



universität
wien

DIPLOMARBEIT / DIPLOMA THESIS

Titel der Diplomarbeit / Title of the Diploma Thesis

„Effekt von antibiotischen Augentropfen auf das nasale
Mikrobiom bei Gesunden“

verfasst von / submitted by

Theresa Stengel

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of
Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2022 / Vienna, 2022

Studienkennzahl lt. Studienblatt /
degree programme code as it appears on
the student record sheet:

UA 449

Studienrichtung lt. Studienblatt /
degree programme as it appears on
the student record sheet:

Diplomstudium Pharmazie

Betreut von / Supervisor:

Assoc. Prof. PD. Doreen Schmidl, MD, PhD

Danksagung

Allen voran möchte ich mich bei der gesamten Abteilung „Klinische Pharmakologie-Ophthalmologie“ für die gute Zusammenarbeit bedanken. Ich fühlte mich von Anfang an als Teil dieses Teams und durfte immer mitarbeiten, aber auch bei anfallenden Fragen, bat mir jeder seine Hilfe an.

Ganz Besonders gilt mein Dank meiner Betreuerin Assoc. Prof. PD. Doreen Schmidl, MD, PhD für die Möglichkeit, meine Diplomarbeit in ihrer Abteilung zu verfassen und dadurch mein Interesse im medizinisch/pharmakologischen Bereich zu vertiefen. Weiters stand sie mir jeder Zeit mit Ratschlägen unterstützend zur Seite, wodurch eine reibungslose Verfassung der Diplomarbeit möglich gewesen ist.

Großer Dank gilt auch an meine Familie, meinen Eltern und meinen Großeltern, die während des ganzen Studiums immer für mich da waren, mich unterstützten so gut es ging und mich motivierten.

Abschließend möchte ich mich bei meinem Freund Richard bedanken, der mir nicht nur bei technischen Fragen für diese Arbeit half, sondern mich auch vor Prüfungen abfragte und vor allem mit seinen motivierenden Worten immer den Rücken stärkte. Danke dafür!

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Diplomarbeit selbstständig geschrieben habe und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Die Informationen, die direkt oder indirekt als Informationsquelle verwendet wurden, wurden am Ende der Arbeit im Literaturverzeichnis aufgelistet.

Inhaltsverzeichnis

1.	ZUSAMMENFASSUNG	8
2.	ABSTRACT.....	10
3.	HINTERGRUND	12
3.1.	MIKROBIOM.....	12
3.2.	BAKTERIEN	14
3.3.	TRÄNENNASENKANAL (DUCTUS NASOLACRIMALIS)	16
3.4.	NASE UND NASALES MIKROBIOM	17
3.5.	PHARYNX UND PHARYNGALES MIKROBIOM	17
3.6.	ANTIBIOTIKA	19
3.6.1.	<i>Aminoglykoside</i>	20
3.6.1.1.	Gentamicin	21
3.6.2.	<i>Fluorchinolone</i>	24
3.6.2.1.	Ciprofloxacin	24
3.7.	BENZALKONIUMCHLORID	26
3.8.	KONTROLLMEDIKATION	27
4.	STUDIE	28
4.1.	HAUPTHYPOTHESE DER STUDIE	28
4.2.	OUTCOMES DER STUDIE.....	28
4.3.	STUDIENDESIGN	28
4.4.	AUSWAHL DER STUDIENPOPULATION	28
4.5.	RANDOMISIERUNG	29
4.6.	VERBLINDUNG	29
4.7.	STUDIENMEDIKATION	29
4.8.	ETHISCHE ASPEKTE	31
4.9.	EINSCHLUSSKRITERIEN	32
4.10.	AUSSCHLUSSKRITERIEN	32
4.11.	ZEITLICHER ABLAUF DER STUDIE	33
4.12.	ABLAUF DER STUDIENTAGE.....	33
4.13.	UNTERSUCHUNGSMETHODEN	35
4.13.1.	<i>Nasales und pharyngales Mikrobiom</i>	35
5.	ERGEBNISSE.....	37
6.	DISKUSSION.....	43
7.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	46

8.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	47
9.	TABELLENVERZEICHNIS	48
10.	LITERATURVERZEICHNIS	49

1. Zusammenfassung

Antibiotische Augentropfen werden üblicherweise zur Behandlung von Infektionen im Bereich des Auges eingesetzt, wie z.B. bei Konjunktivitis, Keratitis oder Blepharitis. Auch werden sie zur Prophylaxe nach Operationen verabreicht. Durch den Tränennasenkanal ist eine anatomische Verbindung zwischen dem Auge und der nasalen Schleimhaut vorhanden, weshalb ein möglicher Einfluss von Augentropfen in diesem Bereich nicht auszuschließen ist. Dies wurde im Rahmen der folgenden Diplomarbeit untersucht.

Methoden

Es wurden 20 gesunde ProbandInnen zwischen 18 und 45 Jahren in eine monozentrische, einfach-verblindete, randomisierte, kontrollierte Parallelgruppenstudie eingeschlossen. Je 5 ProbandInnen erhielten jeweils Gentamicin, Ciprofloxacin, Povidon konserviert oder Povidon unkonserviert in Form von Augentropfen 4 Mal täglich über eine Woche.

Die Povidon Augentropfen dienten als Kontrolle zu den antibiotischen Augentropfen. Primäres Ziel der Studie war der Einfluss der antibiotischen Augentropfen auf das nasale Mikrobiom und die Wirkung auf das pharyngale Mikrobiom war das sekundäre Studienziel.

Mit Hilfe von zwei Parametern, der Anzahl der Mikroorganismen im nasalen Mikrobiom und dem phylogenetischen Diversitätsindex, der besagt wie viele verschiedene Bakterienstämme vorhanden sind, konnte die Veränderung im nasalen und pharyngalen Mikrobiom beschrieben werden.

Es wurde eine neue Methode, das „next-generation sequencing“ (NGS), angewendet, um mehr Informationen über das bakterielle Mikrobiom zu erhalten. Der Vorteil von NGS ist, dass man nicht vor der Untersuchung selektieren muss, sondern das gesamte Mikrobiom untersuchen kann.

Ergebnisse

Die aus den nasalen Abstrichen bestimmte Anzahl der Mikroorganismen ist vor allem in den beiden Gruppen, welche antibiotische Augentropfen angewendet haben, numerisch gestiegen. Der Wert der operational taxonomic units (OTUs) hat in der Gruppe Ciprofloxacin von 114 ± 17 auf 144 ± 45 OTUs ($p=0.31$) zugenommen und in der Gruppe Gentamicin von 163 ± 30 auf 243 ± 100 OTUs ($p=0.06$). Zusätzlich wurde auch eine Zunahme des phylogenetischen Diversitätsindex (pd) von verschiedenen Bakterienstämmen beobachtet. In der Gruppe Ciprofloxacin ist der Wert von 10.2 ± 1.4 auf 11.8 ± 3.1 pd ($p=0.63$) gestiegen und in der Gentamicin Gruppe von 12.4 ± 1.0 auf 16.9 ± 5.6 pd ($p=0.13$).

Bei den beiden Kontrollgruppen ist der Unterschied jedoch nicht statistisch signifikant. Die Fülle der Mikroorganismen ist nur kaum gestiegen von 177 ± 41 auf 186 ± 63 OTUs ($p=0.88$) bzw. von 148 ± 50 auf 148 ± 39 OTUs ($p=1.0$). Der phylogenetische Diversitätsindex zeigte auch keinen signifikanten Anstieg (13.1 ± 1.7 vs. 13.0 ± 2.7 pd ($p=0.88$) und von 11.5 ± 2.9 auf 11.7 ± 2.2 pd ($p=1.0$)).

Bei den pharyngealen Proben wurden keinerlei relevante Veränderungen festgestellt.

Schlussfolgerung

Die Daten der vorliegenden Studie weisen darauf hin, dass antibiotische Augentropfen möglicherweise einen Einfluss auf das nasale Mikrobiom haben. Im Gegensatz dazu konnte kein Effekt auf das pharyngale Mikrobiom nachgewiesen werden. Weitere Studien mit größeren Fallzahlen sind jedoch notwendig, um die Ergebnisse der vorliegenden Studie zu bestätigen.

2. Abstract

Antibiotic eye drops are commonly used to treat infections around the eye, such as conjunctivitis, keratitis or blepharitis. They are also used for prophylaxis after operations. The tear nasal canal creates an anatomical connection between the eye and the nasal mucous membrane, which is why a possible influence of eye drops in this area cannot be ruled out. This was done in the context of the following thesis.

Methods

20 healthy subjects between 18 and 45 years were included in a monocentric, single-blind, randomized, controlled parallel group study. 5 subjects each received gentamicin, ciprofloxacin, preserved povidone or unpreserved povidone in the form of eye drops 4 times a day for a week.

The povidone eye drops served as a control to the antibiotic eye drops. The primary aim of the study was the influence of the antibiotic eye drops on the nasal microbiome and the effect on the pharyngeal microbiome was the secondary aim of the study.

With the help of two parameters, the number of microorganisms in the nasal microbiome and the phylogenetic diversity index, which states how many different bacterial strains there are in the microbiome, the changes in the nasal and pharyngeal microbiome could be described.

A new method, namely “next-generation sequencing” (NGS), was used to obtain more information about the bacterial microbiome. The advantage of NGS is that you don’t have to select beforehand, but can examine the entire microbiome.

Results

The number of microorganisms determined from the nasal swabs has increased numerically, especially in the two groups that used antibiotic eye drops. The value of operational taxonomic units (OTUs) increased in the ciprofloxacin group from 114 ± 17 to 144 ± 45 OTUs ($p = 0.31$) and in the gentamicin group from 163 ± 30 to 243 ± 100 OTUs ($p = 0.06$). In addition, an increase in the phylogenetic diversity index (pd) of different bacterial strains was also observed. In the ciprofloxacin group the value

increased from 10.2 ± 1.4 to 11.8 ± 3.1 pd ($p = 0.63$) and in group gentamicin from 12.4 ± 1.0 to 16.9 ± 5.6 pd ($p=0.13$).

In the two control groups, however, the difference is not statistically significant. The abundance of microorganisms only barely increased from 177 ± 41 to 186 ± 63 OTUs ($p=0.88$) or from 148 ± 50 to 148 ± 39 OTUs ($p=1.0$). The phylogenetic diversity index also showed no significant increase (13.1 ± 1.7 vs. 13.0 ± 2.7 pd ($p = 0.88$) and from 11.5 ± 2.9 to 11.7 ± 2.2 OTUs ($p=1.0$)).

No relevant changes were found in the pharyngeal samples.

Summary

The data from the present study indicate that antibiotic eye drops may have an impact on the nasal microbiome. In contrast, no effect on the pharyngeal microbiome could be demonstrated. However, further studies with larger subject number are necessary to confirm the results of the present study.

3. Hintergrund

3.1. Mikrobiom

Unter dem Begriff „Mikrobiom“ versteht man die Gesamtheit aller Mikroorganismen, welche genetisch bedingt die Möglichkeit haben, in einem gewissen Bereich zu leben.¹ Die Mikroorganismen lassen sich in zwei Gruppen unterteilen, nämlich in die Eukaryoten - wie beispielsweise Protisten, Pilze und Helminthen² -und in die Prokaryoten, wie unter anderem Bakterien und Archaeen.³ Sie haben ein symbiontisches Zusammenleben und unterscheiden sich in der Zusammensetzung abhängig vom Ort im Körper, wie Gastrointestinaltrakt, Haut oder Atemwege, aber auch vom Alter oder vom Lebensstil (z.B. Ernährung oder Rauchgewohnheiten) des Wirts.⁴ Deshalb variiert der Phänotyp des Mikrobioms, abhängig von Umwelteinflüssen, bei jedem Menschen stark voneinander.⁵

Die vorliegende Arbeit widmet sich dem bakteriellen Mikrobiom, da Bakterien am häufigsten und in vielfältigster Art vorkommen.²

Die Mikroorganismen des Mikrobioms befinden sich normalerweise in einem ökonomischen Gleichgewicht. Gerät dieses jedoch aufgrund von Störfaktoren, dazu zählen Medikamente und vor allem Antibiotika, aus der Balance, kann das Entstehen oder die Weiterentwicklung von Krankheiten gefördert werden.

So konnte bereits gezeigt werden, dass der Effekt von oral eingenommenen Antibiotika auf das gastrointestinale Mikrobiom von vielen Faktoren abhängig ist, wie der Beschaffenheit des Darms, der Ernährung, der Dauer der Antibiotikaeinnahme und auch der Pharmakokinetik der Antibiotika⁶

Es wurde beobachtet, dass die Anzahl der fakultativ anaeroben Proteobakterien, wie z.B. Escherichia Coli (E. Coli) im Darm nach Antibiotikatherapie zunimmt. Dies lässt sich darauf zurückzuführen, dass E. Coli resistent gegen bestimmte Antibiotika sind und eine hohe Überlebensfähigkeit im Darm haben.⁷ Die Einnahme von Antibiotika in den ersten Lebensjahren kann die Entwicklung des Mikrobioms und die Entstehung von Antibiotika resistenten Mikroorganismen (AR) beeinflussen.

Außerdem kann eine kurze Antibiotikaeinnahme zu Diarrhoe und bei länger andauernder Therapie zu Allergien, Fettleibigkeit oder Diabetes Mellitus Typ 1 oder 2 führen.^{8 9}

Der Zusammenhang zwischen Antibiotika und Fettleibigkeit erscheint nicht offensichtlich, jedoch sind die Metaboliten, die an der Insulinsensitivität beteiligt sind, essentiell für die Verstoffwechselung von Nahrung. Wird das Gleichgewicht des Mikrobioms gestört, können Stoffwechselwege im Darm nicht funktionieren und Nahrungs-bedingte Fettleibigkeit ist eine mögliche Folge.⁹

Dies kann dann weiters kardiovaskuläre und anderer Adipositas-assoziierte Krankheiten versuchen.¹⁰

In anderen Studien wurde gezeigt, dass neurodegenerative Krankheiten, wie z.B. Demenz oder Morbus Alzheimer, möglicherweise in Verbindung mit einer Dysbalance des Mikrobioms des Gastrointestinaltraktes steht.¹¹

Es wird vermutet, dass infektiöse Erreger sowohl über den Gastrointestinaltrakt als auch über die Nasenhöhle in den Körper und in Folge in das Gehirn gelangen können.¹²

Auf das Mikrobiom des Nasenrachenraumes wird im folgenden Teil der Diplomarbeit genauer eingegangen.

3.2. Bakterien

Bakterien sind eine Spezies der biologischen Vielfalt an Mikroorganismen. Zusammen mit den Archaeen gehören sie zu der Gruppe der Prokaryoten.¹³

Prokaryoten sind Zellen, die im Gegensatz zu Eukaryoten keinen Zellkern mit Chromosomen und keine Mitochondrien besitzen. Bei den Prokaryoten befinden sich die Chromosomen frei innerhalb der Plasmamembran. Die DNA befindet sich in einem Bereich, der Nucleoid genannt wird.¹⁴

Charakteristisch für Bakterien und Archaeen ist eine 16S rRNA-Gensequenz im Genom, die vor allem in der Mikrobiomanalyse mittels DNA-Sequenzierung nachgewiesen werden kann.^{13,15}

Bakterien können sich nicht nur physiologisch im Mikrobiom befinden, sondern auch pathologisch die Ursache bzw. der Auslöser von Krankheiten sein. Dazu zählen Infektionen, wie zum Beispiel Lungenentzündung, chronische Wunden, Augenentzündungen oder Ohrenentzündungen.¹⁶

Bakterielle Erreger befallen bevorzugt ähnliche Regionen im Körper. Zum Beispiel infiziert das Bakterium *Neisseria meningitidis* meistens die Hirnhäute, wodurch eine Hirnhautentzündung (Meningitis) entstehen kann. Jedoch ist es möglich, dass dieser Erreger in die Lunge gelangen und dort eine Lungenentzündung auslösen kann.¹⁷

Als anderes Beispiel verursacht das Bakterium *Staphylokokkus aureus* vor allem Haut- und Weichteilinfektionen, kann aber auch über die Blutbahn in andere Organe gelangen und dort Infektionen auslösen. Der Körper reagiert auf bakterielle Infektionen mit einer Immunantwort. Behandeln lassen sich bakterielle Infektionen mit Antibiotika.¹⁷

Bakterielle Zellen lassen sich in zwei Gruppen unterteilen, die sich im strukturellen Aufbau unterscheiden. Es gibt gram-positive und gram-negative Bakterien.

Gram-positive Bakterien bestehen aus einer zytoplasmatischen Membran, die von einer dicken Zellwand (Peptidglykan-Schicht) umgeben sind.

Gram-negative Bakterien sind von einer dünnen Zellwand umgeben, die wiederum zusätzlich von einer Lipid-Membran, der „outer membrane“ (OM), umhüllt wird.

Zwischen zytoplasmatischer Membran und OM-Schicht, befindet sich der periplasmatische Raum. ¹⁸

Die OM befindet sich über der Peptidoglykan-Schicht und dient dem zusätzlichen Schutz der Zelle, so dass Medikamente schwieriger eindringen können.

Die Peptidoglykan-Schicht besteht aus Disacchariden (N-Acetylglucosamin-N-Acetylmuraminsäure) und bestimmt aufgrund seiner Steifigkeit die Zellform. ¹⁹

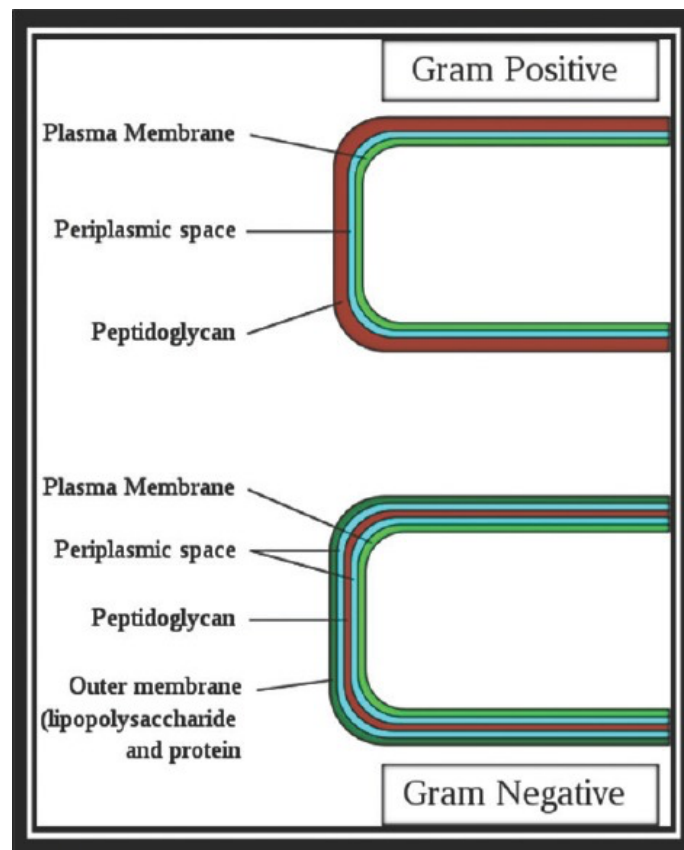


Abbildung 1: Struktureller Unterschied von gram-positiven und gram-negativen Bakterienzellen¹⁸⁻

Copyright © 2017 mit Genehmigung von Wolters Kluwer Medknow Publications, Nr. 501694754

3.3. Tränennasenkanal (Ductus nasolacrimalis)

Der Tränennasenkanal ist Teil der ableitenden Tränenwege und dient dem Abfließen von Tränenflüssigkeit von der Augenoberfläche in den unteren Nasengang.

Nasal an das Auge angrenzend befindet sich der Tränensack, der in den Tränennasenkanal mündet. Dieser befindet sich in einem knöchernen Gang, der von dem Oberkieferknochen (Maxilla) und vom Tränenbein (Os lacrimale) gebildet wird. Gemeinsam mit den oberen und unteren Tränenkanälchen (Canaculi lacrimalis superior und inferior) bilden der Tränensack (Saccus lacrimalis) und der Tränennasenkanal das Weichgewebe der ableitenden Tränenwege. Der Tränennasenkanal endet unterhalb der Nasenmuschel in den unteren Nasengang (Meatus nasi inferior), wodurch eine anatomische Verbindung zwischen Auge und Nase entsteht.²⁰

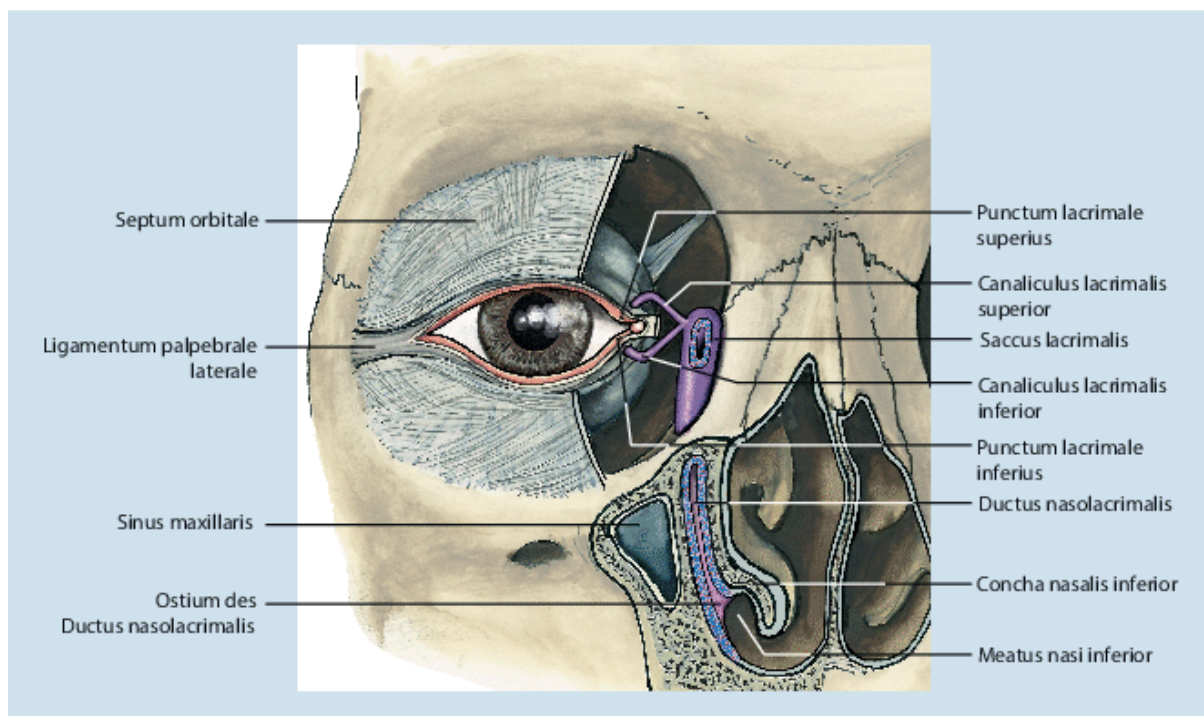


Abbildung 2: Ableitende Tränenwege²⁰ – Copyright ©2016 mit Genehmigung von Springer Nature, Nr. 5198081151004

3.4. Nase und Nasales Mikrobiom

Die Nase ist ein Teil der oberen Atemwege und ist mit einer Schleimhaut ausgekleidet, die gram-positive Bakterien, wie Actinobakterien, Bifidobakterien, Corynebakterien, Staphylokokken, Streptokokken, Dolosigranulum und gram-negative Bakterien, wie Moraxella, beherbergt. Zusätzlich wurden auch Pilze, Viren und Archaeen im nasalen Mikrobiom nachgewiesen.⁴

Unter Dysbiose versteht man das Ungleichgewicht zwischen den physiologischen und den pathogenen Bakterien im Mikrobiom, bei dem die Anzahl der pathogenen Keime überwiegt.^{21, 22} Eine Balance bzw. Dysbalance der Bakterien hat einen großen Einfluss auf die Gesundheit der Schleimhaut und den Schweregrad von Erkrankungen.²³

Studien haben gezeigt, dass Patienten mit chronischer Rhinosinusitis mit nasalen Polypen im Vergleich zu Patienten ohne Polypen die Anzahl von Bakterien deutlich geringer ist.²⁴ Die Diversität ist jedoch bei beiden Gruppen gleich.²⁵

Besonders in jungen Jahren kann eine Dysbiose des Mikrobioms zur Entstehung von Allergien beitragen.²⁶

Zudem konnte bei PatientInnen mit Asthma im Vergleich zu gesunden Probanden ein Unterschied in der Zusammensetzung des bakteriellen Mikrobioms gefunden werden.²⁷

Ob die vorhandene Dysbalance des Mikrobioms die Folge oder die Ursache von Krankheiten ist, ist noch fraglich. Es wird jedoch vermutet, dass das Mikrobiom eine wichtige Rolle in unserer Gesundheit spielt.²⁶

3.5. Pharynx und Pharyngales Mikrobiom

Der Pharynx, auch Rachen genannt, bildet die Verbindung zwischen den Atemwegen und dem Verdauungstrakt und dient daher der Aufnahme von Luft und Nahrung. Der Pharynx lässt sich anatomisch in drei Teile untergliedern:

- Nasopharynx (Epipharynx, Pars nasalis pharyngis)
- Oropharynx (Mesopharynx, Pars oralis pharyngis)
- Hypopharynx (Pars laryngea pharyngis)

Anatomy of the Pharynx

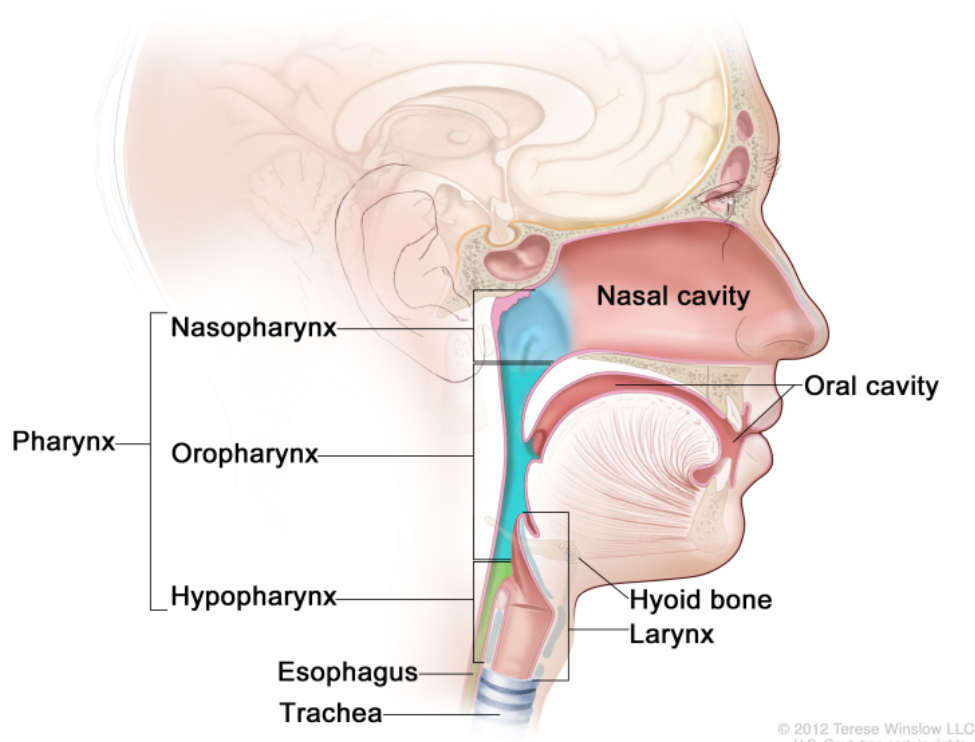


Abbildung 3: Anatomie des Pharynx²⁸ -Copyright ©2012 mit Genehmigung von Terese Winslow LCC

Der Nasopharynx ist der oberste Abschnitt des Rachens und bildet die Verbindung zur Nasenhöhle über die Choanen. Unter Choane versteht man die hintere Nasenöffnung in den Rachen.²⁹ Der Nasopharynx ist mit einem Flimmerepithel ausgekleidet und dient nur der Aufnahme von Luft.³⁰ Die seitliche Wand des Nasopharynx verbindet die Nasenhöhle mit dem Mittelohr durch die Eustachische Röhre.³¹

Zu den gefundenen Bakterienstämmen im pharyngealen Mikrobiom zählen unter anderem: *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Dolosigranulum* und *Corynebacterium*.³²

Das Mikrobiom des Nasopharynx scheint dem der Lunge zu ähneln und es wird vermutet, dass es vor allem dem Abhalten von Infektionen der Atemwege dient. Bakterien sind möglicherweise beim Passieren des Oropharynx in das physiologische Mikrobiom des Nasopharynx gelangt.³³

3.6. Antibiotika

Antibiotika sind eine Gruppe von Arzneimitteln, die gegen bakterielle Infektionen wirken, um diese zu verhindern oder zu therapieren.

Antibiotika werden abhängig vom Wirkmechanismus in drei große Klassen eingeteilt:

1. Antibiotika, welche bei der Zellwandsynthese angreifen
2. Antibiotika, welche die Nukleinsäuresynthese blockieren
3. Antibiotika, welche die Proteinsynthese verhindern

In der vorliegenden Studie wurde Gentamicin als Vertreter der Aminoglykoside und Ciprofloxacin aus der Gruppe der Fluorchinolone verwendet. ¹⁸

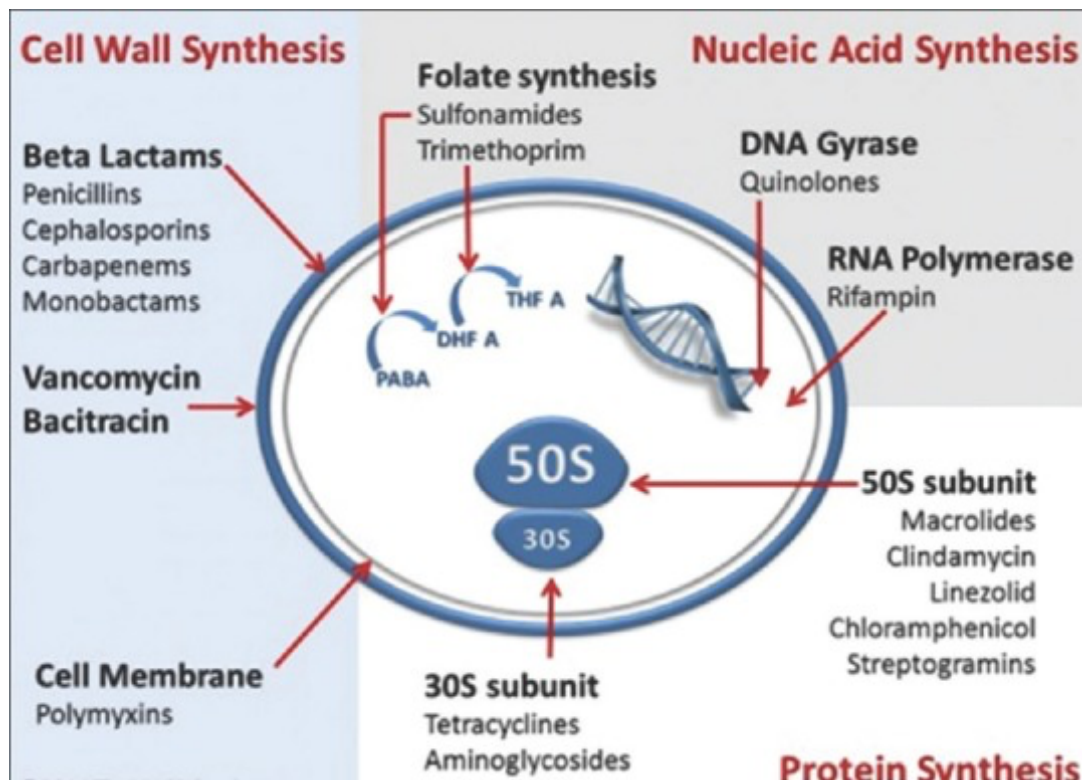


Abbildung 4: Wirkmechanismen der verschiedenen Antibiotika-gruppen ¹⁸- Copyright © 2017 mit Genehmigung von

Wolters Kluwer Medknow Publications, Nr. 501694754

3.6.1. Aminoglykoside

Antibiotika der Klasse Aminoglykoside wirken bakterizid und der antibiotische Effekt ist konzentrationsabhängig. ³⁴

Aminoglykoside sind positiv geladene Moleküle, die an die negativ geladene „outer membrane“ (OM) der Bakterienzelle binden und eine Pore in die Zellmembran bilden, wodurch das Antibiotikum ins Zellinnere gelangt. ¹⁸

Um die zytoplasmatische Membran zu durchdringen, wird Energie in Form von Sauerstoff benötigt. Folglich sind Aminoglykoside vor allem in aeroben Bedingungen wirkungsvoll und weisen bei anaeroben Bakterien wenig Wirkung auf. ¹⁸

Sie binden im Zytoplasma im Zellinneren von Bakterien an die 16s rRNA an der 30s-ribosomalen Untereinheit, wodurch die Translation gestört und blockiert wird und in der Folge werden fehlerhafte, nicht funktionsfähige Proteine gebildet, die zum Absterben der Bakterien führen. ³⁴

Aminoglykoside werden oft in Kombination mit Antibiotika, welche die Zellwandsynthese blockieren, eingesetzt. Dazu zählen zum Beispiel β -Lactam-Antibiotika oder Glykopeptid-Antibiotika. Der Vorteil des kombinierten Einsatzes ist, dass durch das Hemmen der Zellwandsynthese, Aminoglykoside besser in die bakterielle Zelle eindringen und auch bei geringerer Dosis wirken können. ¹⁸

3.6.1.1. Gentamicin

Gentamicin ist ein wichtiger Vertreter der Aminoglykoside und wird vor allem bei Infektionen mit gram-negativen Bakterien eingesetzt. Besonders wirkt Gentamicin gegen Enterokokken, wie zum Beispiel *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia* und *Enterokokkus species (sp)*.. Sie wirken jedoch auch gegen manche *Neisseria*- und gegen einige *Moraxella*-stämme. Einige Koagulase-negativen Staphylokokken und Methicillin-sensiblen Staphylokokken werden von Gentamicin gehemmt, können aber auch Resistenzen bilden, weshalb diese mit Vorsicht einzusetzen sind.

Die Resorption im Gastrointestinaltrakt erfolgt nur minimal, weshalb Gentamicin hauptsächlich parenteral, topisch oder intraokular appliziert wird. ³⁴

Üblicherweise empfindliche Erreger:

Aerobe Gram-positive Bakterien

- (Methicillin-sensibler *Staphylococcus aureus*=MSSA)
- *Bacillus spp.*
- *Brevibacterium casei*
- *Corynebacterium auris*
- *Corynebacterium glucuronolyticum*
- *Listeria monocytogenes*
- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus saprophyticus*
- *Streptococcus gordonii*
- *Turicella otitidis*
- Vergrünende Streptokokken

Aerobe Gram-negative Bakterien

- *Acinetobacter anitratus*
- *Acinetobacter baumannii*
- *Acinetobacter Iwoffii*
- *Aeromonas spp.*

- *Campylobacter jejuni*
- *Citrobacter diversus*
- *Citrobacter freundii*
- *Citrobacter koseri*
- *Enterobacter cloacae*
- *Enterobacter hormaechei*
- *Enterobacter* spp.
- Enterobacteriaceae (*Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*)
- *Escherichia hermannii*
- *Escherichia vulneris*
- *Francisella vulneris*
- *Haemophilus parainfluenzae*
- *Helicobacter pylori*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Moraxella catarrhalis*
- *Morganella morganii*
- *Proteus mirabilis*
- *Proteus vulgaris*
- *Providencia rettgeri*
- *Providencia rustigianii*
- *Rahnella aquatilis*
- *Salmonella arizonae*
- *Salmonella enterica*
- *Serratia liquefaciens*
- *Serratia marcescens*
- *Shigella* spp.
- *Yersinia enterocolitica*
- *Yersinia enterocolitica*
- *Yersinia pseudotuberculosis*

In der Ophthalmologie wird üblicherweise eine Dosis von 3 mg/ml Gentamicin in Salben oder Tropfen verwendet.

Zu den unerwünschten Nebenwirkungen bei systemischer Therapie zählen die Schädigung der Nieren (Nephrotoxizität) und der Ohren (Ototoxizität).

Vor allem bei Langzeittherapie kann eine cochleäre und vestibuläre Toxizität auftreten.³⁴

Bei ophthalmologischer Anwendung werden selten Schleimhautreizung, -schwellung und Schmerzen oder Juckreiz beobachtet. Außerdem ist eine Überempfindlichkeitsreaktion bei Erkrankung des Immunsystems möglich und es kann daher zu einem leichten Brennen kommen, genauso wie zu einer Kontaktsensibilisierung. In seltenen Fällen kann bei Behandlung mit Gentamicin eine Mydriasis (Pupillenerweiterung) auftreten. Weiters können Augentropfen mit Gentamicin zu einer Trübung der Hornhaut und zu Wundheilungsstörungen nach Hornhautverletzungen führen.³⁵

3.6.2. Fluorchinolone

Fluorchinolone haben zwei Ziel-Enzyme in bakteriellen Zellen gegen die sie wirken, nämlich die Gyrase und die Topoisomerase IV. Beide sind an der Replikation der DNA beteiligt. ³⁶

Die Gyrase schneidet die doppelsträngige DNA, führt negative Supercoils ein und verdrillt die Enden der DNA. Außerdem entfernt die Gyrase die positiven Supercoils aus der DNA, wodurch eine Replikation der DNA erleichtert wird.

Unter Supercoils versteht man DNA-Strukturen, bei denen sich die doppelsträngige DNA um eine helikale Achse windet. ³⁷ Abhängig von der Händigkeit (Rotation der Stränge), spricht man von negativem oder positivem Supercoiling. ³⁸

Die Topoisomerase IV wirkt im letzten Schritt der DNA-Replikation, indem eine Trennung der verbundenen Tochterchromosomen durchgeführt wird.

Fluorchinolone blockieren diese beiden Enzyme indem sie entweder den DNA-DNA Gyrase-Komplex oder den DNA-Topoisomerase IV-Komplex stabilisieren.

Durch diese Komplexe werden Bewegungen der Replikationsgabel blockiert und in der Folge entstehen DNA-Schäden und DNA-Strangbrüche, wodurch letztendlich die DNA-Synthese verhindert wird und der Zelltod eintritt. ³⁶

3.6.2.1. Ciprofloxacin

Ciprofloxacin wirkt nicht nur gegen gram-positive Bakterien, sondern auch gegen gram-negative Bakterien. Diese Wirkung ist sogar ausgeprägter als bei anderen Vertretern der Fluorchinolone. Es kann möglicherweise eine Resistenz von Ciprofloxacin gegenüber *Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylococcus aureus* bestehen. ³⁹ Grund dafür ist der Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA), der sich auf den Schleimhäuten befindet und gegen viele Antibiotika resistent ist. ⁴⁰

Als häufigste Nebenwirkung von Ciprofloxacin bei topischer Verwendung zählen ein Gefühl von Brennen und Stechen.

Außerdem treten häufig Geschmacksstörungen, Hornhautablagerungen und okuläre Hyperämie (verstärkte Durchblutung des Auges) auf.

In seltenen Fällen kann es bei Behandlung mit Ciprofloxacin zu Kopfschmerzen und Augenschmerzen kommen, genauso wie zu verminderter Sehschärfe. Weiters kann das Syndrom des trockenen Auges oder ein Fremdkörpergefühl im Auge auftreten.

Bei systemischer Gabe kann es in sehr seltenen Fällen zu einer Überempfindlichkeitsreaktion mit Anaphylaxie und Schockzuständen kommen. ⁴¹

Zu den üblicherweise gegen Ciprofloxacin empfindlichen Erregern zählen:

Aerobe Gram-positive Mikroorganismen

- *Bacillus anthracis*

Aerobe Gram-negative Mikroorganismen

- *Aeromonas* spp.
- *Brucella* spp.
- *Citrobacter koseri*
- *Francisella tularensis*
- *Haemophilus ducreyi*
- *Haemophilus influenzae*
- *Legionella* spp.
- *Moraxella catarrhalis*
- *Neisseria meningitidis*
- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Pasteurella* spp.
- *Salmonella* spp.
- *Shigella* spp.
- *Vibrio* spp.
- *Yersinia pestis*

Anaerobe Mikroorganismen

- *Mobiluncus*

Andere Mikroorganismen

- Chlamydia trachomatis
- Chlamydia pneumoniae
- Chlamydia pneumoniae
- Mycoplasma hominis
- Mycoplasma pneumoniae

3.7. Benzalkoniumchlorid

Benzalkoniumchlorid (BAC) ist ein sehr häufig eingesetztes Konservierungsmittel bei ophthalmologischen Zubereitungen und ist seit 1950 in Verwendung. Es wirkt antibakteriell und fungizid und wird daher vor allem bei Mehrdosis-Behältnissen eingesetzt, um das Wachstum von Mikroorganismen zu verhindern.⁴²

Doch BAC wirkt nicht selektiv gegen Bakterien, sondern weist auch unerwünschte Nebenwirkungen auf:

Es besteht die Gefahr, dass Irritationen oder allergische Reaktionen im Bereich des Auges entstehen können. Auch das Auftreten des Syndroms des trockenen Auges ist bei Langzeit Anwendungen, wie z.B. bei Glaukom oder Allergien möglich. Trockene Augen entstehen durch einen Mangel an Tränenflüssigkeit, der durch eine Hyperosmolarität ausgelöst wird. Weiters ist eine Schädigung der Hornhaut und Bindehaut möglich.⁴³

Trotz langjähriger Verwendung von BAC wird vermutet, dass es bei Patienten zu BAC-resistenten Keimen, vor allem Staphylokokken kommen kann.⁴⁴

Um den Einfluss der bakteriziden Wirkung von BAC auf das nasale Mikrobiom zu untersuchen, wurde in dieser Studie ein Kontroll-präparat mit und eines ohne BAC als Konservierungsmittel verwendet. Beide in der Studie verwendeten antibiotischen Augentropfen enthielten ebenfalls BAC.

3.8. Kontrollmedikation

Als Kontrollmedikation wurden in dieser Studie zwei Augentropfen-Präparate verwendet, die keine antibiotische Wirkung aufweisen, sondern als Tränenersatzmittel dienen. Sie befeuchten das Auge und werden vor allem bei trockenen Augen eingesetzt. Unter dem Syndrom des trockenen Auges versteht man einen Mangel an Tränenflüssigkeit, der zu einem Anstieg der Osmolarität des Tränenfilmes, Infektionen und zu einer Schädigung der Horn- und Bindehaut führen kann. ⁴⁵

Der Wirkstoff in den Kontrollmedikamenten ist Povidon.

Povidon, auch Polyvinylpyrrolidon (PVP) genannt, ist ein wasserlöslicher, inerter, nicht-toxischer, bioabbaubarer und pH-unabhängiger Hilfsstoff und wird daher vielseitig eingesetzt.

In der Ophthalmologie hilft PVP die Kontraktzeit von Augenpräparaten zu verlängern, indem die Viskosität erhöht wird. Außerdem ist PVP ein gutes Tränenersatzmittel und bildet einen Schutzfilm am Auge und befeuchtet dieses. ⁴⁶

4. Studie

4.1. Haupthypothese der Studie

Das Ziel der Studie war es zu untersuchen, ob antibiotische Augentropfen einen Einfluss auf die Zusammensetzung des nasalen Mikrobioms bei gesunden ProbandInnen haben.

4.2. Outcomes der Studie

Primärer Outcome: Anzahl der Mikroorganismen im nasalen Mikrobiom

Sekundärer Outcome: Anzahl der Mikroorganismen im pharyngealen Mikrobiom

4.3. Studiendesign

Die Studie wurde an der Universitätsklinik für Klinische Pharmakologie (Ophthalmologie-Pharmakologie) der Medizinischen Universität Wien im Allgemeinen Krankenhaus Wien (AKH) durchgeführt. Es handelt sich dabei um eine monozentrische, randomisierte, kontrollierte Studie.

Es wurden 2 antibiotische Augentropfen (Gentamicin und Ciprofloxacin Augentropfen) und 2 Kontroll-Präparate (eines mit BAC als Konservierungsmittel und eines ohne BAC) ohne antibiotische Wirkung eingesetzt. Das Anwenden der Studienmedikation erfolgte viermal täglich an 7 aufeinanderfolgenden Tagen.

4.4. Auswahl der Studienpopulation

Gesunde Frauen und Männer zwischen 18 und 45 Jahren wurden gemäß den weiter unten angeführten Einschluss- und Ausschlusskriterien von der Abteilung Klinische Pharmakologie ausgewählt.

4.5. Randomisierung

Nach Einwilligung bekamen alle ProbandInnen eine Randomisierungsnummer zugewiesen, welche für die Zuteilung der Studienmedikation stand.

Die ProbandInnen bekamen entweder Gentamicin, Ciprofloxacin, Protagent SDU oder Oculotect Fluid. Die Studienmedikation wurde randomisiert an ProbandInnen im Verhältnis 1:1:1:1 zugeteilt.

4.6. Verblindung

Es handelte sich um eine einfach-verblindete Studie. Dies bedeutet, dass die Person, die alle Tests an den Probanden durchführte, nicht wusste, welche Medikation vom Probanden eingenommen wurde. Eine Studien-unabhängige Person führte die Arzneimittelverantwortung durch.

4.7. Studienmedikation

Die ProbandInnen wurden in 4 Gruppen eingeteilt, die jeweils randomisiert andere Augentropfen erhielten. Bei zwei Präparaten handelte es sich um antibiotische Augentropfen, nämlich Ciloxan und Gentax, welche die Wirkstoffe Ciprofloxacin und Gentamicin beinhalten. Diese beiden Arzneimittel enthalten zusätzlich Benzalkoniumchlorid (BAC), das als Konservierungsmittel zugesetzt wird.

Als zusätzliches Ziel der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob Konservierungsmittel, im Speziellen BAC, einen Einfluss auf das nasale und pharyngale Mikrobiom aufweisen.

Deshalb gab es zwei Kontrollpräparate, Protagent SDU und Oculotect Fluid, wobei Protagent SDU konservierungsmittelfrei ist.

Die verwendeten Studienmedikamente hatten folgende Zusammensetzung:

Gentax:

Gentax Augentropfen, Agepha Pharma, Slowakei

Wirkstoff: Gentamicinsulfat 5 mg/ml (entsprechen 3 mg/ml Gentamicin)

Andere Inhaltsstoffe: Benzalkoniumchlorid 0,05 mg/ml, Natriumchlorid, Natriumedetat, Natriumdihydrogenphosphat.dihydrat, Natriummonohydrogenphosphat.dodecahydrat und Wasser für Injektionszwecke

Ciloxan:

Ciloxan Augentropfen, Novartis Pharma GmbH, Schweiz

Wirkstoff: Ciprofloxacinhydrochlorid (3,5 mg/ml)

Andere Inhaltsstoffe: Benzalkoniumchlorid-Lösung (0,06mg/ml), Natriumacetat-Trihydrat, Essigsäure, Natriumedetat, Salzsäure, Natriumhydroxid, gereinigtes Wasser

Protagent SDU:

Protagent SDU Augentropfen, Alcon Ophthalmika GmbH, Österreich

Wirkstoff: Povidon K25 (20 mg/ml)

Andere Inhaltsstoffe: Borsäure, Natriumchlorid, Natriumhydroxid zur pH-Wert-Einstellung, Wasser für Injektionszwecke

Oculotect Fluid:

Oculotect Fluid Augentropfen, Thea Pharma GmbH, Frankreich

Wirkstoff: Povidon K25 (50 mg/ml)

Andere Inhaltsstoffe: Benzalkoniumchlorid (0,05 mg/ml), Natriumchlorid, Kaliumchlorid, Borsäure, Magnesiumchlorid, Calciumchlorid, Natriumlactat, Natriumhydroxid zur pH-Wert-Einstellung, Wasser für Injektionszwecke

4.8. Ethische Aspekte

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Wien begutachtet und von den zuständigen Behörden bewilligt.

Die Studie wurde unter Einhaltung der Richtlinien der Internationalen Organisation für Standardization-Good Clinical Practice (ISO-GCP) und der Deklaration von Helsinki (1964) durchgeführt.

Die Augentropfen, welche als Studienmedikation verabreicht wurden, sind seit Jahren auf dem Markt und von den Behörden zugelassen. Sie werden in der Therapie oder zur Prophylaxe von ophthalmologischen Infektionserkrankungen eingesetzt.

Alle Messmethoden der Studie waren nicht-invasiv und schmerzfrei, weshalb bei der Teilnahme das Nutzen-Risiko Verhältnis akzeptabel war.

Für die ProbandInnen selbst entstand selbst kein Vorteil, jedoch wurde mit der Teilnahme ein Beitrag zu medizinischer Forschung geleistet, indem mehr Daten und Informationen über die Wirkung von antibiotischen Augentropfen auf das nasale Mikrobiom generiert werden konnte.

Alle Studienteilnehmer erhielten vor Beginn der Studie eine schriftliche und mündliche Aufklärung im Rahmen eines ärztlichen Gesprächs und unterschrieben eine Einwilligungserklärung.

4.9. Einschlusskriterien

- Frauen und Männer zwischen 18 und 45 Jahren
- Keine auffallenden ophthalmologischen Befunde
- Ametropie < 6dpt.
- Tränenaufließzeit > 10 Sekunden und Schirmer I Test > 10mm/5min
- Keine Anwendung von topischen Augen- oder Nasentropfen in den letzten 3 Monaten

4.10. Ausschlusskriterien

- Regelmäßiger Gebrauch von Medikamenten (ausgenommen waren hormonelle Kontrazeptiva)
- Missbrauch von Alkohol oder Drogen
- Einnahme von topischen oder systemischen Antibiotika in den letzten 8 Wochen vor Beginn der Studie
- Schwangere oder stillende Frauen, genauso wie gebärfähige Frauen ohne effektive Verhütung (z.B. orale Kontrazeptiva, Intrauterinpessare oder Kondome)
- Bekannte Unverträglichkeit gegen einen Wirkstoffbestandteil der verwendeten Augentropfen oder anderer Medikation, welche bei der Studie zum Einsatz kamen (z.B. Fluorescein-Augentropfen)
- Krankheiten des Gastrointestinaltraktes, in der Leber oder in der Niere
- Teilnahme an einer anderen Studie in den letzten 3 Wochen vor Beginn dieser klinischen Studie

4.11. Zeitlicher Ablauf der Studie

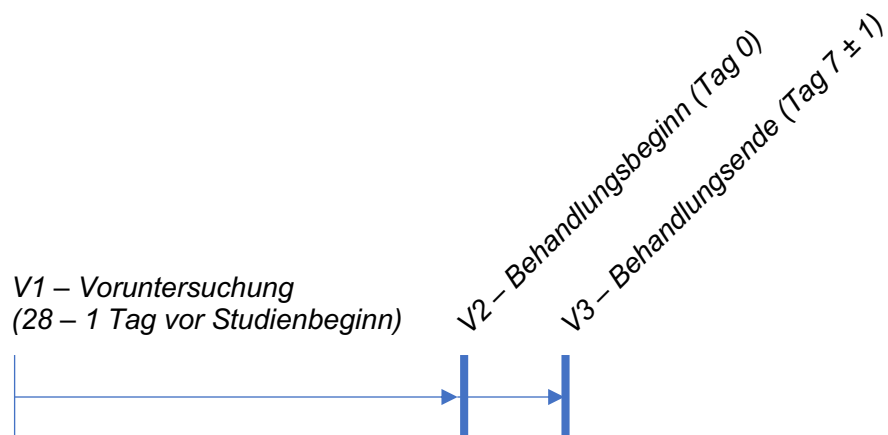


Abbildung 5: Zeitlicher Ablauf der Studie

4.12. Ablauf der Studientage

Visite 1- Voruntersuchung (28 - 1 Tag vor Studienbeginn):

Maximal 28 Tage vor dem Start der Studie wurde eine Voruntersuchung durchgeführt, die folgende Teile beinhaltet:

- Informierte Einwilligung der ProbandInnen
- Ermittlung persönlicher Daten (Alter, Geschlecht)
- Anamnese und Erhebung der Vorerkrankungen
- Abklärung über das Vorhandensein von Einschluss- bzw. Ausschlusskriterien
- Schwangerschaftstest bei gebärfähigen Frauen mittels Harnprobe (DIPRO hCG, Ein-Stufen-Schwangerschafts-Schnelltest, DIPRO med Handels GmbH)
- Ophthalmologische Untersuchungen (nicht Teil dieser Diplomarbeit)

Visite 2- Behandlungsbeginn (Tag 0):

Die folgenden Tests wurden in der folgenden Reihenfolge durchgeführt, um keine Interaktionen hervorzurufen:

- Schwangerschaftstest bei Frauen im Gebärfähigen Alter (DIPRO hCG, Ein-Stufen-Schwangerschafts-Schnelltest, DIPRO med Handels GmbH)
- Nasenabstriche
- Rachenabstriche
- Ophthalmologische Untersuchungen (nicht Teil dieser Diplomarbeit)
- Wiederholte Kontrolle der Ein- und Ausschlusskriterien
- Vergabe der Randomisierungsnummer an die Probanden
- Zuteilung der Studienmedikation laut Randomisierungsnummer

Am Ende von Tag 0 bekamen alle ProbandInnen ein Tagebuch, um Uhrzeit der Applikation der Augentropfen, unerwünschte Nebenwirkungen und das Verwenden von neuen Begleitmedikamenten zu dokumentieren.

Visite 3- Behandlungsende (Tag 7 $\pm$ 1):

Die folgenden Tests wurden in der folgenden Reihenfolge durchgeführt, um keine Interaktionen hervorzurufen:

- Bewertung von unerwünschten Ereignissen
- Rückgabe der Studienmedikation
- Kontrolle des Tagebuches
- Nasenabstriche
- Rachenabstriche
- Ophthalmologische Untersuchungen (nicht Teil dieser Diplomarbeit)

4.13. Untersuchungsmethoden

4.13.1. Nasales und pharyngales Mikrobiom

Bei jeder Studienvisite wurden den ProbandInnen jeweils drei nasale Abstriche vom rechten und zwei vom linken Nasenloch entnommen. Zusätzlich wurden auch zwei aus dem Rachen durchgeführt. Mittels „BD™ culture swab“ (BD Diagnostics, Heidelberg, Deutschland) wurden die Proben entnommen und bei -80°C gelagert, bis sie zur Core Facility Molecular Biology der medizinischen Universität von Graz zur weiteren Untersuchung gesendet wurden. Dort wurde dann der MagNA Pure Bacteria Lyse Puffer zu den Proben hinzugefügt, um die Desoxyribonucleinsäure (DNA) aus den Abstrichen zu isolieren. Dieser Vorgang wurde dreimal wiederholt, danach wurde Lysozym und Proteinkinase K hinzugefügt und schlussendlich MagNA Pure LC 2.0 (Roche, Mannheim, Germany).

Die isolierte DNA wurde dann mittels einer speziellen Polymerase-ketten-reaktion (PCR), FastStart High Fidelity PCR system (Roche, Mannheim, Germany), bearbeitet und die für Bakterien markante Region von 16S rRNA wird vervielfältigt, gepoolt und die Bibliothek wurde auf einer Illumina MiSeq Desktop Sequenzer sequenziert. Die daraus entstehenden FastQ-Dateien wurden vom „Zentrum für Medizinische Forschung“ analysiert.³

Die 16S rRNA wurde mittels „next generation sequencing“ (NGS) sequenziert, um viele Informationen, unter anderem über die Zusammensetzung und über die Struktur des Mikrobioms zu bekommen.⁴⁷

Unter NGS oder „Parallel Sequenzierung“ versteht man eine DNA-Sequenzierungsmethode, die vor allem in der Genomforschung vorherrschend ist. Der Vorteil zu der üblichen Sanger-Sequenzierung ist, dass ein komplettes menschliches Genom innerhalb eines Tages sequenziert werden kann, ein Vorgang der früher ein Jahrzehnt gedauert hat. Charakteristisch für NGS ist, dass die Methode unselektiv ist und das gesamte Spektrum der genomischen Variationen, inklusive Mutationen, in einem einzigen Experiment erfasst werden kann. Dies ist mit der Sanger-Sequenzierung nicht möglich, daher benötigt man zusätzlich andere Analysemethoden, um ausreichende Informationen über das menschliche Genom zu bekommen.⁴⁸

Bei der NGS werden Universal Primer eingesetzt, die so design sind, dass sie an die 16S rRNA der Bakterien binden können. ⁴⁹

Die aus der Sequenzierung gewonnen Daten, wurden in Folge mittels 2 verschiedenen Parametern beschrieben, analysiert und verglichen.

Dies geschah mit Hilfe von folgenden 2 Parametern: Anzahl der Mikroorganismen im nasalen und pharyngalen Mikrobiom und dem phylogenetischen Diversitätsindex (pd).

Die Anzahl der Mikroorganismen im Mikrobiom wurde basierend auf die Sequenzähnlichkeit gruppiert und in taxonomischen Einheiten (OTUs) angegeben. ⁴⁷

Der phylogenetische Diversitätsindex ist ein Maß für die Anzahl der Knoten in einem phylogenetischen Baum. ⁵⁰

In der vorliegenden Diplomarbeit sagt der phylogenetische Diversitätsindex aus viele verschiedene Bakterienarten im nasalen und pharyngalen Mikrobiom vorhanden sind.

5. Ergebnisse

Insgesamt waren 20 ProbandInnen im Alter zwischen 18 und 45 Jahren, davon 16 Frauen und 4 Männer, an der Studie beteiligt und haben diese nach Protokoll beendet. Die geschlechtliche Verteilung ist in jeder Medikationsgruppe gleich, somit bestand jede Gruppe aus vier Frauen und einem Mann.

Die Verteilung der Studienmedikation erfolgte wie folgt:

Gruppe 1: Ciloxan Augentropfen (Ciprofloxacin + Benzalkoniumchlorid)

Gruppe 2: Protagent Augentropfen (Povidone, konservierungsmittelfrei)

Gruppe 3: Oculotect Augentropfen (Povidone + Benzalkoniumchlorid)

Gruppe 4: Gentax Augentropfen (Gentamycin + Benzalkoniumchlorid)

Gruppe	Studienmedikation	Alter (Jahre $\pm$ SD)	Geschlecht (m/w)
1	<i>Ciloxan</i> : Ciprofloxacin + BAC Augentropfen	29 $\pm$ 4	1/4
2	<i>Protagent SDU</i> : Povidon Augentropfen	29 $\pm$ 5	1/4
3	<i>Oculotect Fluid</i> : Povidon + BAC Augentropfen	24 $\pm$ 4	1/4
4	<i>Gentax</i> : Gentamicin Augentropfen	26 $\pm$ 9	1/4

Tabelle 1: Übersicht der Studienmedikation der 4 Studiengruppen

Der primäre Outcome der Studie, die Anzahl der Mikroorganismen im nasalen Mikrobiom, weist eine numerische Veränderung nach der Behandlung mit antibiotischen Augentropfen auf. Somit wird die Hypothese der Studie, ob antibiotische Augentropfen einen Effekt auf das nasale Mikrobiom haben, gefestigt.

Diese Veränderung wird mit den beiden folgenden Grafiken veranschaulicht:

In der Abbildung 6 ist die Fülle der Mikroorganismen eines nasalen Abstriches zu sehen. Die Mikroorganismenanzahl ist unter Behandlung mit Ciloxan (Gruppe 1) von 114 ± 17 auf 144 ± 45 OTUs ($p=0.31$) gestiegen und von 163 ± 30 auf 243 ± 100 OTUs ($p=0.06$) in Gruppe 4 (Gentax) gestiegen.

Im Gegensatz dazu ist in den Kontrollgruppen keine signifikante Veränderung zu sehen: in Gruppe 2 (Povidone, konservierungsmittelfrei) hat sich die bakterielle Fülle minimal von 177 ± 41 auf 186 ± 63 OTUs ($p=0.88$) verändert.

Bei der anderen Kontrollgruppe, Gruppe 3, (Povidone mit BAC) veränderte sich die Anzahl der nasalen Bakterien kaum (148 ± 50 vs. 148 ± 39 OTUs ($p=1.0$)) an.

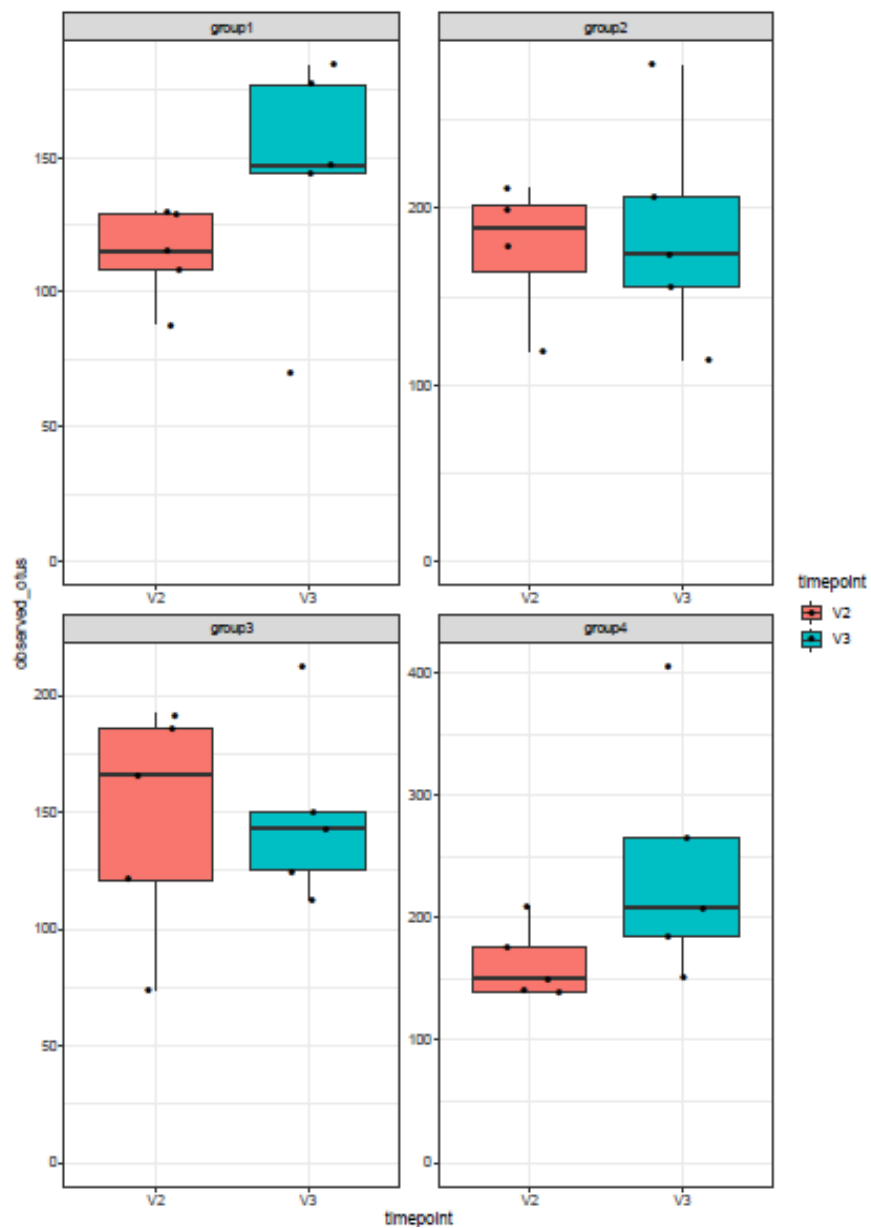


Abbildung 6: Die Anzahl an Mikroorganismen aus nasalen Abstrichen. Vergleich von OTUs zwischen V2 (vor Studienbeginn) und V3 (nach 7-tägiger Applikation der Augentropfen) Gruppe 1: Ciloxan Augentropfen, Gruppe 2: Progent SDU, Gruppe 3: Oculotect, Gruppe 4: Gentax Augentropfen

Der phylogenetische Diversitätsindex ist in Gruppe 1 von 10.2 ± 1.4 auf 11.8 ± 3.1 pd ($p=0.63$) gestiegen und in der Gruppe 4 von 12.4 ± 1.0 auf 16.0 ± 5.6 pd ($p=0.13$). Verglichen dazu, haben sich die Werte in den Kontrollgruppen kaum verändert: Gruppe 2 von 13.1 ± 1.7 auf 13.0 ± 2.7 pd ($p=0.88$) und Gruppe 3 von 11.5 ± 2.9 auf 11.7 ± 2.2 pd ($p=1.0$).

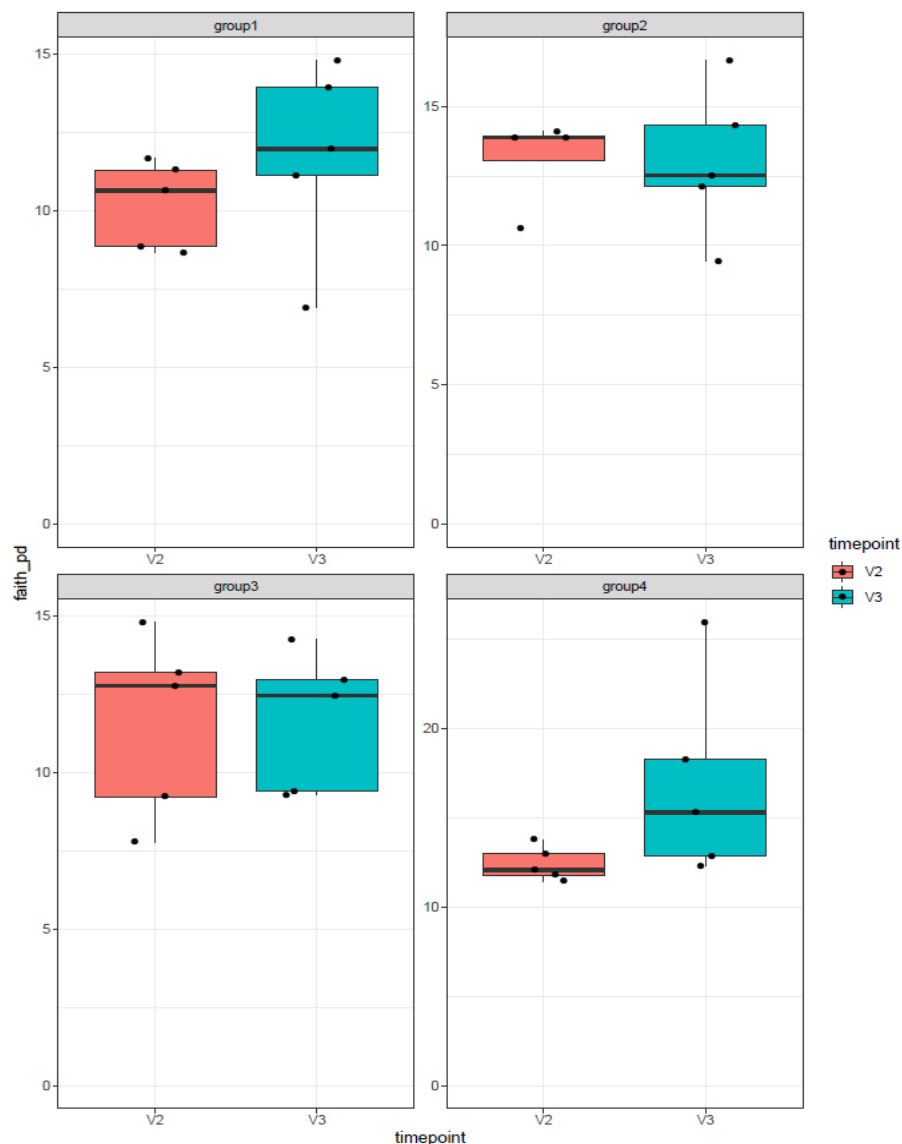


Abbildung 7: Phylogenetischer Diversitätsindex-Vergleich der Anzahl der verschiedenen Bakterienarten im nasalen Mikrobiom bei V2 (vor Beginn der Studie) und V3 (nach 7-tägiger Applikation der Augentropfen)

Der sekundäre Outcome, die Anzahl der Mikroorganismen im pharyngalen Mikrobiom, weist im Gegensatz zum nasalen Mikrobiom keine signifikante Veränderung auf. Dies ist in allen vier Gruppen an Hand der folgenden Abbildungen (Abb. 8 und Abb. 9) zu sehen. Der P-Wert von Gruppe 1 bei der Fülle der Mikroorganismen betrug 0.79 und bei der Gruppe 4 0.34.

Die beiden Kontrollgruppen zeigten einen p-Wert von 0.19 bzw. 1.0.

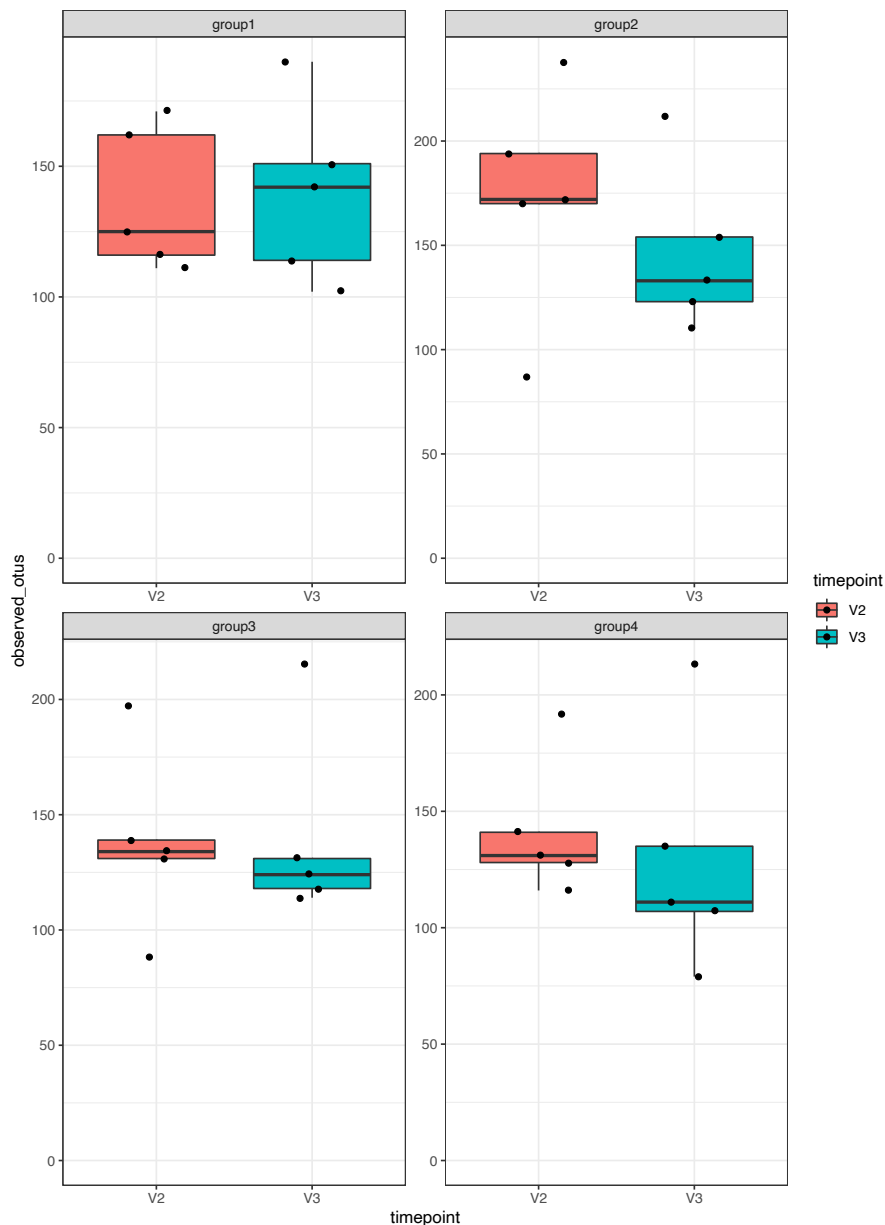


Abbildung 8: Die Anzahl an Mikroorganismen aus pharyngalen Abstrichen. Vergleich von OTUs zwischen V2 und V3

Die P-Werte des phylogenetischen Diversitätsindex des pharyngalen Mikrobioms betrugen 1.0 in der Gruppe 1 und 0.19 in der Gruppe 4.

Die Gruppe 2 und Gruppe 3 wiesen einen p-Wert von 0.19 bzw. 1.0 auf.

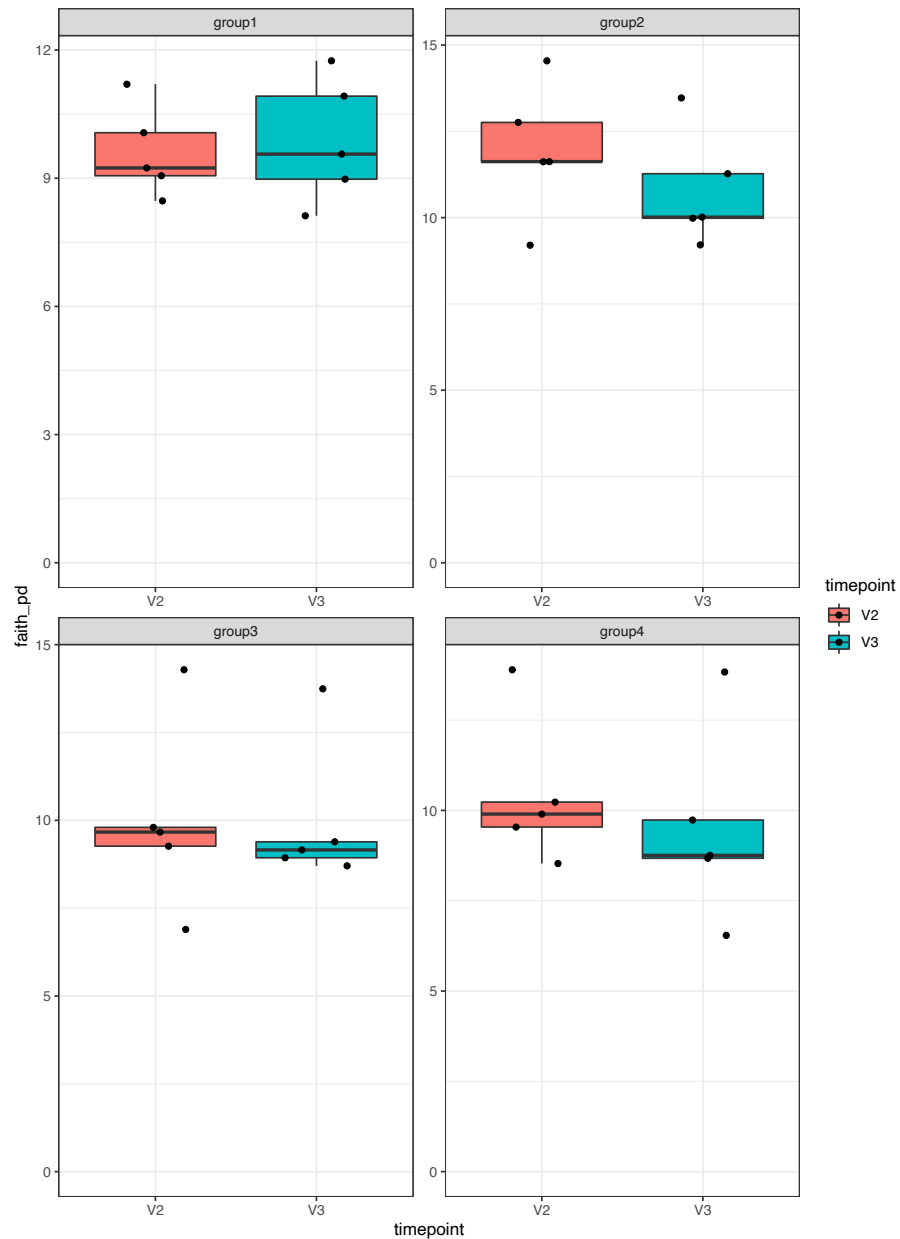


Abbildung 9: Phylogenetischer Diversitätsindex-Vergleich der Anzahl der verschiedenen Bakterienarten im pharyngalen Mikrobiom bei V2 und V3

6. Diskussion

In dieser einfach-verblindeten kontrollierten Studie wurde der Effekt von antibiotischen Augentropfen auf das nasale Mikrobiom untersucht. Außerdem wurde die Wirkung auf das pharyngale Mikrobiom beobachtet.

Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Verabreichung von antibiotischen Augentropfen einen Einfluss auf das nasale Mikrobiom hat, nicht jedoch auf das pharyngale.

Obwohl nach antibiotischer Therapie eigentlich eine Abnahme der Bakterienzahl zu erwarten wäre, trat in dieser Studie das Gegenteil auf:

Eine mögliche Erklärung hierfür wäre, dass eine zu geringe Konzentration der verwendeten Antibiotika in der Nase ankommt, weshalb es zur Resistenzentwicklung kommen kann.

In einigen Studien wurde gezeigt, dass der Einsatz von niedrig dosierten Antibiotika das Mikrobiom, bei oral eingenommenen Antibiotika das Darmmikrobiom verändert bzw. zerstört, weshalb das Wachstum pathogener Erreger im Wirt unterstützt wird. Niedrig dosierte Antibiotika werden vor allem dem Futtermittel von Nutztieren zugesetzt, um dessen Wachstum zu fördern und den Gewinn der tierischen Produkte zu vergrößern.^{51, 52}

Die sehr schwache bzw. fast nicht vorhandene Wirkung der antibiotischen Augentropfen auf das pharyngale Mikrobiom lässt sich vermutlich mit der anatomischen Entfernung erklären, da die Augentropfen nicht mehr oder kaum in den Pharynx gelangen.

Die Wirkung des Konservierungsmittels Benzalkoniumchlorid (BAC) auf das bakterielle Mikrobiom wurde zusätzlich zu den primären und sekundären Outcomes dieser Studie, untersucht. Basierend auf den Daten von vorherigen Studien, die gezeigt haben, dass BAC einen antibakteriellen Effekt auf das nasale Mikrobiom hat, wurde der selbige Effekt vermutet.⁵³ Jedoch zeigte der Einsatz von zwei

Kontrollpräparaten, wobei eines mit und eines ohne BAC war, keinen signifikanten Unterschied in der Bakterienanzahl in der vorliegenden Diplomarbeit.

Bereits früher durchgeführte Studien haben sich auf das nasale Mikrobiom konzentriert und den Zusammenhang zwischen der Veränderung des nasalen Mikrobioms und dem Auftreten von Erkrankungen analysiert. Eine Dysbiose des nasalen Mikrobioms kann das Entstehen von Atemwegserkrankungen fördern, dazu zählen vor allem Asthma, Bronchitis, Grippe, chronische und allergische Rhinosinusitis und Otitis media (Mittelohrentzündung).⁵⁴

Außerdem ist bekannt, dass die Zusammensetzung des nasalen Mikrobioms auch das Entstehen von altersbedingter Makuladegeneration beeinflussen kann. Grund dafür könnte die anatomische Nähe zu Nase und Mund sein, wodurch entzündungsfördernde Erreger leicht ins Auge gelangen und dort chronisch entzündliche Erkrankungen auslösen können.⁵⁵

Aufgrund der anatomischen Verbindung zwischen Auge und Nase, wird die Tränenflüssigkeit aus dem Bindehautsack durch den Ductus Nasolacimalis in die Nasenhöhle abgeleitet. Dort werden 80% der applizierten Arzneimittel von der Nasenschleimhaut aufgenommen und gelangen so in den systemischen Kreislauf.⁵⁶

Basierend auf den Daten früherer Studien, die unter anderem gezeigt haben, dass die Zusammensetzung des nasalen Mikrobioms einen Einfluss auf die Entstehung von Erkrankungen haben^{57, 55} oder niedrig dosierte Antibiotika einen Effekt auf den Organismus haben^{52, 51}, lässt sich eine Veränderung des nasalen Mikrobioms nach Applikation von antibiotischen Augentropfen vermuten.

Außerdem zeigten bereits durchgeführte Studien, dass antibiotische Augentropfen der Gruppe Fluorchinolone einen Einfluss auf die Verteilung der Bakterien im nasalen und konjunktivalen Mikrobiom haben.⁵⁸ Die Entstehung von Resistenzen gegen die eingesetzten Antibiotika wurde bereits in einigen Studien thematisiert, jedoch lässt sich das Auftreten nicht so einfach erklären.^{59 60} In diesen Studien wurden zur Analyse der Mikroorganismen die Nasenabstriche auf Schafblut- und Schokoladenagar inokuliert und danach inkubiert. Isolierte Mikroorganismen wurden mit folgenden Verfahren

identifiziert und analysiert: Gramfärbung, Koagulasetest, Katalasetest und Oxidasetest. Dies diente dazu, um zu sehen welche Bakterien in den Nasenabstrichen nach antibiotischer ophthalmologischer Therapie vorhanden sind. Wobei jede dieser angeführten Methode nur einzelne spezielle Spezies von Bakterien nachweisen konnte und deshalb mehrere Schritte zur Analyse der Gesamtheit des Mikrobioms notwendig waren.⁵⁸

Im Gegensatz dazu wurde in der Studie, wovon die vorliegende Diplomarbeit handelt, eine neue Sequenzierungsmethode „next generation sequencing“ (NGS) angewendet. Mit dieser Methode ist es möglich mehr Informationen über die Bakterien gewinnen zu können.⁴⁷ Der große Vorteil der NGS-Methode ist, dass es mit einer Durchführung möglich ist das gesamte bakterielle Mikrobiom zu identifizieren ohne sich vorher entscheiden zu müssen, nach welchen Spezies gesucht wird. Dadurch spart man sich einige Schritte bei der Analyse und erhält alle relevanten Informationen über die vorhandenen Mikroorganismen.⁴⁸ Somit wurde die NGS-Methode in dieser Studie eingesetzt, mit dem Ziel genauere Informationen über die Zusammensetzung und die Struktur des nasalen und pharyngalen Mikrobioms zu bekommen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass anhand der Ergebnisse zu sehen ist, dass antibiotische Augentropfen auch eine Wirkung auf das nasale Mikrobiom aufweisen und nicht nur lokal im Auge wirken.

Somit wurde die Hypothese der Studie unterstützt. Jedoch ist die Aussagekraft der Studie gering, da sie eine zu kleine Anzahl an ProbandInnen umfasst und die Behandlungs- bzw. Beobachtungsdauer zu kurz war, um statistisch signifikante Aussagen zu geben.

Als Folge sollte das durch die gewonnenen Daten erworbene Wissen jedoch in Zukunft in weiteren Studien vertieft werden, um mehr Informationen über die Auswirkung von antibiotischen Augentropfen auf angrenzende Strukturen zu erlangen. Wichtig ist in kommenden Studien eine größere ProbandInnengruppe zu verwenden und längere Follow-ups durchzuführen, um die Dauer der Veränderungen im nasalen Mikrobiom beobachten zu können.

7. Abkürzungsverzeichnis

ABB	Abbildung
BAC	Benzalkoniumchlorid
BP	Base pair
BUT	Break up time
CCD	Charge Coupled Device
ETDRS	Early treatment diabetic retinopathy study
IOP	Intraocular Pressure
MALDI-TOF	Matrix assisted laser absorption ionization- Time of flight
MIC	Minimum inhibitory concentration
MRSA	Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus
MSSA	Methicillin-sensibler Staphylococcus aureus
NEI	National Eye Insitute
OCT	Optical coherence tomography
OM	Outer Membrane
OSDI	Ocular Surface Disease Index
OTU	Operational taxonomic units
PCR	Polymerase chain reaction
PVP	Polyvinylpyrrolidon
SP	Species
TFT	Tear film thickness
V	Visite

8. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Struktureller Unterschied von gram-positiven und gram-negativen Bakterienzellen ¹⁸ - Copyright © 2017 mit Genehmigung von Wolters Kluwer Medknow Publications, Nr. 501694754	15
Abbildung 2: Ableitende Tränenwege ²⁰ – Copyright ©2016 mit Genehmigung von Springer Nature, Nr. 5198081151004	16
Abbildung 3: Anatomie des Pharynx ²⁸ -Copyright ©2012 mit Genehmigung von Terese Winslow LCC	18
Abbildung 4: Wirkmechanismen der verschiedenen Antibiotika-gruppen ¹⁸ - Copyright © 2017 mit Genehmigung von Wolters Kluwer Medknow Publications, Nr. 501694754	19
Abbildung 5: Zeitlicher Ablauf der Studie	33
Abbildung 6: Die Anzahl an Mikroorganismen aus nasalen Abstrichen. Vergleich von OTUs zwischen V2 (vor Studienbeginn) und V3 (nach 7-tägiger Applikation der Augentropfen) Gruppe 1: Ciloxan Augentropfen, Gruppe 2: Progent SDU, Gruppe 3: Oculotect, Gruppe 4: Gentax Augentropfen	39
Abbildung 7: Phylogenetischer Diversitätsindex-Vergleich der Anzahl der verschiedenen Bakterienarten im nasalen Mikrobiom bei V2 (vor Beginn der Studie) und V3 (nach 7-tägiger Applikation der Augentropfen)	40
Abbildung 8: Die Anzahl an Mikroorganismen aus pharyngealen Abstrichen. Vergleich von OTUs zwischen V2 und V3	41
Abbildung 9: Phylogenetischer Diversitätsindex-Vergleich der Anzahl der verschiedenen Bakterienarten im pharyngealen Mikrobiom bei V2 und V3	42

9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht der Studienmedikation der 4 Studiengruppen	37
---	----

10. Literaturverzeichnis

1. Lee JT, Kim CM, Ramakrishnan V. Microbiome and disease in the upper airway. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2019;19(1):1-6. doi:10.1097/ACI.0000000000000495
2. Lukeš J, Stensvold CR, Jirků-Pomajbíková K, Wegener Parfrey L. Are Human Intestinal Eukaryotes Beneficial or Commensals? *PLoS Pathog*. 2015;11(8):e1005039. doi:10.1371/journal.ppat.1005039
3. Klymiuk I, Bilgiler C, Stadlmann A, et al. The Human Gastric Microbiome Is Predicated upon Infection with *Helicobacter pylori*. *Front Microbiol*. 2017;8:2508. doi:10.3389/fmicb.2017.02508
4. Kumpitsch C, Koskinen K, Schöpf V, Moissl-Eichinger C. The microbiome of the upper respiratory tract in health and disease. *BMC Biol*. 2019;17. doi:10.1186/s12915-019-0703-z
5. Liu CM, Price LB, Hungate BA, et al. *Staphylococcus aureus* and the ecology of the nasal microbiome. *Sci Adv*. 2015;1(5):e1400216. doi:10.1126/sciadv.1400216
6. Schwartz DJ, Langdon AE, Dantas G. Understanding the impact of antibiotic perturbation on the human microbiome. *Genome Med*. 2020;12:82. doi:10.1186/s13073-020-00782-x
7. Mu C, Zhu W. Antibiotic effects on gut microbiota, metabolism, and beyond. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2019;103(23):9277-9285. doi:10.1007/s00253-019-10165-x
8. de Gunzburg J, Ghoulane A, Ducher A, et al. Protection of the Human Gut Microbiome From Antibiotics. *J Infect Dis*. 2018;217(4):628-636. doi:10.1093/infdis/jix604
9. Cox LM, Blaser MJ. Antibiotics in early life and obesity. *Nat Rev Endocrinol*. 2015;11(3):182-190. doi:10.1038/nrendo.2014.210
10. Drożdż K, Nabrdalik K, Hajzler W, Kwiendacz H, Gumprecht J, Lip GYH. Metabolic-Associated Fatty Liver Disease (MAFLD), Diabetes, and Cardiovascular Disease: Associations with Fructose Metabolism and Gut Microbiota. *Nutrients*. 2021;14(1):103. doi:10.3390/nu14010103
11. Angelucci F, Cechova K, Amlerova J, Hort J. Antibiotics, gut microbiota, and Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation*. 2019;16:108. doi:10.1186/s12974-019-1494-4

12. Heintz-Buschart A, Pandey U, Wicke T, et al. The nasal and gut microbiome in Parkinson's disease and idiopathic rapid eye movement sleep behavior disorder. *Mov Disord.* 2018;33(1):88-98. doi:10.1002/mds.27105
13. Rosselló-Móra R, Amann R. Past and future species definitions for Bacteria and Archaea. *Syst Appl Microbiol.* 2015;38(4):209-216. doi:10.1016/j.syapm.2015.02.001
14. Molecular Biology Review. Accessed January 10, 2022. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Class/MLACourse/Modules/MolBioReview/pro_and_eukaryotic.html
15. Johnson JS, Spakowicz DJ, Hong BY, et al. Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. *Nat Commun.* 2019;10(1):5029. doi:10.1038/s41467-019-13036-1
16. Bjarnsholt T. The role of bacterial biofilms in chronic infections. *APMIS.* 2013;121(s136):1-58. doi:10.1111/apm.12099
17. Doron S, Gorbach SL. Bacterial Infections: Overview. *Int Encycl Public Health.* Published online 2008:273-282. doi:10.1016/B978-012373960-5.00596-7
18. Kapoor G, Saigal S, Elongavan A. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol.* 2017;33(3):300-305. doi:10.4103/joacp.JOACP_349_15
19. Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The Bacterial Cell Envelope. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2010;2(5):a000414. doi:10.1101/cshperspect.a000414
20. Paulsen F, Garreis F, Schicht M, Bräuer L, Ali MJ, Sel S. Anatomie und Physiologie der ableitenden Tränenwege. *HNO.* 2016;64(6):354-366. doi:10.1007/s00106-016-0164-4
21. Iebba V, Totino V, Gagliardi A, et al. Eubiosis and dysbiosis: the two sides of the microbiota. :12.
22. Dysbiose - Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik - eMedpedia. Accessed December 5, 2021. https://www.springermedizin.de/emedpedia/lexikon-der-medizinischen-laboratoriumsdiagnostik/dysbiose?epediaDoi=10.1007%2F978-3-662-49054-9_947
23. Miraglia Del Giudice M, Parisi GF, Indolfi C, et al. Nasal microbiome in chronic rhinosinusitis. *Minerva Pediatr.* Published online July 29, 2020. doi:10.23736/S0026-4946.20.05850-8
24. Gan W, Zhang H, Yang F, Liu S, Liu F, Meng J. The influence of nasal bacterial

microbiome diversity on the pathogenesis and prognosis of chronic rhinosinusitis patients with polyps. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2021;278(4):1075-1088. doi:10.1007/s00405-020-06370-4

25. Gan W, Yang F, Tang Y, et al. The difference in nasal bacterial microbiome diversity between chronic rhinosinusitis patients with polyps and a control population. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2019;9(6):582-592. doi:10.1002/alr.22297

26. Caruso C, Parrinello G, Urbani S, Andriollo G, Colantuono S, Nucera E. The microbiota and allergic (Type 2) disease: a review. :11.

27. Dick S, Turner S. The Airway Microbiome and Childhood Asthma – What Is the Link? *Acta Medica Acad*. 2020;49(2):156-163. Accessed November 7, 2021. <http://www.ama.ba/index.php/ama/article/view/412>

28. PDQ Screening and Prevention Editorial Board. Oral Cavity and Nasopharyngeal Cancers Screening (PDQ®): Health Professional Version. In: *PDQ Cancer Information Summaries*. National Cancer Institute (US); 2002. Accessed January 9, 2022. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK65776/>

29. Albahout KS, Lopez RA. Anatomy, Head and Neck, Pharynx. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing; 2021. Accessed December 9, 2021. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544271/>

30. Lomoschitz F, Schima W, Schober E, et al. PharynxBildgebung der Normalanatomie. *Radiol*. 2000;40(7):601-609. doi:10.1007/s001170050781

31. de Steenhuijsen Piers WAA, Sanders EAM, Bogaert D. The role of the local microbial ecosystem in respiratory health and disease. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2015;370(1675):20140294. doi:10.1098/rstb.2014.0294

32. Edouard S, Million M, Bachar D, et al. The nasopharyngeal microbiota in patients with viral respiratory tract infections is enriched in bacterial pathogens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018;37(9):1725-1733. doi:10.1007/s10096-018-3305-8

33. Flynn M, Dooley J. The microbiome of the nasopharynx. *J Med Microbiol*. 2021;70(6):001368. doi:10.1099/jmm.0.001368

34. Chaves BJ, Tadi P. Gentamicin. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing; 2021. Accessed October 25, 2021. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557550/>

35. Gentax_Tropfen_BPZ_20180110.indd. :2.

36. Hooper DC. Mechanisms of Action and Resistance of Older and Newer Fluoroquinolones. *Clin Infect Dis*. 2000;31(Supplement_2):S24-S28.

doi:10.1086/314056

37. Sara AML, Joakim D, Ure AE, Sundström K, Emilie H. Comparison of DNA and RNA sequencing of total nucleic acids from human cervix for metagenomics. *Sci Rep Nat Publ Group*. 2021;11(1). doi:http://dx-doi-org.uaccess.univie.ac.at/10.1038/s41598-021-98452-4
38. Gubaev A, Klostermeier D. The mechanism of negative DNA supercoiling: A cascade of DNA-induced conformational changes prepares gyrase for strand passage. *DNA Repair*. 2014;16:23-34. doi:10.1016/j.dnarep.2014.01.011
39. LeBel M. Ciprofloxacin: Chemistry, Mechanism of Action, Resistance, Antimicrobial Spectrum, Pharmacokinetics, Clinical Trials, and Adverse Reactions. *Pharmacother J Hum Pharmacol Drug Ther*. 1988;8(1):3-30. doi:10.1002/j.1875-9114.1988.tb04058.x
40. Arcieri G, Griffith E, Gruenwaldt G, et al. Ciprofloxacin: an update on clinical experience. *Am J Med*. 1987;82(4A):381-386.
41. GmbH RLS. CILOXAN® 3 mg/ml Augentropfen - PatientenInfo-Service. Accessed December 8, 2021. <https://www.patienteninfo-service.de/a-z-liste/c/ciloxanR-3-mgml-augentropfen>
42. Noecker R, Miller KV. Benzalkonium Chloride in Glaucoma Medications. *Ocul Surf*. 2011;9(3):159-162. doi:10.1016/S1542-0124(11)70025-8
43. Clouzeau C, Godefroy D, Riancho L, Rostène W, Baudouin C, Brignole-Baudouin F. Hyperosmolarity potentiates toxic effects of benzalkonium chloride on conjunctival epithelial cells in vitro. *Mol Vis*. 2012;18:851-863. Accessed December 9, 2021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3332130/>
44. Lee J, Iwasaki T, Ohtani S, et al. Benzalkonium Chloride Resistance in Staphylococcus epidermidis on the Ocular Surface of Glaucoma Patients Under Long-Term Administration of Eye Drops. *Transl Vis Sci Technol*. 2020;9(8):9. doi:10.1167/tvst.9.8.9
45. Dutescu RM, Panfil C, Schrage N. Comparison of the effects of various lubricant eye drops on the in vitro rabbit corneal healing and toxicity. *Exp Toxicol Pathol*. 2017;69(3):123-129. doi:10.1016/j.etp.2016.12.002
46. Kurakula M, Rao GSNK. Pharmaceutical assessment of polyvinylpyrrolidone (PVP): As excipient from conventional to controlled delivery systems with a spotlight on COVID-19 inhibition. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2020;60:102046.

doi:10.1016/j.jddst.2020.102046

47. Chen W, Zhang CK, Cheng Y, Zhang S, Zhao H. A Comparison of Methods for Clustering 16S rRNA Sequences into OTUs. *PLoS ONE*. 2013;8(8):e70837. doi:10.1371/journal.pone.0070837
48. Behjati S, Tarpey PS. What is next generation sequencing? *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2013;98(6):236-238. doi:10.1136/archdischild-2013-304340
49. Church DL, Cerutti L, Gürtler A, Griener T, Zelazny A, Emler S. Performance and Application of 16S rRNA Gene Cycle Sequencing for Routine Identification of Bacteria in the Clinical Microbiology Laboratory. *Clin Microbiol Rev*. 2020;33(4):e00053-19. doi:10.1128/CMR.00053-19
50. Mendez R, Watane A, Farhangi M, et al. Gut microbial dysbiosis in individuals with Sjögren's syndrome. *Microb Cell Factories*. 2020;19:90. doi:10.1186/s12934-020-01348-7
51. Yoshimoto A, Uebanso T, Nakahashi M, Shimohata T, Mawatari K, Takahashi A. Effect of prenatal administration of low dose antibiotics on gut microbiota and body fat composition of newborn mice. *J Clin Biochem Nutr*. 2018;62(2):155-160. doi:10.3164/jcbrn.17-53
52. Hu Q, Liu C, Zhang D, et al. Effects of Low-Dose Antibiotics on Gut Immunity and Antibiotic Resistomes in Weaned Piglets. *Front Immunol*. 2020;11:903. doi:10.3389/fimmu.2020.00903
53. Onerci Celebi O, Celebi ARC. The effect of ocular lubricants containing benzalkonium chloride on nasal mucosal flora. *Cutan Ocul Toxicol*. 2018;37(3):305-308. doi:10.1080/15569527.2018.1456549
54. Dimitri-Pinheiro S, Soares R, Barata P. The Microbiome of the Nose—Friend or Foe? *Allergy Rhinol*. 2020;11:2152656720911605. doi:10.1177/2152656720911605
55. Santoro A, Zhao J, Wu L, Carru C, Biagi E, Franceschi C. Microbiomes other than the gut: inflammaging and age-related diseases. *Semin Immunopathol*. 2020;42(5):589-605. doi:10.1007/s00281-020-00814-z
56. Farkouh A, Frigo P, Czejka M. Systemic side effects of eye drops: a pharmacokinetic perspective. *Clin Ophthalmol Auckl NZ*. 2016;10:2433-2441. doi:10.2147/OPTH.S118409
57. Rullo J, Far PM, Quinn M, et al. Local oral and nasal microbiome diversity in age-related macular degeneration. *Sci Rep*. 2020;10(1):3862. doi:10.1038/s41598-

020-60674-3

58. Celebi ARC, Onerci Celebi O. The effect of topical ocular moxifloxacin on conjunctival and nasal mucosal flora. *Sci Rep*. 2021;11:13782. doi:10.1038/s41598-021-93233-5
59. Alabiad CR, Miller D, Schiffman JC, Davis JL. Antimicrobial Resistance Profiles of Ocular and Nasal Flora in Patients Undergoing Intravitreal Injections. *Am J Ophthalmol*. 2011;152(6):999-1004.e2. doi:10.1016/j.ajo.2011.05.026
60. Lichtenstein SJ, De LL, Heller W, et al. Topical Ophthalmic Moxifloxacin Elicits Minimal or No Selection of Fluoroquinolone Resistance Among Bacteria Isolated From the Skin, Nose, and Throat. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*. 2012;49(2):88-97. doi:10.3928/01913913-20111101-02