

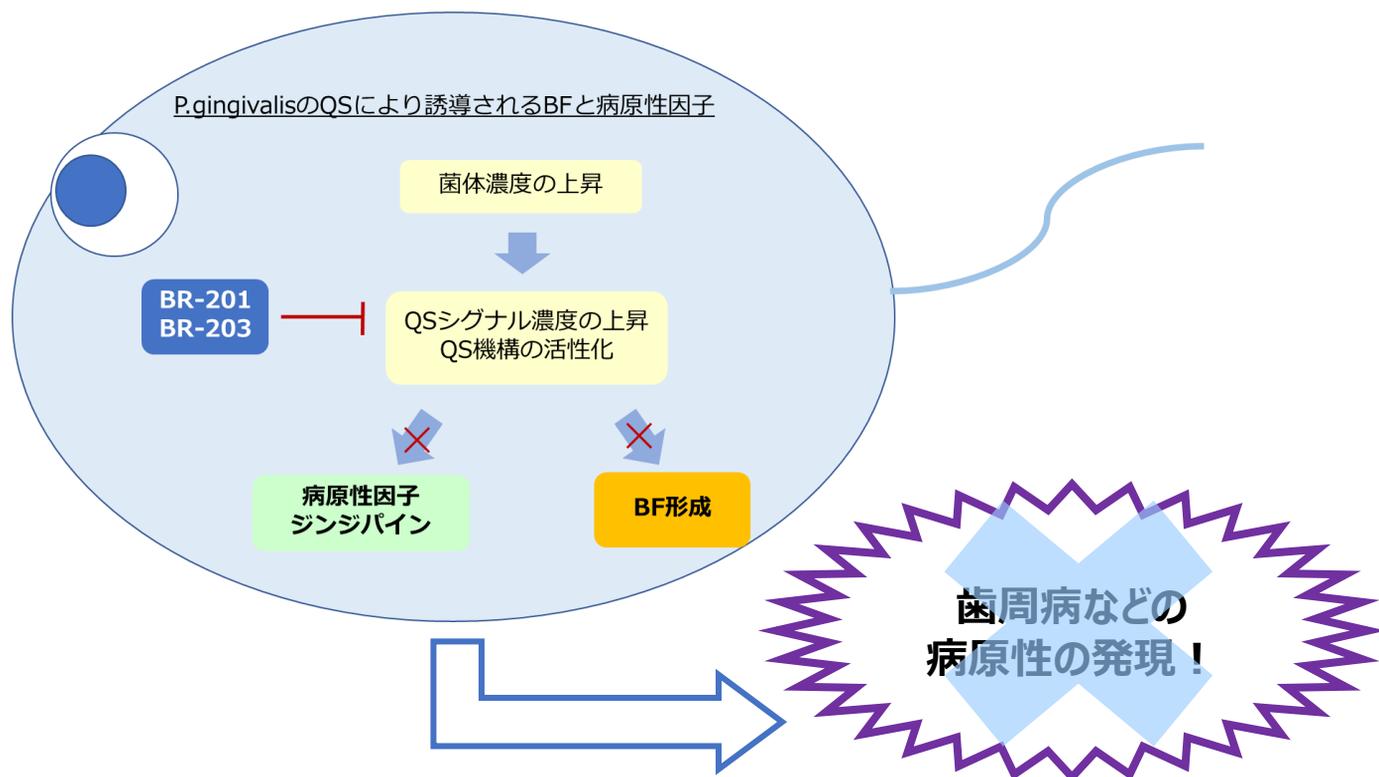
# 抗バイオフィーム剤 BR-201,203 (食品添加物組成)

- クオラムセンシング制御技術で  
バイオフィーム(BF)の形成を抑制
- ✓ 口腔ケア用品に配合して抗BF効果付与
  - ✓ 歯周病菌のBF抑制
  - ✓ 歯周病原因物質の抑制

## クオラムセンシング阻害(※)による抗バイオフィーム効果 & 歯周病原因物質の抑制効果

※細菌同士のシグナル伝達(クオラムセンシング:QS)を遮断し、BFの形成や病原因子の産生を阻害

## バイオフィームを抑制して 歯周病対策!



歯周病には人獣共通の歯周病菌*P.gingivalis*のBF形成や病原因子(ジンジパイン)が関与しており、BF形成およびジンジパインの産生はQSによって制御されていることが報告されています<sup>1)</sup>。

BR-201, BR-203はBF形成とジンジパイン活性を抑制するため歯周病の予防に期待できます。

1) 日歯周誌 63 (4):183-189, 2021

# 抗バイofilm剤 BR-201,203 (食品添加物組成)

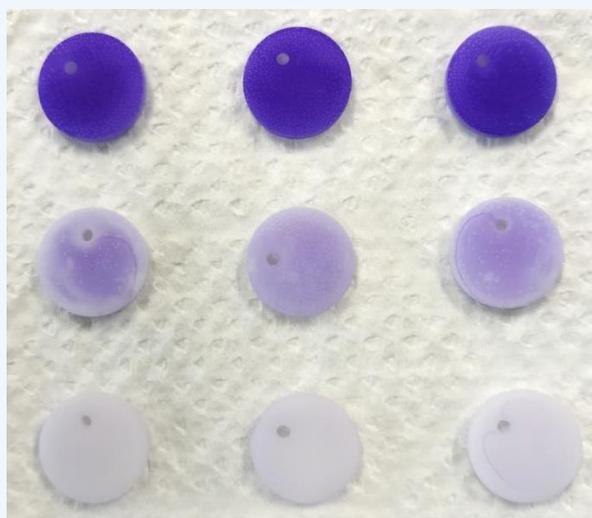
クオラムセンシング制御技術で  
バイofilm(BF)の形成を抑制

- ✓ 口腔ケア用品に配合して抗BF効果付与
- ✓ 歯周病菌のBF抑制
- ✓ 歯周病原因物質の抑制

**BF  
抑制**

歯周病菌*P.gingivalis*のBF形成を  
抑制！

	BF形成率
Blank (BR-201無添加)	100 %
0.17 % BR-201	14 %
0.27 % BR-201	6 %



HAディスクのCV染色写真  
紫色部分がBFを示す

## 評価方法

- ・ヒドロキシアパタイト (HA) ディスクを24ウェルプレートに設置
- ・そこに*P.gingivalis*の菌液を添加し、BR-201を終濃度0.17%,0.27%で添加
- ・37℃、24時間、静置培養にてBFを形成
- ・クリスタルバイオレット (CV) でBFを染色
- ・染色されたBFからCVを溶出して溶出液の吸光度を測定
- ・CVの吸光度からBF形成率を算出

# 抗バイオフィーム剤 BR-201,203 (食品添加物組成)

クオラムセンシング制御技術で  
バイオフィーム(BF)の形成を抑制

- ✓ 口腔ケア用品に配合して抗BF効果付与
- ✓ 歯周病菌のBF抑制
- ✓ 歯周病原因物質の抑制

歯周病  
対策

既存の殺菌剤と同等以上の  
BF抑制効果！

BF形成抑制率 (%)	P.aeruginosa	P.gingivalis
BR-201 0.27 %	92.2	91.6
BR-203 0.12 %	96.6	94.7
ヒノキチオール 50 ppm (※1)	66.3	91.7
塩化セチルピリジニウム(CPC) 500 ppm (※2)	0	93.7
イソプロピルメチルフェノール 1000 ppm (※2)	0	-

## 評価方法

- ・12ウェルプレートに各種BF形成菌、BR-201、203、各種殺菌剤を添加
  - ・各菌種に適した培養条件（温度、時間、振盪または静置）にてBFを形成
  - ・クリスタルバイオレット（CV）でBFを染色
  - ・CVの吸光度をBF量として測定
- ※薬剤無添加のBF形成抑制率を0%とした。

(※1) BR-201と同程度のコスト（推定）での濃度

(※2) 医薬部外品として添加可能な上限濃度

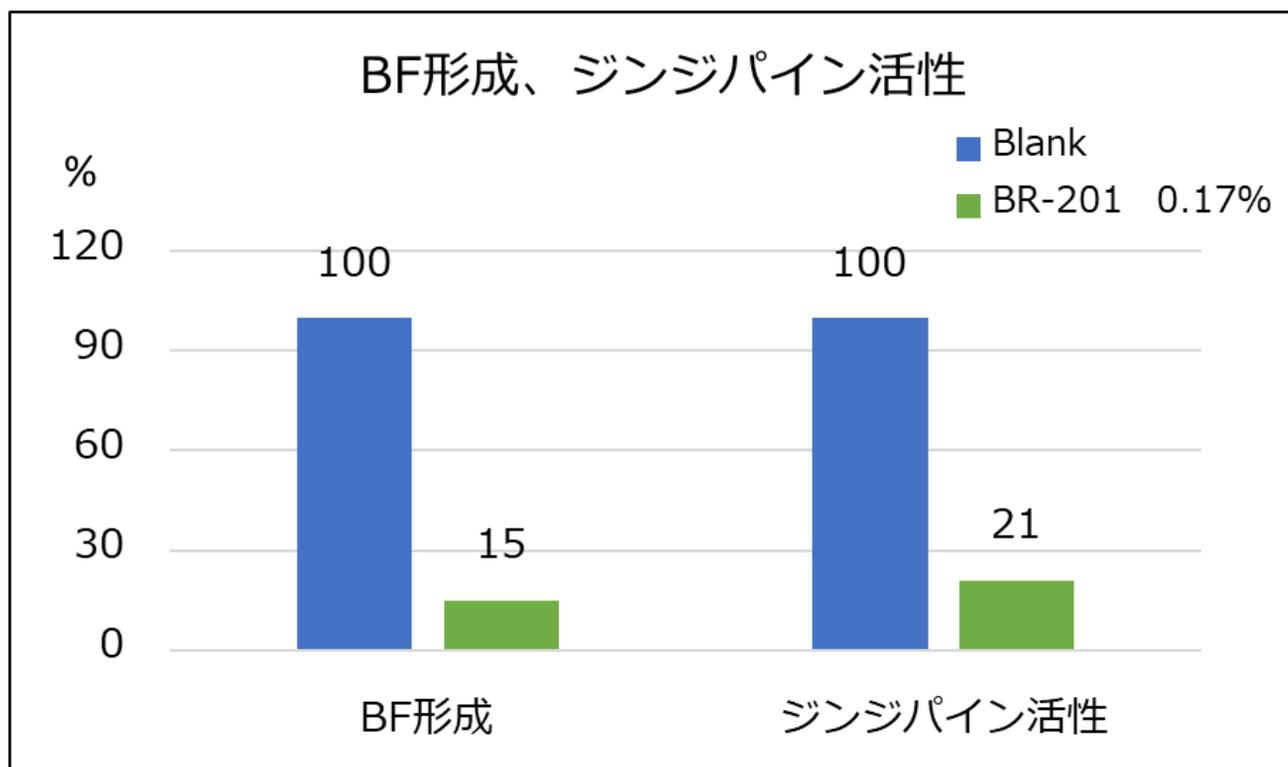
# 抗バイオフィーム剤 BR-201,203 (食品添加物組成)

クオラムセンシング制御技術で  
バイオフィーム(BF)の形成を抑制

- ✓ 口腔ケア用品に配合して抗BF効果付与
- ✓ 歯周病菌のBF抑制
- ✓ 歯周病原因物質の抑制

歯周病  
対策

## 歯周病の病原因子ジンジパインの 活性を抑制！



### ジンジパイン活性の評価方法

- *P.gingivalis*の菌液にBR-201を0.17%になるように添加
- 37℃、24時間、静置培養によりBF形成、ジンジパイン生産
- BAPNA(cas no.911-77-3)をジンジパインの基質として上記培養液に添加して、30℃、pH8.0において、15分反応させた後に、遊離してくるp-ニトロアニリンの吸光度405nmを測定、同時に、BF形成量をCV染色法にて測定

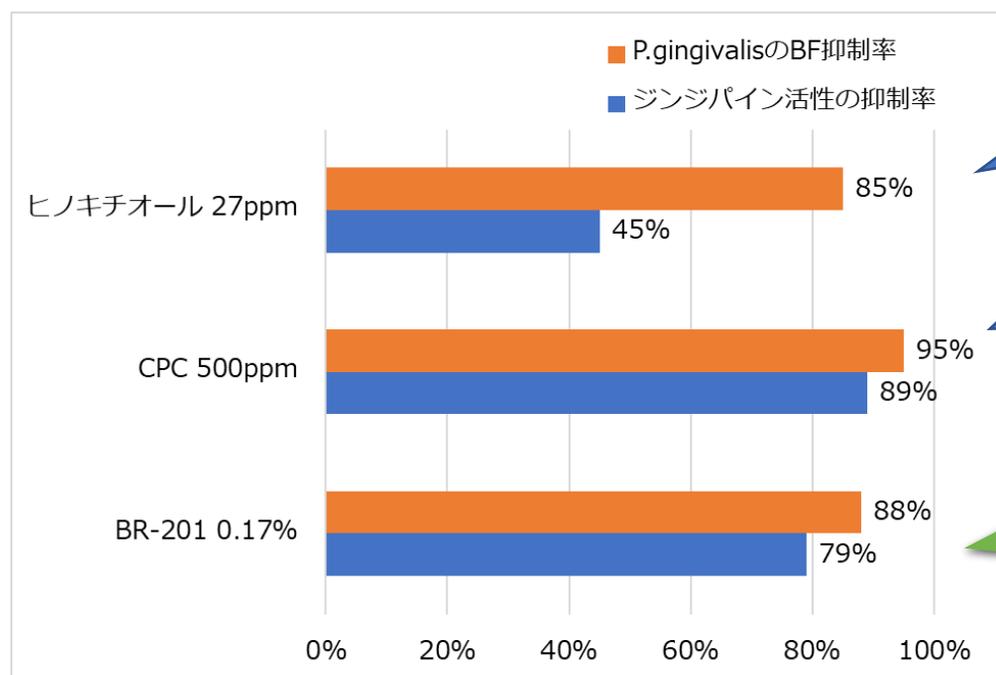
# 抗バイオフィーム剤 BR-201,203 (食品添加物組成)

## クオラムセンシング制御技術で バイオフィーム(BF)の形成を抑制

- ✓ 口腔ケア用品に配合して抗BF効果付与
- ✓ 歯周病菌のBF抑制
- ✓ 歯周病原因物質の抑制

### 歯周病 対策

## 歯周病の病原因子ジンジパインの 活性を抑制！



ジンジパイン活性の抑制効果は弱い

P.gingivalisには有効だが、菌種によってはBFを抑制できず

ジンジパインの活性を抑制！  
複数の菌によるBFを抑制！

#### 酵素活性の測定条件

BAPNA (cas no.911-77-3) を基質とし、30℃、pH8.0において、30分反応後に遊離してくるp-ニトロアニリンの吸光度405nmを測定。

薬剤無添加のジンジパイン活性の抑制率を0%とした。

#### BR-201、ヒノキチオール、CPCの抗BF効果およびジンジパインの活性を比較

- ・ヒノキチオールはBF形成は抑制したが、ジンジパイン活性は抑制できなかった。
- ・CPCは強い殺菌作用でBF形成、ジンジパイン活性の両方を強く抑制した。しかしながら、複数の菌で形成されるBFの場合、効果の低下が予想される。
- ・BR-201はBF形成およびジンジパイン活性を抑制した。また、複数の菌で形成されるBFに対して高い効果が予想される。

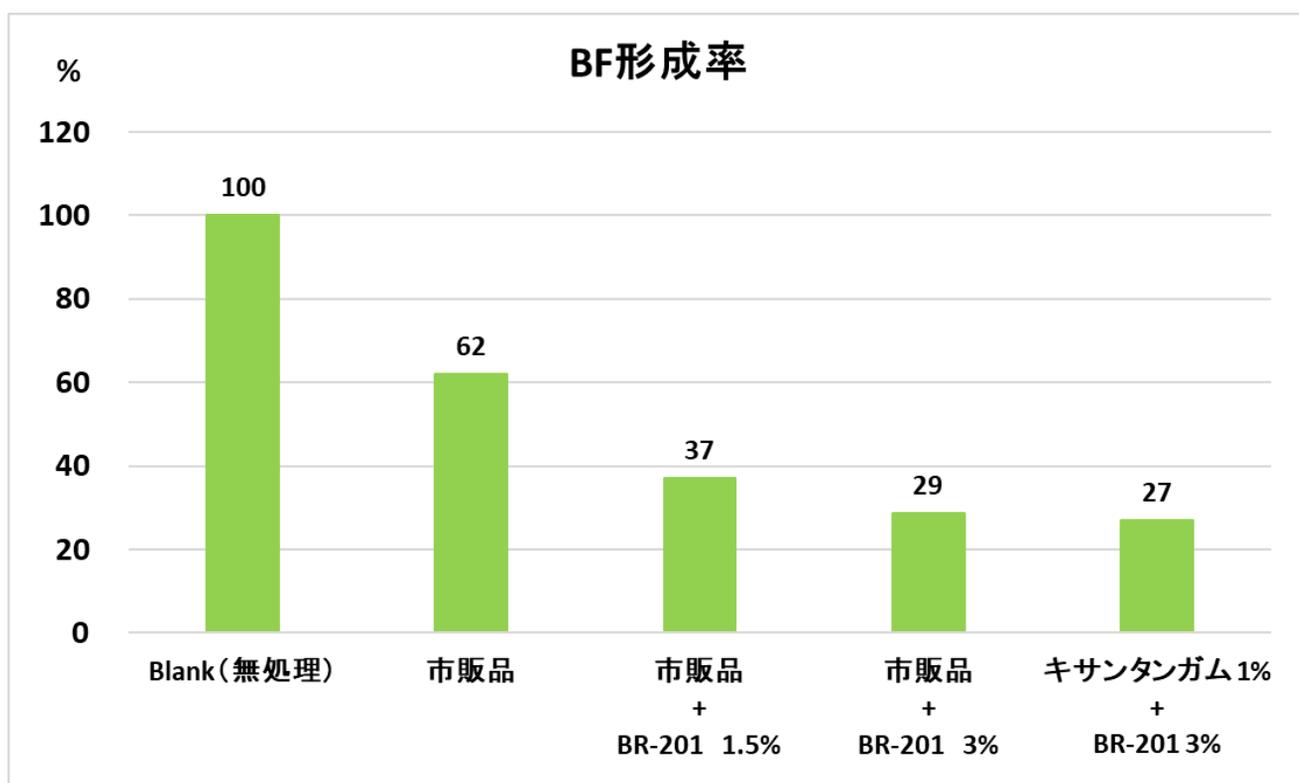
# 抗バイオフィーム剤 BR-201,203 (食品添加物組成)

クオラムセンシング制御技術で  
バイオフィーム(BF)の形成を抑制

- ✓ 口腔ケア用品に配合して抗BF効果付与
- ✓ 歯周病菌のBF抑制
- ✓ 歯周病原因物質の抑制

適用例  
1

ペット用口腔ジェルに混ぜてBF抑制！



## 評価方法

- ・HAに各ジェルサンプルを薄く塗布
- ・HA上で*P.gingivalis*を37℃、24時間、静置培養してBFを形成
- ・HAに形成したBFを生物学的な汚れとみなし、ATP量を測定 (※)
- ・BlankのATP量 (BF量) を100%として比較

※ATP測定法・・・生き物を含む多くの有機物に含まれるATP (アデノシン三リン酸) を汚れの指標とした測定方法。

市販品がCVで染色されてしまうため、ATP測定法で実施。

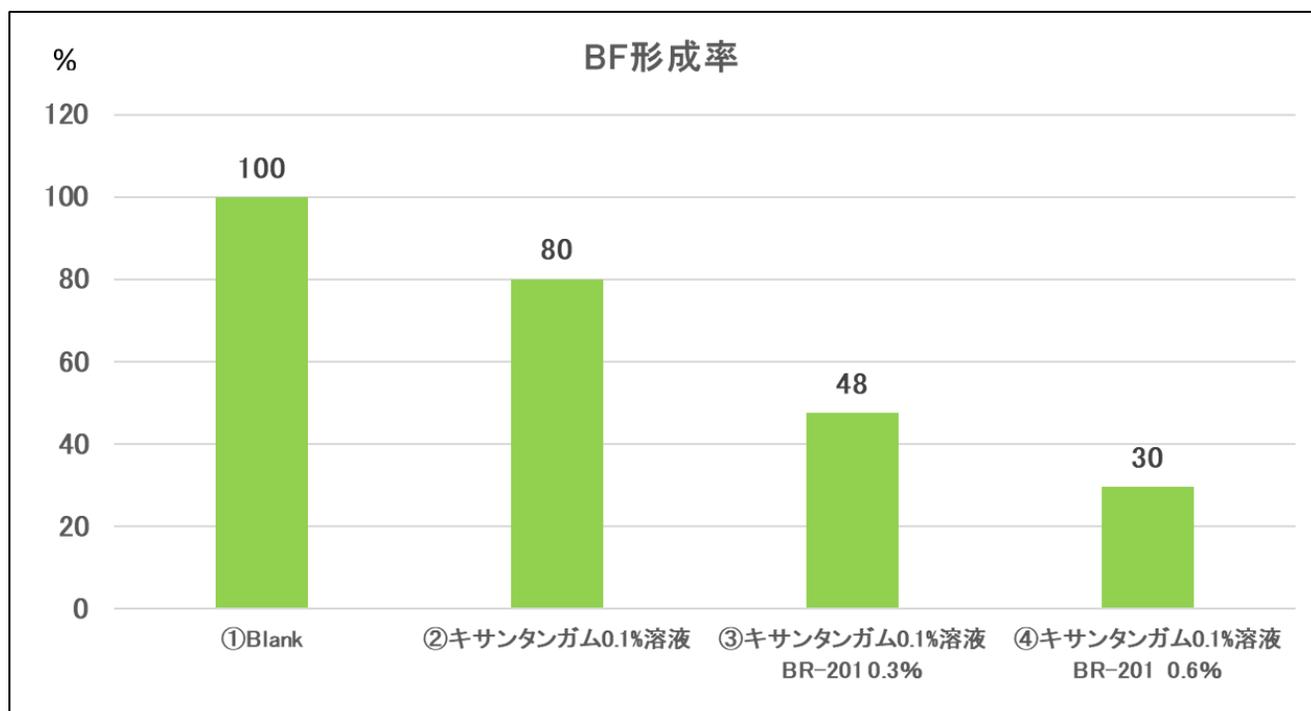
# 抗バイオフィーム剤 BR-201,203 (食品添加物組成)

クオラムセンシング制御技術で  
バイオフィーム(BF)の形成を抑制

- ✓ 口腔ケア用品に配合して抗BF効果付与
- ✓ 歯周病菌のBF抑制
- ✓ 歯周病原因物質の抑制

適用例  
2

マウスウォッシュや口腔用ウェットシートを想定した試験でBF形成を抑制！



① ② ③ ④  
紫に染まった部分がBFを示す。  
BR-201配合でBF形成が抑制されている。

## 評価方法

- HAディスクを各サンプル液に30秒間浸漬
- 上記HA上で*P.gingivalis*を37℃、24時間、静置培養してBFを形成
- CVでBFを染色
- 染色されたBFからCVを溶出して溶出液の吸光度を測定
- CVの吸光度からBF形成率を算出

# 抗バイオフィーム剤 BR-201,203 (食品添加物組成)

## クオラムセンシング制御技術で バイオフィーム(BF)の形成を抑制

- ✓ 口腔ケア用品に配合して抗BF効果付与
- ✓ 歯周病菌のBF抑制
- ✓ 歯周病原因物質の抑制

QS  
阻害

## QSを阻害してBFを抑制！

### QS阻害活性

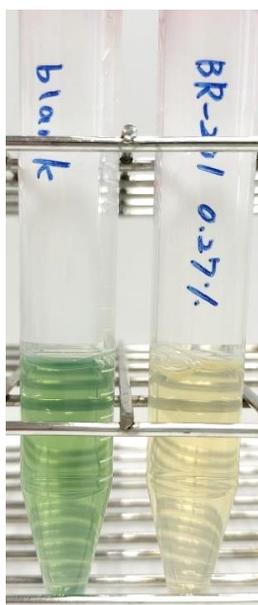
BF形成菌の*Pseudomonas aeruginosa*はQS制御下でピオシアニン（緑色素）を産生している。

BR-201は細胞密度当たりのピオシアニン生産を抑制していることを確認（表1）。

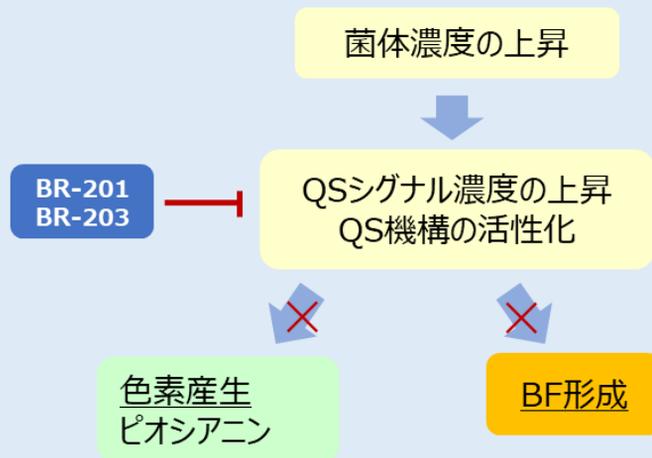
表1

細胞密度当たりの色素生産率	ピオシアニン
BR-201	0.7 %

※Blank（BFC剤無添加）の細胞密度当たりの色素生産率を100%とした。



### QSにより誘導される色素とBF



### *Pseudomonas aeruginosa*の培養上澄み液の色

左：Blank（BR-201無添加）。ピオシアニンによって緑色を呈している。

右：BR-201 0.27%。培地の色のまま。

## 《製品仕様》

	B R-201	B R-203
効果	QS阻害によるBFの形成抑制	QS阻害によるBFの形成抑制 BFの除去 抗菌
使用濃度 (※1)	~0.27 %	~0.2 %
外観	無色~淡黄色の 透明な液体	無色~淡黄色の 透明な液体
粘度[mPa・s]25℃	25以下	25以下
低温安定性 (※2)	2℃以下で白濁 (原液保管時)	4℃以下で分離 (原液保管時)
水への分散性	2, 3分程度の 攪拌が必要	15分程度の 攪拌が必要
製品pH	2.5~4.0	3.5~5.5
pH安定性	2.0~12.0	2.0~10.0
保存安定性	遮光、40℃以下で2年 (原液保管時)	確認中 (原液保管時)
安全性	変異原性：Ames陰性 急性経口毒性LD50： >2000 mg/kg (ラット) 良生分解性 非毒劇物、PRTR非該当 国内食品添加物リスト収載成分	変異原性：Ames陰性 良生分解性 非毒劇物、PRTR非該当 国内食品添加物リスト収載成分

### 抗バイオフィルム剤の希釈について

※1. BR-201、203を水で希釈調整する際はそれぞれ0.27%以下0.2%以下の濃度にしてください。

上記濃度以上への調整は有効成分が分離し不均一化します。

※2. 白濁や析出が認められる場合、40℃程度に加熱して1時間程度攪拌して溶解してからご使用下さい。

## 《別紙》

	BR-201,203の成分
国内	食品衛生法 食品添加物リスト(*)収載物質 で構成

\*「食品衛生法 施行規則別表第1」及び「令和4年12月27日薬生食基発1227第1号厚生労働省課長通知『類又は誘導体として指定されている18 項目の香料に関するリストについて』」