Department für Zahnheilkunde
Klinik für Kieferorthopädie und Orthodontie
Direktor: Prof. Dr. F.G. Sander

Die antibakterielle Wirkung von Nanosilber auf Zahnbürstenborsten

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnmedizin
an der Medizinischen Fakultät der
Universität zu Ulm

Vorgelegt von
Maria-Theresia Berchtold
aus
Memmingen
2008

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Klaus-Michael Debatin

1. Berichterstatter: Prof. Dr. F. G. Sander

2. Berichterstatter: Prof. Dr. P. Ludwig

Tag der Promotion: 19.06.08

Gewidmet meinen Eltern

und

meinen Geschwistern

Steffi, Toni und Max

I Inhaltsverzeichnis

II Abkürzungsverzeichnis

1 Einleitung und Problemstellung 1

2 Material und Methode 4

2.1 Materialien 4

2.1.1 Materialien- Experimenteller Teil 4

2.1.2 Materialien- Klinische Anwendungsuntersuchung 8

2.2 Experimenteller Teil und klinische Anwendungsuntersuchung 9

2.3 Diagnostische Methoden 9

2.3.1 Verdünnungsreihe 9

2.3.2 Ausspateln 10

2.3.3 Bebrüten 10

2.3.4 Auszählen 11

2.3.5 Dokumentation 11

2.4 Durchführung der mikrobiologischen Versuche 12

2.4.1 Keime und Keimkonzentrationen 12

2.4.2 Übersicht Versuchsablauf schematisch 12

2.4.3 Versuchsablauf 14

2.5 Ergebnisse der klinischen Anwendungsuntersuchung 16

2.5.1 „Screening“- Sitzung/ Probandenauswahl 16

2.5.2 Studiendauer und Studiendesign 17

2.5.3 Studienablauf 17

2.5.4 Optimierung des Bürstendesigns 18

2.6 Methoden der statistischen Analyse 19

3 Ergebnisse 21

3.1 Mikrobiologische Versuche 21

3.1.1 Versuche zur Keimwiederfindung 21

3.1.2 Versuche zur Wirksamkeit von Nanosilber 24

3.1.3 Versuchsreihe: Simulation 2-mal tägliches Zähneputzen 26

3.2 Ergebnisse der klinischen Anwendungsuntersuchung 27

3.2.1 Stichprobendeskription 27

3.2.2 Beschreibung der Ergebnisse 29

3.2.3 Vergleich der unbeschichteten Zahnbürste (ZB 1) mit der beschichteten Zahnbürste (ZB 2)/ Einfluss der Nanosilber- Beschichtung 35
3.2.4 Vergleich der Ergebnisse unter Berücksichtigung des Einflusses von Geschlecht und Alter 36
3.3 Auswertungen der Fragebögen bezüglich der Zahnbürsten 40

4 Diskussion 42
4.1 Kriterien zur Zahnbürstenauswahl 42
4.1.1 Die Handzahnbürste 42
4.1.2 Vergleichende Zahnbürstenstudien 43
4.2 Zahnbürstenhandling 43
4.3 Überlegungen zum Ablauf der Studie 44
4.3.1 Klinische (objektive) Kriterien 44
4.3.2 Mikrobiologische Kriterien 48
4.3.3 Subjektive Kriterien (Benutzer) 51

5 Zusammenfassung 52

6 Literaturverzeichnis 54

7. Anhang 63

8. Danksagung 71

II Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ADA	American Dental Association
Ag	Argentum (Silber)
Agar	Agarplatte(n)
ATCC	American Type Culture Collection
BAP	Blood Agar Plate
bzw.	beziehungsweise
℃	Grad Celsius
ca.	zirka
C. albicans	Candida albicans
Caso	Kombination von Caseinpepton und Sojamehlpepton
cm	Zentimeter
d.h.	das heißt
DIN	Deutsche Industrienorm
DNS	Desoxyribonukleinsäure
Dr.	Doktor
Fa.	Firma
g	Gramm
GABA	Goldene Apotheke Basel

g/l	Gramm pro Liter
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
E. coli	Escherichia coli
KBE	Kolonie bildende Einheiten
KBE/ml	Kolonie bildende Einheiten pro Milliliter
Keimkonz.	Keimkonzentration
Konz.	Konzentration
K_2HPO_4	Dikaliumhydrogenphosphat
l	Liter
(m)	männliche Probanden
männl.	männliche
min.	Minute(n)
mm	Millimeter
µl	Mikroliter
ml	Milliliter
MW	Mittelwert
N	Anzahl
NaCl	Natriumchlorid-Lösung
Nr.	Nummer
OD	optische Dichte
pH	pondus Hydrogenii

II Abkürzungsverzeichnis

REF	Reference
S. aureus	Staphylococcus aureus
sec.	Sekunde(n)
Tab.	Tabelle
TSA	Trypticase Soja Agar
u.a.	unter anderem
VR	Versuchsreihe
(w)	weibliche Probanden
weibl.	weibliche
WHO	World Health Organization (Weltgesundheitsorganisation)
z.B.	zum Beispiel
ZB	Zahnbürste
ZB 1	Kontrollbürste(n)-unbeschichtet
ZB 2	Testbürste(n)- Nanosilber beschichtet

1 Einleitung und Problemstellung

Zähneputzen ist die wichtigste Prophylaxe gegen Karies und Parodontitis. Die Aufgabe der Zahnbürste besteht in der Entfernung von unverkalkten Ablagerungen und Nahrungsrückständen auf der Zahnoberfläche und der Massage des Zahnfleisches. Ein wesentlicher Beitrag zur Qualität der Zahnreinigung besteht laut Riethe (1988) und Hellwig et al. (1999) darin, die Zahnbürsten nach ca. vier, laut GABA Produktinformation (2001) spätestens alle 6- 8 Wochen auszutauschen, nur dann kann eine gute und zuverlässige Zahnreinigung gewährleistet werden. Statistisch gesehen ist jedoch die Bundesrepublik Deutschland mit einem Verbrauch von 1,86 Zahnbürsten pro Person und Jahr (Kerschbaumer et al. 2004) noch immer ein zahnhygienisches "Entwicklungsland“ (Bauch et al. 1991).

Die Problematik der Zahnbürsten besteht darin, dass sie einen idealen Keimträger für verschiedene säurebildende Bakterienarten darstellen. Bakterien haften nach dem Putzvorgang an den Borsten (siehe Abb. 1.3) und können sich unter falschen Lagerbedingungen vermehren (Zimmer 1997, Zimmer 2000 a). Deshalb ist ein regelmäßiges Wechseln der Zahnbürsten unbedingt anzuraten (Rukat 1993).

Der Erhalt der eigenen Zähne ist, trotz wachsender Möglichkeiten des Zahnersatzes, noch immer die beste und problemloseste Variante. In den vergangenen Jahren gab es verstärkt Entwicklungen, die darauf zielten, Zahnbürsten in Form, Funktion und Material zu optimieren (Addy 1998). Die Zahnbürstenindustrie bietet mittlerweile ein überaus reichhaltiges Angebot verschiedenst geformter Zahnbürsten mit unterschiedlich hartem Borstenmaterial, ungewöhnlichem Bürstenkopfdesign und unterschiedlichen Borstenlängen und –anordnungen an, um den Kauf einer Zahnbürste und ihre Auswahl für den Konsumenten attraktiv zu gestalten.

Eine ganz neuartige Erfahrung wäre beispielsweise die alltägliche Zahnpflege durch vorher mit Nanosilber beschichteten Zahnbürstenborsten. Inwieweit durch die Freisetzung von Silberionen aus den Zahnbürstenborsten an Stellen, die sich der Selbstreinigung von Zunge und Wange entziehen und die deshalb nur schwer zu reinigen sind eine Keimreduktion herbeigeführt werden kann, soll im Folgenden detailliert betrachtet werden.

Bereits im letzten Jahrtausend war die antibakterielle Wirkung von Silber bekannt (Wagener 2002). Im 19. Jahrhundert wurde es zur Desinfektion, zur Behandlung von Brandwunden (Wagener 2002), Magengeschwüren und Syphilis (Krauß 2004)

eingesetzt. Durch den Einsatz von Antibiotika wurde es vom Markt verdrängt. Momentan erleben silberhaltige Lösungen und Produkte ein Comeback.

Die winzigen Silberkugeln haben einen Durchmesser zwischen 50 und 100 Nanometern und agglomerieren miteinander. Durch diese Agglomeration entsteht ein Silberpuder mit Nanoporen, welcher in die Oberfläche von medizinischen Komponenten, Kunststoffen, Instrumenten, Prothesen, Implantaten sowie Geräten eingearbeitet werden kann (Wagener 2002). Silberionen werden in ausreichender Konzentration kontinuierlich freigesetzt und töten die Bakterien ab. Dadurch werden die Einheilungschancen erhöht und die Infektionsgefahr verringert (Kroker 2003). Die freigesetzten Silberionen greifen gleichzeitig an mehreren Stellen der Bakterienzellen an, unterbinden den Nährstofftransport, destabilisieren die Zellmembran und stören Zellteilung und –vermehrung (Krauß 2004). Mit Silber beschichtete medizinische Geräte bleiben daher keimfrei. Bereits niedrige Metallkonzentrationen erzielen eine gute und langanhaltende Wirkung, ab einer Konzentration von 0,1 % wirken die Silberionen bakterizid (Krauß 2004). Anwendungsreife Nanotechnologie für die Medizin gibt es derzeit in zahnmedizinischen Füllstoffen, im Bereich Oberflächenbeschichtung, bei der Behandlung von Brandwunden und Augenentzündungen (Wagener 2002, Krauß 2004) oder zur Senkung des Infektionsrisikos im Krankenhaus (Horn 2003). Produktreife haben inzwischen die Nanopartikel der Nürnberger Firma Biogate erreicht (siehe Abb. 1.2 und Abb. 1.2). Die patentierte Nanosilbertechnologie ist klinisch erprobt und wissenschaftlich international anerkannt.

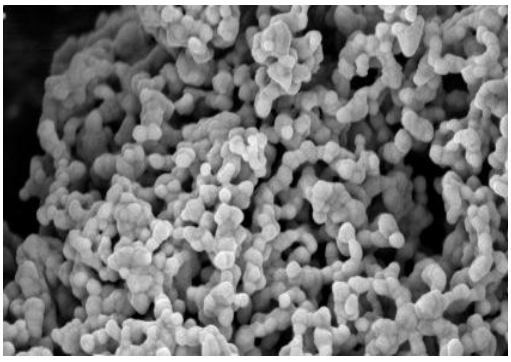

Abb. 1.1 Nanoporöses metallisches Silber (Bio Gate)

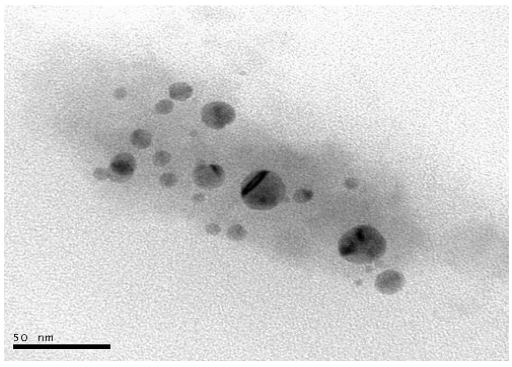

Abb. 1.2 Antibakterielles Polyamid mit nanodispersem Füllstoff (Bio Gate)

Selbst niedrige Metallkonzentrationen führen zu einer guten und langanhaltenden Wirkung (Steinrücke 2003, Steinrücke 2004). Nanosilber kann überall gut

eingearbeitet und eingesetzt werden und sorgt für eine Keimreduktion (Krauß 2004). Denkbar wäre der Nanosilbereinsatz also auch in dem Bereich der Mundhygiene.



Abb. 1.3 Keimanheftung an Zahnbürstenborsten

Viele der für Karies und Zahnfleischerkrankungen verantwortlichen Keime weisen zwar nach ein paar Stunden auf der Bürstenoberfläche nur noch einen geringen Anteil ihrer Ursprungskonzentration auf, jedoch liegen z.B. die gefürchteten Eitererreger, wie Staphylococcus aureus auch nach Stunden in unveränderter Konzentration vor (Bößmann 2001).

Problematisch könnte dies für nachfolgend aufgezählte Personengruppen sein:

Kranke: Patienten, mit herabgesetzter Immunabwehr, mit schweren Mund- oder Allgemeinerkrankungen, Patienten die sich einer Chemotherapie unterziehen oder an denen operative Eingriffe bzw. Organtransplantationen vorgenommen werden.

Kinder: Besonders im Kindergarten könnten die Kleinen ihre Zahnbürsten verwechseln, somit könnte es zur Übertragung von aggressiven Erregern und zur Infektion kommen (Bößmann 2001).

Alte Menschen: Anfällig für Superinfektionen (Binding et al. 2003) sind vor allem Alte infolge von Dauermedikation oder manuellen Schwierigkeiten für eine ordnungsgemäße Zahnreinigung bzw. dem richtigen Zahnbürstenhandling (gründliches Ausspülen der Bürsten). Mangelnde Zahnbürstenhygiene kann Reinfektionen zur Folge haben (Bößmann 2001).

Aber: Auch beim **Gesunden** wird eine Reinfektion bei ausschließlichem Gebrauch der eigenen Zahnbürste diskutiert. Hier stellen vor allem Parodontitiskeime durch Mikroverletzungen der Schleimhaut eine Gefahr für den Organismus dar. Auch ein Keimaustausch bei der Benutzung eines gemeinsamen Familienbechers wird diskutiert (Bößmann 2001).

In einer kontrollierten klinischen Anwendungsuntersuchung soll die therapeutische, antibakterielle Wirksamkeit von Nanosilber auf Zahnbürstenborsten untersucht werden. Erhofft wird eine Keimreduktion der an den Borsten haftenden Keime, die als Auslöser für Karies und Parodontopathien (König 1974) diskutiert werden. Die Überlegung, in wieweit die Anwendung des Nanosilbers in der Mundhygiene sinnvoll sein könnte und für welche Zielgruppe die antibakterielle Wirkung von besonderem Nutzen sein könnte, wurde angestellt.

2 Material und Methode

2.1 Materialien

2.1.1 Materialien- Experimenteller Teil

1) Zahnbürsten:

- ZB 1 Kontrollbürste unbeschichtet (weiße oder blaue Borsten)
- ZB 2 Testzahnbürste beschichtet (rote oder grüne Borsten)

Zahnbürstendaten:

In dieser Studie wurden zwei manuelle Zahnbürstentypen (eine unbeschichtet, eine mit Nanosilber beschichtet) hinsichtlich der antibakteriellen Wirkung und der Auswirkung auf die sich auf der Bürste befindlichen Keime verglichen. Für den experimentellen Teil wurden im Gesamten 86 unbeschichtete und 14 beschichtete Zahnbürsten genutzt.
Die Abbildungen 2.1 a und 2.1 b zeigen die beiden unbeschichteten Testzahnbürsten-ZB 1 (Kontrollzahnbürsten). Erhältlich war die Testbürste entweder mit weißen (Abb. 2.1 a) oder mit blauen Borsten (Abb. 2.1 b) und jeweils durchsichtigem Griff.



Abbildung 2.1 a: Testbürste 1, unbeschichtet/ weiße Borsten

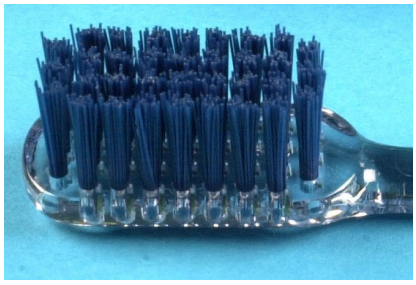

Abbildung 2.1 b: Testbürste 1 unbeschichtet/ blaue Borsten

Die Kontroll-Standardzahnbürste (Testbürste 1; Abb. 2.1 a und 2.1 b) entsprach dem herkömmlichen Zahnbürstentyp. Sie wies ein multi-tufted (enger Bündelabstand) und planes Bürstenfeld auf. Der Bürstengriff war gerade und einfach. Die Bürste entsprach in Form und Aussehen exakt der mit Nanosilber beschichteten Zahnbürste 2 (siehe Abb. 2.2). Die Probanden wussten so während der Testphase nicht, um welche Bürste es sich handelte. Probanden neigen aus Erfahrung dazu, sich während der Studie besonders gründlich die Zähne zu putzen. Zumindest gilt dies für den Zeitraum unmittelbar vor der Kontrolluntersuchung.

Kontrollbürste: Testbürste 1:

- *Gesamtlänge der Zahnbürste:* *18, 00 cm*
- *Länge/ Breite des Bürstenkopfes:* *28 mm/ 11 mm*
- *Borstenlänge:* *11,1 mm*
- *Anordnung der Borstenbüschel:* *oval rechteckig*
- *Anzahl der Borstenbüschel:* *34*
- *Filamentanzahl der Borstenbüschel:* *30*
- *Farbe: durchsichtiger Griff und weiße Borsten*
  durchsichtiger Griff und blaue Borsten

Zahnbürste 2 (Abb. 2.2) war eine Zahnbürste mit Nanosilber beschichteten Borsten. Diese war entweder mit roten Borsten (gelber Griff) oder mit grünen Borsten (grüner Griff) bestückt.

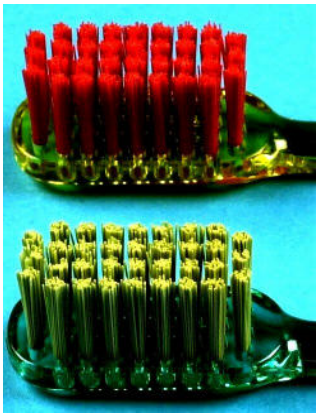

Abb. 2.2: ZB 2, beschichtet (rote oder grüne Borsten)

Zahnbürste 1 und 2 unterschieden sich in Form/ Beschaffenheit und Aussehen nicht. Lediglich die Farben der Borsten sowie der Griffe waren unterschiedlich.

Die Probanden durften sich die Farben der Bürsten (1 und 2) frei aussuchen.

2) Verwendete Keime:

- *Staphylococcus aureus (ATCC 29213):* (Bekanntester Vertreter der Staphylokokken) ist eine Bakterienart, die maßgeblich an der Kariesentstehung beteiligt ist und den Hauptbestandteil der Plaque ausmacht.

- *Escherichia coli (ATCC 25922):* (Abgekürzt *E. coli*) ist ein Colibakterium, das Toxine produziert und Infektionen hervorrufen kann.

- *Candida albicans (ATCC 10231):* Ist ein Hefepilz und häufig auf den Schleimhäuten von Nase und Rachen zu finden. Bei etwa 75% aller gesunden

Menschen kann er nachgewiesen werden. Die Besiedelung durch diesen Pilz verursacht in der Regel kaum Beschwerden, bei fehlender oder verminderter Immunität (durch Grundkrankheiten/ Medikamentengabe) kann der Pilz Kandidose (Soor) hervorrufen.

Die Mundhöhle ist ein Lebensraum für eine Vielzahl von Mikroorganismen (Bakterien), diese bilden mit verschiedenen Substanzen (z. B. Zucker, Stärke) einen klebrigen Zahnbelag (Plaque), der Hauptursache von Karies und Zahnfleischreizungen und -entzündungen ist. Es gibt ca. 300 erforschte Keime der Mundflora, jedoch weist jeder Mensch ein anderes Keimspektrum auf.
Für diese Studie wurden die oben genannten drei Keime ausgewählt. In den Vorversuchen wurde jeder Keim einzeln auf eine mögliche Reduktion durch die Nanosilber beschichteten Bürsten (ZB 2) überprüft.

3) Nährböden:

- *Casoblutagar (TSA-Blutagar);*
  Tryptic Soy BAP, Dr. Müller GmbH, heipha, REF 310e,
  Lagerung: 4- 12 °C
  Zusammensetzung (pro Liter Wasser)

Caseinpepton	*15 g*
Sojamehlpepton	*5 g*
NaCl	*5 g*
Hammelblut	*50 ml*
Agar	*16 g*
Aussehen:	*rot*
pH:	*7,3 +/- 0,2*

- *Sabouraud+Glucose-Agar;*
  Dr. Müller GmbH, beipha

4) Nährmedium:

- *Casobouillon, Merck, Darmstadt*

Zusammensetzung: g/l

Caseinpepton	*17,0*
Sojapepton	*3,0*
D(+)-Glucose	*2,5*
NaCl	*5,0*
K_2HPO_4	*2,5*

Herstellung: 30 Gramm Casopulver in 1 Liter destilliertem Wasser lösen

Autoklavieren: Temperatur: 121 °C

Dauer: 20 Minuten

5) Weitere Hilfsmittel:

- *Blue Caps (50 ml)*
- *Eppendorf-Reaktionsgefäße 1,5 ml*
- *NaCl 0,9 % (zur Verdünnung)*
- *Destilliertes Wasser*
- *Photometer (Herstellung Mc Farland)*
- *Ultraschallgerät (Entkeimen der kontaminierten Zahnbürsten)*
- *Zahnprothese (Simulation des Zahnputzvorganges)*
- *Becherglas*
- *Pipettierhilfe*
- *Einmalpipetten aus Kunststoff (10 ml)*
- *Einmalpipettenspitzen*
- *Impfösen*
- *Plattierungsspatel (Trygalskispatel)*

2.1.2 Materialien- Klinische Anwendungsuntersuchung

1) Zahnbürsten:

ZB 1- unbeschichtet (Kontrollbürste) Abb. 2.1
ZB 2- beschichtet (Testzahnbürste) Abb. 2.2

2) Verwendete Keime:

- Staphylococcus aureus ATCC 29213
- Escherichia coli ATCC 25922
- Candida albicans ATCC 10231

In diesem Studienteil wurde die antibakterielle Wirkung der ZB 2 im Vergleich zur ZB 1 unter Teilnahme von 30 Probanden getestet. Entsprechend der Probandenzahl wurden hierfür 30 unbeschichtete und 30 beschichtet Zahnbürsten genutzt. Die, nach Verwendung von ZB 1, erhaltenen KBE/ml wurden mit den, nach Verwendung von ZB 2 erhaltenen, KBE/ml verglichen (siehe Tab. 3.5 und 3.6, Abb. 3.2 und 3.3). Jeder Proband wurde für sich betrachtet und bei jedem Probanden wurde die *Gesamtanzahl* aller Mundflorakeime ermittelt. Die in den Vorversuchen herangezogenen Keime sollten *nicht* aus den gesamt gezählten Kolonien qualitativ und quantitativ bestimmt werden.

3) Nährböden:

- *Casoblutagar (TSA-Blutagar);*
  Tryptic Soy BAP, Dr. Müller GmbH, beipha, REF 310e

4) Nährmedium:

- *Casobouillon, Merck, Darmstadt*

5) Weitere Hilfsmittel:

- *Blue Caps (50 ml)*

- *Eppendorf-Reaktionsgefäß 1,5 ml*
- *NaCl (zur Verdünnung)*
- *Destilliertes Wasser*
- *Ausstrichösen*
- *Plattierungsspatel (Trygalskispatel)*
- *Ultraschallgerät (Entkeimen der kontaminierten Zahnbürsten)*
- *Pipettierhilfe*
- *Eimalpipetten aus Kunststoff (10 ml)*
- *Eimalpipettespitzen*

2.2 Experimenteller Teil und klinische Anwendungsuntersuchung

Die vorliegende Dissertation gliedert sich in einen ersten, experimentellen Teil mit in-vitro Versuchen zur Wirkung des Nanosilbers auf Staphylococcus aureus, Escherichia coli sowie Candida albicans und in einen zweiten, praktischen Teil, der die Ergebnisse einer umfassenden klinischen Anwendungsuntersuchung unter Teilnahme von 30 gesunden Probanden präsentiert und auswertet.

2.3 Diagnostische Methoden

2.3.1 Verdünnungsreihe

Da im Voraus nicht bekannt war, wie viele Keime sich auf den Bürsten befinden, wurden die vier verschiedenen Verdünnungen angesetzt, um visuell gut zählbare Kolonien auf den Agarplatten zu erhalten.

Verdünnungen: 10^2, 10^3, 10^4, 10^5

Von den gebrauchten Versuchszahnbürsten wurde jede in einem Blue Cap mit 10 ml Casobouillon, 45 Sekunden im Ultraschallbad ausgespült. Aus der Keimsuspension wurden jeweils 100 µl entnommen und in ein mit 900 µl NaCl gefülltes Eppendorf-Reaktionsgefäß gegeben. Hieraus ergibt sich die 1. Verdünnung (10^2). Für die weitere Verdünnungsreihe wurden jeweils 100 µl aus der vorherigen Verdünnung entnommen und mit 900 µl NaCl gemischt. Von jeder Verdünnungsstufe wurden jeweils 100 µl auf je einer Casoblutagarplatte mittels Plattierungsspatel (Trygalskispatel) ausgespatelt.

100 µl aus 1 ml 10^2 in 900 µl NaCl -> 10^3 Verdünnungsfaktor
100 µl aus 1 ml 10^3 in 900 µl NaCl -> 10^4 Verdünnungsfaktor
100 µl aus 1 ml 10^4 in 900 µl NaCl -> 10^5 Verdünnungsfaktor

Ziel dieser Verdünnungsreihe war es, eine Keimzahl zwischen 20 und 100 auf einer Agarplatte zu erhalten. Werte in diesem Bereich sind aufgrund der umfassenden Aufschlüsselung am aussagekräftigsten. Bei höheren Koloniezahlen ist ein genaues Auszählen der Kolonien nur schwer möglich, da die Kolonien zusammenwachsen, sich überlagern oder sich gegenseitig im Wachstum hemmen. Bei Koloniezahlen unter 10 ist der statistische Fehler am größten.

2.3.2 Ausspateln

Die gewonnenen Keimlösungen wurden nochmals mit 900 µl NaCl (1:10) verdünnt. Durch die Weiterverdünnung der Keimlösung wurde erreicht, dass die Menge an pro µl enthaltenen Keimen reduziert wird. Ziel dieser Verdünnung war es, nach Beimpfung der Casoblutagarplatten, zählbare Kolonien zu erhalten.
Aus den gewonnenen 1 ml Verdünnungen wurden im Anschluss an dieses Verfahren jeweils 100 µl mit einer Pipette entnommen und auf Casoblutagarplatten (TSA-Blutagar) mit Plattierungsspateln (Trygalskispatel) aufgebracht.
Im Brutschrank wurden die Platten nun 24 Stunden bei 36°C +/- 1°C bebrütet. 24 Stunden später konnte die Auszählung der Kolonien erfolgen.

2.3.3 Bebrüten

Die eingesetzten Bakterien wachsen und vermehren sich bei einer konstanten Temperatur und Luftfeuchtigkeit besonders gut. Die Casoagarplatten wurden daher im Brutschrank über einen Zeitraum von 24 Stunden bei einer Temperatur von 36°C +/- 1°C bebrütet. Bei der Bebrütung von Sabouraud+Glucose-Agarplatten zur Anzucht von Candida albicans, war ganz besonders darauf zu achten, dass die optimale Temperatur für das Keimwachstum bei 30° C lag.
Die Temperaturkonstanz konnte durch verschiedene Regulierungssysteme im Brutschrank eingehalten werden.

2.3.4 Auszählen

Am darauf folgenden Tag konnten die Kolonien, die sich innerhalb der 24 Stunden auf den beimpften Casoblutagarplatten gebildet haben, mit bloßem Auge gezählt werden.
In dem experimentellen Teil dieser Studie war bekannt, welche Keimart sich auf den Agarplatten befindet. In der klinischen Anwendungsuntersuchung hingegen wurden die sichtbaren weißlich, gelblich bis grünlich, teils milchig teils glasig hofbildenden Kolonien quantitativ erfasst, aber nicht qualitativ ausgewertet. Es galt die Reduktion der Keimzahlen nach Verwendung der Nanosilber beschichteten Zahnbürsten im Vergleich zu den Unbeschichteten nachzuweisen. Die ausgezählten KBE/100 µl (Kolonie bildenden Einheiten) wurden in KBE/ml umgerechnet. Hierzu wurden die Keimanzahlen mit dem jeweiligen Verdünnungsfaktor sowie mit dem Aliquotfaktor multipliziert.

Beispiel:
P= Proband

P	10^1	10^2	10^3	10^4	10^5
Keimzahl	128	**40**	3	1	-

Der Wert, der zwischen 20 und 100 lag und somit den kleinsten statistischen Fehler aufwies, wurde ausgewählt. Beispiel: **40**.
Anschließend wurde dieser mit dem korrespondierenden Verdünnungsfaktor (hier: 10^2) und dem Aliquotfaktor (10) multipliziert.

Es ergab sich wie folgt:

40 KBE x Verdünnung (10^2) → 4000 KBE/100 µl
4000 x 10 → 40 000 KBE/ml → **4×10^4 KBE/ml**

2.3.5 Dokumentation

Während des Auszählens der einzelnen, mit Probandennummern beschrifteten Casoagarplatten mit bloßem Auge, wurden die Koloniezahlen in die dafür vorbereiteten Listen eingefügt, um Verwechslungen auszuschließen.
Die erhaltenen Werte wurden zur Dokumentation in Tabellen und Diagrammen erfasst (siehe Kapitel 3).

2.4 Durchführung der mikrobiologischen Versuche

2.4.1 Keime und Keimkonzentrationen

Es wurden folgende Keime in den Keimkonzentrationen 10^2 - 10^5 untersucht:

- Staphylococcus aureus ATCC 29213
- Escherichia coli ATCC 25922
- Candida albicans ATCC 10231

2.4.2 Übersicht Versuchsablauf schematisch:

1. Tag:

Auftauen der Testkeime

- Ansetzen der Übernacht-Subkultur des am nächsten Tag zu verwendenden Keims.

2. Tag:

- Herstellung Keimlösung (Mc Farland 0,5) mittels Photometer
- Herstellen der verschiedenen Verdünnungen mit sinkenden Keimkonzentrationen 10^5 - 10^2
- Versuchsablauf

3. Tag:

Auszählen der Kolonien

Zu) Auftauen der Testkeime:

Mit sterilen Gummihandschuhen wurde das Röhrchen mit den eingefrorenen Keimen aus dem Gefrierschrank entnommen und bei Raumtemperatur aufgetaut. Nach dem Auftauen wurde mit einer Impföse ein Kügelchen entnommen und mittels 3-Ösen-Ausstrich auf einer Casoblutagarplatte angeimpft.
Die beimpfte Casoblutagarplatte wurde im Brutschrank für 24 Stunden bei 36 °C +/-1 °C bebrütet.

Am darauf folgenden Tag konnten Kolonien von der beimpften Casoblutagarplatte entnommen und für den weiteren Versuchsablauf (Herstellung der Keimlösungen) genutzt werden.

Zu) Ansetzen einer Übernacht-Subkultur:

Es wurde jeweils eine Kolonie der am Vortag beimpften Casoblutagarplatte entnommen und mittels 3-Ösen-Ausstrich auf eine neue Casoblutagarplatte übertragen. Die beimpfte Casoagarplatte wurde, wie bereits beschrieben, 24 Stunden bei 36°C +/- 1°C im Brutschrank bebrütet.
Am darauf folgenden Tag konnte die Übernacht-Subkultur zur weiteren Untersuchung genutzt werden.

Zu) Herstellung der Keimlösung (Mc Farland 0,5) mittels Photometer:

Hierfür wurden 2 Photometerröhrchen benötigt. In beide wurden jeweils 2 ml NaCl gegeben. In Röhrchen Nr. 1 wurde eine Kolonie der Übernacht-Subkultur gerührt, auf dem Rüttler durchgemischt und ins Photometer gestellt. Röhrchen Nr. 2 diente als Referenz und wurde ebenfalls ins Photometer gegeben. Im Photometer wurde automatisch der OD- (optische Dichte) Wert der Keimlösung gemessen.
War die am Gerät angezeigte optische Dichte größer als 0,07, so wurde die Keimlösung mit NaCl verdünnt. War der Wert kleiner als 0,07, so wurde eine weitere Kolonie in das Röhrchen gegeben, bis letztendlich der Wert von 0,07 erreicht war.

Zu) Herstellen der verschiedenen Verdünnungen mit sinkenden Keimkonzentrationen 10^5 - 10^2

Die angesetzte Keimsuspension (Mc Farland 0,5) enthielt 1,5 x 10^8 KBE/ml

Verdünnung 1:10 → 1,5 x 10^7 KBE/ml

In 900 µl NaCl wurden 100 µl Mc Farland gegeben d. h., es waren 1,5 x 10^7 KBE in
1 ml → 1. Verdünnung (Vorverdünnung)
→ 1,5 x 10^6 KBE/100 µl
100 µl in 15 ml → 10^5/ml

Der Keimlösung wurden 1,5 ml entnommen und weiter verdünnt:

1,5 ml aus 15 ml (10^5) + 13,5 NaCl → 10^4/ml
1,5 ml aus 15 ml (10^4) + 13,5 NaCl → 10^3/ml
1,5 ml aus 15 ml (10^3) + 13,5 NaCl → 10^2/ml

2.4.3 Versuchsablauf

Wiederfindungsversuche:

Es sollte geprüft werden, mit welcher der 3 Methoden:

1. *Ausschütteln*
2. *Abschaben* (mittels Ausstrichöse)
3. Ablösen der Keime durch *Ultraschallbad*

die größte Anzahl der zur Kontamination der Zahnbürste ursprünglich eingesetzten Keimmenge wieder gewonnen werden konnte.

Versuchsdurchführung:

In diesen Versuchsreihen wurde mit am Vortag angesetzten Subkulturen gearbeitet. Keimlösungen mit sinkenden Keimkonzentrationen 10^5 - 10^2 wurden hergestellt.
Dazu wurden so viele Kolonien von der Blutagarplatte mittels einer Öse entnommen und in einem mit 2 ml NaCl gefüllten Reagenzglas suspendiert, bis die Lösung im Photometer eine gleiche optische Dichte wie die Referenzflüssigkeit Mc Farland 0,5 (OD= 0,07) aufwies. Wir nahmen an, dass sich in der hergestellten Keimlösung bei Erreichen einer optischen Dichte von 0,07, orientierend an der Mc Farland Lösung, 10^8 koloniebildende Einheiten pro Milliliter (KBE/ml) befanden. Diese Keimsuspension wurde weiter 1:1000 verdünnt, d. h. auf 50 ml Casobouillon wurden 50 µl der oben genannten Lösung gegeben. Die Konzentration der erhaltenen Lösung betrug somit 10^5/ml. Die hierfür genutzten 36 unbeschichteten Zahnbürsten wurden in aufsteigender Reihenfolge nummeriert und jeweils 90 Sekunden in 15 ml Keimsuspension kontaminiert. Anschließend wurden die Zahnbürsten in Casobouillon mittels verschiedener Methoden (ausschütteln, abschaben, Ultraschallbad) gewaschen. Von

dieser Casobouillon wurden je 100 µl entnommen und auf Casoagarplatten mittels Kunststoffspateln ausgespatelt. Am darauf folgenden Tag wurden die abgeschüttelten Keime gezählt.

Versuche zur Untersuchung der Wirkung von Nanosilber

In diesen Versuchen wurde erstmalig die antibakterielle Wirkung der mit Nanosilber beschichteten Zahnbürsten im Vergleich zu herkömmlichen Zahnbürsten getestet. .Im Gesamten wurden hierfür 40 Zahnbürsten (20 unbeschichtet/ 20 beschichtet) genutzt.

Versuchsdurchführung:

Für die Mikrobiologischen Versuche wurden 18 unbeschichtete (weiße und blaue Filamente) sowie 18 beschichtete (rote und grüne Filamente) Zahnbürsten verwendet. Zur Wiederfindung der Keime im Auffangmedium wurde aufgrund der Ergebnisse nur noch das Ultraschallbad genutzt.
Die Zahnbürsten wurden, wie in den Wiederfindungsversuchen in aufsteigender Reihenfolge nummeriert, mit einem der drei Testkeime kontaminiert und ausgeschüttelt. Ein Aliquot von 100 µl wurde auf einer entsprechend beschrifteten Casoagarplatte ausgespatelt und bei 36°C +/- 1°C bebrütet. Nach 24 Stunden wurden die Kolonien ausgezählt.

Versuch zur Simulation des täglichen Zähneputzens

Für diesen Versuch wurden 2 unbeschichtete sowie 2 beschichtete Zahnbürsten verwendet. Der Vorgang des 2-mal täglichen Zähneputzens (morgens/ abends) wurden mittels einer Totalprothese simuliert.

Versuchsdurchführung:
Mit den Zahnbürsten wurde in einem Becherglas die Kunststoffkaufläche der Totalprothese geputzt. Das Becherglas war mit 50 ml Keimsuspension in Casobouillon (10^6 KBE/ml), welche die Keimanzahl im Mund simulieren sollte, gefüllt. Nach dem Putzvorgang wurden die Zahnbürsten zum Trocknen in ein nebenstehendes Becherglas gestellt. 12 Stunden später wurden die Bürsten 30 Sekunden,

entsprechend der Zeit, die man nach dem Putzen zum Säubern der Zahnbürste verwendet, in je 10 ml Casobouillon ausgeschüttelt.
Die gewonnene Keim-Casobouillonlösung wurde 1:10 verdünnt, 100 µl wurden entnommen und auf einer Casoagarplatte mittels Kunststoffspateln ausgespatelt.
Anschließend wurden die Bürsten wieder in 50 ml Casobouillon mit der oben beschriebenen Vorgehensweise 2 Minuten kontaminiert und erneut zum Trocknen aufgestellt.
Diese Prozedur wurde über einen Zeitraum von 5 Tagen sowohl morgens als auch abends wiederholt.

2.5 Ergebnisse der klinischen Anwendungsuntersuchung

2.5.1 „Screening"- Sitzung/ Probandenauswahl

Teilnehmer dieser vergleichenden Zahnbürstenstudie waren 14 Männer und 16 Frauen, insgesamt 30 Probanden im Alter zwischen 19 und 56 Jahren, welche die Studie vollständig durchlaufen haben. Die Probanden erhielten jeweils eine unbeschichtete sowie eine Nanosilber beschichtete Zahnbürste. Die 30 Versuchsteilnehmer mussten gemäß den Vorgaben von Khocht et al. (1992) und Pretara-Spanedda (1989) folgende Voraussetzungen erfüllen:

A) Allgemeiner Gesundheitszustand:

- *Guter gesundheitlicher Allgemeinzustand*
- *Keine systemischen Erkrankungen, die den oralen Befund beeinflussen*
- *Keine Einnahme entzündungshemmender Medikamente, die den oralen Befund beeinflussen (z. B. Antibiotika oder Steroide)*
- *Keine Schwangerschaft*

B) Oraler Befund:

- *Mindestens 20 natürliche Zähne*
- *Keine orthodontischen Geräte*
- *Keine vorangegangene Parodontitisbehandlung in den sechs Monaten zuvor*

2.5.2 Studiendauer und Studiendesign

Eine Studiendauer von 35 Tagen, bestehend aus zwei 14-tägigen Zahnbürstentestphasen und einer einwöchigen Wash-out-Phase, wurde festgesetzt.
Die Zahnbürstenstudie wurde als einfach verblindete Studie durchgeführt. Die 30 Probanden wussten während der Studie nicht, mit welcher der beiden Bürstentypen, unbeschichtet oder Nanosilber beschichtet, sie sich die Zähne putzen.

2.5.3 Studienablauf

Studienablauf schematisch:

1.Testphase (Austesten der Zahnbürste 1): Tag 0- 14

Tag 0 : 1. Sitzung = Austeilen der Zahnbürste 1 und der Infoblätter (7.1.1- 7.1.4)
Tag 1 : Start Putzen mit Zahnbürste 1
Tag 14 : Abgabe Zahnbürste 1

Wash out- Periode (7 Tage)
Tag 14- 21

2. Testphase (Austesten der Zahnbürste 2): Tag 21- 35

Tag 21 : Start Putzen mit Zahnbürste 2
Tag 35 : Abgabe Zahnbürste 2
Tag 35 : 2. Sitzung = Einsammeln der Fragebögen (7.1.4.)

*Zu) **1. Testphase** :*

Am Tag 0 wurden den Probanden die Formblätter (siehe 7.1) und die Testzahnbürste 1 (unbeschichtet) ausgeteilt.
Der Proband begann am darauf folgenden Tag (erster Tag der Studie) sich wie gewohnt, morgens und abends, mit der gleichen, von ihm favorisierten Zahnpaste, unbeaufsichtigt die Zähne zu putzen. Jeder Proband wendete seine eigene Putztechnik an, da die Zahnbürsten bei sonst üblichem Gebrauch getestet werden sollten. Auf zusätzliche Hilfsmittel (z. B. Zahnseide, Zahnhölzer, Mundwässer/ -

spülungen) sowie auf eine professionelle Zahnreinigung oder zahnärztliche Behandlung sollte verzichtet werden, damit die Ergebnisse nicht verfälscht wurden.
Die Probanden wurden gebeten, jegliches Unwohlsein, Erkrankung oder beginnende Medikation während der Testphase bekannt zu geben. Diese Faktoren können im Sinne einer Keimzahlerhöhung oder -reduktion ebenfalls die Ergebnisse beeinflussen.
Am 14. Tag wurden die Zahnbürsten 1, nachdem sich die Probanden morgens nochmals die Zähne mit diesen gereinigt hatten, eingesammelt. Die Bürsten wurden in den mitgelieferten Aufbewahrungsboxen direkt ins Labor gebracht. Im Anschluss erfolgte die weitere Aufbereitung der Bürsten und das Bebrüten der Blutagarplatten.

Zu) ***Wash-out-Periode*** *(7 Tage):*

Nach Abgabe der Kontrollbürste (14. Tag) wurde eine Pause von einer Woche bis zum 21. Tag eingehalten. Dieser Zeitraum, die sogenannte Wash-out-Phase sollte innerhalb der Studie zwischen dem Zahnbürstenwechsel (cross over) eine Beeinflussung durch das erste Versuchsintervall ausschließen. In dieser Woche putzte der Proband wie gewohnt mit seiner normalen Zahnbürste.
Vergleichende Versuche sind nur dann zulässig, wenn Wechselwirkungen zwischen den Behandlungen ausgeschlossen werden können.

Zu) ***2. Testphase***:

Die Probanden gaben nach 14 Tagen, d. h. am 35. Tag morgens, nach letztmaligem Gebrauch, die Zahnbürsten 2 zur Auswertung ab. Diese wurden circa 1 Stunde später im Labor ausgewaschen. Am darauf folgenden Tag erfolgte die Auszählung der auf den Casoagarplatten bebrüteten Keime.

2.5.4 Optimierung des Bürstendesigns

Abschließend füllten die Probanden jeweils die ausgeteilten Fragebögen zur Optimierung des Bürstendesigns aus. Zu beurteilen waren u.a. die Bürstenkopfgröße, die Härte der Borsten, die Putzwirkung (welche Bürste reinigte besser die Zähne) und die Ergonomie des Bürstengriffes (siehe Anhang, 7.1.4).

2.6 Methoden der statistischen Analyse

Alle statistischen Analysen wurden unter Zugriff auf das Statistik-Programm-System SPSS (Superior Performing Software System) für Windows (Bühl 2004 a, Bühl 2004 b), Version 15.0 deutsch, auf einem servergestützten Arbeitsplatz-PC mit Dual-Core-Prozessor der neuesten Generation unter dem Betriebssystem Windows Vista ausgeführt, kontrolliert und aufbereitet.

Vorausgehend wurden die kontinuierlichen Parameter der Studie– im Einzelnen: Probandenalter, KBE/ml bei Zahnbürste 1 und KBE/ml bei Zahnbürste 2, KBE/ml als Gesamtmittelwert von Zahnbürste 1 und Zahnbürste 2, KBE/ml als Differenzwert zwischen Zahnbürste 1 und Zahnbürste 2– mittels *Shapiro-Wilk-Test* und *Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest (K-S-Einstichprobentest)* (Bortz et al. 1990 c, Siegel 2001 a) auf Übereinstimmung mit der theoretischen Normalverteilung nach Gauß getestet, wobei sich bei allen Variablen signifikante oder sehr signifikante Abweichungen von dieser „idealen“ symmetrischen Verteilungsform ergaben. Die beiden Tests dienten als Grundlage für die Wahl der weiter verwendeten statistischen Tests und sind daher ausschließlich im Anhang 7.2 aufgeführt. Als Konsequenz aus dieser Situation wird bei den anstehenden inferenzstatistischen Analysen eine non-parametrische (bzw. „verteilungsfreie“) Testmethodik realisiert (*Wilcoxon-Test und Vorzeichentest).*

Auf den *Wilcoxon-Vorzeichenrang-Test* für abhängige Paare *(Wilcoxon-Test)* (Bortz et al. 1990 a, Siegel 2001 c) wird rekurriert, wenn es den Zahnbürsteneffekt bzw. den Kontrast „unbeschichtete versus beschichtete Zahnbürsten“ hinsichtlich der KBE-Anzahl auf Signifikanz zu testen gilt. Dieser Test wird im Rahmen der hiesigen Studie sowohl innerhalb des Gesamtkollektivs aller Probanden, als auch innerhalb der Subgruppen von Männern und Frauen separat durchgeführt. Auch der Wilcoxon-Test weist eine sehr hohe Stärke auf und bietet insofern eine effiziente Alternative zum t-Test für abhängige Stichproben. Zur zusätzlichen Kontrolle bzw. im Sinne einer Steigerung der statistischen Gültigkeit der Ergebnisse soll der Zahnbürstenvergleich zusätzlich mit dem *Vorzeichen-Test* (Bortz et al. 1990 b, Siegel 2001 b) gerechnet werden (siehe dazu Tab. 7.5). Als *deskriptiv-statistische Kennwerte* werden arithmetischer Mittelwert nebst Standardabweichung, Median nebst Quartilabstand, Minimum und Maximum sowie die jeweilige Anzahl gültiger Fälle (jeweilige Stichprobengröße) tabellarisch angegeben (Trampisch et al. 2000 a).

Der Quartilabstand (QA) oder Interquartilabstand ist als Differenz zwischen dem Wert des 25. und dem Wert des 75. Perzentils einer Verteilung definiert und stellt eine Maßzahl für die Streuung der Messwerte einer (mindestens rangskalierten) Variable dar.

Um zu prüfen, ob sich zwei unabhängige Gruppen (Geschlechter, Altersklassen) signifikant unterscheiden, wird der *Mann-Whitney-U-Test (M-W-Test; U-Test)* (Bortz et al. 1990 a, Siegel 2001 c) herangezogen. Er ist ein nicht-parametrischer Test, der zum Vergleich zweier unverbundener Stichproben bezüglich quantitativer, mindestens rangskalierter Merkmale („abhängiger Variablen“, siehe hier z.B. die KBE-Parameter) angewendet wird (siehe Tab. 7.3 und 7.4). Die Prüfgröße des Testes wird aus den Rangzahlen/ Rangsummen der Stichproben errechnet.

Sämtliche prüfstatistischen Tests werden bei zweiseitiger Testung und bei Zugrundelegung des folgenden – weithin üblichen – *Signifikanzstufensystems* (Trampisch et al. 2000 b) durchgeführt:

„signifikant“:	Signifikanzniveau = 5% bzw. $\alpha = 0.05$	($p \leq 0.05$)	(*)
„sehr signifikant“:	Signifikanzniveau = 1% bzw. $\alpha = 0.01$	($p \leq 0.01$)	(**)
„hoch/ höchst signifikant“:	Signifikanzniveau = 1‰ bzw. $\alpha = 0.001$	($p \leq 0.001$)	(***).

3 Ergebnisse

3.1 Mikrobiologische Versuche

3.1.1 Versuche zur Keimwiederfindung

Untersucht wurde die Wiederfindung der drei Testkeime Staphylococcus aureus, Escherichia coli und Candida albicans mithilfe der Methoden ausschütteln, abkratzen und dem Ultraschallbad. Verwendet wurden in diesen Wiederfindungsversuchen nur unbeschichtete Zahnbürsten.

In Tabelle 3.1 sind die Ergebnisse nach Verwendung von Staphylococcus aureus aufgelistet. Mit der Ultraschallmethode konnte im Vergleich zu den anderen zwei Methoden, ausschütteln und abkratzen, jeweils die meisten Keime aus den Zahnbürsten gewaschen werden.
In Tabelle 3.2 sind die Ergebnisse der Versuchsreihe mit Escherichia coli aufgeführt. Bei niedrigeren Keimzahlen zeigte die Ultraschallbehandlung bessere Ergebnisse als die beiden anderen.
Auch in der Vorversuchsreihe mit Candida albicans (siehe Tab. 3.3) lieferte die Ultraschallmethode die meisten wieder gefundenen Keimzahlen.
Bei der 10^4 Verdünnung ließen sich durch die Methode des Bürstenausschüttelns auf den Agarplatten nach dem Beimpfen (wahrscheinlich auf Grund der Methode) 0 KBE/ml zählen.

Zusammenfassung:

Bezüglich der Ergebnisse erwies sich die Ultraschallmethode aufgrund der Ergebnisgenauigkeit als die effektivste der ausgetesteten Methoden.

Getesteter Keim: *S. aureus*

Tabelle 3.1: Effektivität der Methoden zur Keimwiederfindung im Auffangmedium. Verwendeter Keim: Staphylococcus aureus ATCC 29213. Dargestellt: Kolonie bildende Einheiten/ml (KBE/ml, Mittelwerte). ZB = Zahnbürste, Konz= Konzentration.

ZB	Keimkonz.	Konz. gefunden	Mittelwert	Methode
1	1×10^2	1		Ausschütteln
2	1×10^2	0	0,3	
3	1×10^2	0		
4	1×10^2	0		Abschaben
5	1×10^2	1	0,3	
6	1×10^2	0		
7	1×10^2	2		Ultraschall
8	1×10^2	1	1,3	
9	1×10^2	1		
10	1×10^3	1		Ausschütteln
11	1×10^3	5	3	
12	1×10^3	3		
13	1×10^3	3		Abschaben
14	1×10^3	7	4,3	
15	1×10^3	3		
16	1×10^3	4		Ultraschall
17	1×10^3	6	4,6	
18	1×10^3	4		
19	1×10^4	12		Ausschütteln
20	1×10^4	30	27	
21	1×10^4	39		
22	1×10^4	35		Abschaben
23	1×10^4	34	36	
23	1×10^4	39		
25	1×10^4	42		Ultraschall
26	1×10^4	37	40,3	
27	1×10^4	42		
28	1×10^5	417		Ausschütteln
29	1×10^5	398	390,3	
30	1×10^5	356		
31	1×10^5	450		Abschaben
32	1×10^5	474	443	
33	1×10^5	405		
34	1×10^5	566		Ultraschall
35	1×10^5	404	455	
35	1×10^5	395		

Getesteter Keim: *E. coli*

Tabelle 3.2: Effektivität der Methoden zur Keimwiederfindung im Auffangmedium. Verwendeter Keim: Escherichia coli ATCC 25922. Dargestellt: Kolonie bildende Einheiten/ml (KBE/ml, Mittelwert). ZB = Zahnbürste, Konz= Konzentration.

ZB Nr.	Keimkonz.	Konz. gefunden	Mittelwert	Methode
37	1×10^3	0		Ausschütteln
38	1×10^3	2	1,3	
39	1×10^3	2		
40	1×10^3	3		Abschaben
41	1×10^3	2	2,6	
42	1×10^3	2		
43	1×10^3	7		Ultraschall
44	1×10^3	4	5,6	
45	1×10^3	6		
46	1×10^4	35		Ausschütteln
47	1×10^4	35	32	
48	1×10^4	25		
49	1×10^4	51		Abschaben
50	1×10^4	31	35	
51	1×10^4	23		
52	1×10^4	34		Ultraschall
53	1×10^4	43	39	
54	1×10^4	41		

Getesteter Keim: *C. albicans*

Tabelle 3.3: Effektivität der Methoden zur Keimwiederfindung im Auffangmedium. Verwendeter Keim: Candida albicans ATCC 10231. Dargestellt: Kolonie bildende Einheiten/ml (KBE/ml, Mittelwerte). ZB = Zahnbürste, Konz= Konzentration.

ZB Nr.	Keimkonz.	Konz. gefunden	Mittelwert	Methode
55	1×10^3	2		Ausschütteln
56	1×10^3	-	0,6	
57	1×10^3	-		
58	1×10^3	-		Abschaben
59	1×10^3	-	0,3	
60	1×10^3	1		
61	1×10^3	-		Ultraschall
62	1×10^3	3	1	
63	1×10^3	-		
64	1×10^4	-		Ausschütteln
65	1×10^4	-	-	
66	1×10^4	-		
67	1×10^4	2		Abschaben
68	1×10^4	-	1	
69	1×10^4	1		
70	1×10^4	1		Ultraschall
71	1×10^4	2	3	
72	1×10^4	2		

Für die weiteren Versuche wurde ausschließlich die Ultraschallmethode genutzt, da durch diese die höchsten Keimanzahlen im Auffangmedium wieder gefunden werden konnten (siehe Tab. 3.1- 3.3). Außerdem erwies sich diese Methode während der Versuchsreihe als eine Arbeitserleichterung, da die Bürsten nur ins Ultraschallbad gehalten und nicht aktiv ausgeschüttelt oder mittels Öse abgeschabt werden mussten. Außerdem ist die Ultraschallmethode jene Methode, die am ehesten zu standardisieren war.

3.1.2 Versuche zur Wirksamkeit von Nanosilber

In den folgenden Versuchen wurde die Wirksamkeit von Nanosilber auf den beschichteten Zahnbürstenborsten im Vergleich zu herkömmlichen Zahnbürsten (Kontrollbürsten) getestet (siehe Tab. 3.4). Eingesetzt wurden zunächst zwei

verschiedene Keimkonzentrationen (10^3 und 10^4) des Keimes Escherichia coli. Im weiteren Versuchsablauf wurde aufgrund der erhaltenen Werte zwischen 20 und 100 nur noch mit der Konzentration 10^4 (Keimkonzentration pro 100 µl) gearbeitet.
Zur Keimwiederfindung wurde die Ultraschallmethode genutzt.

Tabelle 3.4: Überblick über die Kennwerte der antibakteriellen Wirkung der beschichteten Zahnbürsten im Vergleich zu den Kontrollbürsten. Verwendeter Keim: Escherichia coli ATCC 25922. ZB = Zahnbürste, Konz= Konzentration.

ZB	Keimkonz. pro 100 µl	Gefundene Keimzahl in 100 µl	Typ	Mittelwert	Differenz ZB unbeschichtet - beschichtet	Methode
73	10^3	6	unbeschichtet			Ultraschall
74	10^3	10		10,3		
75	10^3	15				
					6,3	
1	10^3	5	beschichtet			Ultraschall
2	10^3	4		4,0		
3	10^3	3				
76	10^4	50	unbeschichtet			Ultraschall
77	10^4	39		44,0		
78	10^4	43				
					16,3	
4	10^4	30	beschichtet			Ultraschall
5	10^4	24		27,7		
6	10^4	29				
79	10^4	33	unbeschichtet			Ultraschall
80	10^4	35				
81	10^4	34		34,8		
82	10^4	36				
83	10^4	33				
84	10^4	38				
					23,3	
7	10^4	10	beschichtet			Ultraschall
8	10^4	11				
9	10^4	5		11,5		
10	10^4	12				
11	10^4	10				
12	10^4	21				

Ergebnis:

Nach der Auswertung der Versuche zur Wirksamkeit von Nanosilber stellte sich heraus, dass die mit Nanosilber beschichteten Borsten antibakterielle Wirkung in Form einer Keimreduktion von E. coli zeigten. Dies ist anhand der Tabelle 3.4 zu erkennen. Beim Vergleich der wieder gefundenen KBE/ml nach Auswaschen der mit E. coli kontaminierten unbeschichteten Bürsten (weiße und blaue Borsten) mit den KBE/ml nach Auswaschen der mit E. coli kontaminierten beschichteten Bürsten (grüne und rote Borsten), ließen sich im Auffangmedium der zuletzt genannten weniger E. coli Keime finden. Bei der 10^3 Verdünnung ergab die durchschnittliche Differenz zwischen der gefundenen Keimzahl bei der unbeschichteten gegenüber der beschichteten Zahnbürste 6,3. Bei der 10^4 Verdünnung ergab die durchschnittliche Differenz 16,3.
Im weiteren Versuchsverlauf wurde nur noch die 10^4 Verdünnung verwendet. Hier lag die durchschnittliche Differenz zwischen der gefundenen Keimzahl bei den unbeschichteten (ZB 79- 84) gegenüber der beschichteten Zahnbürsten (ZB 7- 12) bei 23,3.

3.1.3 Versuchsreihe: Simulation 2-mal tägliches Zähneputzen

- Zahnbürsten unbeschichtet: 85 und 86
- Zahnbürsten beschichtet: 13 und 14

In dieser Simulationsreihe wurde mittels einer Totalprothese der Vorgang des täglichen Zähneputzens (morgens/ abends) über einen Zeitraum von 5 Tagen simuliert.

Aus dem Diagramm 3.1 ist zu entnehmen, dass nach dem Auswaschen der beschichteten Zahnbürsten ZB 13 und ZB 14 weniger Keime im Auffangmedium zu finden waren als bei den unbeschichteten Zahnbürsten ZB 85 und ZB 86.

Dies konnte durch die antibakterielle Wirkung des Nanosilbers und der daraus resultierenden Keimreduktion begründet werden.

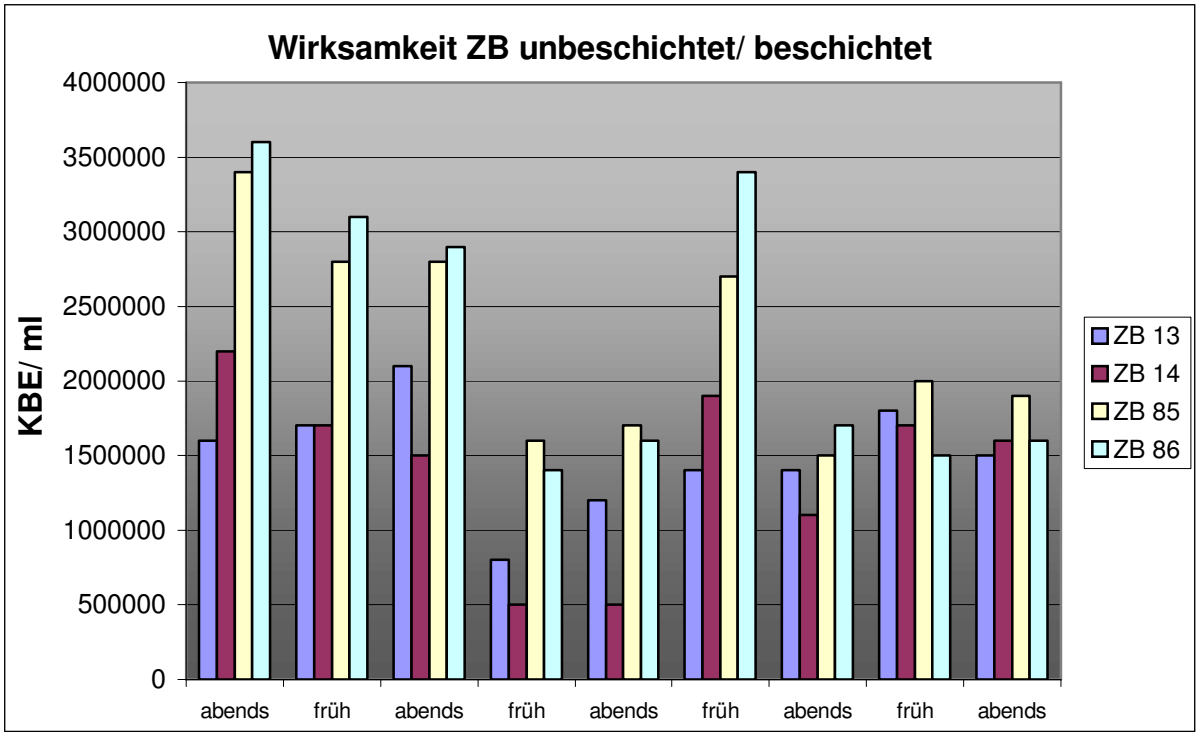

Diagramm 3.1: Simulation 2-mal tägliches Zähneputzen mittels Totalprothese. Zeitraum: 5 Tage; 4 Zahnbürsten. ZB = Zahnbürste, KBE/ml = Kolonie bildende Einheiten/ml.

3.2 Ergebnisse der klinischen Anwendungsuntersuchung

Teilnehmer dieser vergleichenden Zahnbürstenstudie waren 16 Frauen und 14 Männer, insgesamt 30 Probanden im Alter zwischen 19 und 56 Jahren. Alle 30 haben die Studie vollständig durchlaufen.

3.2.1 Stichprobendeskription

Tabelle 3.5: Überblick über die Geschlechterverteilung in der Gesamtstichprobe.

Geschlecht	Häufigkeit	Prozent
weiblich	16	53,3
männlich	14	46,7
Gesamt	30	100,0

Tabelle 3.5 zeigt die Geschlechterverteilung in der Gesamtstichprobe. Der Anteil weiblicher Probanden entspracht 53,3 %, der der männlichen Probanden 46,7 %.

Tabelle 3.6: Deskriptive Statistiken des Probandenalters in der Gesamtstichprobe sowie unter Berücksichtigung der Geschlechter.
n = Anzahl der Probanden.

Statistik	Gesamtstich-probe	Weiblich	Männlich
Mittelwert	27,53	26,63	28,57
Standardabweichung	7,63	6,53	8,86
Median	26,00	25,00	27,00
Quartilabstand	3,00	2,00	6,25
Minimum	19	21	19
Maximum	56	50	56
n	30	16	14

Tabelle 3.6 zeigt die Verteilung der Probanden bezüglich ihres Alters. Das mittlere Alter der 30 Probanden lag bei 27,53. Bei den weiblichen Probanden ist im Vergleich zu den männlichen Probanden eine weniger große Altersstreuung zu erkennen. Die Altersmediane liegen jedoch nicht weit auseinander. Der Geschlechtsunterschied hinsichtlich des Probandenalters erwies sich im Mann-Whitney-U-Test als nicht signifikant (p= 0,208, siehe Tab. 3.7).

Tabelle 3.7: Mann-Whitney-U-Test auf Geschlechtsunterschied beim Probandenalter. U= Ergebnis der Testformel ("Prüfgröße"), Z= standardisierte/ normierte Prüfgröße, ns= nicht signifikant.

Statistik	Wert
Mann-Whitney-U	81,500
Z	-1,280
Signifikanz	0,208 (ns)

Für die weitere statistische Betrachtung des Probandenalters wurden die Probanden in zwei Altersgruppen ($\leq$ 25 Jahre bzw. > 25 Jahre) aufgeteilt (siehe Tab. 3.8).

Tabelle 3.8: Altersgruppen- Klassifikation der Probanden der Gesamtstichprobe.

Alter	Häufigkeit	Prozent
bis 25 Jahre	13	43,3
> 25 Jahre	17	56,7
Gesamt	30	100,0

3.2.2 Beschreibung der Ergebnisse

Ziel dieser Untersuchung war, die beschichtete Zahnbürste hinsichtlich ihrer keimreduzierenden Wirkung der in den Probandenmundhöhlen vorkommenden Keime, im Vergleich zur unbeschichteten Zahnbürste zu testen.

Die 30 Probanden wurden zu diesem Zweck zunächst alle in einer Gruppe zusammengefasst. Bei den weiblichen Probanden wurde eine niedrigere Gesamtkeimzahl sowohl zu Beginn als auch zum Ende der Studie gemessen. Die Einteilung der 30 Probanden erfolgte daher im Folgenden- aufgrund der gemessenen Gesamtkeimzahlen- nach den Geschlechtern. Diese weitere Gruppeneinteilung sollte zu einer Verdeutlichung der Ergebnisse führen. Eine weitere Aufschlüsselung erfolgte, wie bereits unter Punkt 3.2.1, nach Altersgruppen (siehe Tab. 3.8).

In Tabelle 3.9 werden die Ergebnisse (gemessene KBE/ml) aller Probanden für die unbeschichtete (ZB 1) und die beschichtete Zahnbürste (ZB 2) im Einzelnen aufgeführt. Für jeden Probanden sind Geschlecht sowie Altersgruppe aufgeführt.
Das zugehörige Diagramm 3.2 veranschaulicht die gemessenen KBE/ml-Werte. Die blauen Säulen stellen die gemessenen Werte der unbeschichtete (ZB 1), die bordeauxfarbenen Säulen die der beschichtete (ZB 2) Zahnbürsten dar.

Tabelle 3.9: Vergleich der unbeschichteten Zahnbürsten (ZB 1) mit den beschichteten Zahnbürsten (ZB 2) für die einzelnen Probanden (P) mit Übersicht über deren Verteilung hinsichtlich Geschlecht und Alter. Auflistung der gemessenen Gesamtanzahl der koloniebildenden Einheiten pro Milliliter (KBE/ml).

Proband (P)	Geschlecht		Alter		ZB 1	ZB 2
	Weiblich	Männlich	≤25 Jahre	>25 Jahre		
P 1	X		X		40000	1800
P 2	X		X		39000	7500
P 3		X		X	122000	28000
P 4	X		X		63000	34000
P 5	X			X	27000	8000
P 6	X		X		35000	4800
P 7		X		X	38000	9700
P 8		X	X		430000	20000
P 9	X			X	115000	27000
P 10		X		X	230000	38000
P 11		X	X		44000	1700
P 12	X		X		29000	1300
P 13	X		X		23000	1000
P 14		X		X	58000	8300
P 15	X			X	24000	2100
P 16		X		X	250000	15000
P 17		X		X	105000	10000
P 18		X		X	38000	2600
P 19	X			X	66000	3400
P 20	X			X	87000	7800
P 21	X			X	73000	7500
P 22	X		X		35000	4600
P 23		X	X		63000	17000
P 24	X			X	28000	4300
P 25	X		X		27000	2100
P 26		X	X		67000	7900
P 27		X		X	62000	8800
P 28	X		X		71000	3500
P 29		X		X	75000	2800
P 30		X		X	78000	7600

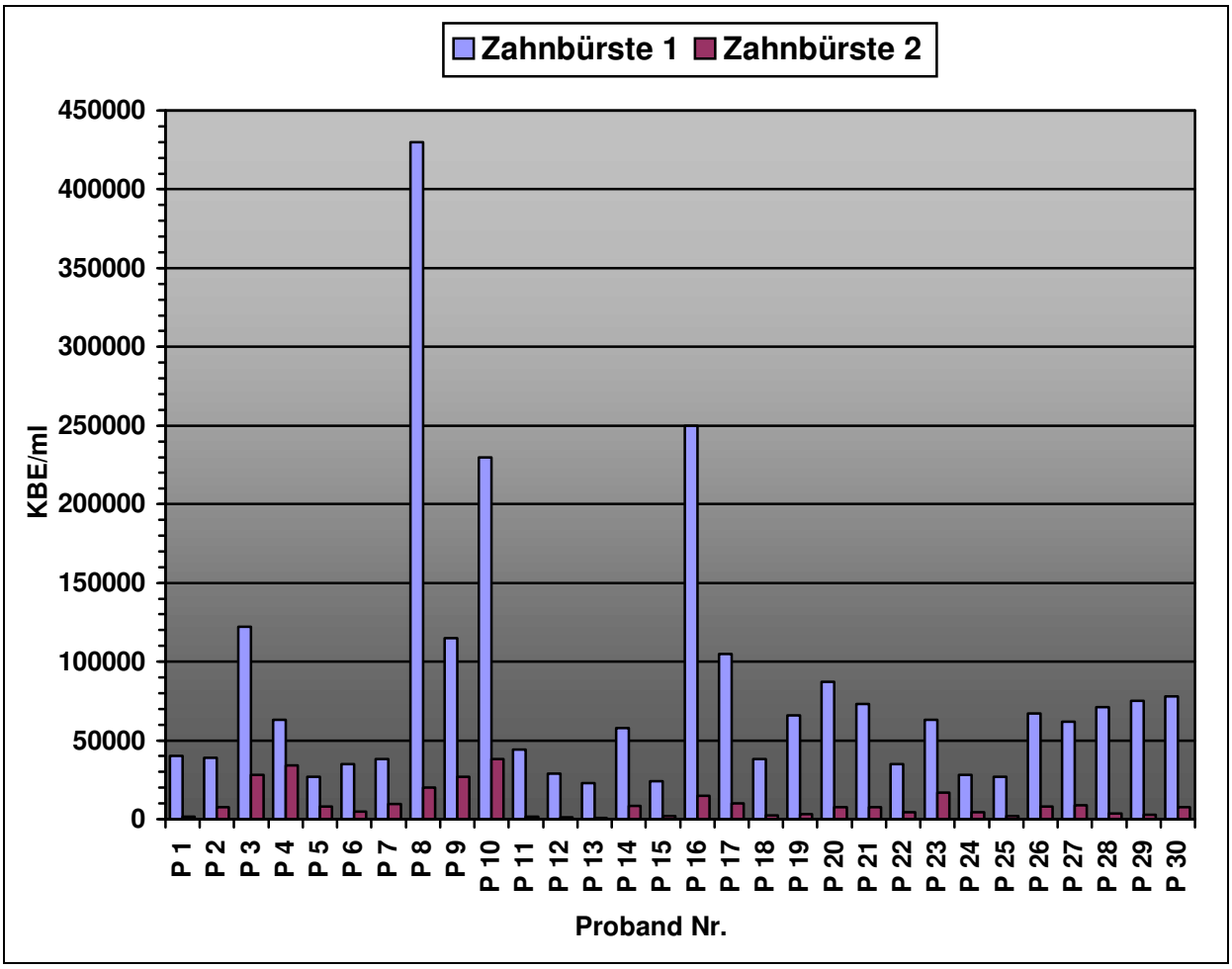

Diagramm 3.2: Darstellung der gemessenen Kolonie bildenden Einheiten pro ml (KBE/ml). Vergleich der unbeschichteten Zahnbürsten (Zahnbürste 1) mit den beschichteten Zahnbürsten (Zahnbürste 2) für alle Probanden im Überblick.

In Tabelle 3.10 wird die statistische Verteilung der Ergebnisse (gemessene KBE/ml) für die unbeschichtete (ZB 1) und die beschichtete Zahnbürste (ZB 2) sowohl für die Gesamtstichproben als auch für die beiden Geschlechter als Subgruppen aufgezeigt.

Tabelle 3.10: Deskriptive Statistik der gemessenen Kolonie bildenden Einheiten pro ml (KBE/ml) bei den unbeschichteten (ZB 1), den beschichteten Zahnbürsten (ZB 2) sowie deren Differenzmittelwerte (ZB 1 – ZB 2) innerhalb der Totalstichprobe sowie innerhalb der Frauen- und Männerkohorte im Vergleich. n = Anzahl der Probanden. Standardabw. = Standardabweichung.

Subgruppe/ Stichprobe	Statistik	ZB 1 (KBE/ml)	ZB 2 (KBE/ml)	Differenz (ZB1 – ZB 2)
Weiblich	Mittelwert	48875,00	7543,75	41331,25
	Standardabw.	27114,26	9356,14	22879,15
	Median	37000,00	445,00	30300,00
	Quartilabstand	42500,00	5625,00	40775,00
	Minimum	23000	1000	19000
	Maximum	115000	34000	88000
	Gültige n	16	16	16
Männlich	Mittelwert	118571,43	12671,43	105900,00
	Standardabw.	111486,26	10273,82	105962,31
	Median	71000,00	9250,00	64750,00
	Quartilabstand	94500,00	11350,00	74175,00
	Minimum	38000	1700	28300
	Maximum	430000	38000	410000
	Gültige n	14	14	14
Gesamt	Mittelwert	81400,00	9936,67	71463,33
	Standardabw.	84868,50	9968,14	79858,80
	Median	62500,00	7550,00	47850,00
	Quartilabstand	45250,00	8500,00	45125,00
	Minimum	23000	1000	19000
	Maximum	430000	38000	410000
	Gültige n	30	30	30

Wie aus Tabelle 3.10 zu entnehmen ist, betrug nach Verwendung der unbeschichteten Zahnbürste (ZB 1) die mittlere Keimbelastung der in den Mundhöhlen vorkommenden Keime der weiblichen Probanden 48875,00 KBE/ml. Nach Verwendung der beschichteten Zahnbürste (ZB 2) wurde bei den weiblichen Pobanden ein Wert von 7543,75 KBE/ml gemessen. Daraus ergibt sich ein Differenzmittelwert von 41331,25 KBE/ml.

Der durchschnittliche Wert nach Verwendung der ZB 1 betrug bei den männlichen Probanden 118571,43 KBE/ml, nach Verwendung der ZB 2 12671,43 KBE/ml. Hieraus ergibt sich ein Differenzmittelwert von 105900,00 KBE/ml.
Auf die Gesamtstichprobe bezogen ergeben sich Messwerte von 81400,00 KBE/ml für ZB 1 bzw. 9936,67 KBE/ml für ZB 2, was einem Differenzmittelwert von 71463,33 KBE/ml entspricht.

Es lässt sich demnach sowohl für die Gesamtstichprobe als auch für die Subgruppen der weiblichen bzw. männlichen Probanden eine Keimreduktion bei Verwendung der beschichteten Zahnbürste (ZB 2) feststellen. Auffällig ist weiterhin, dass die Reduktion der Keimzahl (Differenzwert) durch die beschichtete Zahnbürste umso größer ausfiel, je höher die anfängliche Keimbelastung bei Verwendung der unbeschichteten Zahnbürste war.

In Tabelle 3.11 findet sich die statistische Verteilung der Ergebnisse (gemessene KBE/ml) für die unbeschichtete (ZB 1) und die beschichtete Zahnbürste (ZB 2) aufgeschlüsselt nach den Altersklassen ($\leq$ 25 Jahre bzw. > 25 Jahre) der Probanden.

Tabelle 3.11: Deskriptive Statistik der gemessenen Kolonie bildenden Einheiten pro ml (KBE/ml) bei den unbeschichteten (ZB 1) und beschichteten Zahnbürsten (ZB 2) sowie deren Differenzmittelwerte (ZB 1 – ZB 2) bei den Altersgruppen im Vergleich. n = Anzahl der Probanden. Standardabw. = Standardabweichung.

Subgruppe/ Stichprobe	Statistik	ZB 1 (KBE/ml)	ZB 2 (KBE/ml)	Differenz (ZB 1 – ZB 2)
≤ 25 Jahre	Mittelwert	74307,69	8246,15	66061,54
	Standardabw.	108086,68	9786,69	104211,60
	Median	40000,00	4600,00	31500,00
	Quartilabstand	33000,00	10700,00	24200,00
	Minimum	23000	1000	22000
	Maximum	430000	34000	410000
	Gültige n	13	13	13
> 25 Jahre	Mittelwert	86823,53	11229,41	75594,12
	Standardabw.	64966,56	10206,11	58070,72
	Median	73000,00	8000,00	65500,00
	Quartilabstand	72000,00	8650,00	59150,00
	Minimum	24000	2100	19000
	Maximum	250000	38000	235000
	Gültige n	17	17	17
Gesamt	Mittelwert	81400,00	9936,67	71463,33
	Standardabw.	84868,50	9968,14	79858,80
	Median	62500,00	7550,00	47850,00
	Quartilabstand	45250,00	8500,00	45125,00
	Minimum	23000	1000	19000
	Maximum	430000	38000	410000
	Gültige n	30	30	30

Wie aus Tabelle 3.11 ersichtlich wird, lassen sich für die ältere (> 25 Jahre) Subgruppe leicht höhere Messwerte bezüglich der Keimbelastung (KBE/ml) feststellen, als für die jüngere (≤ 25 Jahre) Subgruppe (siehe Mittelwerte: 74307,69 KBE/ml gegenüber 86823,53 KBE/ml für die unbeschichtete Zahnbürste bzw. 8246,15 KBE/ml gegenüber 11229,41 KBE/ml für die beschichtete Zahnbürste).

3.2.3 Vergleich der unbeschichteten Zahnbürste (ZB 1) mit der beschichteten Zahnbürste (ZB 2)/ Einfluss der Nanosilber-Beschichtung.

Tabelle: 3.12: Wilcoxon-Test auf Unterschiede zwischen unbeschichteten und beschichteten Zahnbürsten bezüglich der gemessenen Keimzahlen (KBE/ml) innerhalb der Gesamtstichprobe sowie bei Männern und Frauen im Vergleich.
Z= standardisierte/ normierte Prüfgröße.

Stichprobe/ Subgruppe	**Z**	**Signifikanz**
Gesamtstichprobe	-4,782	0,000
Frauen-Kohorte	-3,516	0,000
Männer-Kohorte	-3,296	0,001

Aus der Tabelle 3.12 ist zu entnehmen, dass der Wilcoxon-Test bei der Totalstichprobe einen hoch signifikanten p-Wert von < 0,001 bezüglich der Keimreduktion durch die beschichtete Zahnbürste (ZB 2) ergab.
Nun wurden die p-Werte für die beiden Subgruppen (Frauen-Kohorte/ Männer-Kohorte) errechnet. Auch hier ergaben sich hoch signifikante p-Werte von < 0,001. Somit galt die statistische Validität nicht nur für das Gesamtkollektiv, sondern auch für die beiden Einzelkollektive. Die Beschichtung mit Nanosilber resultierte demnach einheitlich in einer hoch signifikanten Reduktion der Keimbelastung. Eine verdeutlichende graphische Darstellung der Keimreduktion durch die beschichtete Zahnbürste (ZB 2) im Vergleich zur unbeschichteten Zahnbürste (ZB 1) findet sich in Diagramm 3.3.

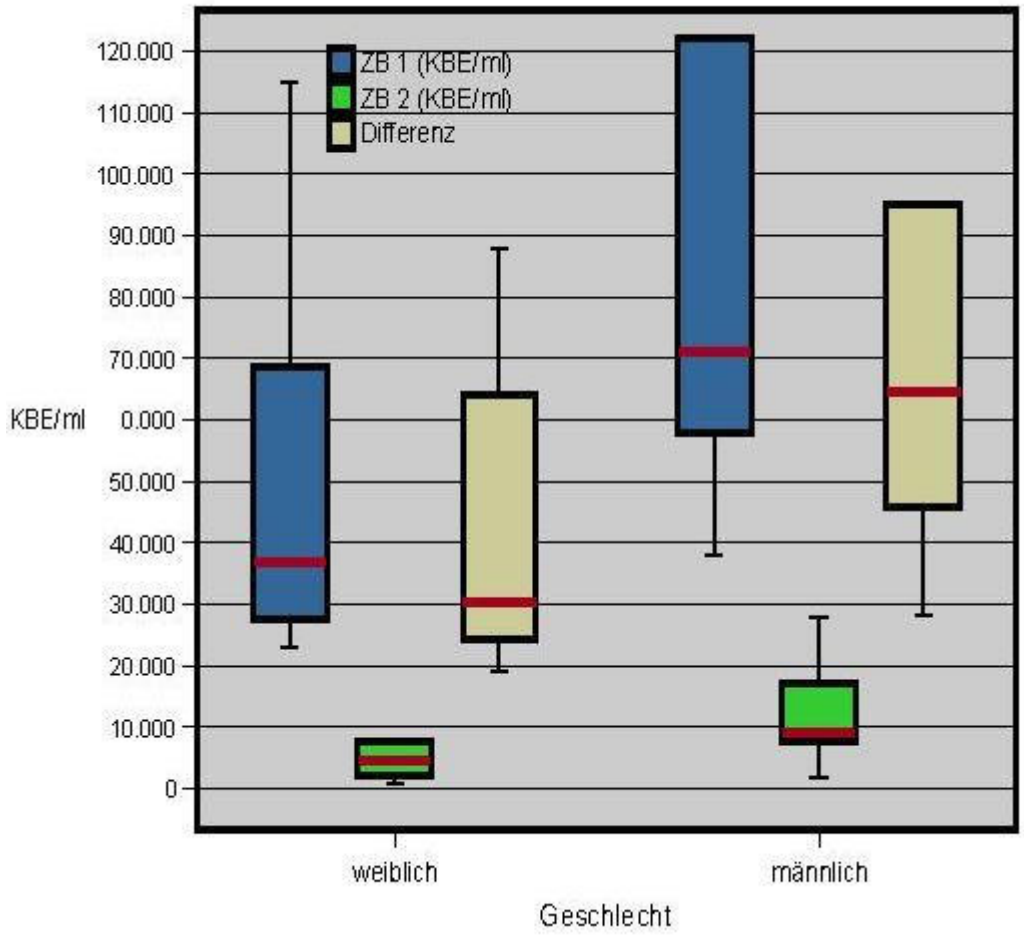

Diagramm 3.3: Mediane und Streuungen der gemessenen koloniebildenden Einheiten pro ml (KBE/ml) bei den unbeschichteten (ZB 1) und beschichteten (ZB 2) Zahnbürsten sowie deren Differenz.

3.2.4 Vergleich der Ergebnisse unter Berücksichtigung des Einflusses von Geschlecht und Alter

Tabelle 3.13: Mann-Whitney-U-Test auf Geschlechterunterschiede bezüglich der gemessenen Keimzahlen (KBE/ml) für die unbeschichtete Zahnbürste (ZB 1), die beschichtete Zahnbürste (ZB 2) sowie den Differenzwert im Vergleich.
Z= standardisierte/ normierte Prüfgröße.

Statistik	ZB 1 (KBE/ml)	ZB 2 (KBE/ml)	Differenz ZB 1 – ZB 2
Mann-Whitney-U	48,500	58,000	45,000
Z	-2,641	-2,245	-2,785
Signifikanz	0,007	0,025	0,004

Wie schon in Tabelle 3.10 ersichtlich, wiesen die weiblichen Probanden eine generell geringere Keimbelastung im Vergleich zu den männlichen Probanden auf. Tabelle 3.13 zeigt, dass das Geschlecht gemäß Mann-Whitney-U-Test signifikanten (für die beschichtete Zahnbürste) bzw. sehr signifikanten (für die unbeschichtete Zahnbürste sowie den Differenzwert) Einfluss auf die ermittelten Keimzahlen (KBE/ml) ausübte. Eine verdeutlichende graphische Darstellung der Messwerte für weibliche Probanden im Vergleich zu männlichen Probanden findet sich in Diagramm 3.4, wobei beide Zahnbürsten (unbeschichtet/ beschichtet) zusammengefasst werden.

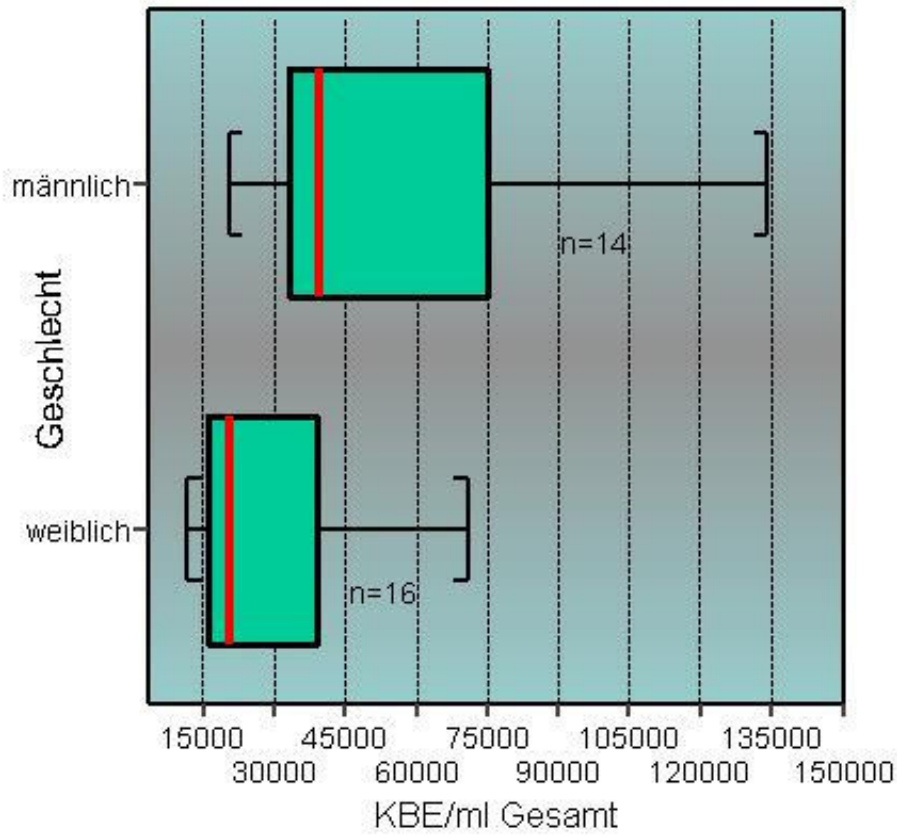

Diagramm 3.4: Mediane und Streuungen der gemessenen koloniebildenden Einheiten (KBE) pro ml (KBE/ml) beider Zahnbürsten im Vergleich der Geschlechter (weibliche bzw. männliche Subgruppe). n= Probandenanzahl.

Tabelle 3.14: Mann-Whitney-U-Test auf Unterschiede der Altersgruppen bezüglich der gemessenen Keimzahlen (KBE/ml) für die unbeschichtete Zahnbürste (ZB 1), die beschichtete Zahnbürste (ZB 2) sowie den Differenzwert im Vergleich. Z= standardisierte/ normierte Prüfgröße.
ns= nicht signifikant.

Statistik	ZB 1 (KBE/ml)	ZB 2 (KBE/ml)	Differenz ZB 1 – ZB 2
Mann-Whitney-U	72,500	72,000	72,000
Z	-1,591	-1,612	-1,611
Signifikanz	0,113 (ns)	0,113 (ns)	0,113 (ns)

Tabelle 3.11 lässt auf einen Einfluss des Alters auf die gemessenen Keimzahlen schließen, da sich höhere Keimzahlen für die ältere (> 25 Jahre) Altersgruppe im Vergleich zur jüngeren (≤ 25 Jahre) Altersgruppe feststellen ließen. Tabelle 3.14 macht jedoch deutlich, dass das Alter gemäß Mann-Whitney-U-Test keinen signifikanten Einfluss auf alle ermittelten Keimwerte (KBE/ml) ausübte. Höhere Keimzahlen im älteren Probandenfeld stellen damit lediglich eine Tendenz dar. Eine graphische Darstellung der Messwerte für die Altersgruppen im Vergleich zu findet sich in Diagramm 3.5, auch hier werden die beide Zahnbürsten (unbeschichtet/ beschichtet) zusammengefasst.

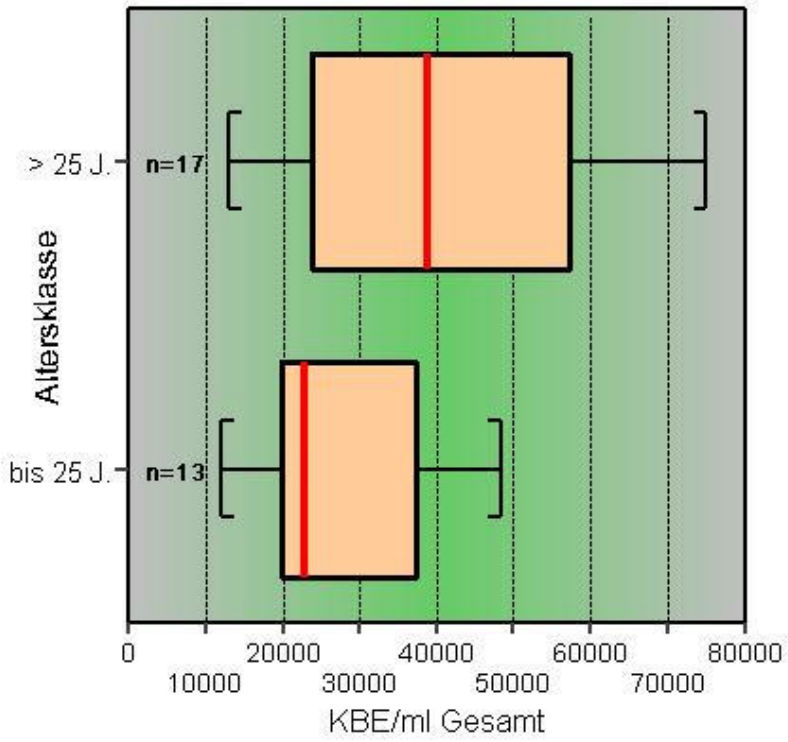

Diagramm 3.5: Mediane und Streuungen der gemessenen koloniebildenden Einheiten (KBE) pro ml (KBE/ml) beider Zahnbürsten im Vergleich der Altersgruppen (> 25 Jahre bzw. ≤ 25 Jahre).

Schlussfolgerungen:

- Die Ultraschallmethode erwies sich sowohl bei den mikrobiologischen Versuchen als auch bei der klinischen Untersuchung als die einfachste und am ehesten zu standardisierende Methode bezüglich der Keimzählung.
- Die mit Nanosilber beschichteten Zahnbürstenborsten zeigten allesamt eine hoch signifikante antibakterielle Wirkung in Form einer Keimreduktion.
- Die unbeschichteten Zahnbürsten der männlichen Probanden wiesen eine höhere Keimbesiedelung auf als die der weiblichen Probanden. Außerdem fiel die Reduktion der Keimbelastung bei hohen Keimzahlen auf den unbeschichteten Zahnbürsten bei Verwendung der beschichteten Bürsten umso signifikanter aus. Es zeigte sich demnach ein sehr signifikanter Einfluss des Geschlechts, sowohl hinsichtlich der Keimbelastung als auch der Keimreduktion.

- Bezüglich des Probandenalters konnte kein signifikanter Einfluss auf Keimbelastung bzw. Keimreduktion festgestellt werden. Es ließ sich lediglich eine Tendenz hinsichtlich einer höheren Keimbelastung der älteren Probanden nachweisen.

3.3 Auswertungen der Fragebögen bezüglich der Zahnbürsten

Die Tabellen 3.15- 3.17 zeigen die Auswertungen der Fragebögen bezüglich der Borstenhärte, der Bürstenkopfgröße und der Griffbeschaffenheit der Testzahnbürsten im Vergleich.

Borstenhärte:

Tabelle 3.15: Bewertung der Borstenhärte für ZB 1 und ZB 2. Angaben in n= Probandenzahl und Prozent. ZB= Zahnbürste.

Härte ZB 1 +2	zu weich	weich	mittel	hart	zu hart
n	0	0	10	7	13
Prozent	0	0	33	23	44

Die Mehrheit der Probanden bewertete die Borstenhärte als mittel (33%) bzw. hart (23%). Als zu hart und damit unangenehm wurde die Borstenhärte von 44% der Probanden eingestuft.

Bürstenkopfgröße:

Tabelle 3.16: Bewertung des Zahnbürstenkopfs. Angaben in n= Probandenzahl und Prozent. ZB= Zahnbürste.

Kopfgröße ZB 1 + 2	zu klein	gut	zu groß
n	0	10	20
Prozent	0	33	67

Die Größe des Bürstenkopfs wurde von 67% der Probanden als zu groß bewertet, während lediglich 33% die Größe für gut befanden. Keiner der Probanden hielt den Kopf für zu klein.

Bürstengriff:

Tabelle 3.17 Bewertung des Zahnbürstengriffs. Angaben in n= Probandenzahl. ZB= Zahnbürste.

Griff ZB 1+2	zu dünn	zu dick	zu kurz	zu lang	zu glatt	zu kantig	an-genehm
n	18	0	0	0	19	12	0

Für die Bewertung des Zahnbürstengriffs waren Mehrfachnennungen möglich, weswegen keine prozentuale Umrechnung erfolgen konnte. Die Vielzahl der Probanden war sich einig und bestätigte, dass der Bürstengriff in erster Linie zu glatt und zu dünn war. Ein zu kantiger Griff wurde ebenfalls bemängelt. Als zu dick, zu kurz oder als zu lang wurde der Griff nicht empfunden und keiner der Probanden stimmte für „angenehm“.

Die zuletzt gestellten Fragen:

- Welche Zahnbürste war vom Gefühl her angenehmer?
- Welche Bürste hat vom Gefühl her besser die Zähne gereinigt?
- Welche Zahnbürste würden Sie insgesamt bevorzugen?

wurden von den Probanden wie folgt beantwortet:

Die Probanden waren sich jeweils einig und stimmen zu 100 % zugunsten der beschichteten Zahnbürste (ZB 2) ab.

4 Diskussion

4.1 Kriterien zur Zahnbürstenauswahl

4.1.1 Die Handzahnbürste

Die Zahnbürste ist das meist genutzte Hilfsmittel zur Entfernung der bakteriellen Plaque. Zahlreiche Untersuchungen belegen die Wichtigkeit der mechanischen Zahnreinigung und Zahnfleischmassage, um Zähne und Parodont gesund zu erhalten (Miller 1889, Miller 1890, Bass 1948, Gülzow und Busse 1970, Riethe 1974, Gülzow 1978, Hellwig et al. 1999). Deshalb entwickelte die Industrie eine Vielzahl von Handzahnbürsten, deren Gestaltung den Bestimmungen der deutschen Industrienorm (DIN) (kurzer Putzkopf- ca. 2,5 cm Länge, elastische, gerade, abgerundete Kunststoffborsten, stabiler Griff) unterliegt. Die Einteilungen erfolgen aufgrund von unterschiedlichen Borstendurchmessern nach Härtegrad (weich, mittelhart, hart) und müssen in Form einer Kennzeichnung angegeben sein. In der Literatur werden 20- 40 Borsten pro Büschel, sogenannte multi-tufted Zahnbürsten, empfohlen, da eine höhere Borstendichte signifikant mehr Plaque entfernen soll (Pretara-Spanedda et al. 1989, Hellwig et al. 1999). Die Zahnbürste sollte unbedingt Kunststoffborsten besitzen, da die innen hohlen Naturborsten einen idealen Nistplatz für Bakterien darstellen.

Die Zahnbürste sollte nach ca. 4 Wochen (Riethe 1974, Hellwig et al. 1999), spätestens aber alle 6- 8 Wochen (GABA 2001) oder bei umgebogenen Borsten ausgetauscht werden, da die ausgefransten Borstenenden das Zahnfleisch verletzen können und den Reinigungseffekt herabsetzen (Hellwig et al. 1999). Bei Infektionen im Mund- und Rachenraum sollte die Zahnbürste ebenfalls zeitnah erneuert werden, um eine Reinfektion durch die bakterielle Besiedelung der Bürste zu verhindern (Hellwig et al. 1999). Nach einer neuen wissenschaftlichen Untersuchung wechseln die Deutschen im Bundesdurchschnitt ihre Handzahnbürste höchstens 1,6-mal pro Jahr anstatt des zahnärztlich empfohlenen 6-maligen Wechsels (GABA 2001).

Von den Nanosilber beschichteten Zahnbürsten erhofft man sich folgende positive Eigenschaften: Die antibakterielle Wirkung der Silberpartikel soll eine Reduzierung der an den Borsten haftenden Keime durch Hemmung im Wachstum und Vermehrung bewirken. Keime, die nicht zur physiologischen Mundflora gehören, sich

über den Luftweg verbreiten und auf den Zahnbürsten niederschlagen, sollen abgetötet werden. Auch sollen Neubesiedelungen von Zahnoberflächen oder parodontalen Zahnfleischtaschen durch kontaminierte Bürste vermieden werden.

4.1.2 Vergleichende Zahnbürstenstudien

In den letzten Jahren sind in einer Vielzahl von Studien verschiedene Zahnbürstentypen getestet worden (Klimek et al. 1989, Khocht et al. 1992, Khocht et al. 1993). Bis jetzt konnte sich kein Zahnbürstentyp gegenüber den anderen auf dem Markt erhältlichen Bürsten durchsetzten. Die für diese Studie hergestellten multi-tufted Zahnbürsten sind daher in Form und Borstenanordnung einfach gehalten (gerader Griff, ebenes Borstenfeld).
1962 warnte Sauerwein, je ausgefallener das Profil sei, desto unsicherer erschiene die Funktion. 1995 wurde in einer wissenschaftlichen Studie nachgewiesen, dass Zahnbürsten mit schlecht gerundeten Borstenenden mehr Schleimhautläsionen verursachen als gut endgerundete Borsten (Imfeld et al.1995). 1992 zeigten Mulry et al., dass die gerundeten Borsten von V-Zahnbürsten im direkten Vergleich besser verträglich sind als Zahnbürsten mit ebenen Borstenfeldern (hinsichtlich ihrer Reinigungswirkung zumindest nicht schlechter). Dasselbe gilt für Zahnbürsten mit gestuften und/ oder divergierenden (Reardon et al. 1993) sowie für Zahnbürsten mit unterschiedlich langen Borsten. Diese bewiesen in mehreren Studien ihre Überlegenheit hinsichtlich Plaqueentfernung und Bekämpfung gingivaler Entzündungen gegenüber konventionellen Handzahnbürsten mit ebenem Borstenfeld (Yankell et al. 1992, Sharma et al. 1992, Doherty et al. 1999). Bezüglich der interdentalen und sulkulären Penetrationsfähigkeit der Borsten waren sie jedoch unterlegen. Allerdings kann das Profil des Borstenfeldes viele Variationen zeigen.

4.2 Zahnbürstenhandling

Auch bei dem Gebrauch von beschichteten Bürsten gelten die allgemein gültigen Tipps zum Bürstenhandling, die auch den teilnehmenden Probanden auferlegt wurden:

- *Die Zahnbürste nach dem Putzen unter fließendem Wasser gründlich abspülen und anhaftende Verunreinigungen mechanisch entfernen.*
- *Zur schnelleren Trocknung Bürste auf dem Waschbeckenrand ausschlagen.*
- *Aufbewahrung: stehend mit dem Kopf nach oben in einem Becher/ Glas an einem "luftigen" Ort - also nicht im Badezimmerschrank.*
- *Regelmäßiger Wechsel der Bürste, da ausgefranste Borsten eine größere Oberfläche haben und die Bakterien besser halten.*

Diese Regeln wurden, laut Probandenaussagen, während der Studie strikt eingehalten.

4.3 Überlegungen zum Ablauf der Studie

1. Klinische (objektive) Kriterien (4.3.1)
2. Mikrobiologische Kriterien (4.3.2)
3. Subjektive Kriterien (4.3.3)

4.3.1 Klinische (objektive) Kriterien

A) Wahl des Studiendesigns:

Es gibt für Zahnbürstenstudien grundsätzlich zwei Designmethoden. Das Cross over- und das Parallel-Design (Tab. 4.1).
Wird das Cross over-Design gewählt, das bevorzugt in kurzfristigeren Zahnbürstenstudien (kürzer als 3 Monate) eingesetzt wird, so ist vorgesehen, dass der Proband jede zu untersuchende Zahnbürste austestet (Addy 1998). Der Teilnehmer beginnt mit der Bürste A und wechselt nach Abschluss der ersten Versuchsphase zur Bürste B. Um eine Beeinflussung zwischen dem Zahnbürstenwechsel (cross over) durch das erste Versuchsintervall auszuschließen, muss innerhalb der Studie ein gewisser Ruhezeitraum, die Wash out-Phase (Pause von einer Woche) gegeben sein (Heinecke et al. 1992).

Die alternative Methode besteht in dem Parallel-Design. Zwei Gruppen, die durch vorheriges Screening ausgewählt wurden, starten parallel mit jeweils der zu untersuchenden Zahnbürste. Jeder Proband testet nur eine Bürste. Diese Methodik

haben Haesman et al. (1999) und Warren et al. (2001) in ihren Zahnbürstenstudien gewählt.

Tabelle 4.1: Tabellarische Darstellung Studiendesign (Cross over/ Paralleldesign)

Studiendesign	Literatur	Argumentation/ Bewertung
Cross over-Design	Balanyk et al. (1993), Singh et al. (1992, 1993), Claydon et al. (1995, 1996), McDaniel et al. (1997), Ernst et al. (1998), Hanioka et al. (1999), Zimmer et al. (1997), Aass et al. (2000), Beals et al. (2000), Claydon et al. (2000), Harpenau (2000), Zimmer et al. (2000 a), Cronin et al. (2001), Dorfer et al. (2001), Mantokoudis et al. (2001), Ruhlman et al. (2001), Singh et al. (2001), Thienpont et al. (2001).	Einsatz in Zahnbürstenstudien (kürzer als 3 Monate). Praktikabler, da weniger Probanden nötig. Probanden testen beide Zahnbürsten. Genügend lange Wash out-Phase erforderlich. Studienaufwand bei der Probandenaquisition weitaus geringer als bei dem Parallel-Design.
Parallel-Design	Fleiss et al. (1987), Pretara-Spanedda et al. (1989), Sharma et al. (1992), Kieser et al. (1997), Cronin et al. (2001); Haesman et al. (1999), Chava (2000), Sharma et al. (2000 a), Warren et al. (2001).	Längere Testphasen, ca. 3 Monate. Wird in Zahnbürstenstudien sehr viel seltener verwendet als Cross over-Design, obwohl es von Statistikern bevorzugt wird.

In der Nanosilberstudie kam weder das Cross over-, noch das Parallel-Design zum Einsatz. Beide Konzeptionen schienen für den Studienablauf nicht schlüssig. Individuell sollte die Wirksamkeit des Nanosilbers im Vorher-/ Nachhertest hervorgehoben werden. Die Probanden putzten sich zuerst mit der Zahnbürste 1 die Zähne, nach der Wash out-Phase mit der Bürste 2. Anschließend wurden die pro Versuchsteilnehmer erhaltenen Testergebisse miteinander verglichen und die Differenz der beiden erhaltenen Werte wurde ermittelt.

Auch war die Überlegung, ob bei der Wahl des Cross over-Designs eine Wash out-Phase von einer Woche ausgereicht hätte. Unklar war, ob und in welchem Maße das Nanosilber Auswirkungen auf die Mundflora hatte und ob sich nach der Wash out-Phase das ursprüngliche Keimspektrum wieder eingestellt hätte. Andernfalls wäre es zur Beeinflussung der Ergebnisse gekommen. Bezüglich des Einsatzes von Nanosilber im dentalhygienischen Bereich gibt es noch keine zuverlässigen, experimentell belegten Quellen.

Der Vorher-/ Nachhertest zeigte deutlich die Keimreduktion im Falle jedes einzelnen Probanden auf. Dadurch dass jeder Proband für sich betrachtet wurde, konnten gewisse Faktoren bei diesem Studiendesign außer Acht gelassen werden:

- *unterschiedliches Putzverhalten*
- *Keimflora/ Keimanzahl der Teilnehmer*
- *Eßgewohnheiten der Probanden*
- *Jahreszeit, mit unterschiedlichem Lebensmittelgenuss und dadurch variierendem pH-Wert, Keimspektrum etc.*
- *Zuverlässigkeit (Einhaltung der Pflegeanleitung, regelmäßiges Zähneputzen etc.) der Probanden*

Es wurde angenommen, dass die Probanden während der fünf Wochen eine Gleichmäßigkeit in ihrer individuellen Mundpflege, den Ernährungs-/ Eßgewohnheiten und auch in puncto Zuverlässigkeit aufwiesen. Außerdem nahmen die Probanden entweder während der Wintermonate oder während der Sommermonate an der Studie teil, sodass die aufgezählten Faktoren (individuelles Verhalten) nicht in die Auswertung miteinbezogen werden mussten.
Das Studiendesign bot den Vorteil eines organisatorisch gut durchführbaren Studienablaufs mit einer geringen Probandenzahl.
Um mögliche Wechselwirkungen der ersten Testphase auf die folgende (Heinecke et al. 1992) sicher auszuschließen, wurde die Wash out-Phase von einer Woche eingehalten. Da jedoch in dieser Studie alle Probanden zuerst mit der herkömmlichen Bürste putzen, konnte davon ausgegangen werden, dass die Bürste 1 den gleichen Effekt wie jede vorher von den Pobanden verwendete, herkömmliche Zahnbürste auf die Keimbelastung im Mund hatte. Somit wäre die Einhaltung der Wash out-Phase nicht unbedingt nötig gewesen.
In zukünftigen Studien, egal welches Studiendesign gewählt wird, kann die Wash out-Phase von einer Woche beibehalten werden, um Wechselwirkungen sicher auszuschließen. Zudem nimmt das Einhalten der Wash out-Phase keinen negativen Einfluss auf die Testphasen und Ergebnisse.

B) Überlegungen zur Probandenanzahl

Die Probandenanzahl der Zahnbürstenstudien differiert zwischen 15 Personen (Niemi 1987, 1988) und 193 Personen (Sharma et al. 1994), wobei in den meisten Fällen eine größere Probandengruppe bei längerfristigen Studien herangezogen wird. Generell ist eine große Probandenzahl anzustreben, um möglichst viele Daten für die statistische Auswertung erheben zu können.
Dem widerspricht eine Langzeitstudie von sechs Monaten (Yankell et al. 1992), in denen nur 48 Probanden teilnahmen. Bei den 15 Probanden von Niemi (1987) handelte es sich um eine Zahnbürstenstudie zweiwöchiger Dauer, während in der Studie von Sharma et al. (1994) ein Zeitraum von drei Monaten angesetzt war. Die Größen der Probandengruppen differieren also sehr stark (Niemi 1987, Sharma et al. 1994). 1998 gab die ADA (American Dental Association) ein Richtlinienskript für Studien heraus, welches eine bewertbare Probandengruppe von mindestens 25 Personen bei einer Mindeststudiendauer von 30 Tagen als notwendig erachtet. Die Stärke der Probandengruppe ist jedoch auch von der Art der Studie abhängig. Die Stärke der Probandengruppe hängt außerdem mit der Art der Studie zusammen. Während bei Pilotstudien eher kleinere Probandengruppen gewählt werden, partizipiert bei erprobten Studiendesigns erfahrungsgemäß eine größere Anzahl von Teilnehmern. Die Realisierbarkeit wird beeinflusst durch die Wahl der Teilnehmeranzahl und den Zeit-/ Kostenaufwand.
Im Falle dieser Studie wurde eine Probandenzahl von 30 Personen festgelegt, da diese eindeutig den Charakter einer Pilotstudie aufweist. Die Mindestempfehlung (25 Probanden) der American Dental Association (ADA 1998) wurde mit 30 Teilnehmern, eingehalten. In Folgestudien sollte die Probandenanzahl erhöht werden, um die Ergebnisse durch einen exakteren Näherungswert zu bestimmen.

C) Überlegungen zur Studiendauer

Es liegt eine Vielzahl von Zahnbürstenstudien vor, die sich in Probandenanzahl, Studiendauer und Umfang stark unterscheiden.
Die Studiendauer beläuft sich bei den meisten Zahnbürstenstudien auf einen Zeitraum zwischen einer Woche (Pretara-Spanedda et al. 1989, Singh et al. 1992, Deasy et al. 1993, Balanyk et al 1993, De Guzman et al. 1996, Zimmer et al. 2000 a,

Claydon et al 2000) und drei Monaten (Sharma et al. 1994, Haesman et al. 1999, Bader und Boyd 1999, Sharma et al. 2000 b).
Sobald Gingivitiswerte erhoben werden, wählen die Autoren Zeiträume ab einem Monat, da sich diese Werte innerhalb von drei Wochen oder länger manifestieren bzw. weil die Ausheilungsprozesse der Gingiva in der Regel drei Monate in Anspruch nehmen (Sharma et al. 1994; Haesman et al. 1999). Die Evaluation von Plaquewerten war jedoch nicht Inhalt dieser Studie.
Die Dauer der Nanosilber Versuchsreihe belief sich insgesamt auf 35 Tage. Bestehend aus einer 1. Testphase (Tag 0- 14), einer empfohlenen Wash out-Periode (7 Tage) und einer 2. Testphase (Tag 21- 35). Die 1998 von der ADA empfohlene Mindeststudiendauer von 30 Tagen sowie die innerhalb der Studie empfohlene Pause von sieben Tagen (Heinecke et al. 1992) wurden somit berücksichtigt und erfüllt.
Eine längere Studiendauer bedeutet für die Probanden einen größeren organisatorischen Aufwand. Es besteht die Gefahr, dass die Motivation nachlässt oder die Testreihe durch den Lerneffekt des Probanden beeinflusst wird.

4.3.2 Mikrobiologische Kriterien

A) Multiresistente Krankheitserreger

Multiresistente Krankheitserreger, die gegen viele Medikamente eine Resistenz entwickelt haben, sind in Krankenhäusern existent. Die Infektionsgefahr ist besonders hoch, wenn Mikroorganismen in die Blutbahn gelangen. Mit Nanosilber beschichtete Kunststoffe als Material beispielsweise für Katheter, welche keine Keimbelastung dulden, werden seit Langem getestet. Die leichte Besiedelbarkeit von Kunststoffen durch Bakterien und Pilzen ruft immer wieder schwere septische Infektionen bei geschwächter Immunabwehr hervor (Guggenbichler 2004). Antibiotika verlieren zunehmend ihre Wirkung aufgrund der zunehmenden Resistenzbildung der Krankheitserreger (Hof 2003, Guggenbichler 2004). So bietet die Ausnutzung der schon länger bekannten oligodynamischen Wirkung von Silber eine interessante Alternative. Nanosilber kann bis zu 650 verschiedene Bakterienarten abtöten und zeigt die beste antimikrobielle Wirksamkeit gegen Mikroorganismen einschließlich multiresistenter Stämme bei geringster Toxizität. (Guggenbichler 2004). Es zeigen

jedoch nur Silberionen, die an den Oberflächen der Materialien freigesetzt werden, antibakterielle Wirkung. Die Oberfläche wird daher vergrößert. Die Nanosilberpartikel füllen die Kunststoffmatrix und ergeben eine Oberfläche von > 2000 cm_Ag/g Kunststoff (Guggenbichler 2004). Ohne dass Silber direkt mit dem Körpergewebe in Kontakt tritt, werden antimikrobielle Konzentrationen von Silberionen aus dem Kunststoff gelöst. So wird eine schnelle und effiziente bakterizide Wirksamkeit über Jahre hinweg erreicht.
Seit nahezu 15 Jahren werden experimentelle und klinische Untersuchungen mit Nanosilber durchgeführt. Das Nanosilber wird durch Zugabe von Säuren und Elektrolyten gebildet. Dabei entstehen auf den Silberpartikeln schwer wasserlösliche Silbersalze, die wie eine Batterie mit dem metallischen Silber reagieren. Dadurch werden effektiv Silberionen freigesetzt. Beispielsweise ein mit Keimen infizierter Katheter, der mit aktiviertem Nanosilber in Berührung kommt, reinigt sich selbst innerhalb kürzester Zeit: bereits nach zwölf Stunden ist er keimfrei (Guggenbichler 2004). Nanosilber ist bei der Arbeit in einem kontaminierten Milieu indiziert (Guggenbichler 2004). Da die Mundhöhle ein stark besiedeltes Keimreservoire darstellt, ist der Einsatz von Nanosilber für die Zahnmedizin empfehlenswert. Die Silbertechnologie ist auch hier eine sinnvolle Alternative zu den üblichen Desinfektionsmitteln im Kampf gegen Mikroorganismen die Krankheiten wie Karies, Gingivitis, Parodontitis und Stomatitis hervorrufen. Ein erweiterter Einsatz in anderen Teilgebieten wie z.B. auf Gaumenplatten bei Gaumenspalten ist ebenfalls denkbar. Auf diese Weise könnte die Besiedelung von Keramikkörpern und Kunststoffen durch Bakterien, die eine große Rolle bei lokalen sowie systemischen Infektionen spielt, verhindert werden. Da reines Silber sehr gut biokompatibel und verträglich ist, sind allergische und pseudoallergische Reaktionen lediglich durch starke Verunreinigung mit unverträglichen Materialien wie z.B. Nickel zu erwarten.

B) Problematik der Keimerfassung

Die Mundhöhle ist von zahlreichen bakteriellen Mikroorganismen besiedelt, rund 300 verschiedene Keimarten sind bislang untersucht (Page et al. 1982). Dies erschwert eine qualifizierende und quantitative Erfassung und Auswertung der Bakterienflora.
In durchgeführten Katheterstudien, in welchen die bakterizide Wirkung von Nanosilber getestet wurde (Horn 2003), fiel der Nachweis der Kolonien leichter. Da

es sich hierbei normalerweise um ein steriles Kompartiment handelt, fällt bei Untersuchen hierzu das Ergebnis entweder positiv oder negativ aus. Die Mundhöhle ist ein stark kontaminierter Bereich und stellt für zahllose Keime, die u.a. an Prozessen wie der Entstehung kariöser Läsionen, gingivaler und parodontaler Erkrankungen beteiligt sind, einen nährstoffeichen Lebensraum dar (Page et al. 1982).

Zu den am besten erforschten Keimen gehören u.a. *Streptokokken*: (z.B. S. mutans, S. sanguis, S. salivarius, S. mutans, S. salivarius) und *Staphylococcen* (z.B. S. aureus).

Des Weiteren finden sich in der Zahnplaque Keime wie *Actinomyceten, Nocardien, Lactobazillen, Veillonellen,* das *Corynebakterium* oder das *Fusobakterium.*

Einige der genannten Erreger, wie z.B. S. aureus können mit einfachen wissenschaftlichen Methoden kultiviert und identifiziert werden. Andere, wie z.B. Fusobacterium nucleatum können dagegen nur mit aufwändigen oder teuren Verfahren (DNS-Sondentest) nachgewiesen werden. Um z.B. gingivale bzw. parodontale Erkrankungen zu reduzieren, müssen für folgende Studien, bei denen die Effektivität des Nanosilbers auf spezielle parodontal pathogene Keime getestet werden soll, andere Nachweisverfahren wie z.B. der DNS-Sondentest angewandt werden.

In dieser Zahnbürstenstudie wurden allgemein die sich auf der Zahnbürste befindlichen Keime quantitativ erfasst. Eine qualitative Erfassung der Keime wurde in dieser Studie nicht durchgeführt. Da im Voraus nicht bekannt war, wie viele Keime sich auf den Bürsten befinden, wurden die verschiedenen Verdünnungen angesetzt, um visuell gut zählbare Kolonien auf den Agarplatten zu erhalten (Verdünnungen: 10^2, 10^3, 10^4, 10^5).

Nach Bebrütung waren auf den Agarplatten zwischen 0 bis < 400 Keime sichtbar. Ziel der Verdünnungsreihe war eine Keimzahl zwischen 20 und 100 auf einer Agarplatte zu erhalten, da Werte in diesem Bereich am aussagekräftigsten und der statistische Fehler am geringsten war. Vor allem bei höheren Koloniezahlen wäre ein genaues Auszählen nur schwer, wenn überhaupt möglich gewesen, da die Kolonien zusammenwachsen oder sich gegenseitig überlagern.

Dieses Verfahren kann für zukünftige Studien beibehalten werden.

Der Versuchsaufbau stützt sich im Wesentlichen auf die Idee, dass die Keime sich auf den Zahnbürstenborsten anlagern. Beachtet werden muss, dass die Interaktion

der Silberionen mit den Versuchsmikroben an der Oberfläche stattfindet. Es bleibt weiterhin unbekannt, wie stark die untersuchten Mikroorganismen auf den Zahnbürstenborsten haften. Die Oberfläche der Borsten konnte von dem eingebrachten Silber so verändert sein, dass allein dadurch eine Hemmung der Keimadhäsion bestand, folglich wären von vornherein weniger Keime auf den Nanosilber enthaltenden Zahnbürstenborsten zu finden. Dies würde erklären, warum aus den beschichteten Bürsten im Vergleich zu den unbeschichteten weniger Keime gewaschen wurden.

4.3.3 Subjektive Kriterien (Benutzer)

Die Auswertung der Fragebögen, welche die Teilnehmer zum Ende der Studie ausfüllten, wies die mit Nanosilber beschichtete Zahnbürste als die mehrheitlich bevorzugte Zahnbürste aus.
Die Probanden empfanden die beschichtete Zahnbürste vom Putzgefühl her als angenehmer, da sie das Gefühl der besseren Reinigung vermittelte. Bei der Frage, welche Zahnbürste die Testpersonen insgesamt bevorzugen würden, viel die Entscheidung einstimmig zugunsten der mit Nanosilber behandelten Bürste aus.
Allerdings wurden laut Fragebogen die Borsten größtenteils als zu hart, der Bürstenkopf als zu groß, der Zahnbürstengriff (Mehrfachnennungen waren möglich) als zu kantig, zu glatt, zu lang empfunden. Für nachfolgende Studien sollte das Design der Testzahnbürsten optimiert werden. Auch könnte die Anordnung der Borsten verändert werden z.B. im X-Borsten Design, um die Effektivität der Plaqueentfernung zu erhöhen.
Prinzipiell könnte die beschichtete Zahnbürste Gefallen in einem großen Anwenderkreis finden. Personen, die ein Maximum im Hinblick optimaler Zahnpflege erreichen wollen, könnten zur Keimreduktion und weiteren Verbesserung der mundhygienischen Verhältnisse die Bürste bedenkenlos anwenden. Vor allem Anwender, die ein sehr kariesanfälliges Gebiss haben oder unter Gingivitis oder Parodontitis leiden, können durch Gebrauch der Silber beschichteten Bürsten das Risiko einer Kariesentstehung mindern und den Heilungsprozess gingivaler/ parodontaler Krankheiten beschleunigen. In wie weit eine dauerhafte Anwendung sinnvoll ist, sollte in Folgestudien überprüft werden.

5 Zusammenfassung

In dieser Studie wurde ein Effektivitätsvergleich zwischen zwei Zahnbürsten, einer herkömmlichen Zahnbürste mit planem Borstenfeld und einer eigens für diese Studie hergestellten Zahnbürste mit Nanosilber beschichteten Borsten durchgeführt.
Im experimentellen mikrobiologischen Teil der Arbeit wurde zunächst die Wirkung der beiden Bürsten auf drei unterschiedliche Mikroorganismen untersucht. Dabei wurden folgende Mikroorganismen, die als pathogene Besiedler der Mundhöhle angetroffen werden können, verwendet: Der Hefepilz Candida albicans und die beiden Bakterienarten Staphylococcus aureus und Escherichia coli. Die genannten Keime wirken u.a. an der Entstehung von Stomatitiden, Gingivitiden, Parodontitiden sowie Karies und schweren Infektionen mit. Bereits aus den mikrobiologischen Versuchen ging hervor, dass sich aus den mit Silber beschichteten Bürsten, nach Kontamination mit den genannten Versuchskeimen, deutlich weniger Keime auswaschen ließen als aus den kontaminierten unbeschichteten Bürsten. Dies könnte auf die antibakterielle Wirkung des Nanosilbers zurückgeführt werden. Erwiesenermaßen greifen die Nanoteilchen die Bakterienzellen an, die Zellteilung wird gestört, die Vermehrung gehemmt und die Keime sogar abgetötet.
In einer klinischen Anwendungsbeobachtung testeten 30 Probanden beide Zahnbürstentypen. Die im Labor aus der unbeschichteten Vergleichszahnbürste gewaschenen Keime wurden quantitativ erfasst und mit den, aus der mit Nanosilber beschichteten Testzahnbürste gewaschenen Keimanzahlen, verglichen. Zum Auswaschen der Bürsten wurde die Ultraschallmethode gewählt. Sie erwies sich als die effektivste der ausgetesteten Methoden (ausschütteln, abkratzen mittels Öse, Ultraschallbad) zur Keimwiederfindung im Auffangmedium (sterile Kochsalzlösung). Außerdem war diese Methode einfach in der Durchführung und am besten zu standardisieren, durch ein gleichmäßiges Auswaschen aller getesteten Bürsten.
Die Auswertung der Versuchsreihen belegte, dass aus den unbeschichteten Bürsten deutlich mehr Keime gewaschen wurden, als aus den beschichteten. Die unbeschichteten Zahnbürsten der männlichen Probanden wiesen eine höhere Keimbesiedelung auf als die der weiblichen. Die Reduktion der Keimbelastung bei hohen Keimzahlen auf den unbeschichteten Zahnbürsten fiel bei Verwendung der beschichteten Bürsten umso signifikanter aus. Bezüglich des Geschlechts konnte ein, bezüglich des Probandenalters konnte kein signifikanter Einfluss auf

Keimbelastung bzw. Keimreduktion festgestellt werden. Es lies sich lediglich eine Tendenz hinsichtlich einer höheren Keimbelastung der älteren Probanden nachweisen. Die aufgestellte Hypothese, dass die beschichtete Zahnbürste im Vergleich zu den herkömmlichen Bürsten eine Keimreduktion der an den Borsten haftenden Mikroorganismen bzw. deren Hemmung in Wachstum und Vermehrung oder eine mögliche Abtötung bewirkt, wurde somit bestätigt.

Es muss jedoch beachtet werden, dass die Stärke der Keimanheftung an den Zahnbürstenborsten ungeklärt bleibt. Der Versuchsaufbau basiert auf der Idee, dass die Keime sich auf den Zahnbürstenborsten anlagern. Ungewiss ist, in wie weit das eingebrachte Silber die Borstenoberfläche veränderte. Es besteht die Möglichkeit, dass allein durch die Silberbeschichtung eine mögliche Hemmung der Keimadhäsion bestand. Dies würde erklären, warum sich nach dem Auswaschen der beschichteten Bürsten weniger Keime im Auffangmedium fanden als nach Auswaschen der unbeschichteten Bürsten.

Eine Analyse zur Bestimmung der Keimarten wurde nicht durchgeführt. An der klinischen Anwendungsuntersuchung nahmen insgesamt 30 Probanden teil. Die Studiendauer betrug im Gesamten 35 Tage. Die Probanden putzten mit beiden Zahnbürsten jeweils 14 Tage lang die Zähne, eine Wash out-Phase von 7 Tagen wurde eingehalten.

Die Auswertung der Fragebögen, welche die Teilnehmer zum Ende der Studie ausfüllten, wies mit Nanosilber beschichtete Zahnbürsten als die mehrheitlich bevorzugte Zahnbürste aus. Die Probanden gaben an, dass die beschichtete Zahnbürste hinsichtlich der Plaqueentfernung das Gefühl einer besseren und länger andauernden Reinigungswirkung vermittelte. Denkbar ist, dass durch niedrige Metallkonzentrationen eine gute und langanhaltende keimreduzierende bzw. -tötende Wirkung nachgewiesen wird, da mittels kontinuierlicher Ionenabgabe die Bakterien/ Plaqueverbände effektiver von der Zahnoberfläche gelöst werden. Das länger anhaltende Gefühl der sauberen Zahnoberflächen könnte auf die verzögerte Belagsanlagerung bzw. der Anlagerungshemmung aufgrund der Nanosilberwirkung zurückgeführt werden. Die beschichteten Zahnbürsten könnten so insbesondere bei Menschen mit verringerter Mundhygiene und herabgesetzter Immunabwehr (Kranke, Kinder, alte Menschen) einen Vorteil bieten. Sie sind aber auch bei Gesunden anzuraten, um eine Erkrankung oder Keimübertragung zu verhindern und die Mundhygiene zu optimieren.

6 Literaturverzeichnis

1. Aass A. M., Gjermo P.: Comparison of oral hygiene efficacy of one manual and two electric toothbrushes. Acta Odontologica Scandinavica 58, 166- 170 (2000).

2. ADA American Dental Association: Acceptance Program Guidelines Toothbrushes. Council on Scientific Affairs. http://www.ada.org/ada/seal/standards/index.asp. Toothbrushes PDF file/46 K, 4- 8 (1998).

3. Addy M.: Measuring success in toothbrush design- an opinion and debate of the concepts. International Dental Journal 48, 509- 518 (1998).

4. Bader H.I., Boyd R.L.: Comparative efficacy of a rotary and a sonic powered toothbrush on improving gingival health in treated adult periodontitis patients. American Journal of Dentistry 12, 143- 147 (1999).

5. Balanyk T.E., Sharma N.C., Galustians J.: A clinical study of comparative plaque removal performance of two manual toothbrushes. The Journal of Clinical Dentistry Volume 4 (D), 8- 12 (1993).

6. Bass C.C.: The optimum characteristics of toothbrushes for personal oral hygiene. Dental Items of Interest 70, 697- 701 (1948).

7. Bauch J., Eder-Debye R., Micheelis W.: Ausgewählte Ergebnisse zum Zusammenhang sozialwissenschaftlicher und zahnmedizinischer Variablen. In: Institut der Deutschen Zahnärzte, Herausgeber. Mundgesundheitszustand und -verhalten in der Bundesrepublik Deutschland. Deutscher Ärzte Verlag, Köln, 355- 387 (1991).

8. Beals D., Ngo T., Feng Y., Cook D., Grau D.G., Weber D.A.: Evelopment and laboratory evaluation of a new toothbrush with novel brush and design. American Journal of Dentistry 13 (A), 5- 14 (2000).

9. Binding M., Boss N., Reiche D., Wangerin G.: Roche Lexikon Medizin, 5. Auflage. Urban und Fischer, München, 1783 (2003).

10. Bortz J., Lienert G.A., Boehnke K.: Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik. Springer-Verlag, Berlin, 200- 212 (1990 a).

11. Bortz J., Lienert G.A., Boehnke K.: Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik. Springer-Verlag, Berlin, 256- 266 (1990 b).

12. Bortz J., Lienert G.A., Boehnke K.: Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik. Springer-Verlag, Berlin, 319- 321 (1990 c).

13. Bößmann K.: Ansteckungsrisiko durch die Zahnbürsten? Zahnärztliche Mitteilungen 11, 52 (2001).

14. Bühl A.: SPSS (Superior Performing Software System) 14. Einführung in die moderne Datenanalyse. Pearson Education Verlag, Reihe: Pearson Studium, München, Kap. 13, 313- 318 (2004 a).

15. Bühl A.: SPSS (Superior Performing Software System) 14. Einführung in die moderne Datenanalyse. Pearson Education Verlag, Reihe: Pearson Studium, München, Kap. 25, 725- 729 (2004 b).

16. Chava V.K.: An evaluation of the efficacy of a curved bristle and conventional toothbrush. A comparative clinical study. Journal of Periodontology 71, 785- 789 (2000).

17. Claydon N., Addy M.: The use of planimetry to record and score the modified Navy index and other area- based plaque indices. A comparative toothbrush study. Journal of Clinical Periodontology 22, 60- 73 (1995).

18. Claydon N., Addy M.: Comparative single-use plaque removal by toothbrushes of different designs.: Journal of Clinical Periodontology 23, 112- 116 (1996).

19. Claydon N., Leach K., Newcombe R. G., Ley F., Scratcher C., Addy M.: The use of professional brushing to compare 3 toothbrushes for plaque removal from individuals with gingival recession. Journal of Clinical Periodontology 27, 749- 752 (2000).

20. Cronin M.J., Dembling W.Z., Jacobs D.M., Low M.A., Warren P.R.: A comparative single-use clinical study of the efficacy of two manual toothbrushes with angled bristles. American Journal of Dentistry 14, 26- 36 (2001).

21. Deasy M.J., Singh S.M., Kemp J H.: A clinical comparison of plaque removal performance of three manual toothbrushes. Journal of Clinical Dentistry 4, 17-21 (1993).

22. De Guzman S.R., Ojeda L., Novido J.: Clinical study of comparative plaque removal performance of two manual toothbrushes. Journal of the American Dental Association 48, 19- 30 (1996).

23. Doherty F.M., Jacobs D.M., Low M.L., Mac Kay B ,Weber D A.: Plaque removal efficacy of a novel, advanced toothbrush. Journal of Dental Research 78; 78 (Special Issue): 216 (Abstr. 885) (1999).

24. Dorfer C.E., von Bethlenfalvy E.R., Pioch T., Galustians H.J., Qaqish J., Sharma N.C.: Clinical evaluation of the efficacy of a battery-powered toothbrush. results from two independent studies. American Journal of Dentistry 14, 273- 277 (2001).

25. Ernst, C.P., Nauth C., Willershausen B., Warren P.R.: Clinical plaque removing efficacy of a new power toothbrush. American Journal of Dentistry 11, 13- 16 (1998).

26. Fleiss J L., Park M.H., Chilton N.W.: Representativeness of the Ramfjord teeth for epidemiologic studies of gingivitis and periodontitis. Community Dent Oral Epidemiol 15, 221- 224 (1987).

27. GABA GmbH: Produktinformation Prophylaxedialog, Medizinische-wissenschaftliche Abteilung (2001). http://gaba_dent.de/mund_und_zahnpflege.html.

28. Guggenbichler J.-P.: Silberionen als erfolgreiche Keimjäger- Prophylaxe von Katheter- assoziierten Infektionen. Innovationsreport. Biowissenschaften Chemie 5- 23 (2004).

29. Gülzow H.J.: Methoden und Hilfsmittel für die tägliche Mundhygiene. In Peter S. (Hrsg): Prophylaxe: Ein Leitfaden für die zahnärztliche Praxis. Quintessenz, Berlin, 71- 92 (1978).

30. Gülzow H.J., Busse G.: Klinisch experimentelle Untersuchungen über die Wirksamkeit verschiedener Zahnputzmethoden und Zahnputzmittel. Deutsche zahnärztliche Zeitung 25, 1126 (1970).

31. Haesman P.A., Stacey F., Haesman L.: A comparative study of the Philips HP 735, Braun/ Oral B D7 and the Oral B 35 Advantage toothbrushes. Journal of Clinical Periodontologie 26, 85- 90 (1999).

32. Hanioka T., Tanaka M., Ojima M., Takaya K., Shizukuishi S.: Plaque removal efficacy of the V-shaped toothbrush with new designs in bristle arrangement. Journal of Clinical Dentistry 10, 127- 130 (1999).

33. Harpenau L.: Clinical comparison of plaque removal and gingival bleeding reduction by two different brush heads on a sonic toothbrush. Journal of Clinical Dentistry 11, 29- 34 (2000).

34. Heinecke A., Hultsch E., Repges R.: Medizinische Biometrie. Biometrie und Statistik. Berlin, Springer Verlag, 157- 164 (1992).

35. Hellwig E., Klimek J., Attin Th.: Einführung in die Zahnerhaltung, 2. Auflage. Urban & Fischer, München- Jena, 356- 358 (1999).

36. Hof H.: Candida, Aspergillus und Co: Pathogene Pilze. Pharmazie in unserer Zeit 32, 96- 103, ISSN 0048- 3664 (2003).

37. Horn M.: Silber schützt vor Bakterien. Fraunhofer Magazin 1 (2003). http://www.fraunhofer.de/fhg/archiv/magazin/pflege.zv.fhg.de/german/publications/df/df2003/mag1-2003-62.pdf.

38. Imfeld T., Lutz F.: Artikel Gingivatraumatisierung durch handelsübliche Zahnbürsten mit unterschiedlicher Besteckung und Borstenverankerung. Zürich: Zentrum für Zahnmedizin (1995).

39. Kerschbaumer H.J., Stähle T.: Die Mundgesundheit in der Schweiz im Vergleich zu Deutschland. Zahnärztliche Mitteilungen 5, 30 (2004).

40. Khocht A., Spindel L., Person P.: A comparative clinical study of the safety and efficacy of three toothbrushes. Journal of Periodontology 63, 603- 610 (1992).

41. Khocht A., Simon G., Person P., Denepitiya J.L.: Gingival recession in relation to history of hard toothbrush use. Journal of Periodontology 64, 900- 905 (1993).

42. Kieser J., Groeneveld H.: A clinical evaluation of a novel toothbrush design**.** Journal of Clinical Periodontology 24, 419- 423 (1997).

43. Klimek J., Hellwig E.: Clinical comparison of newly introduced toothbrush with two presently available toothbrushes. Oralprophylaxe 11,144- 148 (1989).

44. König K.G.: Karies und Kariesprophylaxe. 2. Auflage, Goldmann-Verlag, München, 42- 53 (1974).

45. Krauß G.–J.: Bakterien leisten Widerstand gegen Antibiotika. Uniprotokoll Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (2004). www.uni-protokoll.de/nachrichten/id/32811

46. Kroker H.: Neue Methode zur Keimabwehr auf Implantaten. 6. Teil der Serie über Nanotechnik. Die Welt, Artikel 18. März (2003). http://www.welt.de/print-welt/article491146/Winzige_Silberkugel_toeten_Bakterien.html

47. Mantokoudis D., Joss A., Christense, M.M., Meng H.X., Suvan J.E., Lang N.P.: Comparison of the clinical effects and gingival abrasion aspects of manual and electric toothbrushes. Journal of Clinical Periodontology 28, 65-72 (2001).

48. McDaniel T.F., Miller D.L., Jones R.M.: Effects of toothbrush design and brushing proficiency on plaque removal. Compendium 8, 572- 577 (1997).

49. Miller W.D.: Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Thieme, Leipzig, 101 (1889).

50. Miller W.D.: Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Nachdruck der englischen Ausgabe von 1890. The microorganism of the human mouth. Karger, Basel, 102-104 (1973).

51. Mulry C.A., Dellerman P.A., Ludwa R.J., White D.J., Wild J.E.: A comparison of the end-rounding of nylon bristles in commercial toothbrushes: Crest Complete and Oral-B. Journal of Clinical Dentistry, 47- 50 (1992).

52. Niemi M.L.: Gingival abrasion and plaque removal after toothbrushing with an electric and a manual toothbrush. Acta Odontologica Scandinavica 45, 367-370 (1987).

53. Niemi M.L., Ainamo J., Etemadzadeh H.: Gingivale Abrasion und Plaqueentfernung mit manuellen Zahnbürsten gegenüber elektrischen Zahnbürsten. Oralprophylaxe 10, 11 (1988).

54. Page R.C., Schroeder H.E.: Periodontitis in man and other animals. A Comparative Review. Karger, Basel, 330 (1982).

55. Pretara-Spanedda P., Grossmann E., Curro F.A., Generallo C.: Toothbrush bristle density: relationship to plaque removal. American Journal of Dentistry 2, 345- 348 (1989).

56. Reardon R.C., Cronin M., Balbo F., Schiff T., Menaker L., Weatherford T.W. 3rd: Four clinical studies comparing the efficacy of flat-trim and multi- level trim commercial toothbrushes. Journal of Clinical Dentistry 4, 101- 105 (1993).

57. Riethe P.: Die Quintessenz der Mundhygiene. Quintessenzverlag, Berlin, 10-15 (1974).

58. Riethe P.: Kariesprophylaxe und konservierende Therapie. In: Rateitschak K.H., Herausgeber. Farbatlanten der Zahnmedizin, Band. 6, Stuttgart; Thieme 89- 91 (1988).

59. Rukat H.: Individualprophylaxe und Kommunikation in der zahnärztlichen Praxis. Quintessenzverlag, Berlin, 43- 50 (1993).

60. Ruhlman C.D., Bartizek, R.D., Biesbrock, A.R.: Plaque removal efficacy of a battery-operated toothbrush compared to a manual toothbrush. American Journal of Dentistry 14, 191- 194 (2001).

61. Sauerwein E.: Traktat über die Zahnbürste. Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift 17, 121- 134 (1962).

62. Sharma N.C., Galustians H.J., Rustogi K.N., Mc.Cool J.J., Petrone M., Volpe A.R.: Comparative plaque removal efficacy of three toothbrushes in two independent clinical studies. Journal of Clinical Dentistry 3 (C), 13- 20 (1992).

63. Sharma N.C., Galustians H.J., McCool J.J., Rustogi K.N., Volpe A.R.: The Clinical Effects on Plaque and Gingivitis Over Three- Month's Use of Four Complex-Design Manual Toothbrushes. Journal of Clinical Dentistry 5,114-118 (1994).

64. Sharma N.C., Qaqish J.G., Galustians H.J., King D.W., Low M-A.L., Jakobs D.M., Weber D.A.: An advanced toothbrush with improved plaque removal efficacy. American Journal of Dentistry 13, 15A- 19A (2000 a).

65. Sharma N.C., Qaqish J.G., Galustians H.J., King D.W., Low M-A.L., Jacobs D.M., Weber D.A.: A 3-month comparative investigation of the safety and efficacy of a new toothbrush: Results from two independent clinical studies. American Journal of Dentistry 13, 27A- 32A (2000 b).

66. Siegel, S.: Nichtparametrische statistische Methoden. Verlag Dietmar Klotz, Eschborn bei Frankfurt am Main, 46- 50 (2004 a).

67. Siegel, S.: Nichtparametrische statistische Methoden. Verlag Dietmar Klotz, Eschborn bei Frankfurt am Main, 65- 80 (2004 b).

68. Siegel, S.: Nichtparametrische statistische Methoden. Verlag Dietmar Klotz, Eschborn bei Frankfurt am Main, 112- 123 (2004 c).

69. Singh S.M., Rustogi K.N., Mc Cool J.J.: Clinical studies regarding the plaque removal efficacy of manual toothbrushes. Journal of Clinical Dentistry 3 (C), 21- 28 (1992).

70. Singh S.M., Deasy J.M.: Clinical plaque removal performance of two manual toothbrushes. Journal of Clinical Dentistry 4 (D), 13-16 (1993).

71. Singh S.M., Battista G.W., Rustogi K.N., DeVizio W., Volpe A.R., Petrone M.E., Proskin H.M.: The comparative plaque removal efficacy of two advanced manual toothbrush designs in two independent clinical studies. Journal of Clinical Dentistry 12, 83- 86 (2001).

72. Steinrücke P.: Silber schützt vor Bakterien. Fraunhofer Magazin 1, 60- 63 (2003).

73. Steinrücke P.: In: Nanotechnologie- Aufbruch ins Reich der Zwerge, von Joop K., Gabler, Betriebswirtschaft Verlag, 96 (2004).

74. Thienpont V., Dermaut L.R., Van Maele G.: Comparative study of 2 electric and 2 manual toothbrushes in patients with fixed orthodontic appliances. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, 120 (4), 353-360 (2001).

75. Trampisch H.J., Windeler J.: Medizinische Statistik. Springer-Verlag, Berlin, 52- 70 (2000 a).

76. Trampisch H.J., Windeler J.: Medizinische Statistik. Springer-Verlag, Berlin, 212 (2000 b).

77. Wagener M.: Mit Nanotechnologie zu neuen Produkten in der Medizin. Information Bio Gate, 8 (2002).

78. Warren P.R., Cugini M., Marks P., King D.W.: Safety, efficacy and acceptability of a new power toothbrush: a 3-month comparative clinical investigation, Journal of Clinical Dentistry 1, 3- 7 (2001).

79. Yankell S.L., Shi X., Emling R.C.: Comparative laboratory evaluation of three toothbrushes regarding interproximal access efficacy. Journal of Clinical Dentistry 3 (C), 5- 8 (1992).

80. Zimmer S., Fosca M., Roulet J.F.: Clinical study of the effectiveness of two sonic toothbrushes. Journal of Clinical Dentistry 11, 24- 27 (2000 a).

81. Zimmer S., Seemann R., Bizhang M.: Einfluss der Individualprophylaxe auf die Mundhygiene von Kindern. Deutsche Zahnärztliche Zeitung 52,19- 21 (1997).

82. Zimmer S.: Kariesprophylaxe als multifaktorielle Präventionsstrategie. Habilitationsschreiben Berlin (2000 b).

7 Anhang

7.1 Erhebungsbögen des einzelnen Patienten

7.1.1 Einverständniserklärung zur Teilnahme an einer wissenschaftlichen Studie

Einverständniserklärung zur Teilnahme an einer wissenschaftlichen Studie

Wir möchten Sie bitten, an einer wissenschaftlichen Studie teilzunehmen und wollen Sie mit diesem Formblatt über folgendes informieren:

Es handelt sich um eine Zahnbürstenstudie, die unter Anleitung von Prof. Dr. G. Sander und Dr. Heike von Baum in der Zahnklinik und mikrobiologischen Abteilung der Universität Ulm durchgeführt wird.

Die Zahnbürsten sollen sauberer und hygienischer putzen, da sie weniger Bakterienhaftung und auch weniger Bakterienvermehrung zulassen als herkömmliche Bürsten.

Die Studie erstreckt sich insgesamt über fünf Wochen: jeder Proband erhält zwei Zahnbürsten, mit denen er sich jeweils zwei Wochen lag die Zähne putzt. Zwischen den zwei Perioden ist eine Woche Pause.

Am Anfang und Ende der Studie werden in der Klinik Untersuchungen zum Zustand der Zähne, des Zahnfleisches und des Speichels bei den Probanden vorgenommen, um alle Ergebnisse festzuhalten.
Alle genannten Maßnahmen und Untersuchungen sind mit keinerlei Risiko verbunden.

Auf der nachfolgenden Seite finden Sie noch genaue Anweisungen zur Handhabung der Bürsten, die möglichst eingehalten werden sollten, um die Ergebnisse nicht zu verfälschen.

Die gewonnen Daten werden anonym behandelt.

Datum: _____ Unterschrift_____

7.1.2 Pflegeanleitung für Zahnbürstenstudie

Pflegeanleitung für Zahnbürstenstudie

Sie bekommen bei der Anfangsuntersuchung in der Klinik zwei Zahnbürsten ausgehändigt: **Zahnbürste 1** und **Zahnbürste 2**.

Mit der ersten Zahnbürste putzen Sie sich zwei Wochen lang wie gewohnt morgens und abends die Zähne. Bitte verwenden Sie dabei keine zusätzlichen Hilfsmittel wie Zahnseide, Zahnhölzer, Mundspüllösungen, o.ä.

Benutzen Sie Ihre gewohnte Zahnpasta und wechseln Sie bitte Ihre Marke während der ganzen Studie nicht!

Nach diesen zwei Wochen wird Ihre Zahnbürste dann im Labor untersucht (Termin zur Abgabe der Bürste wird vereinbart).

Nach diesen zwei Wochen putzen Sie sich bitte eine Woche lag mit Ihrer eigenen Bürste die Zähne wie gewohnt.

Danach kommt der 2. Teil der Studie: Nehmen Sie die Zahnbürste 2 und putzen Sie zwei Wochen damit Ihre Zähne (Bedingungen wie bei der erste Bürste!).

Zum Ende findet dann eine Abschlussuntersuchung statt und Zahnbürste 2 wird ebenfalls eingesammelt (Termine werden vereinbart).

Datum_____ Unterschrift_____

7.1.3 Anamnesebogen

Anamnesebogen

Für die Zahnbürstenstudie

Probandendaten:

Name:	Geburtstag:
Vorname:	
Straße:	Wohnort:
Tel.:	

Allgemein:	**Ja**	**Nein**	**unbek.**
Sind Sie momentan in ärztlicher Behandlung?	O	O	O
Waren Sie im letzten halbe Jahr in ärztlicher Behandlung?	O	O	O
Nehmen Sie Medikamente ein?	O	O	O
Wenn ja, welche_____			
Bestehen Allergien?	O	O	O
Wenn ja, auf welche Stoffe?_____			

Herz- Kreislauferkrankungen:			
Hoher Blutdruck	O	O	O
Niedriger Blutdruck	O	O	O
Herzinfarkt	O	O	O
Blutgerinnungsstörungen, Nachblutungen	O	O	O
Schlaganfall	O	O	O

Allgemeine Erkrankungen:			
Zuckerkrankheit (Diabetes)	O	O	O
Lebererkrankung (z. B. Gelbsucht/ Hepatitis)	O	O	O
Magen-/Darmerkrankung	O	O	O
Nierenerkrankung	O	O	O

Nervenerkrankung	O	O	O
Anfallsleiden (Epilepsie)	O	O	O
Migräne	O	O	O
Schilddrüsenerkrankung	O	O	O
Rheuma	O	O	O

Infektionskrankheiten:

HIV	O	O	O
Hepatitis	O	O	O
Tbc	O	O	O

Andere: _____

Unfälle/ Verletzungen:	O	O	O
Haben Sie andere ernsthafte Erkrankungen?	O	O	O

Wenn ja, welche ? _____

Zahnärztliche Behandlungen:

Sind Sie zurzeit in kieferorthopädischer Behandlung?	O	O	O
Hatten Sie in den letzten 6 Monaten eine Zahnfleischbehandlung (Parodontitis-Behandlung)?	O	O	O
Gehen Sie regelmäßig zu zahnärztlichen Kontrollen?	O	O	O
Besteht eine Schwangerschaft?	O	O	O

Datum:

Unterschrift:

7.1.4 Fragebogen

Fragebogen zur Zahnbürstenstudie

Bitte ankreuzen!

1. Wie beurteilen Sie den Härtegrad der Bürste?

Zu weich	weich	mittel	hart	zu hart
O	O	O	O	O

2. Wie empfanden Sie den Bürstenkopf?

Zu klein	genau richtig	zu groß
O	O	O

3. Wie fanden Sie die Form des Bürstengriffs? (Mehrfachnennungen möglich).

Zu dünn	zu dick	zu kurz	zu lang	zu glatt	zu kantig	angenehm
O	O	O	O	O	O	O

4. Welche Zahnbürste (ZB) war beim Putzen vom Gefühl her angenehmer?

ZB 1 O ZB 2 O

5. Welche Bürste hat vom Gefühl her besser die Zähne gereinigt?

ZB 1 O ZB 2 O

6. Welche Zahnbürste würden Sie insgesamt gesehen bevorzugen?

ZB 1 O ZB 2 O

7.2 Tabellen und Diagramm zur Normalverteilung und Gruppenbildung

7.2.1 Tabellen zur Testung der Normalverteilung

Tabelle 7.1: *Shapiro-Wilk-T*est für kleine Stichproben (N<=50) auf Normalverteilung. KBE/ml= Kolonie bildende Einheiten pro Milliliter, N= Probandenanzahl =30.

*** hoch signifikant (P<= 0,001).

	Test		
Parameter/ Variable	**Statistik**	**N**	**Signifikanz**
Zahnbürste 1 (KBE/ml)	0,647	30	0,000***
Zahnbürste 1 (KBE/ml)	0,628	30	0,000***
Zahnbürste 2 (KBE/ml)	0,782	30	0,000***

Die Verteilung sämtlicher Parameter weichen hoch signifikant von der Normalvertielung ab.

Tabelle 7.1: *Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest* auf Normalverteilung.
KBE/ml= Kolonie bildende Einheiten pro Milliliter, N= Probandenanzahl =30.
Z= standardisiertes/ normiertes Ergebnis der Testformel (standardisierte „Prüfgröße“).

** sehr signifikant (p<= 0,01)
* signifikant (p<=0,05)

Parameter/ Variable	**Kolmogorov-Smirnov-Z**	**Signifikanz**
Alter	1,796	0,003**
Zahnbürste 1 (KBE/ml)	1,548	0,017*
Zahnbürste 2 (KBE/ml)	1,447	0,030*

Die Verteilung sämtlicher Variablen weichen signifikant oder sehr signifikant von der Normalvertielung ab.

7.2.2 Tabellen zur Beschreibung der Ergebnisse

Tabelle 7.3: *Mann-Whitney-U-Test* auf *Geschlechtsunterschied* bei den KBE-Parametern der unbeschichteten und beschichteten Zahnbürsten sowie beim Mittelwert der beiden Zahnbürsten und bei deren Differenzwert. ZB= Zahnbürste, Z= standardisiertes/ normiertes Ergebnis der Testformel (Standardisierte „Prüfgröße“).

** sehr signifikant (p<= 0,01)

* signifikant (p<= 0,05%

Statistik	ZB 1 (KBE/ml)	ZB 2 (KBE/ml)	Gesamt (Mittel von ZB 1 und ZB 2)	Differenz ZB1 – ZB 2
Mann-Whitney-U	48,500	58,000	48,000	45,000
Z	-2,641	-2,245	-2,661	-2,785
Signifikanz	0,007 **	0,025*	0,007**	0,004*

Tabelle 7.4: *Mann-Whitney-U-Test* auf *Altersklassenunterschied* bei den KBE-Parametern der unbeschichteten und beschichteten Zahnbürsten sowie beim Mittelwert der beiden Zahnbürsten und bei deren Differenzwert. ZB= Zahnbürste, Z= standardisiertes/ normiertes Ergebnis der Testformel (Standardisierte „Prüfgröße“).

ns= nicht signifikant

Statistik	ZB 1 (KBE/ml)	ZB 2 (KBE/ml)	Gesamt (Mittel von ZB 1 und ZB 2)	Differenz ZB1 – ZB 2
Mann-Whitney-U	72,500	72,000	74,000	72,000
Z	-1,591	-1,612	-1,528	-1,611
Signifikanz	0,113 (ns)	0,113 (ns)	0,113 (ns)	0,113 (ns)

Der *Mann-Whitney-U-Test* ergibt sehr signifikante bzw. signifikante Ergebnisse hinsichtlich der Testung auf Geschlechtsunterschiede (Tab. 7.3). Hinsichtlich des Alters (Tab. 7.4) sind die Ergebnisse nicht signifikant, somit kann das Probandenalter außer Acht gelassen werden.

7.2.3 Tabelle zum Vergleich der unbeschichteten Zahnbürste (ZB 1) mit der beschichteten Zahnbürste (ZB 2)/ Einfluss der Nanosilber-Beschichtung.

Tabelle 7.5: *Vorzeichen-Test* auf Unterschied zwischen unbeschichteten und beschichteten Zahnbürsten (KBE/ml) innerhalb der Totalstichprobe sowie bei Männern und Frauen.
KBE/ml= Kolonie bildende Einheiten pro Milliliter.

*** hoch signifikant= (p<= 0,001)

Stichprobe/ Subgruppe	Signifikanz
Totalstichprobe	0,000***
Frauen-Kohorte	0,000***
Männer-Kohorte	0,000***

8 Danksagung

Mein Dank richtet sich an Herrn Professor Dr. F. G. Sander, ärztlicher Direktor der Klinik für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde für die Überlassung des interessanten Themas sowie für die Betreuung und die hilfreichen Vorschläge während des Entstehens dieser Arbeit.

Danken möchte ich auch Frau Professor Dr. H. von Baum, Institut für Mikrobiologie und Immunologie, für die intensive und professionelle Zusammenarbeit. Über die gesamte Zeit stand sie stets geduldig mit Ratschlägen und Hilfestellungen zur Verfügung.
Frau Angelika Mörike gebührt Dank für die fachkräftige Betreuung während der praktischen Arbeiten.

Des Weiteren bedanke ich mich bei allen Probanden der Studie, die sich zur Verfügung gestellt haben und die Grundlage für diese Arbeit darstellen sowie den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Abteilung Biometrie und Medizinischen Dokumentation der Universität Ulm.
Mit großem Engagement stand mir bei der Entstehung der statistischen Auswertung der Medizin-Statistiker und Biometriker Dr. K. W. Weich vom MDC (Medical Data Consult) in Nottuln zur Seite.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern für die stetige Unterstützung während des gesamten Studiums und der Entstehung dieser Arbeit.