

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2010-202583

(P2010-202583A)

(43) 公開日 平成22年9月16日 (2010.9.16)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 49/00 (2006.01)	A 6 1 K 49/00 A	4 C 0 8 3
A 6 1 K 8/66 (2006.01)	A 6 1 K 8/66	4 C 0 8 5
A 6 1 Q 11/00 (2006.01)	A 6 1 Q 11/00	
A 6 1 K 8/60 (2006.01)	A 6 1 K 8/60	
A 6 1 K 8/49 (2006.01)	A 6 1 K 8/49	

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 13 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2009-50014 (P2009-50014)
 (22) 出願日 平成21年3月4日 (2009.3.4)

(71) 出願人 391003576
 株式会社トクヤマデンタル
 東京都台東区台東1丁目38番9号
 (72) 発明者 宇梶 文緒
 東京都台東区台東1丁目38番9号 株式会社トクヤマデンタル内
 Fターム(参考) 4C083 AC542 AC851 AC852 AC862 AD221
 AD222 AD471 AD472 AD601 AD602
 BB21 BB24 BB55 CC41 EE36
 4C085 HH13 JJ01 KA40 KB56 KB79
 KB99 LL05

(54) 【発明の名称】 歯垢の染色液

(57) 【要約】

【課題】 齶蝕関連菌が存在する部位の歯垢を、迅速、簡便、確実に染色できる歯垢染色液を提供する。

【解決手段】 グリカナーゼ、および齶蝕関連菌の識別染色剤を含む水溶液からなる歯垢染色液を齶蝕関連菌を含む歯垢に接触させると、グリカナーゼが歯垢中のグリコシド結合を部分的に分解することで歯垢を柔脆化し、齶蝕関連菌の識別染色剤が歯垢内に浸透し歯垢の染色性が向上する。グリカナーゼとしては、例えばムタナーゼやデキストラナーゼが使用され、齶蝕関連菌の識別染色剤としては、例えばテトラゾリウム塩等の酸化還元色素が使用される。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

グリカナーゼ、および齲蝕関連菌の識別染色剤を含む水溶液からなることを特徴とする齲蝕関連菌を含む歯垢の染色液。

【請求項 2】

グリカナーゼの含有量が、染色液 1 mL あたり 5 ~ 4000 単位である請求項 1 記載の齲蝕関連菌を含む歯垢の染色液。

【請求項 3】

さらに、10 ~ 30 質量%のスクロースを含んでなる請求項 1 または 2 に記載の齲蝕関連菌を含む歯垢の染色液。

【請求項 4】

齲蝕関連菌の識別染色剤が、酸化還元色素である請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の齲蝕関連菌を含む歯垢の染色液。

【請求項 5】

酸化還元色素がテトラゾリウム塩である請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の齲蝕関連菌を含む歯垢の染色液。

【請求項 6】

酸化還元色素の含有量が、0.001 ~ 0.5 質量%である請求項請求項 4 または請求項 5 に記載の齲蝕関連菌を含む歯垢の染色液。

【請求項 7】

齲蝕関連菌の識別染色剤が、乳酸デヒドロゲナーゼ、還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド、電子移動剤、およびテトラゾリウム塩からなるものである請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の齲蝕関連菌を含む歯垢の染色液。

【請求項 8】

乳酸デヒドロゲナーゼの含有量が 2 ~ 500 単位 / mL であり、還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドの含有量が 0.00001 ~ 0.5 質量%であり、電子移動剤の含有量が 0.0001 ~ 0.5 質量%であり、テトラゾリウム塩の含有量が 0.001 ~ 0.5 質量%である請求項 7 に記載の齲蝕関連菌を含む歯垢の染色液。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、歯垢の染色液、詳しくは、齲蝕関連菌を含む歯垢の染色液に関する。

【背景技術】

【0002】

齲蝕は口腔内に存在する特定の細菌群、所謂、齲蝕関連菌の作用により発生することが知られている。齲蝕関連菌は歯垢中に存在するので、齲蝕予防のためには歯垢を歯磨き等により除去することが重要である。歯面上の歯垢は、そのままでは視認性が悪いため、歯垢染色用組成物により歯垢を染色し（赤色、青色に染める場合が多い）視認性を上げることが行なわれている。

【0003】

歯垢染色用組成物は、錠剤状のものもあるが、通常は、液状であり、口腔内に含むことで使用される。歯垢染色用組成物にはタール系の合成色素（例えば、赤色 3 号、赤色 105 号、青色 1 号等）が含有されている（特許文献 1）。また、合成色素の他に天然色素の使用も報告されている（特許文献 2、3）。歯垢は口腔内に存在する齲蝕関連菌以外の細菌によっても産生されるが、前記の色素は、歯垢中の齲蝕関連菌数の多少に関係なく、即ち、齲蝕発生リスクの大小に関係なく歯垢を染色する。

【0004】

一方、齲蝕発生のリスクに応じて歯垢を染め分ける歯垢染色用組成物が提案されている。齲蝕は齲蝕関連菌の産生する酸により歯垢の pH が酸性になることで発生するので、pH に応じて色が変わる色素により染色することで、歯垢中で pH の低い部分、即ちリスク

10

20

30

40

50

の高い部分を染め分ける歯垢染色用組成物が提案されている（特許文献４）。また、齲蝕原因菌の産生する酸の主成分は乳酸であることに着目し、酵素的方法により歯垢中の乳酸を染色する歯垢染色用組成物も提案されている（特許文献５）。

【０００５】

しかしながら、pHにより色調が変化する色素による染色は、色調変化があまり大きくないため、判別し難いという問題があった。

【０００６】

乳酸を染色する方法は、酵素反応を利用して歯垢中の乳酸を染色するため、酵素反応時間に比例して発色が濃くなるという性質を持つ。歯垢染色は数分以内で染色を完了させる必要があるが、このような短時間では染色が不十分であり、判別し難いとの問題があった。

10

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００７】

【特許文献１】特開平８－５９５１３号公報

【特許文献２】特開平７－６９８５２号公報

【特許文献３】特開２００４－２５６５０４号公報

【特許文献４】特開２００２－３４８２２４号公報

【特許文献５】特開２００４－１１３１２９号公報

【発明の概要】

20

【発明が解決しようとする課題】

【０００８】

本発明は上記事情に鑑みなされたものであり、迅速、確実、簡便に、齲蝕発生のリスクに応じて歯垢を染色できる歯垢染色液を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【０００９】

本発明者等は上記課題を解決するために、鋭意検討してきた。その結果、歯垢にグリカナーゼを作用させて部分的に歯垢中のグリコシド結合を分解することで歯垢を柔脆化し、外部からの歯垢内部への試薬、酵素等の浸透性を上げることで、短時間で明瞭に齲蝕関連菌の存在する歯垢を染色できることを見出した。そして、更に検討を進め、本発明を完成

30

【００１０】

即ち、本発明は、グリカナーゼ、および齲蝕関連菌の識別染色剤を含む水溶液からなることを特徴とする齲蝕関連菌を含む歯垢の染色液である。

【発明の効果】

【００１１】

本発明の歯垢染色液を使用することで、迅速、簡便に齲蝕関連菌の存在する歯垢を染色することが可能になり、例えば、歯牙上の歯垢を本発明の歯垢の染色液により染色すれば、口腔内で齲蝕発生リスクの高い部位を簡便に特定することが可能になる。

【発明を実施するための形態】

40

【００１２】

本発明における齲蝕関連菌とは、口腔内に存在し齲蝕との関連性が指摘されている細菌を指す。具体例として、ストレプトコッカス・ミュータンス (*Streptococcus mutans*)、ストレプトコッカス・ソブリヌス (*Streptococcus sobrinus*) 等のミュータンスレンサ球菌群に属する細菌、ラクトバチラス属 (*Lactobacillus*)、アクチノミセス属 (*Actinomyces*) 等の細菌を挙げることができる。本発明の歯垢染色液は、これら齲蝕関連菌の中でも、特に齲蝕との関連性が強いミュータンスレンサ球菌の存在する歯垢の染色に好適に使用される。

【００１３】

歯垢は齲蝕関連菌だけでなく、ストレプトコッカス・サリバリウス (*S. saliv*

50

rius)、ストレプトコッカス・サンギス(*S. sanguis*)、ストレプトコッカス・ミティス(*S. mitis*)、ストレプトコッカス・アンギノサス(*S. anginosus*)、ストレプトコッカス・ゴルドニイ(*S. gordoni*)、ストレプトコッカス・オラリス(*S. oralis*)等のその他の口腔内レンサ球菌によっても産生される。通常、口腔内の齲蝕関連菌はこの歯垢中に存在する。

【0014】

歯垢は、単糖がグリコシド結合により連結している多糖であり、主に 1-3 グルカン(ムタン)と 1-6 グルカン(デキストラン)から構成されている(武笠英彦監修・う蝕細菌の分子生物学-研究の成果と展望-、104-111ページ、第1版、クインテッセンス出版、1997年)。歯垢は物理的バリアーとして作用し、外部から歯垢内への物質の浸透を妨げるという性質を持つ。

10

【0015】

本発明におけるグリカナナーゼとは、多糖のグリコシド結合を加水分解する酵素を指し、公知の各種のエンド型、エキソ型グリカナナーゼを制限無く使用できる。具体例として、グルカンを加水分解するグルカナナーゼ、マンナンを加水分解するマンナーゼ、フルクタンを分解するフルクタナーゼ等が表示できる。これらの酵素は分解するグリコシド結合の結合様式によりさらに細分化できる。グルカナナーゼを例にさらに細分化すると、1-4 結合を切断する 1, 4 グルカナナーゼ(アミラーゼ)、1-3 結合を切断する 1, 3 グルカナナーゼ(ムタナーゼ)、1-6 結合を切断する 1, 6 グルカナナーゼ(デキストラナーゼ)等が表示できる。前記のように歯垢の主成分はムタンとデキストランなので、ムタナーゼ及び/またはデキストラナーゼが好適に使用できる。

20

【0016】

好適な酵素を具体的に例示すると、市販のデキストラナーゼ(例えば、シグマアルドリッジ ジャパン カタログ No. D8144)の他、酵素ハンドブック(丸尾文治ら監修・第1版・朝倉書店・1982年)497ページや、う蝕細菌の分子生物学(武笠英彦監修・第1版・クインテッセンス出版・1997年)226-238ページに記載されている、*Chaetomium gracile*のデキストラナーゼ、*Aspergillus nidulans*のムタナーゼ、*Trichoderma viride*のムタナーゼ等が挙げられる。または、デキストラナーゼとアミラーゼの両方の活性を持つ D X M A a s e (Biosci. Biotechnol. Biochem. 64巻, 2000年, 223-228ページ)を使用しても良い。これらの酵素は単独で用いてもよいし、複数の酵素を混合して使用しても良い。

30

【0017】

本発明の歯垢の染色液を歯垢に接触させると、染色液中に含まれるグリカナナーゼが歯垢に作用して歯垢中のグリコシド結合を部分的に分解し歯垢を柔脆化するので、染色液中の齲蝕関連菌の識別染色剤が歯垢内へ浸透しやすくなる。

【0018】

本発明の歯垢の染色液は、口腔内で、即ち歯牙上に存在する歯垢に対して使用しても良いし、口腔外で、例えば、印象材等に付着させ採取した歯垢に対して使用しても良い。印象材に歯垢を付着させる方法は、歯科診療で通常実施される印象採得の手順に従って、通常使用される印象材料を用いて実施すれば良い。

40

【0019】

前記歯垢の柔脆化により歯垢の染色に要する時間を短縮することができるが、この際、グリカナナーゼをあまり強く作用させすぎると、一部の歯垢が分解されすぎて歯牙または歯垢を歯牙より採取する際に付着させた部材上から遊離するようになる。その場合、齲蝕発生リスクの高い部位の同定が困難になるため、歯垢へのグリカナナーゼの作用は、斯様に歯垢を遊離させずに付着対象に残留する範囲で行うのが好ましい(グリカナナーゼを作用させる歯垢の90%以上が、その付着対象に残留する状態で、作用させるのが良好である)。詳述すると、歯牙上の歯垢を柔脆化する場合には、大部分が歯牙に残留した状態で該状態に変性させるのが好適である。また、例えば、印象採得により印象材に付着させた歯垢の

50

ように、歯牙上より採取した歯垢を柔脆化する場合は、歯垢を歯牙より採取する際に付着させた部材上に大部分の歯垢が残留した状態で変性させるのが好適である。

【0020】

歯垢の柔脆化に使用する好適なグリカナーゼ量は、一般には、処理する歯垢1mgに対して、0.5~400単位の範囲から採択される。更に、付着対象から遊離することなく、且つ染色に要する時間を有意に短縮できるだけ十分に分解させる観点からは、処理する歯垢1mgに対して、2~200単位の範囲であるのが好ましい。口腔内における歯牙上の歯垢や該歯牙上より採取した歯垢を対象とする通常の使用範囲では、本発明の歯垢の染色液は、1mLあたり5~4000単位の範囲で含有させるのが一般的である。更に、前記好適理由からは、染色液1mLあたり20~2000単位とするのが好ましい。染色液を、口腔内で歯牙上に存在する歯垢に対して使用する場合であれば、患者の負担という観点から、なるべく短時間で染色できるようグリカナーゼ量は高活性に含有させるのが好ましく、染色液1mLあたり100単位以上にするのがより好ましい。

10

【0021】

複数のグリカナーゼを含有させる場合は、グリカナーゼの合計量が前記の範囲内になるようにすれば良い。なお、1単位とは、歯垢の柔脆化の反応条件下で(反応温度、pH)、1分間にグルコース1 μ molに相当する遊離還元糖を生じる酵素量である。

【0022】

グリカナーゼ活性を一定に保ち、歯垢の柔脆化の程度を制御するという目的から、グリカナーゼによる歯垢の柔脆化は一定範囲内のpHで実施することが好ましい。したがって、上記グリカナーゼの溶解した染色液は、酵素活性と酵素の安定性が高いとの理由から、pH4.0~9.0の範囲、更に好適にはpH5.0~8.0の範囲に調製するのが好ましい。この目的のために、本発明の歯垢の染色液は、緩衝液を含有することが望ましい。緩衝液は、pH4.0~9.0の範囲内に緩衝能を持つ公知の物が制限無く使用できる。具体的には、例えば、グリカナーゼ、および齶蝕関連菌の識別染色剤等の染色液の各成分を、0.01~0.5Mの濃度の、トリス塩酸緩衝液、リン酸緩衝液、酢酸緩衝液、重炭酸緩衝液、GOODの緩衝液等に懸濁し、歯垢染色液を調製すれば良い。

20

【0023】

本発明の歯垢染色液は、更に、齶蝕関連菌の識別染色剤を含んでなる。ここで、齶蝕関連菌の識別染色剤とは、歯垢中の齶蝕関連菌が存在している部位を染色することのできる染色剤であれば、特に制限無く公知のものを使用できる。このような染色剤を例示すると、着色粒子または色素等で標識された齶蝕関連菌特異的抗体、齶蝕関連菌の作用により発色する染色剤、齶蝕関連菌の代謝産物を染色する染色剤等が挙げられる。歯垢中には齶蝕関連菌以外にも様々な細菌が存在しているが、標識された齶蝕関連菌特異的抗体を用いた場合、抗体は齶蝕関連菌に優先的に結合するので齶蝕関連菌の特異的な染色が可能になるが、一般的に標識抗体による染色では洗浄操作が必要となるので操作が煩雑になる。一方、齶蝕関連菌の作用により発色する染色剤、齶蝕関連菌の代謝産物の染色剤は、齶蝕関連菌以外の細菌の代謝を抑制する条件にしないと齶蝕関連菌以外の細菌も染色されてしまうという性質を持つが、齶蝕関連菌以外の細菌の代謝を抑制することは比較的容易に実施でき、そして、洗浄の必要がないため簡便で短時間に染色を行えるので、特に、口腔内で歯垢を染色する場合には、より好適な方法である。

30

40

【0024】

該齶蝕関連菌の識別染色剤の含有量は、後述するように使用する染色剤の種類により異なり、それぞれに応じて染色させる歯垢に含有される齶蝕関連菌を染色させるに有効量であれば良い。

【0025】

以下、(1)齶蝕関連菌の代謝反応を利用した識別染色剤、(2)齶蝕関連菌の代謝産物に作用する識別染色剤について説明する。

【0026】

(1)齶蝕関連菌の代謝反応を利用した識別染色剤

50

一般的に細菌は、酸化還元反応により生存に必要なエネルギーを得ているので、識別染色剤として酸化還元色素を用いることで齶蝕関連菌の存在する歯垢を染色することができる。この際、齶蝕関連菌以外の細菌の代謝を阻害するような条件下で染色を行なうことが重要である。

【0027】

酸化還元色素とは、酸化または還元により色調が変化する色素を指し、従来公知の色素を何ら制限無く使用することができる。このような酸化還元色素の具体例として、3-(4,5-ジメチル-2-チアゾリル)2,5-ジフェニル-2H-テトラゾリウムプロマイド(以下MTTと略す場合がある)、2-(4-ヨードフェニル)-3-(2,4-ジニトロフェニル)-5-(2,4-ジスルフォフェニル)-2H-テトラゾリウム1ナトリウム、3-3'-(1,1'-ピフェニル-4,4'-ジイル)-ビス(2,5-ジフェニル-2H-テトラゾリウムクロライド)等のテトラゾリウム塩、レザズリンナトリウム等が表示できる。これらの酸化還元色素中で、レザズリンは還元により色調が変化するが(青色~紅色)、テトラゾリウム塩は、ほぼ無色の状態から青色に発色するので、識別性の点から特に好適である。これら酸化還元色素は、0.001~0.5質量%、より好ましくは0.01~0.06質量%の濃度で歯垢染色液に含有させるのが一般的である。

10

【0028】

バシトラシン(0.1~0.3単位/mL)等の抗菌剤、10~30質量%スクロースの存在下では齶蝕関連菌以外の細菌の代謝が著しく阻害される。酸化還元色素を識別染色剤として使用する場合は、本発明の歯垢の染色液に、これら抗菌剤及び/またはスクロースを共存させると齶蝕関連菌を特異的に染色することができる。試薬の安定性という点から、スクロースが好適に使用できる。

20

【0029】

(2) 齶蝕関連菌の代謝産物に作用する識別染色剤

齶蝕関連菌の代謝産物として、乳酸が好適に利用できる。歯垢中の乳酸の染色法は、公知の方法に従って実施すれば良い。例えば、乳酸デヒドロゲナーゼ、還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド、電子移動剤、およびテトラゾリウム塩からなる識別染色剤により染色することができる(特許文献5)。この場合の好適な識別染色剤組成を例示すると、2~500単位/mL、より好ましくは10~300単位の乳酸デヒドロゲナーゼ、0.00001~0.5質量%、より好ましくは0.001~0.1質量%の還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド、0.0001~0.5質量%、より好ましくは0.001~0.1質量%の電子移動剤(具体的には、例えば、メルドラブルー、1-メトキシフェナジンメトスルファート等)0.001~0.5質量%、より好ましくは0.01~0.06質量%のテトラゾリウム塩、である。

30

【0030】

上記詳述した酸化還元色素、または乳酸を利用した識別染色剤のどちらを用いても、歯垢中の齶蝕関連菌の存在する部位を染色できるが、調製が容易で、識別しやすいとの理由から、酸化還元色素がより好適に使用できる。

【0031】

また、操作性を上げるために、本発明の歯垢の染色液に、例えば、グリセロール、カルボキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ポリエチレングリコール、ポリビニルアルコール等の水溶性分子を0.1~30質量%となるよう混合し、染色液の粘度を上げて良い。

40

【0032】

本発明の歯垢染色液の使用方法について以下説明する。本発明の歯垢の染色液による歯垢の染色は、適量の歯垢染色液を歯垢に一定時間接触させることで実施される。

【0033】

前記のように、本発明の歯垢染色液は、口腔内で(即ち歯牙上に存在する歯垢に対して)、及び、口腔外で(例えば、印象材等に付着させ採取した歯垢に対して)使用できる。口腔内で使用する場合、染色する際の温度は一般的に25~40程度の範囲である。口

50

腔外の場合は、任意の温度で使用できるが、グリカナーゼの反応至適温度から大幅に外れると歯垢の柔脆化に支障をきたすので、20～40の範囲内で使用することが一般的である。染色に要する時間は、口腔内で歯垢を染色する場合は、患者の負担という観点から、なるべく短時間であることが望ましく、5分以内、さらに好適には2分以内であることが好ましい。歯垢を口腔外で染色する場合は、特に染色時間に制限はないが、再現性、作業効率の観点から、2時間以内で好適に実施される。

【0034】

本発明の歯垢染色液を歯垢に接触させた際に発生するグリカナーゼによる歯垢の柔脆化の程度は、染色液を歯垢に作用させる際の、時間に依存して変化する。従って、本発明の歯垢の染色液中に含まれるグリカナーゼ量と、本発明の歯垢の染色液による歯垢の染色に要する時間の好適な範囲は、相互に依存して変化する。即ち、グリカナーゼ量を増やせば好適な染色時間は短縮され、グリカナーゼ量を減らせば好適な染色時間は延長される。両者の好適な範囲を、グリカナーゼ量(単位)と反応時間(分)の積(以下「酵素反応時間量」という場合がある)で示すと、200～3000、より好適には500～1000である。

10

【実施例】

【0035】

以下、実施例により本発明を具体的に説明するが、本発明は以下の実施例により限定されるものではない。

【0036】

20

実施例1～12 [酸化還元色素を含有する染色液による歯垢の染色]

表1に示す組成の歯垢の染色液を調製した。デキストラナーゼはシグマアルドリッチ社から、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、MTT、レサズリンナトリウム、スクロースは和光純薬より購入した。

【0037】

歯垢の染色液を歯面に塗布し、一定時間後に染色を肉眼で確認した(表2)。尚、染色性は以下のように判定した。○：染色部分が明確に区別できる。△：染色部分が区別できる、×：染色部分が区別できるがあまり明確でない、×：染色部分が区別できない(染色されない)。

【0038】

30

各実施例で染色された部分の歯垢を採取し、培養法によりミュータンスレンサ球菌数を測定した。歯垢を滅菌生理食塩水に懸濁し、常法に従って、ミチス・サリバリウス・バシトラシン(以下、「MSB」と表記することもある。)固体培地上に添加し、37℃、嫌気条件下、24～48時間培養し、培地上に生じたコロニー数をカウントし、ミュータンスレンサ球菌濃度を個/mLとして算出した。その結果、染色された部分の歯垢1mgあたりのミュータンスレンサ球菌数は、平均して 8×10^5 個/mLで、殆ど染色されなかった部分の歯垢1mgあたりのミュータンスレンサ球菌数は平均して 5×10^3 個/mLであった。

【0039】

【表 1】

	テキストラナーゼ [®] (単位/mL)	酸化還元色素 (質量%)	スクロース (質量%)	緩衝液(M)
実施例 1	100	MTT(0.03)	20	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 2	500	MTT(0.03)	20	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 3	1000	MTT(0.03)	20	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 4	2000	MTT(0.03)	20	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 5	4000	MTT(0.03)	20	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 6	1000	MTT(0.005)	20	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 7	1000	MTT(0.01)	20	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 8	1000	MTT(0.05)	20	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 9	1000	MTT(0.03)	20	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 10	1000	MTT(0.03)	10	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 11	1000	MTT(0.03)	30	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 12	1000	リサスリン(0.03)	20	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
比較例 1	0	MTT(0.03)	20	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)

10

20

30

【 0 0 4 0 】

【表 2】

	染色時間	染色性
実施例 1	1 分	△
	3 分	○
	5 分	◎
実施例 2	1 分	◎
実施例 3	1 分	◎
	3 分	○
	5 分	△
実施例 4	30 秒	◎
実施例 5	20 秒	○
	1 分	△
実施例 6	1 分	○
実施例 7	1 分	◎
実施例 8	1 分	◎
実施例 9	1 分	○
実施例 10	1 分	○
実施例 11	1 分	○
実施例 12	1 分	○
比較例 1	5 分	×

10

20

【 0 0 4 1 】

実施例 13 ~ 15 [酸化還元色素を含有する染色液による、口腔より採取した歯垢の染色]

表 3 に示す組成の染色液を調製し、アルジネート系印象材（トクヤマデンタル社製）により常法に従って印象採得を行い、印象材に付着した歯垢を 37 にて染色した（表 4）。染色性の判定は実施例 1 ~ 12 と同様に行なった。また、染色された部分と染色されなかった部分の歯垢 1 mg あたりのミュータンスレンサ球菌数を実施例 1 ~ 12 と同様の方法にて MSB 固体培地により調べたところ、それぞれ 8×10^5 個 / mL と 5×10^3 個 / mL であった。

30

【 0 0 4 2 】

【表 3】

	デキストラナーゼ (単位/mL)	酸化還元色素 (質量%)	スクロース (質量%)	緩衝液(M)
実施例 13	5	MTT(0.03)	20	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 14	20	MTT(0.03)	20	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 15	100	MTT(0.03)	20	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
比較例 2	0	MTT(0.03)	20	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)

10

【 0 0 4 3 】

【表 4】

	染色時間	染色性
実施例 13	1 時間	○
実施例 14	30 分	◎
実施例 15	10 分	◎
	3 分	○
比較例 2	2 時間	×~△

20

【 0 0 4 4 】

比較例 1 ~ 2 [酸化還元色素を含有する染色液による、口腔内外での歯垢の染色]
表 1 に示す組成の染色液を調製し (比較例 1) 、実施例 1 ~ 1 2 と同様の方法により口腔内の歯垢を染色した (表 2) 。また、表 3 に示す組成の染色液を調製し (比較例 2) 、
実施例 1 3 ~ 1 5 と同様の方法により印象材に付着した歯垢を染色した (表 4) 。染色液にデキストラナーゼを添加しないと染色部分を区別することは困難であった。

30

【 0 0 4 5 】

実施例 1 6 ~ 2 2 [乳酸染色剤を含有する染色液による口腔内の歯垢の染色]
表 5 に示す組成の染色液を調製した。デキストラナーゼはシグマアルドリッチ社から、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、乳酸デヒドロゲナーゼ、還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド、1-メトキシフェナジンメトスルファート、MTT、スクロースは和光純薬より購入した。

【 0 0 4 6 】

歯垢の染色液を歯面に塗布し、一定時間後に染色を肉眼で確認した (表 6) 。尚、染色性の判定は実施例 1 ~ 1 2 と同様に行なった。また、染色された部分と染色されなかった部分の歯垢 1 m g あたりのミュータンスレンサ球菌数は、実施例 1 ~ 1 2 と同様の方法にて M S B 固体培地上のコロニーをカウントしたところ、それぞれ 8×10^5 個 / m L と 5×10^3 個 / m L であった。

40

【 0 0 4 7 】

【表 5】

	デキストラナーゼ [*] (単位/mL)	乳酸デヒドロ ゲナーゼ [*] (単位/mL)	MTT (質量%)	還元型ニコチンアミド [*] ジヌクレオチド [*] (質量%)	1-オキシフェナジン オスルファート (質量%)	緩衝液(M)
実施例 16	100	100	0.08	0.05	0.02	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 17	500	100	0.08	0.05	0.02	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 18	1000	100	0.08	0.05	0.02	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 19	2000	100	0.08	0.05	0.02	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 20	4000	100	0.08	0.05	0.02	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 21	1000	50	0.08	0.05	0.02	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 22	1000	300	0.08	0.05	0.02	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
比較例 3	0	100	MTT(0.08)	0.05	0.02	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)

【 0 0 4 8 】

【表 6】

	染色時間	染色性
実施例 16	5 分	○
実施例 17	2 分	○
実施例 18	2 分	△
実施例 18	5 分	△
実施例 19	30 秒	○
実施例 20	20 秒	○
実施例 20	1 分	△
実施例 21	2 分	○
実施例 22	2 分	○
比較例 3	5 分	×

【 0 0 4 9 】

実施例 2 3 ~ 2 5 [乳酸染色剤を含有する染色液による口腔より採取した歯垢の染色]

表 7 の組成の歯垢の染色液を調製し、実施例 1 3 ~ 1 5 と同様の方法にて口腔内より採取した歯垢を染色した(表 8)。また、染色された部分と染色されなかった部分の歯垢 1 mg あたりのミュータンスレンサ球菌数は、実施例 1 ~ 1 2 と同様の方法にて M S B 固体培地上のコロニーをカウントしたところ、それぞれ 8×10^5 個/mL と 5×10^3 個/mL であった。

【 0 0 5 0 】

10

20

30

40

50

【表 7】

	デキストラナーゼ ^g (単位/mL)	乳酸デヒドロ ゲナーゼ ^g (単位/mL)	MTT (質量%)	還元型ニコチンアミド ^g ジヌクレオチド ^g (質量%)	1-オキシフェナジン ^g オスルファート (質量%)	緩衝液(M)
実施例 23	5	100	0.03	0.05	0.02	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 24	20	100	0.03	0.05	0.02	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
実施例 25	100	100	0.03	0.05	0.02	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)
比較例 4	0	100	0.03	0.05	0.02	トリス塩酸 pH7.0 (0.05)

10

【 0 0 5 1 】

【表 8】

	染色時間	染色性
実施例 23	2 時間	○
実施例 24	30 分	○
実施例 25	10 分	○
比較例 4	2 時間	×~△

20

【 0 0 5 2 】

比較例 3 ~ 4 [乳酸染色剤を含有する染色液による口腔内外での歯垢の染色]

表 5 に示す組成の染色液を調製し (比較例 3)、実施例 1 ~ 1 2 と同様の方法により口腔内の歯垢を染色した (表 6)。また、表 7 に示す組成の染色液を調製し (比較例 4)、実施例 1 3 ~ 1 5 と同様の方法により印象材に付着した歯垢を染色した (表 8)。染色液にデキストラナーゼを添加しないと染色部分を区別することは困難であった。

30

フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)	
A 6 1 P	1/02	(2006.01)	A 6 1 P	1/02	
C 0 9 B	50/02	(2006.01)	C 0 9 B	50/02	
C 0 9 B	67/20	(2006.01)	C 0 9 B	67/20	F
C 0 9 B	67/44	(2006.01)	C 0 9 B	67/44	A
C 0 9 B	19/00	(2006.01)	C 0 9 B	19/00	