治療藥。

又，由於本發明人等確認本萃取物對於普氏菌屬(*Prevotella* spp.)及陰道加德納氏菌(*Gardnerella vaginalis*)等與細菌性陰道症有關之細菌呈現強烈或中度之抗菌作用，及具有其他細菌學上之特性，因而認為在做為細菌性陰道症之治療藥上有用性極高，而在此種情況，可容易地預測同時具有抗真菌作用之本發明萃取物，能夠防止目前使用於細菌性陰道症之氯黴素(chloramphenicol)等完全無抗真菌作用之抗菌藥於使用後發生之副作用(據報導曾因念珠菌屬(*Candida* spp.)引起菌交替現象或交替症)。

表 29 矮竹萃取物對白色念珠菌(*Candida albicans*)及光滑念珠菌(*Candida glabrata*)之抗真菌作用
感受性測定用培養基之 pH(5.0、7.0)及判定日數(1 日、3 日)之影響

最低繁殖阻止濃度 (%)	白色念珠菌 (<i>Candida albicans</i>)				光滑念珠菌 (<i>Candida glabrata</i>)			
	pH5*		pH7		pH5		pH7	
	1 日**	3 日	1 日	3 日	1 日	3 日	1 日	3 日
>=8		1		8				5
7		4						
6		2				4		
5	1		3			1		
4	4	1	5		4			
3	3				1			
2								
1								
ND(不能測定)							5*	
合計	8	8	8	8	5	5	5	5

* 培養基 pH

** 判定日數

* 由於不含萃取物之培養基(pH7)之繁殖惡化而保留判定

試驗例 21 (對於來自普通粉刺(*Acne vulgaris*)患者患處之葡萄球菌屬(*Staphylococcus* spp.)之抗菌作用)

矮竹萃取物對為粉刺(*Acne vulgaris*)之一重要病因之痤瘡初油酸桿菌(*Propionibacterium acnes*)，可在 6.25%之

濃度完全地抑制繁殖。又，矮竹萃取物對於為重要化膿性球菌之金黃葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)(MRSA)，顯然亦可在 1%以下之濃度完全地抑制繁殖。本發明人等使用從粉刺患者病灶分離而來且為重要的粉刺增惡分子之表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*) 13 株及柯氏葡萄球菌(*Staphylococcus cohnii*)1 株等合計 14 株葡萄球菌屬(*Staphylococcus spp.*)球菌，且藉由瓊脂平板稀釋法檢討矮竹萃取物之抗菌作用。

材料與方法

使用菌株：使用表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)13 株及柯氏葡萄球菌(*Staphylococcus cohnii*)1 株合計 14 株。

又，使用大腸桿菌(*Escherichia coli* ATCC25922)及金黃葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* ATCC25923)做為感受性精確度管理用菌株。表 30 係表示使用之菌株菌種以及抗菌藥感受性類型。

表 30 從來自粉刺病灶處之葡萄球菌屬(*Staphylococcus spp.*)之抗菌藥耐性類型

菌株編號	菌種	感受性類型 (TC、CLDM 或 OFLX)
N-4	表皮葡萄球菌(<i>S. epidermidis</i>)	TC ^R
N-5	表皮葡萄球菌(<i>S. epidermidis</i>)	
N-6	表皮葡萄球菌(<i>S. epidermidis</i>)	CLDM ^R
N-7	表皮葡萄球菌(<i>S. epidermidis</i>)	

N-8	表皮葡萄球菌(<i>S. epidermidis</i>)	
N-15	表皮葡萄球菌(<i>S. epidermidis</i>)	TC ^R
N-26	表皮葡萄球菌(<i>S. epidermidis</i>)	
N-39	表皮葡萄球菌(<i>S. epidermidis</i>)	
N-34	表皮葡萄球菌(<i>S. epidermidis</i>)	OFLX ^R
N-37	表皮葡萄球菌(<i>S. epidermidis</i>)	TC ^R 、CLDM ^R
N-38	表皮葡萄球菌(<i>S. epidermidis</i>)	
N-46	表皮葡萄球菌(<i>S. epidermidis</i>)	
N-48	柯氏葡萄球菌(<i>S. cohnii</i>)	TC ^R 、CLDM ^R
N-68	表皮葡萄球菌(<i>S. epidermidis</i>)	

試驗液與試驗例 7 相同。溶液之稀釋係使用滅菌蒸餾水。

抗菌試驗：

藉由抗菌藥對兼性菌之抗菌力測定法中使用之瓊脂平板稀釋法，測定最低繁殖阻止濃度(MIC)。在可能範圍，以日本化學療法學會標準法為基準。以使最終濃度成為 5、4、3、2、1、0.5、0.25 及 0.125% 之方式，製作含有矮竹萃取物之 Mueller Hinton 瓊脂平板(Difco 公司製)。將 50% 至 1.25% 之矮竹萃取物與 1 倍濃度之瓊脂培養基以 1:9 混合，製作含有矮竹萃取物之瓊脂培養基。使用 2N 之 NaOH 水溶液調整培養基為 pH6.1 至 7.1。對於金黃葡萄球菌(*S. aureus* ATCC25923)及大腸桿菌(*E. coli* ATCC25922)之 MIC 為 2%。

接種菌液之調整與判定：

在 TSA 瓊脂培養基中培養 24 至 48 小時所得之被驗菌株之菌落用滅菌棉棒挑取，使其懸浮於 Mueller Hinton 培養液(Difco 公司製)中，並將菌液調整為麥法蘭德比濁管 1 號管(Mc Farland No.1)之濁度。將其之 $10\ \mu\text{l}$ 懸浮於 Mueller Hinton 培養液 1ml 中，然後將其之 $10\ \mu\text{l}$ 藉由畫線塗抹法接種於含有矮竹萃取物之平板系列上。在 35°C 培養 20 小時後，用肉眼觀察有無繁殖。

結果

使用表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)13 株及柯氏葡萄球菌(*Staphylococcus cohnii*)1 株之葡萄球菌屬(*Staphylococcus spp.*)合計 14 株，藉由瓊脂平板稀釋法檢討矮竹萃取物之抗菌作用。其結果，矮竹萃取物在 1%之濃度可完全抑制其等之繁殖。關於該 14 株對於 3 抗菌藥(四環素(tetracycline)、氯潔黴素(clindamycin)及歐氟沙星(ofloxacin))之感受性試驗中，包括對四環素 1 藥劑有耐性之菌株為 2 株，對氯潔黴素 1 藥劑有耐性之菌株為 1 株，對四環素與氯潔黴素 2 藥劑有耐性之菌株為 2 株，對歐氟沙星 1 藥劑有耐性之菌株為 1 株，然而矮竹萃取物對於此等耐性菌，一樣可在 1%以下之濃度阻止其繁殖。

表 31 矮竹萃取物對於 14 株葡萄球菌屬 (*Staphylococcus* spp.) 之抗菌作用

阻止繁殖之濃度(%)	株數		
	抗菌藥感受性株	抗菌藥耐性株	合計
5			
4			
3			
2	3		3
1	4	4	8
0.5	1	2	3
0.25			
0.125			
合計	8	6	14

探討

本發明人等使用分離自粉刺患者且為重要粉刺增惡分子之表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*) 13 株及柯氏葡萄球菌 (*Staphylococcus cohnii*) 1 株等合計 14 株葡萄球菌屬 (*Staphylococcus* spp.) 球菌，且藉由瓊脂平板稀釋法檢討對矮竹萃取物之感受性。結果，矮竹萃取物在 2% 之濃度可完全抑制彼等之繁殖。在對於 3 抗菌藥 (四環素 (tetracycline)、氯潔黴素 (clindamycin) 及歐氟沙星 (ofloxacin)) 之感受性試驗中，該 14 株包括對四環素 1 藥劑有耐性之菌株 2 株，對氯潔黴素 1 藥劑有耐性之菌株 1 株，對四環素與氯潔黴素 2 藥劑有耐性之菌株 2 株，對歐氟沙星 1 藥劑有耐性之菌株 1 株，然而矮竹萃取物對於此等耐

性菌，一樣可在 2% 之濃度以下阻止其之繁殖。

以上事實暗示若矮竹萃取物在可抑制痤瘡初油酸桿菌 (*P. acnes*) 繁殖之 6.25% 濃度下，則對為增惡分子之葡萄球菌屬 (*Staphylococcus spp.*) 將亦有充分之效果，因此在做為粉刺之治療藥上極為有用。

試驗例 22 (對於來自普通粉刺 (*Acne vulgaris*) 患者病灶之葡萄球菌屬 (*Staphylococcus spp.*) 之抗菌作用)

本試驗例係使用分離自粉刺患者病灶之表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*) 合計 44 株，且藉由瓊脂平板稀釋法檢討矮竹萃取物之抗菌作用。

使用菌株：使用葡萄球菌 (*Staphylococcus*) 合計 44 株。又，使用大腸桿菌 (*Escherichia coli* ATCC25922) 及金黃葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* ATCC25923) 做為感受性精確度管理用菌株。試驗液與試驗例 7 相同。溶液之稀釋係使用滅菌蒸餾水。

抗菌試驗：

藉由抗菌藥對兼性菌之抗菌力測定法中使用之瓊脂平板稀釋法測定最低繁殖阻止濃度 (MIC)。在可能範圍，以日本化學療法學會標準法為基準。以使最終濃度成為 5、4、3、2、1、0.5、0.25 及 0.125% 之方式，製作含有矮竹萃取物之 Mueller Hinton 瓊脂平板 (Difco 公司製)。使用 2N 之 NaOH 水溶液調整培養基為 pH6.1 至 7.1。對於金黃葡萄球菌 (*S. aureus* ATCC25923) 及大腸桿菌 (*E. coli* ATCC25922) 之 MIC 為 2%。

接種菌液之調整與判定：

將載 TSA 瓊脂培養基進行 24 至 48 小時培養得到之被驗菌株之菌落用滅菌棉棒挑取，然後使其懸浮於 Mueller Hinton 液體培養基(Difco 公司製)中，並將該菌液調整為麥法蘭德比濁管 1 號管(Mc Farland No.1)之濁度。將其之 $10\ \mu\text{l}$ 懸浮於 Mueller Hinton 培養液 1ml 中，其之 $10\ \mu\text{l}$ 藉由畫線塗抹法接種於含有矮竹萃取物之平板系列上。在 35°C 培養 20 小時後，用肉眼觀察有無繁殖。

將結果整理於表 32。

表 32 葡萄球菌屬(*Staphylococcus* spp.)44 株對矮竹萃取物及各種抗菌藥之感受性

藥物	MIC 50 ($\mu\text{g/ml}$)	MIC 80 ($\mu\text{g/ml}$)	MIC 範圍 ($\mu\text{g/ml}$)
那氟沙星 (nadifloxacin)	0.05	0.78	25 至 0.025
歐氟沙星 (ofloxacin)	0.39	0.78	>100 至 0.19
美諾黴素 (minocycline)	0.10	0.10	50 至 0.10
四環素 (tetracycline)	0.39	25	>100 至 0.19
氯潔黴素 (clindamycin)	0.10	>100	>100 至 0.025
萃取物	MIC 50(%)	MIC 80(%)	MIC 範圍 (%)
矮竹萃取物	0.5%	1%	2 至 0.125%

1) 表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)34 株，頭葡萄

球菌(*S. capitis*)2 株，金黃葡萄球菌(*S. aureus*)1 株柯氏葡萄球菌(*S. cohnii*)1 株，人葡萄球菌(*S. hominis*)1 株，溶血葡萄球菌(*S. haemolyticus*)1 株，及其他葡萄球菌屬(*Staphylococcus* sp.)3 株。

試驗例 23 (對細菌性陰道症相關微生物之抗菌作用)

試驗液與試驗例 7 相同。為 50(w/v)%茶褐色，具有芳香味且略有黏性之酸性液體。

抗菌力之試驗法：仿照厭氣性菌之抗菌藥之抗菌力測定法，以修改 GAM 瓊脂培養基或 Brucella HK 瓊脂培養基做為測定用基礎培養基，求取最低繁殖阻止濃度(MIC)%。

供試菌株：使用念珠菌屬(*Candida* spp.)及二路普氏菌(*Prevotella bivia*)(14 株)、著色之普氏菌屬(*pigmented Prevotella* spp)(9 株)、大消化鏈球菌(*Finegoldia*)、微單胞菌(*Micromonas*)及消化鏈球菌(*Peptostreptococcus*)(21 株)，彎曲桿菌屬(*Mobiluncus* spp.)(12 株)及陰道加德納氏菌(*Gardnerella vaginalis*)(11 株)。

成果及總結

矮竹萃取物對於 BV 相關微生物中之兼性厭氣性菌與厭氣性菌以及念珠菌屬(*Candida* spp.)之抗菌力程度明顯。在 3 至 5%之濃度抑制念珠菌屬(*Candida* spp.)，在 6%抑制陰道加德納氏菌(*G. vaginalis*)之繁殖，在 4%之濃度抑制彎曲桿菌屬(*Mobiluncus* spp.)，在 3%之濃度抑制厭氣性球菌群，在 1%之濃度抑制普氏菌屬(*Prevotella* spp)。

試驗例 24 (矮竹萃取物對偏性厭氣性菌之抗菌譜系)

使用厭氣性菌參考菌株在 pH6.0 及 pH7.0 進行檢討。

本試驗例顯然以確立矮竹萃取物之抗菌譜系為目的，使用包含一部分頑固之微好氣性菌及兼性菌[鏈球菌 (*Streptococcus*)、乳桿菌 (*Lactobacillus*)、放線菌 (*Actinomyces*)及沙特雷拉菌(*sutterella*)]等教室保存之偏性厭氣性菌之多數菌株，檢討矮竹萃取物在中性(pH7.0)及酸性(pH6.0)附近之抗菌作用。

使用菌株：使用在保管機構保存之參考菌株[表 33 至 36]。亦使用大腸桿菌(*E. coli* ATCC25922)及金黃葡萄球菌(*S. aureus* ATCC25923)做為 MIC 精確度管理用菌株。試驗液與試驗例 7 相同。稀釋係使用滅菌蒸餾水。

抗菌試驗：

藉由抗菌藥之抗菌力測定法中使用之瓊脂平板稀釋法，測定最低繁殖阻止濃度。以使最終濃度成為 6.4、3.2、1.6、0.8、0.4、0.2 及 0.1%之方式，製作含有矮竹萃取物之修改 GAM 瓊脂平板(日水製藥製)。再者，使用 2N 氫氧化鈉水溶液及 10%鹽酸水溶液，實施培養基 pH 之調整，其目標為 pH6.0 及 pH7.0。

使用以 *Brucella* HK 血液瓊脂培養基(極東製藥製)培養 48 小時所得之被驗菌株之菌落，將其在厭氣微生物培養液(*Anaerobe Broth* MIC)(Difco 公司製)中之菌液調整為麥法蘭德比濁管 1 號管(Mc Farland No.1)之濁度，稀釋 10 倍後，將其之 1 白金耳量($10\mu\text{l}$)藉由畫線塗抹法接種於

含有矮竹萃取物之平板系列上。在本實驗條件下 1 白金耳量中含有約 10^4 個細菌。於厭氣實驗工作站(郡是(Gunze)產業製)中，在 35°C 培養 2 日後(梭菌為培養 1 日後)，用肉眼觀察有無繁殖。觀察到繁殖時，判定為(+)。結果如表 33 至 36 所示。

表 33 1)對厭氣性球菌[消化鏈球菌(*Peptostreptococcus*)、葡萄球菌(*Staphylococcus*)、大消化鏈球菌(*Finagoldia*)、微單胞菌(*Micromonas*)、奇異菌(*Atopobium*)及孿生球菌(*Gemella*)]，微好氣性菌(鏈球菌)、及厭氣性革蘭氏陽性桿菌[放線菌(*Actinomyces*)、真桿菌(*Eubacterium*)、初油酸桿菌(*Propionibacterium*)及雙歧桿菌(*Bifidobacterium*)]之抗菌力

細菌名	pH7.2 +/-0.2	pH5.8 +/-0.2
厭氣消化鏈球菌(<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC27337)	0.4	ND
非解糖消化鏈球菌(<i>Peptostreptococcus asaccarolyticus</i> WAL3218)	0.4	ND
引朵消化鏈球菌(<i>Peptostreptococcus indolicus</i> GAI0915)	1.6	ND
普氏消化鏈球菌(<i>Peptostreptococcus prevotii</i> ATCC9321)	3.2	ND
微小微單胞菌(<i>Micromonas micros</i> VPI-5464-1)	1.6	ND
大消化鏈球菌(<i>Finagoldia magna</i> ATCC29328)	1.6	ND
解糖葡萄球菌(<i>Staphylococcus saccharolyticus</i> ATCC14953)	0.8	ND
中間鏈球菌(<i>Streptococcus intermedius</i> ATCC27823)	>6.5	3.2
群集鏈球菌(<i>Streptococcus constellatus</i> ATCC27735)	>6.5	3.2
極小奇異菌(<i>Atopobium parvulum</i> VPI0546)	1.6	ND
麻疹孿生球菌(<i>Gemella morbillorum</i> ATCC27824)	3.2	1.6
痤瘡初油酸桿菌(<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC11828)	6.5	6.5

顆粒丙酸桿菌(<i>Propionibacterium granulosum</i> ATCC25564)	6.5	6.5
緩慢埃氏菌(<i>Eggerthella lenta</i> ATCC25559)	>6.5	6.5
齧齒放線菌(<i>Actinomyces odontolyticus</i> GAI-91002)	>6.5	6.5
青春雙歧桿菌(<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ATCC15703)	>6.5	1.6
雙歧狀雙歧桿菌(<i>Bifidobacterium bifidum</i> JCM1255)	6.5	ND
短雙歧桿菌(<i>Bifidobacterium breve</i> ATCC15700)	6.5	6.5
長雙歧桿菌(<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC15707)	>6.5	6.5
假長雙歧桿菌 <i>Bifidobacterium pseudolongum</i> ATCC25526)	>6.5	6.5
脆弱擬桿菌(<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC25285)	6.5	3.2
多形擬桿菌(<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ATCC29741)	6.5	6.5
大腸桿菌(<i>Escherichia coli</i> ATCC25922)	>6.5	6.5
金黃葡萄球菌(<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923)	6.5	1.6

接種菌量： 10^8 /ml，培養時間：48 小時判定

備註：

厭氣消化鏈球菌 (*Peptostreptococcus anaerobius* ATCC27337)、非解糖消化鏈球菌 (*Peptostreptococcus asaccarolyticus* WAL3218)、吲哚消化鏈球菌 (*Peptostreptococcus indolicus* GAI0915)、普氏消化鏈球菌 (*Peptostreptococcus prevotii* ATCC9321)、微小微單胞菌 (*Micromonas micros* VPI-5464-1)、大消化鏈球菌 (*Finegoldia magna* ATCC29328)、解糖葡萄球菌 (*Staphylococcus saccharolyticus* ATCC14953)、極小奇異菌 (*Atopobium parvulum* VPI0546) 及雙歧狀雙歧桿菌 (*Bifidobacterium bifidum* JCM1255) 在 pH6.0 未繁殖。

表 34 對乳桿菌 (*Lactobacillus*) 及厭氣性革蘭氏陰性桿菌 (擬桿菌 (*Bacteroides*)) 之抗菌作用

細菌名	pH7.1 +/-0.3	pH5.8 +/-0.3
嗜酸乳桿菌 (<i>Lactobacillus acidophilus</i> JCM1132)	>6.5	>6.5
短乳桿菌 (<i>Lactobacillus brevis</i> ss. <i>brevis</i> JCM1059)	>6.5	>6.5
乾酪乳桿菌 (<i>Lactobacillus casei</i> ss. <i>casei</i> JCM1134)	>6.5	>6.5
植物乳桿菌 (<i>Lactobacillus plantarum</i> JCM1173)	>6.5	>6.5
洛氏乳桿菌 (<i>Lactobacillus reuteri</i> JCM1149)	>6.5	>6.5
唾液乳桿菌 (<i>Lactobacillus alivarius</i> ss. <i>salivarius</i> JCM1112)	>6.5	>6.5
脆弱擬桿菌 (<i>Bacteroides fragilis</i> GAI5562)	6.5	6.5
脆弱擬桿菌 (<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC25285)	6.5	6.5
脆弱擬桿菌 (<i>Bacteroides fragilis</i> NCTC10581)	6.5	3.2
脆弱擬桿菌 (<i>Bacteroides fragilis</i> GAI-0558), 青黴素耐性	6.5	6.5
脆弱擬桿菌 (<i>Bacteroides fragilis</i> GAI-7955), 青黴素耐性	6.5	3.2
脆弱擬桿菌 (<i>Bacteroides fragilis</i> GAI-10150), 青黴素耐性	6.5	6.5
脆弱擬桿菌 (<i>Bacteroides fragilis</i> GAI30079), 碳青黴烯 (carbapenem) 耐性	6.5	6.5
脆弱擬桿菌 (<i>Bacteroides fragilis</i> GAI30144), 碳青黴烯 (carbapenem) 耐性	6.5	6.5
普通擬桿菌 (<i>Bacteroides vulgatus</i> ATCC8482)	6.5	3.2
狄氏擬桿菌 (<i>Bacteroides distasonis</i> ATCC8503)	6.5	3.2
卵形擬桿菌 (<i>Bacteroides vulgatus</i> ATCC8483)	6.5	6.5
多形擬桿菌 (<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ATCC29741)	3.2	6.5
單形擬桿菌 (<i>Bacteroides uniformis</i> ATCC8482)	3.2	3.2

接種菌量： 10^8 /ml，培養時間：48 小時判定

表 35 對厭氣性革蘭氏陰性桿菌[擬桿菌(*Bacteroides*)、普氏菌(*Prevotella*)、卟啉單胞菌(*Porphyromonas*)、梭桿菌(*Fusobacterium*)、雙脊菌(*Bilophila*)及脫硫弧菌(*Desulfovibrio*)]，微好氣性菌[弧形桿菌(*Campylobacter*)、沙特雷拉菌(*Sutterella*)及二氧化碳嗜纖維菌(*Capnocytophaga*)]、及厭氣性革蘭氏陰性球菌[(韋容氏球菌(*Veillonella*))之抗菌作用

細菌名	pH7.0 +/-0.2	pH6.0 +/-0.2
埃氏擬桿菌(<i>Bacteroides eggerthii</i> ATCC27754)	1.6	3.2
解擬桿菌(<i>Bacteroides ureolyticus</i> NCTC10941)	0.8	0.8
纖小弧形桿菌(<i>Campylobacter gracilis</i> JCM8538)	3.2	3.2
瓦氏沙特雷拉菌(<i>Sutterella wadsworthensis</i> ATCC51579)	6.5	6.5
二路普氏菌(<i>Prevotella bivia</i> ATCC29303)	0.4	0.8
頰普氏菌(<i>Prevotella buccae</i> ATCC33574)	0.8	1.6
人體普氏菌(<i>Prevotella corporis</i> GAI91000)	0.4	0.8
解肝素普氏菌(<i>Prevotella heparinolytica</i> ATCC35895)	0.4	ND
中間普氏菌(<i>Prevotella intermedia</i> ATCC25611)	0.8	1.6
產黑普氏菌(<i>Prevotella melaninogenica</i> GAI5490)	3.2	3.2
口腔普氏菌(<i>Prevotella oralis</i> ATCC33269)	1.6	3.2
口部普氏菌(<i>Prevotella oralis</i> ATCC33573)	0.4	0.8
非解糖卟啉單胞菌(<i>Porphyromonas assaccharolytica</i> ATCC25260)	0.2	ND

牙齦卟啉單胞菌(<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC33277)	0.4	ND
具核梭桿菌(<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC25586)	1.6	1.6
可變梭桿菌(<i>Fusobacterium varium</i> ATCC8501)	1.6	3.2
壞疽梭桿菌(<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC25286)	0.8	0.8
瓦氏雙脊菌(<i>Bilophila wadsworthia</i> WAL7959)	0.2	ND
皮氏脫硫弧菌(<i>Desulfovibrio piger</i> DSM749)	0.4	ND
極小韋容氏球菌(<i>Veillonella parvula</i> ATCC10790)	0.8	1.6
異常韋容氏球菌(<i>Veillonella dispar</i> ATCC17748)	0.8	1.6
黃褐二氧化碳嗜纖維菌(<i>Capnocytophaga ochracea</i> GAI-5586)	1.6	0.4
脆弱擬桿菌(<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC25285)	6.5	6.5
多形擬桿菌(<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ATCC29741)	3.2	6.5

接種菌量： 10^8 /ml，培養時間：35℃/48 小時

備註：

解肝素普氏菌 (*Prevotella heparinolytica* ATCC35895)、非解糖卟啉單胞菌 (*Porphyromonas assaccharolytica* ATCC25260)、牙齦卟啉單胞菌 (*Porphyromonas gingivalis* ATCC33277)、瓦氏雙脊菌 (*Bilophila wadsworthia* WAL7959) 及皮氏脫硫弧菌 (*Desulfovibrio piger* DSM749)，在 pH6.0 之不含萃取物之對照培養基中未繁殖。

表 36 對有芽孢厭氣性菌(梭菌(*Clostridium*))之抗菌作用

細菌名	pH7.0 +/-0.3	pH6.0 +/-0.3
艱難梭菌(<i>Clostridium difficile</i> GAI10029)	1.6	0.4
索氏梭菌(<i>Clostridium sordellii</i> ATCC9714*)	6.5	1.6
敗毒梭菌(<i>Clostridium septicum</i> ATCC12464*)	3.2	1.6
產氣英膜梭菌(<i>Clostridium perfringens</i> ATCC13124*)	3.2	1.6
多枝梭菌(<i>Clostridium ramosum</i> ATCC25582)	1.6	0.8
梭狀梭菌(<i>Clostridium clostridiiforme</i> NCTC11224)	0.8	0.8
脆弱擬桿菌(<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC25285)	3.2(24hr)	3.2(24hr)
多形擬桿菌(<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ATCC29741)	3.2(24hr)	3.2(24hr)

*敗毒梭菌(*Clostridium septicum*)、索氏梭菌(*Clostridium sordellii*)及產氣英膜梭菌(*Clostridium perfringens*)均屬於氣壞疽菌群。

接種菌量： 10^7 /ml，培養：35°C/24 小時

總結

矮竹萃取物對於厭氣性菌群之抗菌譜系之概要變得明朗。假定對矮竹萃取物而言，MIC 為 3%以下時表示強抗

菌力，為 4 至 6% 時表示中度抗菌力，以及為 7% 以上時表示弱抗菌力，可如以下方式說明。

矮竹萃取物對於無芽孢厭氣性革蘭氏陽性球菌[大消化鏈球菌(*Finegoldia*)、微單胞菌(*Micromonas*)、消化鏈球菌(*Peptostreptococcus*)、奇異菌(*Atopobium*)及孿生球菌(*Gemella*)]顯示強抗菌力。然而，對微好氣性菌之咽峽炎族群只顯示弱抗菌力。

就無芽孢厭氣性革蘭氏陽性菌而言，對於初油酸桿菌(*Propionibacterium*)顯示中度抗菌力，對於放線菌(*Actinomyces*)、雙歧桿菌(*Bifidobacterium*)及乳桿菌(*Lactobacillus*)顯示弱抗菌力。就無芽孢厭氣性革蘭氏陰性桿菌言，對於普氏菌(*Prevotella*)、卟啉單胞菌(*Porphyromonas*)、嗜膽菌(*Bilophila*)、脫硫弧菌(*Desulfovibrio*)及梭桿菌(*Fusobacterium*)顯示強抗菌作用，對於擬桿菌(*Bacteroides*)及沙特雷拉菌(*Sutterella*)則顯示中度抗菌作用。對於厭氣性革蘭氏陰性球菌(韋容氏球菌(*Veillonella*))顯示強抗菌作用。梭菌(*Clostridium*)中，除對於索氏梭菌(*Clostridium sordellii*)顯示中度抗菌作用外，對於其餘全部呈現強抗菌作用。

[產業上利用之可能性]

本發明之抗菌劑，對於破傷風菌、念珠菌[例如白色念珠菌(*Candida albicans*)及光滑念珠菌(*Candida glabrata*)]、初油酸桿菌(*Propionibacterium*)屬菌、氣壞疽菌、各種耐性菌[例如新青黴素耐性金黃葡萄球菌(*methicillin-resistant*

Staphylococcus aureus)]以及陰道炎及細菌性陰道症相關微生物[例如大消化鏈球菌(Finegoldia)、微單胞菌(Micromonas)及消化鏈球菌(Peptostreptococcus)]等顯示強抗菌作用，對於放線菌(Actinomyces)、雙歧桿菌(Bifidobacterium)及乳桿菌(Lactobacillus)顯示弱抗菌作用；又，對於疱疹病毒等病毒顯示抗病毒作用，因而可做為抗菌性油墨、抗菌性塗料、抗菌性日本酒、抗菌性接著劑、抗菌性飲料、抗菌性食品、抗菌性調味料、動植物用抗菌劑、防腐劑、農業用殺菌劑、及農藥等。除含有矮竹萃取物外，另含有有機酸(例如蘋果酸)之本發明抗菌劑之抗菌作用尤其顯著。

七、申請專利範圍：

1. 一種抗菌劑，係含有具有矮竹單寧之矮竹萃取物(以固形物計 1 至 50 質量%)作為活性成分之抗菌劑，其中，矮竹萃取物係將選自由隱竹(*Sasa senanensis* (Franch. et Savat.))、山白竹(*Sasa veitchii*)、庫頁赤竹(*Sasa kurilensis*)、奧山竹(*Sasa cernua* Makino)、蝦夷深山竹(*Sasa tatewakiana* Makino)、粽竹(*Sasa palmata* (Bean) Nakai.)、野卑小竹(*Sasa yahikoensis* Makino.)、大葉竹(*Sasa megalophylla* Makino et Uchida.)、深山竹(*Sasa septentrionalis* Makino.)、仙台竹(*Sasa sendaica*.)、湯川竹(*Sasa kogasensis* Nakai)、阿波竹(*Sasa samaniana* Nakai.)、小奴可竹(*Sasa hibaconuca* Koidz.)所成組群之至少一種矮竹之葉，以 100 至 180°C 之水萃取而得；前述抗菌劑所針對之菌為選自由破傷風桿菌、痤瘡初油酸桿菌、氣壞疽菌、無芽胞厭氣性革蘭氏陽性球菌、無芽胞厭氣性革蘭氏陰性桿菌、以及細菌性陰道症相關微生物所成組群之至少一種。
2. 如申請專利範圍第 1 項之抗菌劑，其係復含有含有選自由蘋果酸、檸檬酸、乳酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、反丁烯二酸、醋酸、苯甲酸、苯基醋酸、水楊酸以及酚類所成組群之至少一種有機基者。
3. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之抗菌劑，其中，該氣壞疽菌係梭菌屬(*Clostridium*)。
4. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之抗菌劑，其中，無芽

胞厭氣性革蘭氏陽性球菌係大消化鏈球菌(*Finegoldia*)、微單胞菌(*Micromonas*)、消化鏈球菌(*Peptostreptococcus*)、奇異菌(*Atopobium*)或孿生菌(*Gemella*)。

5. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之抗菌劑，其中，無芽胞厭氣性革蘭氏陰性桿菌係普氏菌(*Prevotella*)、卟啉單胞菌(*Porphyromonas*)、嗜膽菌(*Bilophila*)、脫硫弧菌(*Desulfovivrio*)、或梭桿菌(*Fusobacterium*)。