

Einfluss topischer und systemischer Therapeutika auf das Hautmikrobiom von Patientinnen und Patienten mit atopischer Dermatitis

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades Dr. med.

eingereicht an der
Medizinischen Fakultät der Universität Augsburg

von

Robin Falko Mounir Rohayem

Augsburg, 20.07.2023



Eidesstattliche Versicherung und Erklärung

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass die vorliegende Dissertation von mir selbständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt wurde. Zudem wurden keine anderen als die angegebenen Quellen verwendet. Außerdem versichere ich, dass die Dissertation keiner anderen Prüfungskommission vorgelegt wurde und ich mich nicht anderweitig einer Doktorprüfung ohne Erfolg unterzogen habe.

Augsburg, Freitag, 9. Februar 2024

Dissertation eingereicht am: 20.07.2023

Erstgutachterin: Prof. Dr. med. Claudia Traidl-Hoffmann

Zweitgutachterin: Prof. Dr. med. Julia Welzel

Tag der mündlichen Prüfung: 08.02.2024

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	5
1.1	Atopische Dermatitis	5
1.1.1	Allgemeines und Epidemiologie.....	5
1.1.2	Pathophysiologie	7
1.2	Das Hautmikrobiom	10
1.2.1	Allgemeines.....	10
1.2.2	Rolle des Hautmikrobioms bei atopischer Dermatitis	11
1.2.3	Untersuchung des Hautmikrobioms durch 16S rRNA-Sequenzierung	12
1.3	Therapie der atopischen Dermatitis	13
1.4	Hypothesen und Ziele	16
2	MATERIAL UND METHODEN	19
2.1	Material	19
2.1.1	Geräte.....	19
2.1.2	Software.....	19
2.2	Studienpopulation	20
2.2.1	ProRaD	20
2.2.2	Studienaufbau und Teilnehmende	20
2.2.3	Körperliche Untersuchung und Erhebung des Hautzustandes	21
2.2.4	Erhebung der Medikation und weiterer Daten	22
2.2.5	Ethikvotum	22
2.3	Methodik	22
2.3.1	Hautmikrobiom-Abstrichgewinnung und Konservierung	22
2.3.2	Isolation und Amplifikation der bakteriellen Erbinformation.....	22
2.3.3	Vervielfältigung der variablen Regionen V1-V3.....	22
2.3.4	Illumina Next Generation Sequencing	24
2.3.5	Aufbereitung und Qualitätskontrolle des Datensatzes	24
2.3.6	Qualitätskontrolle der Sequenzierung	24
2.3.7	Analyse und Auswertung.....	25
2.3.8	Messzahlen der mikrobiellen Diversität in Mikrobiomanalysen	29
2.3.9	Statistische Analyse.....	29
3	ERGEBNISSE	30
3.1	Studienkollektiv	30
3.1.1	Altersverteilung.....	30
3.1.2	Geschlechterverteilung	30
3.1.3	Atopieanamnese, Schweregrad und Therapiestufe	31
3.2	Einflussfaktoren auf das Hautmikrobiom	34
3.2.1	Alter, Geschlecht und der Ausprägungsgrad der <i>S. aureus</i> -Besiedlung	34
3.2.2	Hautmikrobiom in Abhängigkeit des Hautzustandes	35
3.2.3	Einfluss der Therapie auf das Hautmikrobiom	37
4	DISKUSSION	45
4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse	45

4.2	Die Verschlechterung des Hautzustandes korreliert direkt mit der relativen Häufigkeit von <i>S. aureus</i>.....	46
4.3	Die Therapie mit Lokaltherapeutika korreliert nicht mit einer wiederhergestellten mikrobiellen Diversität oder einer Reduktion der relativen Häufigkeit von <i>S. aureus</i>.	49
4.4	Die Therapie mit Systemtherapeutika korreliert bei moderater atopischer Dermatitis mit einer Reduktion der relativen Häufigkeit von <i>S. aureus</i>51	
4.5	Weitere Ergebnisse und Limitationen.....	53
5	ZUSAMMENFASSUNG	57
6	ABSTRACT	58
7	LITERATURVERZEICHNIS	59
8	APPENDIX	70

1 Einleitung

1.1 Atopische Dermatitis

1.1.1 Allgemeines und Epidemiologie

Das atopische Ekzem (synonym: atopische Dermatitis, deutsch: Neurodermitis) (AE, AD) beschreibt eine entzündliche, chronisch-rezidivierende Hauterkrankung. Sie tritt allein oder in Kombination mit anderen atopischen Krankheitsbildern wie Rhinoconjunctivitis allergica oder allergischem Asthma auf. (Ferreira et al., 2017) Die sukzessive Entwicklung der Erkrankungen des atopischen Formenkreises wird als „atopischer Marsch“ bezeichnet. (Bieber, 2010)

Klinisch imponiert die AD durch Juckreiz, Hauttrockenheit, erosiv-läsionale Hautveränderungen, Exkorationen, Ekzemmorphie und Lichenifikation. Prävalenzen von bis zu 20% bei europäischen Kindern und Jugendlichen und von bis zu 8% bei Erwachsenen verdeutlichen die gesellschaftliche und alltägliche Relevanz dieser Haut- und Umwelterkrankung (Bylund et al., 2020, Kowalska-Olędzka et al., 2019, Barbarot et al., 2018).

Die AD manifestiert sich häufig schon ab dem dritten Lebensmonat. Typische Ausprägungen bei Neugeborenen sind „Milchschorf“ an Gesicht und Kapillitium, sowie exsudative, teilweise sekundär impetiginisierte Ekzeme an den Streckseiten der Extremitäten und am Stamm. (Siehe Abbildung 2)

Während ein Großteil der Patienten und Patientinnen lediglich mild oder moderat betroffen sind, haben schwere Krankheitsausprägungen auch starke psychische Auswirkungen auf die Betroffenen. So schränken quälender Juckreiz, Schlafverlust sowie Hautinfektionen die Lebensqualität des Kindes und der Eltern erheblich ein (Ring et al., 2019, Drucker et al., 2017).

Im Kindesalter sind vor Allem die Beugen der großen Gelenkflexuren typische Lokalisationen eher trockener Ekzeme. (Siehe Abbildung 2) Bei einem großen Teil der Betroffenen kommt es während der Adoleszenz zur Remission (Kim et al., 2016). Jedoch kann die AD auch bis ins Erwachsenenalter chronisch-rezidivierend symptomatisch bleiben (Augustin et al., 2015). Erstmanifestationen im Erwachsenenalter werden von 25% der betroffenen Erwachsenen beschrieben (Lee et al., 2019). Der prozentuale Anteil schwer betroffener Patienten und Patientinnen nimmt dabei leicht zu (Barbarot et al., 2018).



Abbildung 1: **A** Betroffen ist die Beugeseite des Knies, es zeigen sich multiple, teils zu Plaques konfluierende, unscharf begrenzte erythematöse, teils exkorierte Papeln im Sinne eines typischen Beugeekzems bei atopischer Dermatitis **B** Junger Patient mit klassischer Manifestation einer atopischen Dermatitis im Säuglingsalter, sowie typischer Aussparung des Windelbereiches. Quelle: mit der freundlichen Genehmigung von Altmeyers Enzyklopädie

Die Ekzemlokalisierungen „wandern“ im Laufe des Lebens. Im Erwachsenenalter präsentieren sich Ekzeme eher lichenifiziert an Händen und Füßen, sowie im Lid- und Halsbereich (Ramírez-Marín und Silverberg, 2022). Während der Adoleszenz belasten zunehmend psychosoziale Faktoren wie Stigmatisierung die Betroffenen und können zu Vermeidungs- und Rückzugsverhalten führen (Mitchell, 2018).

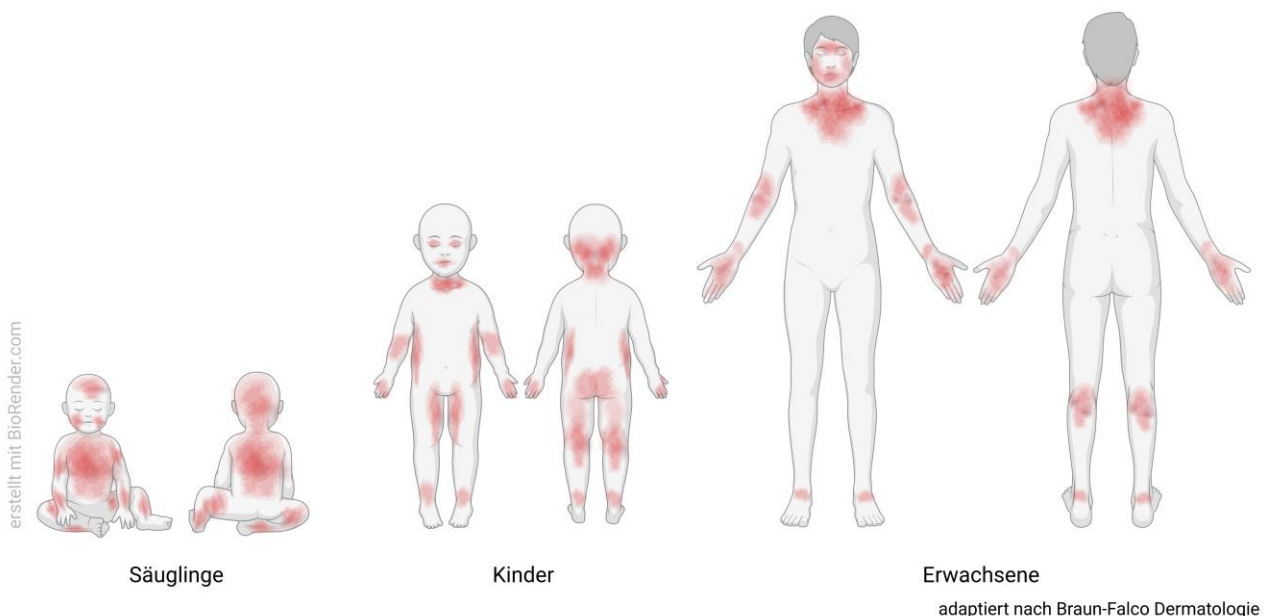


Abbildung 2 Ekzemlokalisierungen und Prädilektionsstellen der atopischen Dermatitis in Abhängigkeit des Alters. Grafik erstellt von RR in Biorender.com (adaptiert nach Braun-Falco Dermatologie)

1.1.2 Pathophysiologie

Die AD ist eine heterogene Erkrankung der eine Vielzahl von Faktoren zu Grunde liegen können. Die Diagnose erfolgt klinisch mit Hilfe der Kriterien von Hanifin und Rajka (Hanifin und Rajka, 1980). Es sind keine sicheren, diagnostischen Laborparameter verfügbar. Zwar kann die AD mit einem erhöhten Immunglobulin E (IgE) -Spiegel einher gehen, eine Unterscheidung der AD-Typen in intrinsische und extrinsische (IgE-assoziierte) AD bleibt allerdings weiterhin umstritten (Wüthrich und Schmid-Grendelmeier, 2003). Der Schweregrad der atopischen Dermatitis wird mit Hilfe von standardisierten Scores, wie SCORingAtopicDermatitis (SCORAD), strukturiert erfasst (Siehe Abbildung 4). Der SCORAD bildet dabei sowohl subjektive (Juckreiz und Schlafverlust) als auch objektive (befallene Körperfläche) Symptome ab (European Task Force on Atopic Dermatitis, 1993). Ab einem SCORAD-Score größer 50 wird die AD als schwer eingestuft.

Für das pathophysiologische Verständnis der atopischen Dermatitis ist die synergistische Betrachtung der genetisch bedingten, epidermalen Barrierestörungen, der T_{H2}-mediierten Entzündungsvorgänge, des Hautmikrobioms und der Umweltfaktoren entscheidend (Eyerich et al., 2018).

Genetische Prädisposition bildet den wichtigsten Risikofaktor für die Entwicklung einer AD. In genetisch identischen Zwillingen konnte eine Konkordanzrate von bis zu 75% nachgewiesen werden (Elmose und Thomsen, 2015). Der Hydrolipidfilm, auch „Säureschutzmantel“ der Haut sorgt in den meisten Hautarealen für einen sauren pH-Wert und trägt zum mikrobiellen Gleichgewicht bei. Mutationen in Strukturproteingenen wie z.B. im *Filaggrin*-Gen können ursächlich für Veränderungen der Keratinozytenstruktur und verminderte Hauthydratation sein (Palmer et al., 2006). Diese wiederum führt zu einem erhöhten Haut-pH-Wert. Dadurch aktivierte Proteasen (z.B. Kallikreine) hemmen die Sekretion von Lamellenkörperchen (Quiroz et al., 2020). Folge sind eine abnorme Lipidzusammensetzung, sowie eine gestörte Hautbarriere. Neben *Filaggrin*-Mutationen ist eine Vielzahl weiterer Mutationen mit der AD assoziiert. Sie betreffen die Hauthomöostase, Strukturproteine und Bausteine der adaptiven und angeborenen Immunantwort (Paternoster et al., 2015).

Die Keratinozyten der Haut sind als immunologisch aktive Zellen zu verstehen und interagieren mit der angeborenen und adaptiven Immunität. Als Teil der Hautbarriere erhalten sie ein sensibles Gleichgewicht der Pathogenabwehr und Immuntoleranz (Bitschar et al., 2017). Im Rahmen einer Barrierestörung aktiviert die Herabregulierung von E-Cadherin die Freisetzung von Thymisch-stromalen Lymphopoietin (TSLP) , IL-25

und IL-33 aus den Epithelzellen (Eyerich et al., 2018). Hierdurch wird die Signalkaskade zur Freisetzung von T_H2-Zytokinen (IL4, IL5 und IL13) durch lymphoide Zellen der angeborenen Immunität vom Typ 2 ausgelöst (Morita et al., 2016). Folge sind Entzündungsprozesse der Haut, welche auf unterschiedlichem Wege zu einer weiteren Verschlechterung der Hautbarriere beitragen. Die Modulation der T_H2-Immunantwort durch zielgerichtete, monoklonale Antikörper bildet deshalb einen effektiven Angriffspunkt der modernen Systemtherapie. (Siehe Abbildung 3)

Die gestörte Hautbarriere und ablaufenden Entzündungsprozesse führen häufig zur Sensibilisierung der Betroffenen durch Umweltallergene über Hautkontakt (Jin et al., 2009). Diese wiederum können die ablaufenden Entzündungsprozesse und die Juckreizsymptomatik weiter verstärken.

Seit den 60er Jahren des letzten Jahrhunderts wird in den industrialisierten Ländern eine steigende Prävalenz allergischer und entzündlicher Erkrankungen beobachtet. Während lange Zeit die sogenannte Hygienehypothese als Erklärung für diesen Anstieg herangezogen wurde, lassen sich viele Phänomene nur unzureichend durch diese erklären (Renz und Skevaki, 2021). Ein Beispiel ist die steigende Prävalenz auch in Weltregionen mit geringeren Hygienestandards (Wong et al., 2013). Ein mehrdimensionaler Erklärungsansatz wird im Rahmen der epithelialen Barrierehypothese diskutiert (Akdis, 2021). Diese berücksichtigt zur Erklärung steigender Prävalenzen die Bedeutung erhöhter Expositionen gegenüber Auslösern und Umweltschadstoffen (wie Dieselpartikel oder Mikroplastik) bei beeinträchtigter Hautbarriere. Zur Expositionsminderung werden neben der Vermeidung der Schadstoffe die Regulierung der Expositionsmengen oder die Verwendung von Ersatzstoffen vorgeschlagen.

Die epidermale Barrierestörung wechselwirkt direkt mit dem Hautmikrobiom. So bildet einerseits die gestörte Hautbarriere die Grundlage für mikrobielle Dysbalance zugunsten von *S. aureus*. Andererseits trägt *S. aureus* selbst zu einer Verschlechterung der Barrierefunktion bei. (Nakamura et al., 2013)

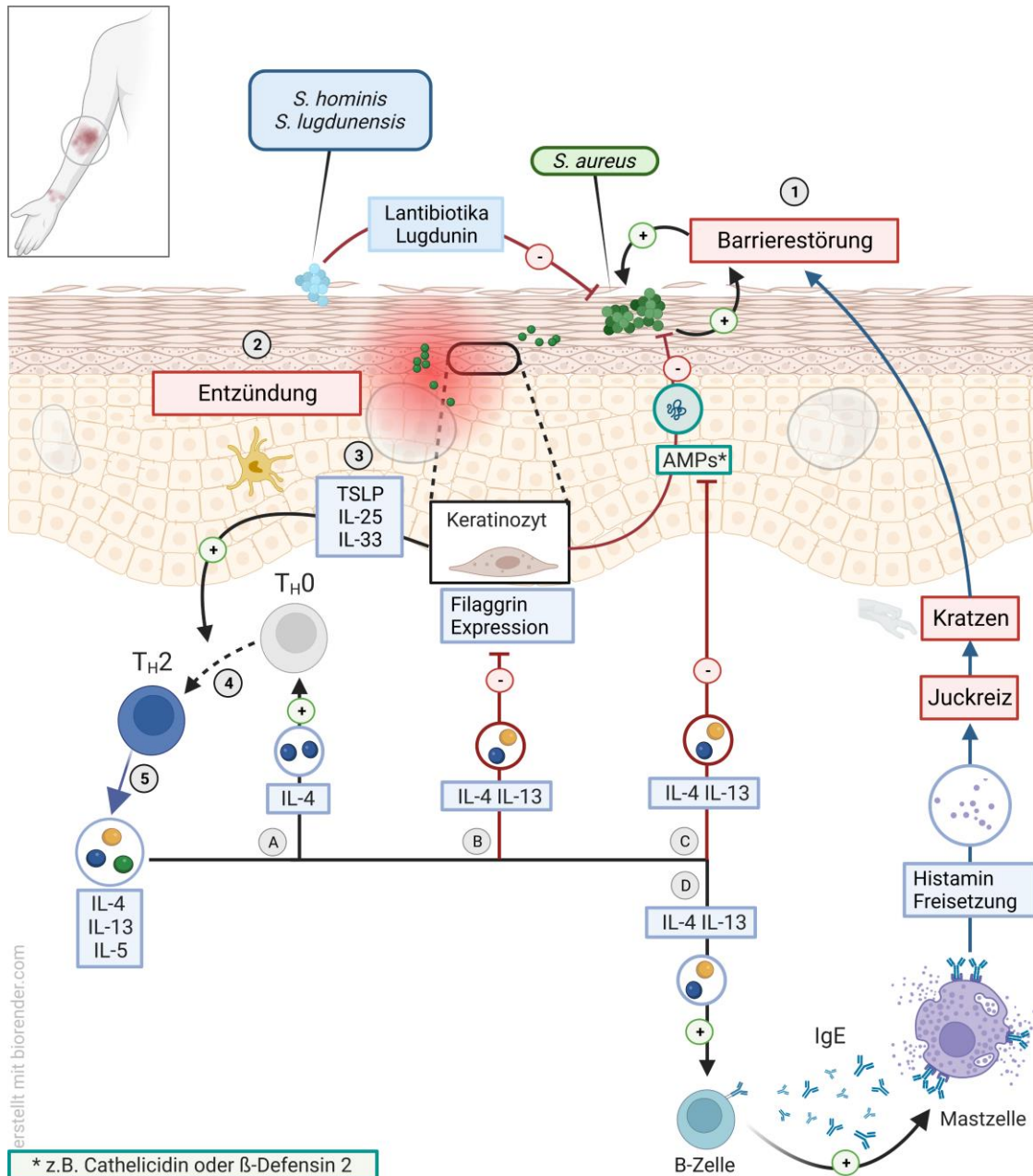


Abbildung 3 Wechselwirkungen des Hautmikrobioms und der T_H2-Immunität bei atopischer Dermatitis. (1) Die genetisch bedingte Barriereerstörung der Haut fördert das Wachstum des Bakteriums *S. aureus*, das seinerseits zur Schädigung der Hautbarriere und zu entzündlichen Prozessen der Haut beiträgt. (2;3) Entzündliche Prozesse stimulieren die Expression von TSLP, IL-25 und IL-33 in Keratinozyten. (4) Unter anderem diese Zytokine induzieren die Differenzierung naiver T-Helferzellen (T_H0-Zellen) in T-Helferzellen vom Typ 2 (T_H2-Zellen). (5) T_H2-Zellen exprimieren die proinflammatorischen Zytokine IL-4, IL-5 und IL-13. (A) IL-4 fördert in einem sich selbst verstärkenden Kreislauf die Differenzierung weiterer naiver T_H0-Zellen. (B) IL-4 und IL-13 hemmen die Expression des Zellmatrixproteins Filaggrin. Dies führt zu einer weiteren Verschlechterung der Barriereeigenschaften der Haut. (C) IL-4 und IL-13 hemmen die Sekretion antimikrobieller Peptide (AMPs) wie Cathelicidin und β -Defensin 2 und fördern so die Überwucherung mit *S. aureus*. (D) IL-4 induziert die Differenzierung von B-Zellen und regt diese zur Produktion von Immunglobulinen des Typs E (IgE) an. Diese lösen wiederum durch Bindung an Mastzellen die Degranulation und Histaminfreisetzung aus. Histamin wirkt proinflammatorisch und induziert Juckreiz. Kratzen ist die Folge des Juckreizes. Die mechanische Irritation der Hautbarriere treibt die Entzündung und Barriereerstörung weiter voran.

Grafik erstellt von RR in Biorender.com

1.2 Das Hautmikrobiom

1.2.1 Allgemeines

Das menschliche Hautmikrobiom umfasst ein Ökosystem aus einer Vielzahl von Pilzen, Bakterien und Viren. Es bildet zusammen mit der Haut eine wesentliche, vielschichtige Barriere- und Grenzschicht zu unserer Umwelt. (Harris-Tryon und Grice, 2022). Dabei hindert es pathogene Mikroorganismen an der Besiedlung und fördert Toleranz und Gleichgewicht des Immunsystems (Belkaid und Segre, 2014). Weiterhin führt die Herstellung von Stoffwechselprodukten durch Kommensalen zu einem spezifischen Hautmilieu (Grice und Segre, 2011). In Folge einer gestörten Barrierefunktion und eines veränderten Hautmilieus kommt es zu mikrobieller Dysbalance und Fehlbesiedlungen, sowie zur Entwicklung von Hauterkrankungen oder Infektionen (Plewig et al., 2017, Alexander et al., 2020). Seit langem wird durch Ärzte und Ärztinnen, bei gestörter Hautbarriere eine vermehrte Anfälligkeit von Patienten und Patientinnen gegenüber viralen und bakteriellen Hautinfektionen beobachtet (Ring et al. 2012, Braun Falco Dermatologie). Prominente Beispiele bilden das Eczema hepeticatum durch Herpesviren oder die Impetigo bei bakterieller Superinfektion des atopischen Ekzems.

Die Kolonisation unserer Haut durch Bakterien beginnt mit der Geburt. So konnten Unterschiede im Mikrobiom von Neugeborenen in Abhängigkeit des Geburtsvorgangs beobachtet werden. Im Rahmen natürlicher Geburten erfolgt die Übertragung der mütterlichen Vaginalflora auf das Neugeborene. Für Kinder die durch Kaiserschnitt auf die Welt kommen wurde gezeigt, dass das Hautmikrobiom dem der Mutter ähnelt (Mueller et al., 2015). Der Einfluss dieser Unterschiede auf die Hautgesundheit des Kindes bleibt allerdings umstritten. Zwar konnte für einige Studien eine Assoziation von sectio cesarea und höheren Raten von atopischen Erkrankungen zeigen. Für andere Metaanalysen konnte dieser Zusammenhang bei der AD jedoch nicht bestätigt werden (Mubanga et al., 2023, Bager et al., 2008, McCauley et al., 2022).

Während der Kindheit prägt vor allem das familiäre Umfeld das Hautmikrobiom (Abeles et al., 2016). Im Rahmen pubertärer, hormoneller Veränderung verändert sich auch die Mikroumgebung der Haut. Folglich sind auch Veränderungen der bakteriellen Zusammensetzung des Hautmikrobioms beobachtbar (Park et al., 2022). So nimmt mit der hormonell-gesteigerten Sebumproduktion auch die Expansion fettliebender Bakterien (z.B. *C. acnes*) und Pilze (z.B. *Mallassezia*), in Sebum-reichen Hautarealen, zu (Park et al., 2022, Oh et al., 2012). Welche hautphysiologischen Veränderungen während der Pubertät zu einer Remission der AD führen, bedarf jedoch weiterer Forschung.

Im Laufe der letzten Jahre wurde zunehmend die Bedeutung des Mikromilieus für das Hautmikrobiom deutlich. So werden anhand der physiologischen Eigenschaften fettige, feuchte und trockene Hautareale unterschieden (Grice und Segre, 2011). Kommensalen der Haut haben eine Vielzahl von Mechanismen entwickelt, um das Überleben unter nährstoffarmen und unwirtlichen Bedingungen zu ermöglichen. Propionibakterien (v.a. *Cutibacterium acnes*) sind auf die Talgproduktion des Wirtes angewiesen und treten besonders in Sebum-reichen Arealen der Haut auf (Mukherjee et al., 2016). Staphylokokken besitzen hingegen eine Salztoleranz. Dies ermöglicht ihnen das Überleben in schweißfeuchten Arealen (Scharschmidt und Fischbach, 2013). Beim Befall feuchter Hautareale in den Arm- und Kniebeugen (den s.g. Prädilektionsstellen der AD) kommt diese zu tragen (Kong et al., 2012).

Staphylokokkus epidermidis und *Cutibacterium acnes* sind nur zwei Spezies einer Vielzahl auf der Haut lebender Kommensalen (Oh et al., 2014). Die Interaktion innerhalb der Bakterien des Hautmikrobioms ist komplex. So wurden für antimikrobielle Substanzen, Koagulase-negativer Staphylokokken (KNS), wachstumshemmende Effekte auf den pathogenen Hautkeim *S. aureus* bereits mehrfach beschrieben (Iwase et al., 2010, Zipperer et al., 2016). Dabei ist auch das Zusammenspiel mit körpereigenen AMPs für die mikrobielle Balance wichtig. Ein Versagen dieser Mechanismen wird mit mikrobieller Dysbalance und Überwucherung durch *S. aureus* bei der AD assoziiert (Nakatsuji et al., 2017).

1.2.2 Rolle des Hautmikrobioms bei atopischer Dermatitis

Die Assoziation von AD und mikrobieller Dysbalance ist bereits seit über 50 Jahren bekannt (Aly et al., 1977). So konnte im Hautmikrobiom von Patientinnen und Patienten mit AD in 90% der Fälle *S. aureus* nachgewiesen werden (Leyden et al., 1974, Totté et al., 2016). Im Kontrast dazu zeigen Hautgesunde ein diverses Mikrobiom mit einer größeren Präsenz Koagulase-negativer Staphylokokken wie *S. epidermidis*. oder *S. hominis* (Higaki et al., 1999). Bei Kindern geht eine verstärkte Hautbesiedlung mit *S. aureus* mit ausgeprägteren Schüben der AD einher (Kong et al., 2012). Außerdem korrelieren Ausprägung der Kolonisation mit *S. aureus* und Schweregrad der atopischen Dermatitis in Kindern und Erwachsenen (Kong et al., 2012, Chng et al., 2016, Rauer et al., 2023). Bei einer heterogenen Besiedlung mit Kommensalen wie *Staphylokokkus epidermidis* beobachtet man hingegen ein weniger schweres Krankheitsbild (Byrd et al., 2018). Eine wichtige Rolle spielt dabei das „quorum sensing“ durch KNS. Beispielsweise konnte für *S. hominis* ein Haut-protektiver Effekt durch selbstinduzierende Peptide und ihre hemmende Wirkung auf *S. aureus* nachgewiesen werden (Williams et al., 2019).

Die Nutzung dieser hemmenden Eigenschaften erfolgt bereits im Rahmen translationaler Hautmikrobiom-Transplantationsansätze (Nakatsuji et al., 2021).

Bei Filaggrin-Mutationen wurde bereits eine Korrelation zu verminderter mikrobieller Diversität beschrieben (Clausen et al., 2018). Dieser Diversitätsverlust geht Hand in Hand mit einem vermehrten Wachstum von *S. aureus* (Kong et al., 2012).

Die pathophysiologische Bedeutung des Bakteriums *S. aureus* im Netzwerk der AD bleibt nichtdestotrotz unvollständig verstanden. *S. aureus* selbst kann Virulenzfaktoren und Superantigene exprimieren die zu einer Exazerbation der AD durch Entzündung und Verschlechterung der Barrierefunktion beitragen (Miajlovic et al., 2010, Spaulding et al., 2013, Nakamura et al., 2013, Lai et al., 2010). Bei Neugeborenen konnte bereits vor der Entwicklung eines atopischen Ekzems eine Besiedlung mit *S. aureus* nachgewiesen werden (Meylan et al., 2017). Andererseits geht eine Verbesserung des Hautzustandes durch therapeutische Intervention auch mit einer Reduktion der *S. aureus* Besiedlung einher (Khadka et al., 2021). Ob *S. aureus* selbst eine pathophysiologische Schlüsselrolle im Rahmen der AD spielt oder eher als Marker des Hautzustandes zu werten ist bleibt Gegenstand aktueller Diskussion (Bieber, 2020).

1.2.3 Untersuchung des Hautmikrobioms durch 16S rRNA-Sequenzierung

Ursprünglich wurden Hautabstriche kultiviert und anschließend untersucht. Bereits mit dieser Methode erkannte man eine erhöhte Kolonisierung von AD-Erkrankten mit *S. aureus* (Leyden et al., 1974). Die Problematik dieses Vorgehens liegt jedoch in der Selektion bestimmter Mikroorganismen durch künstliche Wachstumsbedingungen (Kong und Segre, 2012). Durch den Einsatz moderner Sequenzierungsmethoden wird die Selektionsverzerrung durch die Kultivierung umgangen. Zur Bestimmung der Taxonomie im bakteriellen Hautmikrobiom wird die Analyse der genetisch konservierten 16S-Region bakterieller, ribosomaler Ribonukleinsäure (rRNA) durchgeführt (Woese und Fox, 1977).

Im Laufe der Zeit hat sich die Sequenziertechnologie stetig verbessert, so dass inzwischen ausgewählte Regionen innerhalb der prokaryotischen 16S rRNA ausreichen, um eine Unterscheidung der bakteriellen Spezies vorzunehmen. Dieses Verfahren wird Amplicon-basierte Mikrobiomanalyse genannt (Meisel et al., 2016, Castelino et al., 2017). Die Unterscheidung der Spezies besitzt im Kontext der AD besondere Bedeutung, da es innerhalb der Familie der Staphylokokken starke Unterschiede bezüglich des Einflusses auf die Erkrankung gibt (Higaki et al., 1999). Tatsächlich ist die zweifelsfreie Unterscheidung verschiedener Staphylokokken-Spezies weiterhin schwierig, jedoch von großer Relevanz, und konnte durch die Entwicklung des Algorithmus AnnotIEM verbessert werden (Bhattacharyya M, 2019).

Mit zunehmender Sequenzier- und Rechenkapazität der letzten Jahre hat die sogenannte „metagenomische Shotgun-Analyse“ an Bedeutung gewonnen. Hierbei wird die gesamte DNA eines Hautabstriches analysiert. Wesentliche Vorteile sind die holistische Erfassung des Ökosystems Hautmikrobiom, inklusive der Pilze, sowie die Möglichkeit der Differenzierung von Stämmen innerhalb einer Spezies (Brooks et al., 2015).

Wie wichtig die getrennte Betrachtung verschiedener Stämme innerhalb einer Spezies ist, wurde in den letzten Jahren am Beispiel der Rolle des *C. acnes* im Kontext der *Acne vulgaris* deutlich. (Fitz-Gibbon et al., 2013) Auch *S. aureus* weist starke genetische Unterschiede bezüglich AD-relevanter Pathogenitätsfaktoren auf. (Howden et al., 2023)

Untersuchungen unserer Gruppe zum Exposom und der Zusammensetzung des Hautmikrobioms konnten bedeutende inter- und intraindividuelle Unterschiede zeigen. So unterschied sich die Zusammensetzung der Staphylokokkenspezies bedeutend zwischen läsionalen und gesunden Hautarealen und zwischen verschiedenen Individuen. (Altunbulakli et al., 2018, Rauer et al., 2023).

1.3 Therapie der atopischen Dermatitis

Das atopische Ekzem besteht meist über mehrere Jahre hinweg. Hauptziele der Therapie sind Remissionsinduktion und Erhalt. Die Heterogenität der Erkrankung erfordert ein differenziertes, individualisiertes Therapieregime. Angriffspunkte bilden die pathophysiologischen Grundpfeiler der Erkrankung.

Die Basistherapie umfasst die Stärkung der Hautbarriere und die verbesserte Hydratation der Haut, sowie die Meidung von Auslösern, Provokations- und Triggerfaktoren. (Wollenberg et al., 2018).

Provokationsfaktoren von Schüben werden in spezifisch und unspezifisch unterschieden (Yepes-Nuñez et al., 2023). Unspezifische Faktoren umfassen Umweltfaktoren physischer, chemischer oder biologischer Natur. Beispiele sind Temperaturwechsel, emotionaler Stress, Chemikalien, Kleidung oder Mikroben, sowie Luftverschmutzung z.B. durch Dieselpartikel oder Tabakrauch (Hidaka et al., 2017, Kathuria und Silverberg, 2016, Akdis, 2021). Spezifische Provokationsfaktoren beinhalten Aeroallergene wie die der Hausstaubmilbe oder Gräserpollen und Nahrungsmittel bei Sensibilisierungen (Takai und Ikeda, 2011, Werfel et al., 2015). Eine Meidung dieser Provokationsfaktoren ist unterschiedlich gut umsetzbar und praktikabel. Edukative Maßnahmen zur Allergenmeidung und die Vermittlung von Coping Strategien sollten außerdem erfolgen.

Lokal applizierte, Barriere-wiederherstellende, hydratisierende Basistherapeutika sind die Grundpfeiler jeder AD-Therapie. Hydratisierend-okkludierende Externa ohne Wirkstoffkomponente werden als Emollienzien oder Linderungsmittel bezeichnet. Ihre Verwendung bei AD ist als präventive, tägliche Therapie unabkömmlich. Bei täglicher Verwendung konnte eine Verbesserung des SCORAD, sowie Steroid-sparende Wirkung gezeigt werden (Grimalt et al., 2007). Basistherapeutika müssen über lange Zeiträume, in großen Mengen verwendet werden und werden von den deutschen, gesetzlichen Krankenkassen nicht erstattet. Sie können deshalb für die Betroffenen eine erhebliche finanzielle Belastung darstellen (Wollenberg et al., 2018).

Treten entzündliche Schübe auf, wird eine lokal-antientzündliche Therapie erforderlich. Im speziellen werden an den betroffenen Stellen moderne, topische Corticosteroide der Klasse II und III sowie topische Calcineurininhibitoren eingesetzt (Wollenberg et al., 2018). Im Rahmen der proaktiven Therapie wird die Behandlung der Problemareale mit topisch anti-inflammatorischen Substanzen nach dem Schub intermittierend fortgesetzt (Frølund et al., 2021).

Während die meisten Patientinnen und Patienten milde betroffen sind, leiden ca. 10% unter schweren Ausprägungen (Augustin et al., 2015). Der prozentuale Anteil schwer betroffener nimmt dabei im Erwachsenenalter zu (Barbarot et al., 2018). Während bei den meisten Betroffenen Lokalthherapeutika ein ausreichendes Ansprechen zeigen, reichen Basistherapeutische und lokal anti-entzündliche Therapeutika alleine bei schweren Verläufen Therapien nicht mehr aus. Um klare Richtlinien für die Entscheidung zur Induktion einer systemtherapeutischen Intervention zu etablieren erfolgte durch den europäischen Expertenrat die Aussprache von konkreten Handlungsempfehlungen (Simpson et al., 2017). Diese Empfehlungen finden sich inzwischen in den aktualisierten Therapieleitlinien zur Systemtherapie bei atopischer Dermatitis (Wollenberg et al., 2022).

Während lange Zeit unselektiv-immunsuppressive Therapien die einzige Therapieeskalationsmöglichkeit bildeten, stehen inzwischen verstärkt moderne, selektiv immunmodulierende Systemtherapeutika zur Verfügung. So sind neben dem IL4-Rezeptor- α -spezifischen monoklonalen Antikörper Dupilumab (European Medicines Agency, 2017), der IL-13 selektive Antikörper Tralokinumab (Wollenberg et al., 2021) sowie verschiedene Janus-Kinase (JAK)-Inhibitoren zur Therapie der AD zugelassen (Bieber et al., 2022, Reich et al., 2022, Guttman-Yassky et al., 2021). Die spezifischen monoklonalen Antikörpertherapien werden zweiwöchentlich subkutan appliziert und hemmen die Wirkung der entsprechenden T_H2 -Zytokine. Janus-Kinase Inhibitoren (JAKis) werden täglich peroral (p.o.) verabreicht und hemmen die JAK 1 (Abro-/Upadacitinib) oder JAK 1 & 2 (Baricitinib) im JAK-Stat-Signalweg (Traidl et al., 2021).

Diese selektive, reversible Hemmung führt zu einer Modulation der T_H2-Zytokinexpression. (Chovatiya und Paller, 2021, Shuai und Liu, 2003)

Bei häufig guter Wirksamkeit, sind Rückfälle beim Absetzen, sowie hohe Therapiekosten weiterhin wichtige Problempunkte (Zimmermann et al., 2018). So profitieren viele, jedoch nicht alle Betroffenen mit moderat bis schwerer atopischer Dermatitis von einer Therapie mit dem Biologikum Dupilumab (Cork et al., 2020). Die Identifikation von prädiktiven Faktoren für das nicht-Ansprechen ist dabei Gegenstand aktueller Forschung (Wu et al., 2022). Häufige Nebenwirkungen wie die bilaterale Konjunktivitis durch Dupilumab sind medikamentös zwar gut beherrschbar, treten jedoch häufig auf (bis zu 25% der Behandelten) (Akinlade et al., 2019). Für JAK-Inhibitoren wurden bei breiter Wirksamkeit aufgrund möglicher kardiovaskulärer und maligne-neoplastischer Ereignisse starke Indikationseinschränkungen in Europa ausgesprochen. Somit bleibt Ihre Nutzung möglich, jedoch eingeschränkt (BfArM, 2023).

Die Entwicklung alternativer Therapiemethoden wird deshalb weiterverfolgt. Ziele sind unter anderem die Kontrolle der mikrobiellen Dysbalance und Vermeidung von Hautinfektionen. So wurden seit 2016 erste Mikrobiomtransplantationen vorgenommen, bei denen Kulturen gesunder Spender auf die Haut von Menschen mit AD übertragen wurden. (Myles et al., 2016, Myles et al., 2018, Nakatsuji et al., 2021) Die Effektivität dieser Therapie konnte in kleineren Studien demonstriert werden, muss sich jedoch im Rahmen größerer Studien noch beweisen.

1.4 Hypothesen und Ziele

Das Mikrobiom der Haut ist vielfältigen Einflüssen ausgesetzt. Es ist bekannt, dass Umwelteinflüsse, die Hautflora von Bezugspersonen und Eltern, aber auch intrinsische Faktoren wie genetische Veranlagung, immunologische Prozesse und der Haut-pH modulierend auf die mikrobielle Zusammensetzung der Hautflora wirken. (Clausen et al., 2018, Eyerich et al., 2018, Kathuria und Silverberg, 2016, Rauer et al., 2023, Hülpüsch et al., 2020, Bonness et al., 2008). Für die Betrachtung der Gesamtheit dieser Faktoren wurde zuletzt das Modell des Holobioms der Haut vorgeschlagen (Burger und Gallo, 2023). Ziel dieses Modells ist die ganzheitliche Erfassung der verschiedenen Einflussfaktoren im Ökosystem Haut.

Die mikrobielle Dysbalance bei AD Betroffenen und die läsionale Überwucherung des Hautmikrobioms mit *S. aureus* sind in der Literatur bereits seit langem beschrieben (Leyden et al., 1974, Altunbulakli et al., 2018). Während einige Betroffene ein vermehrtes Wachstum von *S. aureus* in den betroffenen Hautarealen aufweisen, ist das Bakterium bei anderen Betroffenen und in nicht-läsionellen Arealen weniger oder gar nicht nachweisbar. Die pathophysiologische Bedeutung der mikrobiellen Dysbalance und des Bakteriums *S. aureus* im Rahmen der AD bleibt somit ungeklärt. Die Untersuchung des Einflusses verschiedener Therapien erlaubt die Erforschung der Wirt-Mikrobiom-Interaktionen und der ihnen zu grundlegenden Prozesse.

Der direkte Einfluss von Lokalthérapeutika auf das Hautmikrobiom wird kontrovers diskutiert. Bei der Lokaltherapie der atopischen Dermatitis werden verschiedene Wirkmechanismen unterschieden. Während in der europäischen Schule der Dermatologie lokal applizierte Antibiotika keinen wesentlichen Stellenwert mehr in der Therapie der AD einnehmen, werden lokal applizierte Antiseptika oder Emollientien häufig eingesetzt (Wollenberg et al., 2018) Der Einfluss von Antibiotika und Antiseptika auf die bakterielle Hautflora ist belegt (Jo et al., 2021, SanMiguel et al., 2018). Der Einfluss von Emollientien auf das Hautmikrobiom wird jedoch in verschiedenen Studien weiter untersucht. Zuletzt konnte in einer kleinen Studie gezeigt werden, dass die frühzeitige Anwendung von Emollientien nicht zu einer erhöhten Diversität oder einem ausgeglicheneren Hautmikrobiom führt (Harder et al., 2023).

Wichtige Säulen der Lokaltherapie der atopischen Dermatitis sind entzündungshemmende Substanzen wie Corticosteroide und Calcineurininhibitoren. Einige kleinere Studien konnten einen positiven Effekt der lokalen anti-inflammatorischen Therapie auf das Hautmikrobiom nachweisen (Stalder et al., 1994, Khadka et al., 2021) Andere Studien konnten diesen Effekt hingegen nicht bestätigen.

(Gong et al., 2006, Olesen et al., 2021) Die Diskrepanz dieser Ergebnisse wirft unweigerlich die Frage auf, ob das Mikrobiom als pathogenetischer Faktor oder eher als Marker der Hautbarriere zu verstehen ist. Die Beantwortung dieser Frage kann nur durch die weitere Beschreibung der Wirkung von Lokalthérapeutika auf das Hautmikrobiom an größeren Probandenkollektiven erfolgen.

Durch den stattfindenden Paradigmenwechsel in der Systemtherapie der atopischen Dermatitis gewinnt diese zunehmend an Bedeutung (Werfel et al., 2021, Bieber, 2022). Systemtherapeutische Effekte auf das Hautmikrobiom wurden bisher nur vereinzelt beschrieben. Eine Modulation des Immunsystems durch Dupilumab und damit die medikamentös selektive Hemmung von IL4-R- α führte bei Kindern mit AD zu einer Reduktion der Prävalenz von Hautinfektionen (Paller et al., 2022). Darüber hinaus konnte bereits durch eine kurzzeitige systemische Therapie mit Dupilumab eine Reduktion von *S. aureus* und ein vermehrtes Wachstum des kommensalen KNS nachgewiesen werden (Callewaert et al., 2020). Die Ergebnisse dieser Studien beziehen sich jedoch auf kleine Kollektive über einen kurzen Untersuchungs- bzw. Nachbeobachtungszeitraum. Es bleibt unklar, ob die Wiederherstellung des Hautmikrobioms Ursache oder Folge der wiederhergestellten Hautbarriere ist. Weiterhin gilt es, die immunologischen Mechanismen, die diesen Veränderungen zugrunde liegen, genauer einzugrenzen und ihre spezifische Wirkung auf das Hautmikrobiom zu beschreiben.

Der Einfluss lokaler und systemischer immunmodulatorischer Therapien auf das Hautmikrobiom bedarf intensiver Forschung. Die Beobachtung der medikamentös-mikrobiellen Interaktion und die Suche nach zugrundeliegenden Mechanismen ist daher Gegenstand dieser Dissertation.

Ziel der Dissertation ist es, den Einfluss lokaler und systemischer Therapien auf das Hautmikrobiom von Menschen mit atopischer Dermatitis zu untersuchen. Dazu wurden folgende Hypothesen aufgestellt:

1. Der Schweregrad der atopischen Dermatitis korreliert mit der relativen Häufigkeit von *S. aureus* und resultiert in einer Reduktion der mikrobiellen Diversität.

Um die Stärke eines möglichen Zusammenhangs in der untersuchten Kohorte (n=462) darzustellen, werden der Hautzustand (abgebildet durch SCORAD), das Alter und das Geschlecht der Probanden jeweils mit der relativen Häufigkeit von *S. aureus* in den Abstrichproben mittels linearer Regressionsanalyse korreliert. Die Metadaten zum Hautzustand, repräsentiert durch den SCORAD der Probanden, werden im Rahmen der Studienvisite durch das Studienpersonal standardisiert erhoben. Stichproben des

Hautmikrobioms der Probanden werden durch Trockenhautabstrichanalyse mittels Amplicon-basierter 16S rRNA Sequenzierung analysiert und mit Hilfe des Lehrstuhleigenen Algorithmus (AnnotIEM) annotiert. Abschließend erfolgt die bioinformatische Auswertung mittels der am Lehrstuhl entwickelten Software (MicroBIEM) und einer linearen Regressionsanalyse der relativen Häufigkeit von *S. aureus* und SCORAD.

2. Die Therapie mit Lokalthérapeutika resultiert in der Wiederherstellung der mikrobiellen Diversität und einer Reduktion der relativen Häufigkeit von *S. aureus*.

Die Wirkung topischer antiinflammatorischer Substanzen auf das Hautmikrobiom wird durch Einteilung der Probanden in Therapiestufen untersucht. Ausschlaggebend für diese Einteilung sind die zum Zeitpunkt der Studienvisite angegebenen Therapien. Patienten unter antiinflammatorischer Lokalthérapie werden in Stufe 2 und 3 berücksichtigt. Das Hautmikrobiom der Probanden wird im Vergleich zu Hautabstrichen von Probanden mit gleichem Schweregrad, aber unterschiedlicher Therapiestufe untersucht. Die mikrobielle Diversität der Abstrichproben wird methodisch analog zur ersten Hypothese analysiert und durch verschiedene Parameter wie Richness, Evenness und Shannon Diversitätsindex dargestellt. Die abschließende statistische Auswertung erfolgt im direkten Vergleich der einzelnen Therapiestufen.

3. Die Therapie mit Systemtherapeutika resultiert in der Wiederherstellung der mikrobiellen Diversität und einer Reduktion der relativen Häufigkeit von *S. aureus*.

Der Effekt systemischer Therapien auf das Hautmikrobiom wird anhand der Taxonomie, Diversität und relativen Häufigkeit von *S. aureus* in Therapiestufe 4 untersucht. Dazu werden Hautabstriche von systemisch therapierten Probanden mit Hautabstrichen der übrigen Probanden analog zu Hypothese 1 und 2 analysiert und statistisch verglichen. Zusätzlich wird in einem kleinen Kollektiv die Korrelation verschiedener Wirkstoffe mit der relativen Häufigkeit von *S. aureus* verglichen.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Geräte

Gerät	Hersteller
Zentrifuge 5417R	Eppendorf SE, Hamburg, Deutschland
Zentrifuge 5804R	Eppendorf SE, Hamburg, Deutschland
Gel i10 Imager	Intas, Göttingen, Deutschland
Illumina Mi Seq® Plattform	Illumina Inc., San Diego, USA
LG Gefrierschrank -20°C	Liebherr, Bulle, Schweiz
Magnetrührer	Heidolph, Sulzemoos, Deutschland
Mikrowelle	Severin, Sundern, Deutschland
Minitron Inkubationsschüttler	Infors AG, Bottmingen, Switzerland
PCR Thermocycler Biometra TADvanced	Analytik-Jena AG, Jena, Deutschland
PowerPac™ Basic Netzteil Gelelektrophorese	Bio-RaD, Wessling-Berzdord, Deutschland
QUINTIX 3102-1S Waage	Sartorius, Germantown, USA
SW22 Wasserbad	Julabo, Hamburg, Deutschland
Systec DX-65 (Autoklav)	Systec, Wessling-Berzdord, Deutschland

2.1.2 Software

Software	Hersteller
GraphPad Prism 9.5.0	GraphPad Software, Inc., San Diego, Kalifornien, USA
Microsoft Office 365 (Excel, Word, PowerPoint)	Microsoft Coop., Redmont, USA
microBIEM v0.7	Umweltmedizin, Universität Augsburg, Deutschland
Illumina Sequenzen Analysis Viewer (SAV) v 2.4.5	Illumina Inc., San Diego, USA
Illumina Software MiSeq® Reporter (MSR) v 2.5.1.3	Illumina Inc., San Diego, US
R Studio Version 2022.12.0+353	
Biorender.com	Biorender.com

2.2 Studienpopulation

2.2.1 ProRaD

Die Teilnehmendenkohorte wurde im Rahmen der **Progressiven** Längsschnittstudie zur Untersuchung der **Remissionsphase** bei Patienten und Patientinnen mit **atopischer Dermatitis (ProRaD)** rekrutiert. Die ProRaD ist eine multizentrische Kohortenstudie. Sie wurde im März 2016 begonnen (Bieber et al., 2020) Link: <https://ck-care.ch/studien/pro-rad-studie/>. Ziele der Studie beinhalten die Erfassung von Teilnehmenden mit atopischer Dermatitis und anderen Erkrankungen des atopischen Formenkreises. Außerdem sollen Biomarker identifiziert werden mit deren Hilfe sich der Verlauf und das Auftreten von Hauterkrankung vorhersagen lässt. Langfristig soll ein tieferes Verständnis für die Remissionsmechanismen bei chronisch entzündlichen Hauterkrankungen gewonnen werden. Teilnehmende mit atopischer Dermatitis und assoziierten Erkrankungen werden zu diesem Zwecke regelmäßig untersucht. Im Rahmen der Studienvsiten wurden mit ausdrücklichem Einverständnis der Teilnehmenden Bioproben entnommen. Diese umfassten unter anderem Trockenhautabstriche des Hautmikrobioms läsionaler und nicht-läsionaler Körperstellen. Läsionale Proben wurden bevorzugt an den Prädilektionsstellen (z.B. Ellen- und Kniebeugen) abgestrichen. (Siehe Appendix V)

Die Erhebung von Personendaten und sozioökonomischer Einflüsse erfolgt im Gespräch mit dem Prüfarzt oder der Prüfarztin unter Verwendung standardisierter Fragebögen.

ProRaD wird durch die schweizerische Kühne-Stiftung finanziert. In Deutschland ist neben dem Lehrstuhl und der Hochschulambulanz für Umweltmedizin des Universitätsklinikums Augsburg, die dermatologische Klinik des Universitätsklinikums Bonn beteiligt.

2.2.2 Studienaufbau und Teilnehmende

Untersucht wurden Teilnehmende mit klinisch gesicherter AD von milder bis zu schwerer Ausprägung, sowie Teilnehmende mit weiteren atopischen Erkrankungen. Voraussetzung für die Teilnahme war zudem die schriftliche Einwilligung. Es gab keine Altersbegrenzung. Es wurden außerdem gesunde Kontrollen eingeschlossen.

Jeder Teilnehmende der Studie durchläuft einen Beobachtungszeitraum von fünf Jahren. Dabei werden im ersten Jahr drei und anschließend jährliche Visiten durchgeführt.

Die im Rahmen der Dissertation untersuchten Proben umfassten lediglich Trockenhautabstriche, welche zum Zeitpunkt „t0“, also zum Einschlusszeitpunkt in die

Studie, entnommen wurden. Die untersuchten Teilnehmenden entstammen den Standorten in Augsburg und Bonn.

2.2.3 Körperliche Untersuchung und Erhebung des Hautzustandes

Im Rahmen der Studienvsiten wurden die Teilnehmenden vollständig körperlich untersucht. Die standardisierte und objektivierte Erhebung des Hautzustandes erfolgte mittels Severity Score of Atopic Dermatitis (SCORAD) und Eczema Area and Severity Index (EASI). Beide erlauben validierte Aussagen zu Intensität und Ausmaß der atopischen Hauterkrankung. Wegen seiner Relevanz bei der Festlegung der Therapiestufen entsprechend der aktuellen europäischen Leitlinie wurde lediglich der SCORAD im weiteren Verlauf als Parameter für den Schweregrad der AD verwendet.

SCORAD: Score of the European Task Force on Atopic Dermatitis																
Atopische Dermatitis wurde vom Untersuchungsarzt diagnostiziert (durch die Begutachtung der fünf vorgeschriebenen Körperstellen)	<input type="checkbox"/> nein Falls ja, bitte den restlichen SCORAD-Bogen ausfüllen! <input type="checkbox"/> ja															
A Ausdehnung der befallenen Körperoberfläche																
Bitte die läSIONALen Stellen in der Grafik unten markieren und die FlächenproZente in die jeweiligen Felder eintragen																
Vorne Gesicht <input type="text"/> . <input type="text"/> Rumpf <input type="text"/> . <input type="text"/> Genitalbereich <input type="text"/> . <input type="text"/> rechts links Arm <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> Hand <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> Bein <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/>	Hinten Kopf <input type="text"/> . <input type="text"/> Rumpf <input type="text"/> . <input type="text"/> Genitalbereich <input type="text"/> . <input type="text"/> rechts links Arm <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> Hand <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> Bein <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/>															
Gesamtfläche zur Kontrolle eintragen																
Befallene Gesamtfläche: vorne <input type="text"/> . <input type="text"/>	Befallene Gesamtfläche: hinten <input type="text"/> . <input type="text"/>															
B Intensitäts-Merkmale		C Subjektive Symptome Bitte Wert zwischen 0 und 10 eintragen Juckreiz <input type="text"/> <input type="text"/> Schlafverlust <input type="text"/> <input type="text"/> Gesamt SCORAD $A/5 + 7*B/2 + C =$ <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/>														
Beurteilung der Intensitäts-Merkmale	0=fehlend 2=mäßig 1=schwach 3=ausgeprägt															
	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 50%;">Kriterium</th> <th style="width: 50%;">Intensität</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Erythem</td> <td style="text-align: center;"><input type="text"/></td> </tr> <tr> <td>Ödeme/Papeln o. Infiltrationen</td> <td style="text-align: center;"><input type="text"/></td> </tr> <tr> <td>Nässen/Krusten</td> <td style="text-align: center;"><input type="text"/></td> </tr> <tr> <td>Exkoriationen</td> <td style="text-align: center;"><input type="text"/></td> </tr> <tr> <td>Lichenifikation</td> <td style="text-align: center;"><input type="text"/></td> </tr> <tr> <td>Trockenheit*</td> <td style="text-align: center;"><input type="text"/></td> </tr> </tbody> </table>		Kriterium	Intensität	Erythem	<input type="text"/>	Ödeme/Papeln o. Infiltrationen	<input type="text"/>	Nässen/Krusten	<input type="text"/>	Exkoriationen	<input type="text"/>	Lichenifikation	<input type="text"/>	Trockenheit*	<input type="text"/>
Kriterium	Intensität															
Erythem	<input type="text"/>															
Ödeme/Papeln o. Infiltrationen	<input type="text"/>															
Nässen/Krusten	<input type="text"/>															
Exkoriationen	<input type="text"/>															
Lichenifikation	<input type="text"/>															
Trockenheit*	<input type="text"/>															
<i>Trockenheit wird auf nicht befallener Haut beurteilt</i> NUR Zahlen zwischen 0 und 3 eintragen KEINE halben Zahlen! KEINE ca. / - Angaben! KEINE von - bis Angaben!																

Abbildung 4 Auszug aus dem Fieldwork der ProRaD-Studie zur Erhebung des Hautzustandes durch Scoring atopischer Dermatitis (SCORAD). Die Erhebung gliedert sich in 3 Teile: **A** Ausdehnung der betroffenen Körperoberfläche durch das atopische Ekzem; **B** Intensitätsmerkmale des atopischen Ekzems auf einer Skala von 1-3 für 6 Intensitätsmerkmale; **C** Subjektive Symptome der Betroffenen auf einer Skala von 0-10 innerhalb der letzten 3 Tage. A und B werden durch den beurteilenden Arzt/Ärztin erhoben, C wird im Gespräch mit dem Teilnehmenden erhoben.

2.2.4 Erhebung der Medikation und weiterer Daten

Während der Studienvisiten der ProRaD-Studie wurden Wirkstoffe, Dosierung, Applikationsart und Anwendungsdauer der Dauermedikation erfasst. Topisch-applizierte und systemische Kortikosteroide, sowie antimikrobielle Substanzen, welche in den letzten 7 Tagen verwendet wurden, wurden gesondert erfasst. Um äußere Einflüsse auf das Mikrobiom möglichst gering zu halten, wurden die Teilnehmenden am Tag der Studienvisite gebeten auf Körperwäsche und Externa zu verzichten.

2.2.5 Ethikvotum

Die Verarbeitung der im Rahmen von ProRaD erhobenen Daten zu wissenschaftlichen Zwecken sowie die Vereinbarkeit mit den geltenden gesetzlichen Rahmenbedingungen des Datenschutzes wurden durch das Ethikvotum der Technischen Universität München am 17.05.2017 Zeichen 112/16S TU München und Swiss-Ethics EK2016-00301 für die Standorte Augsburg, Bonn, Davos, St. Gallen und Zürich genehmigt.

2.3 Methodik

2.3.1 Hautmikrobiom-Abstrichgewinnung und Konservierung

Trockenhautabstriche wurden nach „standard operating procedure“ (SOP) gewonnen (Siehe Appendix V). Hierbei wurden trockene Hautabstrichtupfer in einem 2 cm² großen Hautareal über einen Zeitraum von 30 Sekunden unter Rotation inokuliert und anschließend in 500µl Stool DNA Stabilisator Lösung bei -80°C bis zur weiteren Verwendung konserviert. Die Methodik und Schritte orientierten sich dabei an der durch (Hülpüsch, 2021) etablierten Protokolle.

2.3.2 Isolation und Amplifikation der bakteriellen Erbinformation

Die Extraktion bakterieller Desoxyribonukleinsäure (DNS) wurde mit Hilfe des „QIamp UCP Pathogen Kits“ unter Befolgung der Herstellerangaben durchgeführt. Vom Protokoll abweichend wurden 650µl ATL und 4,3µl DX- Puffer zur Probe hinzugegeben. Der bakterielle Zellaufschluss wurde mittels „beat-beating“ mit 500 mg mit Silica beads für 2x über 90 Sekunden in der Precelly's Evolution durchgeführt. Im weiteren Verlauf wurde der Überstand nach Herstellerangaben verwendet. Abschließend extrahierte, bakterielle DNS wurde in 80µl Lösepuffer gelöst und zur weiteren Verwendung bei -20°C gelagert.

2.3.3 Vervielfältigung der variablen Regionen V1-V3

In Vorbereitung der Amplicon-Sequenzierung und Differenzierung der verschiedenen bakteriellen Spezies wurden die variablen Regionen V1-V3 (der 16S rRNA spezifisch durch 27F-YM Primer und 534R Primer mithilfe der Q5 High-fidelity Hotstart Polymerase

mit Verstärker nach Herstellerangaben vervielfältigt. Eine detaillierte Ausführung des Protokolls ist zu finden unter:

(<https://international.neb.com/protocols/2013/12/13/pcr-using-q5-high-fidelity-dna-polymerase-m0491>).

Die verwendeten Primer Sequenzen sind im Folgenden aufgeführt:

27F-YM (5' -AGAGTTTGATYMTGGCTCAG-3') -1,25µl (5µM) / Probe

534R (5' -ATTACCGCGGCTGCTGG-3') - 1,25µl (5µM) / Probe

Tabelle 1: Protokoll der Reagenzien und Zyklen des 1. Amplifikationsschrittes der variablen Regionen

Reagenz	Volumen in µl	Temperatur	Zeit
Q5 Puffer	5.00	98° C	1 min
Q5 Enhancer	5.00	98° C	10 sek
dNTPs	0.50	59° C	20 sek 25 Zyklen
Primer 27F-YM (5µM)	1.25	72° C	15 sek
Primer 534R (5µM)	1.25	72° C	2 min
Q5 Polymerase	0.25	4° C	∞
Wasser	6.75		
Probe	2.00		

Tabelle 2: Protokoll der Reagenzien und Zyklen des 2. Amplifikationsschrittes inklusive Barcode Anheftung

Reagenz	Volumen in µl	Temperatur	Zeit
Q5 Puffer	10.00	98° C	40 sek
Q5 Enhancer	10.00	98° C	20 sek
dNTPs	1.00	55° C	40 sek 8 Zyklen
Forward primer*	0.3125	72° C	40 sek
Reverse primer*	2.5	72° C	2 min
Q5 Polymerase	0.5	4° C	∞
Wasser	23.6875		
PCR Produkt Schritt 1	2.00		

* Primerpaar in einzigartiger Kombination

Protokoll adaptiert nach (Hülpüsch, 2021)

In einer zweiten Polymerase Kettenreaktion wurden Barcodes zu den Sequenzen durch spezifische Primer hinzugefügt. Eine Vervielfältigung fand über 8 Zyklen statt.

Die Aufreinigung der Amplicons wurde Mittels AMPure XP Beads (Beckman Coulter) in einem Bead/DNS Verhältnis von 0,7:1 v/v, nach Herstellerangaben vorgenommen. Die Mengenbestimmung der aufgereinigten Amplicons erfolgte durch den Fluoreszenzfarbstoff 25-basierten Qubit® dsDNS HS Assay von Invitrogen.

Die Intaktheit und Verteilung der DNS wurde im nächsten Schritt mit Hilfe des 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies) entsprechend der Herstellervorgaben untersucht.

2.3.4 Illumina Next Generation Sequencing

16S rRNA Sequenzierung wurde durch die "Core Facility Microbiome" des Zentralinstituts für Lebensmittel und Ernährungsforschung (ZIEL) der Technischen Universität München unter der Leitung von Dr. Klaus Neuhaus ausgeführt. Neben Abstrichproben wurden auch Pipeline-Negativkontrollen und Wasserproben sequenziert. Die „next-generation“ Sequenzierung wurde auf der Illumina MiSeq Plattform mit 2-mal 300 bp paired-end reads durchgeführt. Hierzu wurde das MiSeq® Reagent Kit v3 6000 cycles entsprechend der Herstellerangaben verwendet. Datendarstellung, Prozessierung und Export wurden durch die Geräteeigene Software vorgenommen. (Illumina Software MiSeq® Reporter & Illumina Sequence Analysis Viewer).

2.3.5 Aufbereitung und Qualitätskontrolle des Datensatzes

Das „Denoising“ der Sequenzen erfolgte über DADA2 (Callahan, McMurdie et al. 2016) und die Annotation der generierten Amplicon-Sequenzvarianten (ASVs) durch den Algorithmus AnnotIEM (Bhattacharyya M, 2019).

2.3.6 Qualitätskontrolle der Sequenzierung

Um festzustellen ob eine ausreichende Sequenziertiefe erreicht wurde, erfolgte eine Korrelation zwischen Sequenziertiefe (Anzahl Reads) und Anzahl an unterschiedlicher ASVs durchgeführt. Es konnte kein linearer Zusammenhang zwischen Sequenziertiefe und ASVs festgestellt werden. (Siehe **Abbildung 5**Abbildung 6).

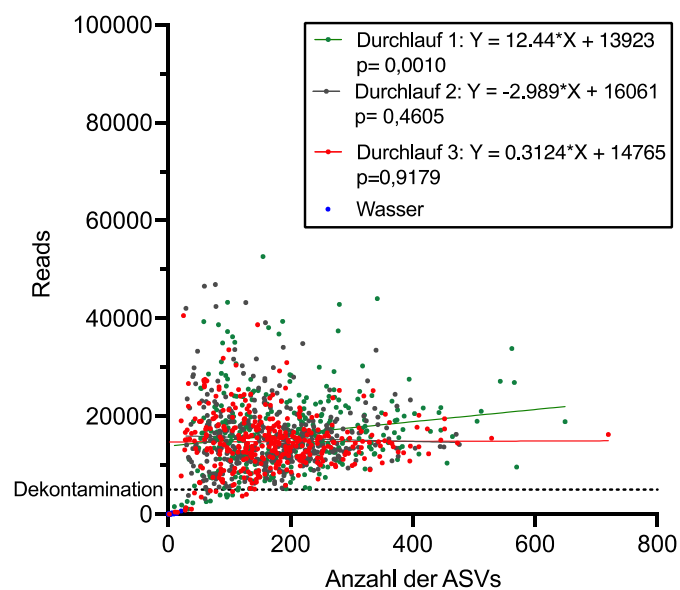


Abbildung 5: Qualitätskontrolle der Sequenzierung. Vergleich der Sequenzierdurchläufe. Dargestellt ist Anzahl der ASVs sowie die Häufigkeit der Replikate für jeden der Sequenzierdurchläufe.

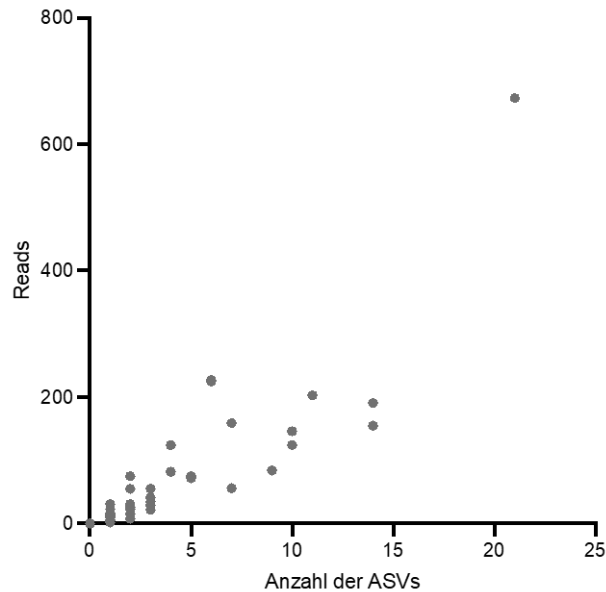


Abbildung 6: Darstellung der Kopien und Replikate in den Negativkontrollen (Wasser) des next-Generation Sequencing. Die Skalierung der Achsen wurden entsprechend der niedrigen Werte automatisch angepasst. Um Kontaminationen auszuschließen wurden ASVs unterhalb von 5000 reads nicht berücksichtigt.

2.3.7 Analyse und Auswertung

Einschluss und Untersuchung der Proben erfolgte wie in Abbildung 8 dargestellt.

Die Gruppierung der Teilnehmenden in Schweregrade erfolgt gemäß SCORAD. Es wurde zwischen milder (SCORAD<25), moderater (SCORAD 25-50) und schwerer (SCORAD>50) Ausprägung der AD unterschieden. Die Erhebung des SCORAD erfolgte zum Zeitpunkt der Studienvisite durch den Studienarzt oder die Studienärztin.

Eine weitere Untergliederung der Teilnehmenden erfolgte nach Therapiestufe. Die Eingruppierung erfolgte anhand der zum Zeitpunkt der Dissertation aktuellen Version der Leitlinie zur Therapie der atopischen Dermatitis (siehe Abbildung 7) (Wollenberg et al., 2018). Unterschieden wurden **Therapiestufe 1** (Basistherapie, Psychoedukative Maßnahmen, Expositionsprophylaxe), **Therapiestufe 2** (TCS (topische Corticosteroide) Klasse II, sowie topische CNIs (Calcineurininhibitoren)), **Therapiestufe 3** (TCS Klasse III) und **Therapiestufe 4** (Systemtherapie). Teilnehmende mit mehreren Therapien wurden der jeweils höchsten Eskalationsstufe der Therapie zugeordnet.

Die Auswertung der Medikationsdaten erfolgte anhand der Arzneimittel technisch chemischen (ATC) Klassifikation des Bundesamtes für Arzneimittelsicherheit und Medizinprodukte. So ließen sich Informationen zu Verabreichungsform und Wirkstoff in standardisierter Form gewinnen. Dies war besonders bei Wirkstoffen mit mehreren Indikationen (z.B. Prednisolon) entscheidend. Berücksichtigt wurde lediglich Medikation die zum Zeitpunkt der Studienvisite eingenommen wurde. Bei Teilnehmenden, die mehrere Wirkstoffe innerhalb des Stufenschemas verwendeten wurde der Wirkstoff der

höchsten Therapiestufe zu Grunde gelegt (Siehe Tabelle 1) um die Versuchsperson in eine Therapiestufe zuzuordnen. Uneindeutige Datensätze wurden in den Originaldokumenten in Papierform nachgeschlagen und anschließend, bei weiter bestehender Unklarheit, ausgeschlossen.

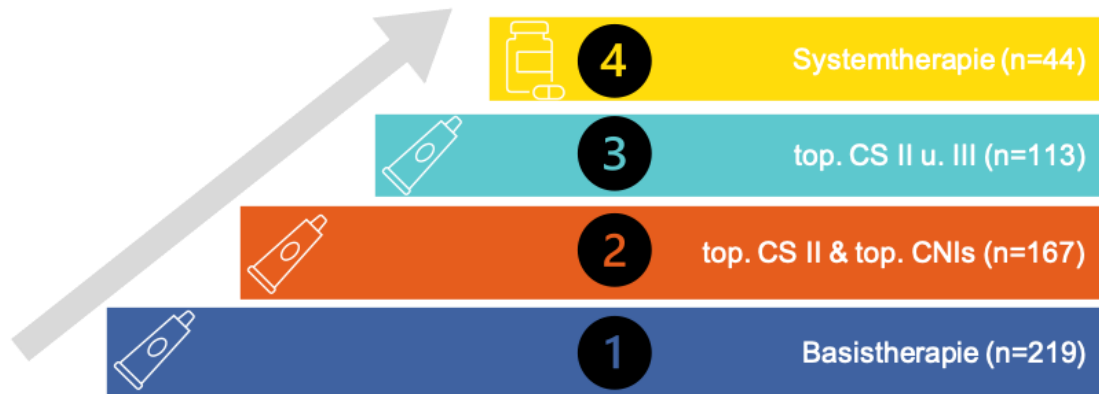


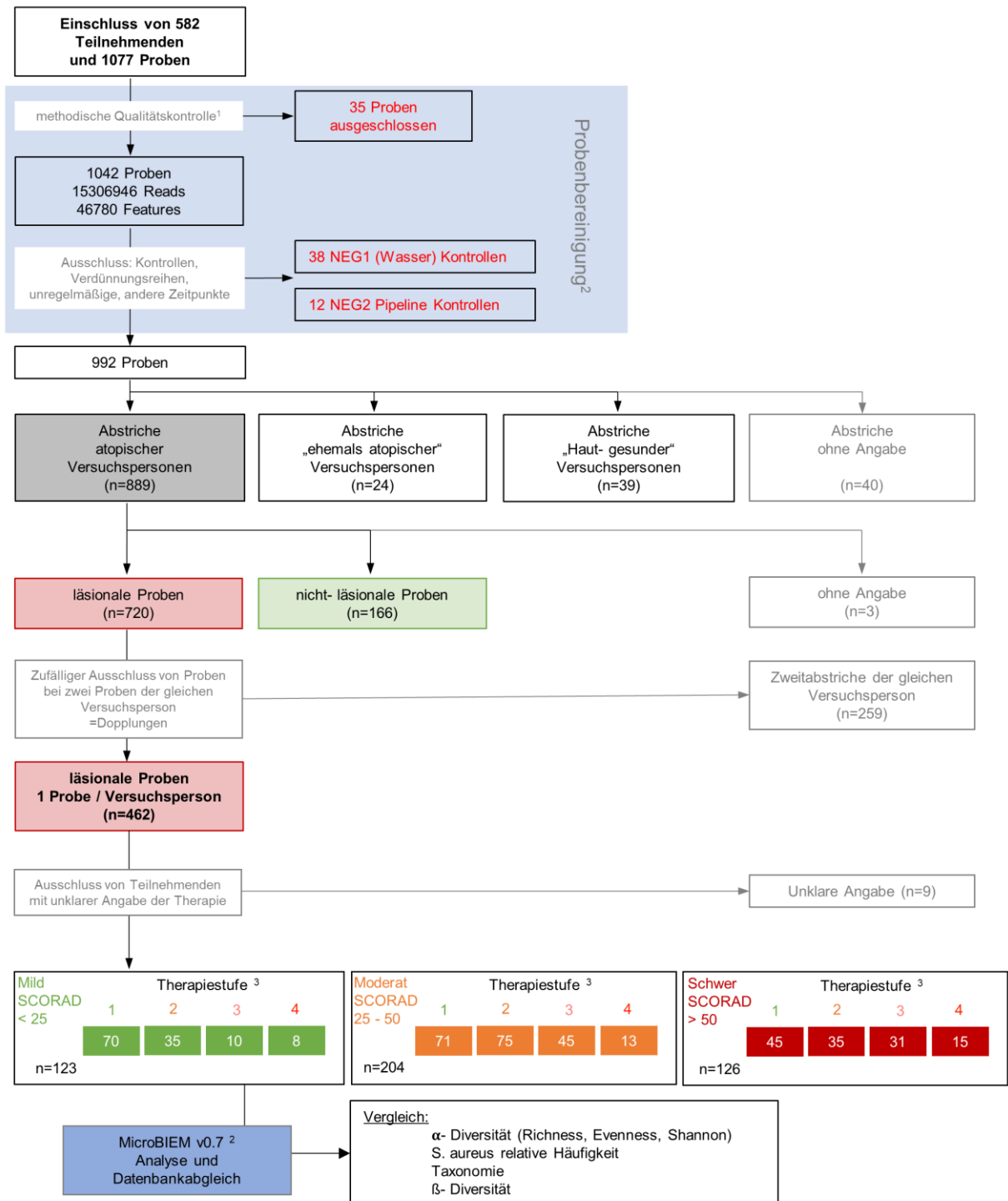
Abbildung 7: Stufenschema zur Therapie der atopischen Dermatitis. Modifiziert nach (Wollenberg et al., 2018) Die Anzahl der eingeschlossenen Teilnehmenden ist in Klammern dargestellt. (CS – Corticosteroide, CNI-Calcineurininhibitoren, top.-topische appliziert)

Tabelle 1: Unterscheidung des Unterschiedlichen Ausprägungen und Therapiestufen, adaptiert nach (Wollenberg et al. 2018)

Ausprägung	asymptomatisch	mild	moderat	schwer
SCORAD	0	<25	25-50	>50
Therapie	Basistherapie Edukation Meidung von Auslösern	topische Corticosteroide Klasse II topische Calcineurin Inhibitoren	topische Corticosteroide Klasse II und III topische Calcineurin Inhibitoren	Biologika JAK Inhibitoren weitere Immunsuppressiva
Wirkstoff-beispiele:	Emollients	Prednicarbat Methylprednisolon-aceponat Tacrolimus Pimecrolimus	Mometasonfuroat Betametasonvalerat 0,1	Dupilumab Tralokinumab Baricitinib Abrocitinib Upadacitinib Cyclosporin Off-label: Azathioprin Methotrexat

Nach Selektion und Zuordnung der Proben zu den jeweiligen Teilnehmenden erfolgte in-silico die Verarbeitung der Mikrobiomdaten. Von 582 Versuchspersonen wurden

insgesamt 1077 Proben untersucht. Nach methodischer Qualitätskontrolle verblieben lediglich 974 Proben. Hiervon entstammten 889 Proben von Teilnehmenden mit diagnostizierter AD. Wiederum hiervon wurden 721 Abstriche läSIONalen Lokalisationen entnommen. Nach Reduktion der Proben durch Ausschluss doppelter Abstriche der gleichen Versuchsperson verblieben 462 Proben zur weiteren Analyse. Die Arbeitsschritte sind in Abbildung 8 graphisch abgebildet.



1 Anforderungen:

Minimum 5000 reads / Probe
 Minimum 2 reads / Sequenz

Filtern nach Kontaminanten basierend auf Negativkontrolle 2 nach mittlerer Frequenz Ratio (NEG2/SAMPLE) von 0.50

2 Hülpmusch C & Rauer L et al. 2021 MicroBIEM - A user-friendly tool for quality control and interactive analysis of microbiome data.
<https://github.com/LuiseRauer/MicroBIEM>

3 Werfel T, Heratizadeh A, Aberer W et al. Leitlinie Neurodermitis [atopisches Ekzem; atopische Dermatitis]. J Dtsch Dermatol Ges 2016; aktualisiert 2021

Abbildung 8 Arbeits- und Selektionsschritte im Rahmen der Hauttrockenabstrichanalyse. Dargestellt sind die Selektion und Analyse der Proben. Lediglich vollständige Metadatenätze für die Versuchspersonen wurden in die Analyse einbezogen, unvollständige Datensätze wurden bis auf die Erhebungsbögen zurückverfolgt und bei fehlender Information ausgeschlossen. (NEG-Negativkontrolle; SCORAD-SCORing atopischer dermatitis; S. aureus -Staphylococcus aureus)

2.3.8 Messzahlen der mikrobiellen Diversität in Mikrobiomanalysen

Für die Erforschung der mikrobiellen Diversität im gesunden oder beeinträchtigten Hautmikrobiom werden unterschiedliche Messzahlen verwendet. Diese erleichtern die Standardisierung und Vergleichbarkeit. In erster Linie ist die Unterscheidung zwischen α - und β -Diversität hervorzuheben. Die α -Diversität beschreibt die Heterogenität der bakteriellen Spezies innerhalb einer Probe oder eines Individuums. Die α -Diversität wurde im Rahmen unserer Untersuchung durch die Einzelkomponenten „Richness“, „Evenness“ und den „Shannon Diversity Index“ erfasst. Während „Richness“ die Anzahl der verschiedenen bakteriellen Arten beschreibt, erfasst „Evenness“ die Gleichmäßigkeit der Verteilung dieser Arten. Der „Shannon Diversity Index“ berücksichtigt beide Maßzahlen in seiner Abbildung der Alpha-Diversität.

Die β -Diversität gibt hingegen die Diversitätsunterschiede zwischen verschiedenen Individuen oder Proben wieder. Im Rahmen unserer Untersuchungen wurden die "Distanzen" zwischen den einzelnen Proben mittels Distanzmatrix und Hauptkomponentenanalyse (PCoA) ermittelt und grafisch dargestellt.

2.3.9 Statistische Analyse

Die statistische Analyse der Daten wurde eigenständig, mit dem Programm GraphPad Prism v.9.4.1, La Jolla, Kalifornien, USA, oder mit R Studio Version 2022.12.0+353 im der Institutseigenen Analysesoftware MicroBIEM (Bhattacharyya M, 2019) durchgeführt. Verglichen wurden mikrobielle Diversität (α - und β -Diversität) und die Häufigkeit der 15 häufigsten, bakteriellen Arten und Familien. Für die Quantifizierung der mikrobiellen Diversität wurde hierbei die folgenden Messzahlen angewendet. Richness, Evenness, Shannon-Diversity Index und die relative Häufigkeit des Bakteriums *S. aureus*. Die Gauss'sche Normalverteilung der Daten wurde mittels Shapiro-Wilk-Test überprüft. Die statistische Signifikanz von Unterschieden zwischen zwei kontinuierlichen, ungepaarten, nicht normalverteilten Variablen wurde durch nicht-parametrische Mann-Whitney-Tests ermittelt. Unterschiede zwischen gepaarten Gruppen wurden hingegen mittels des gepaarten Wilcoxon-Tests untersucht. Korrelationen zwischen kontinuierlichen Variablen wurden durch nicht-parametrische Spearman-Rangkorrelationen untersucht. Der Vergleich der Varianz im Hautmikrobioms für nichtparametrische Variablen verschiedener Gruppen wurde mittels Kruskal-Wallis Test untersucht. Signifikanz wurde bei einem zweiseitigen Alpha-Fehler von $p < 0,05$ angenommen.

3 Ergebnisse

3.1 Studienkollektiv

3.1.1 Altersverteilung

Die Altersverteilung der untersuchten Teilnehmenden lag zwischen 0 und 84 Jahren. Dabei betrug das arithmetische Mittel 35,97 Jahre. Mit Ausnahme eines Peaks bei Kinder- und Jugendalter war die Alterszusammensetzung der Studienkohorte annähernd normalverteilt, jedoch nicht signifikant. (Siehe Abbildung 9)

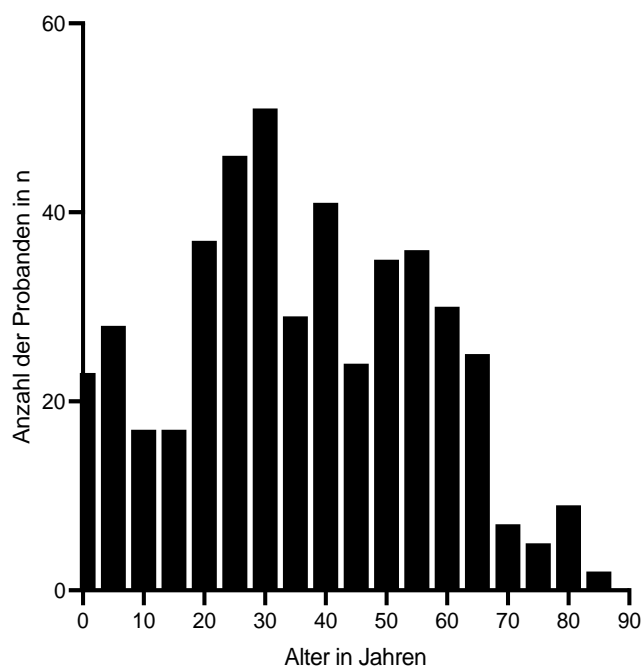


Abbildung 9: Altersverteilung der untersuchten Kohorte (n=462). Dargestellt ist die Anzahl der Studienteilnehmenden des jeweiligen Alters. Das arithmetische Mittel beträgt 35,97 Jahre bei einer Standardabweichung von $\pm 20,28$ Jahren

3.1.2 Geschlechterverteilung

Die untersuchte Kohorte unterschied sich stark in Bezug auf die Geschlechterverteilung. So wurden fast doppelt so viele Probandinnen wie Probanden mit leichtem SCORAD eingeschlossen, während sich das Verhältnis mit steigendem SCORAD annäherte. (Siehe Abbildung 10)

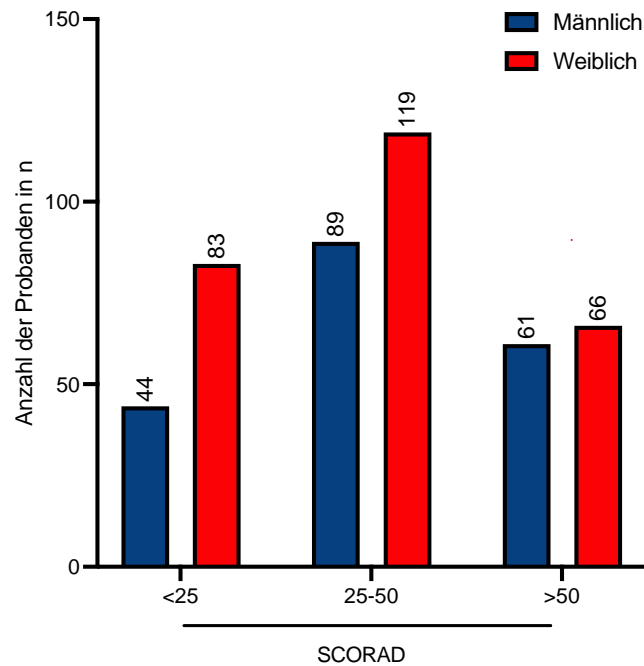


Abbildung 10: Anamnestisches Geschlecht der untersuchten Kohorte unterteilt nach Ausprägung der AD. Dargestellt ist die absolute Anzahl der Versuchspersonen mit anamnestisch männlicher bzw. weiblicher Geschlechtsidentität. Unterschieden wird zwischen Teilnehmenden mit mildem, moderaten und schwerem SCORAD (<25 =mild; 25-50=moderat; >50 schwer).

3.1.3 Atopieanamnese, Schweregrad und Therapiestufe

Die Teilnehmenden wurden nach dem Verlauf ihrer Hauterkrankung befragt. Es wurden zu gleichen Teilen chronisch-konstante und rezidivierende Verläufe beschrieben. Von asymptomatischen oder nicht diagnostizierten Verläufen wurde nur vereinzelt berichtet. (Siehe Abbildung 11)

Im Rahmen der Studienvisiten wurde durch den Studienarzt bzw. die Studienärztin der SCORAD als Maß für die Ausprägung der AD erhoben. Der überwiegende Teil der Teilnehmenden zeigte eine moderate Ausprägung (n=206) mit SCORAD-Werten zwischen 25 und 50 (siehe Abbildung 12).

Entsprechend der anamnestisch erhobenen Angaben zur Medikation erfolgte die Gruppierung der Teilnehmenden in Therapiestufen. Ein Großteil der Teilnehmenden gab an, nur Basistherapeutika zu verwenden. Lediglich 8% der Versuchspersonen gaben eine laufende systemische Behandlung an. (Siehe Abbildung 13) Die Diskrepanz zwischen Hautzustand und Therapiestufe wird in Abbildung 14 deutlich. So stieg zwar im Median die Therapiestufe mit zunehmender Ausprägung der AD. Gleichwohl verwendeten viele Teilnehmende auch bei schwerster Ausprägung der AD ausschließlich Basistherapie. Es konnte kein signifikanter Unterschied in der Therapie von Testpersonen mit moderater und schwerer AD festgestellt werden.

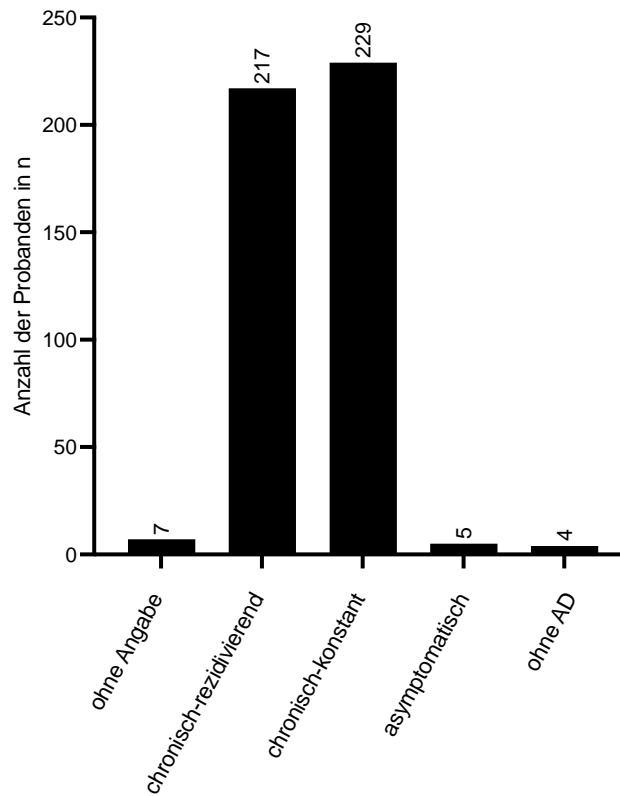


Abbildung 11: Atopieanamnese der untersuchten Kohorte (n=462). Dargestellt ist die Anzahl der Teilnehmenden, sowie die jeweils anamnestisch erhobene Ausprägung der atopischen Dermatitis. Bei allen Teilnehmenden wurden läsionale Trockenhautabstriche gewonnen. (AD- atopische Dermatitis)

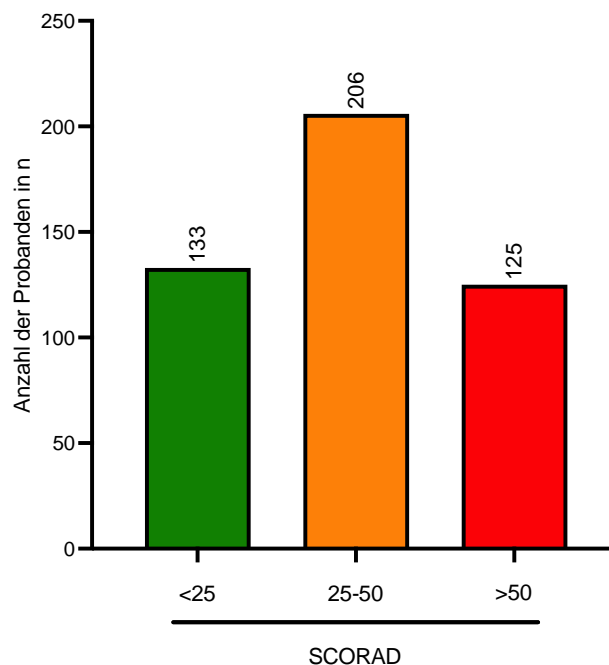


Abbildung 12: Schweregrad der atopischen Dermatitis innerhalb des untersuchten Kollektivs (n=464). Dargestellt ist die Ausprägung der atopischen Dermatitis und ihre objektive Erfassung durch globalen SCORAD. In dieser Darstellung erfolgte eine Unterteilung in mild, moderat und schwer auf Basis der Therapiengrenzen zur Therapie der atopischen Dermatitis.

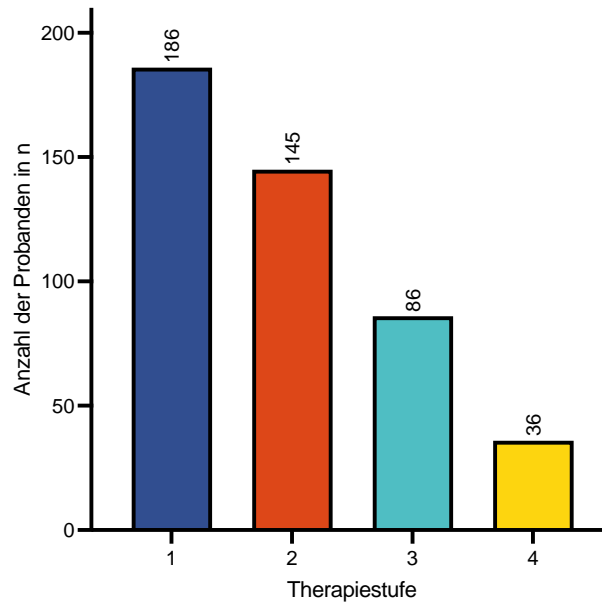


Abbildung 13: Therapiestufe der untersuchten Kohorte entsprechend der Leitlinie zur Therapie der atopischen Dermatitis. Dargestellt ist die Anzahl der Teilnehmenden pro Therapiestufe (n=453). Stufe 1 entspricht einer Basistherapie mit fettenden Externa (Emollients), Betroffenenedukation und Allergenmeidung. Stufe 2 entspricht einer lokalen Therapie mit topischen Corticosteroiden der Klasse II und topischen Calcineurininhibitoren. Stufe III umfasst die lokale Therapie mit topischen Corticosteroiden der Klasse III. Stufe IV umfasst Teilnehmende unter Systemtherapie mit immunmodulatorischen Substanzen.

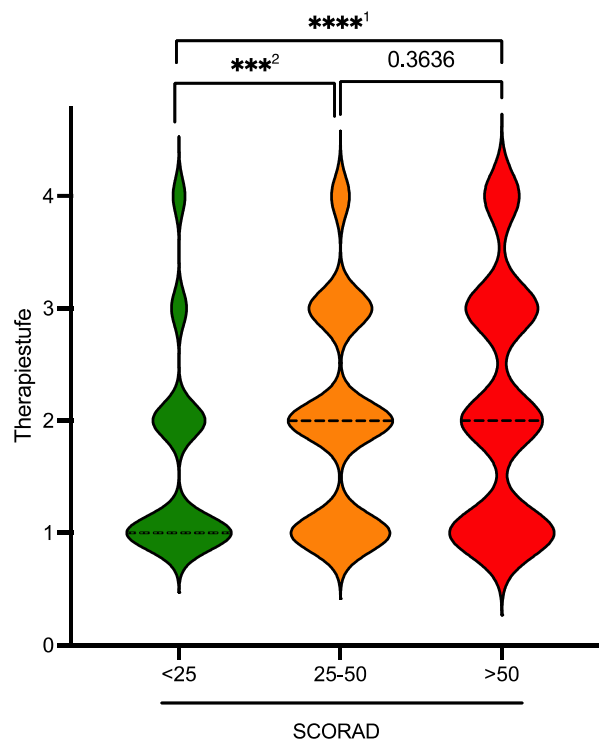


Abbildung 14: Verteilung innerhalb der Therapiestufen in Abhängigkeit des Schweregrades der atopischen Dermatitis. Dargestellt ist die Therapiestufe der Teilnehmenden sowie die Mediane Therapiestufe in Abhängigkeit des SCORAD. Die statistische Analyse erfolgte durch zweiseitigen Man-Whitney U Test. Für $p < 0.05$ wurde statistische Signifikanz angenommen. ($p_1 < 0.001$; $p_2 = 0.001$)

3.2 Einflussfaktoren auf das Hautmikrobiom

3.2.1 Alter, Geschlecht und der Ausprägungsgrad der *S. aureus*-Besiedlung

Um den Einfluss der Therapie auf das Mikrobiom zu beschreiben, war es erforderlich mögliche Konfounder zu identifizieren. Die relative *S. aureus*-Häufigkeit wurde mit Alter, Geschlecht und Hautzustand (SCORAD) korreliert.

Für läsionale Proben konnte keine Korrelation von Alter und relativer Häufigkeit des Bakteriums *S. aureus* nachgewiesen werden. (Abbildung 15)

Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen der relativen *S. aureus* Häufigkeit zwischen männlichen und weiblichen Teilnehmenden (Abbildung 16).

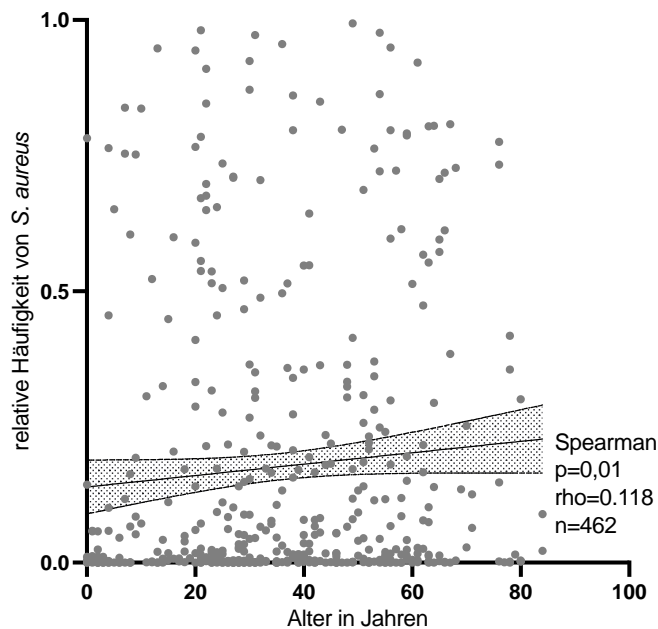


Abbildung 15: Korrelation von Alter und relativer Häufigkeit von *Staphylokokkus aureus* Das Alter der Teilnehmenden wurde zum Zeitpunkt t_0 der Abstrichgewinnung bei Erstvorstellung erfragt. Der gekennzeichnete Bereich um die Regressionsgerade markiert das Konfidenzintervall (95%) dar. Die statistische Analyse erfolgte durch zweiseitige Spearman Rangsummenkorrelation. Für $\rho > 0,5$ wurde eine starke positive Korrelation angenommen.

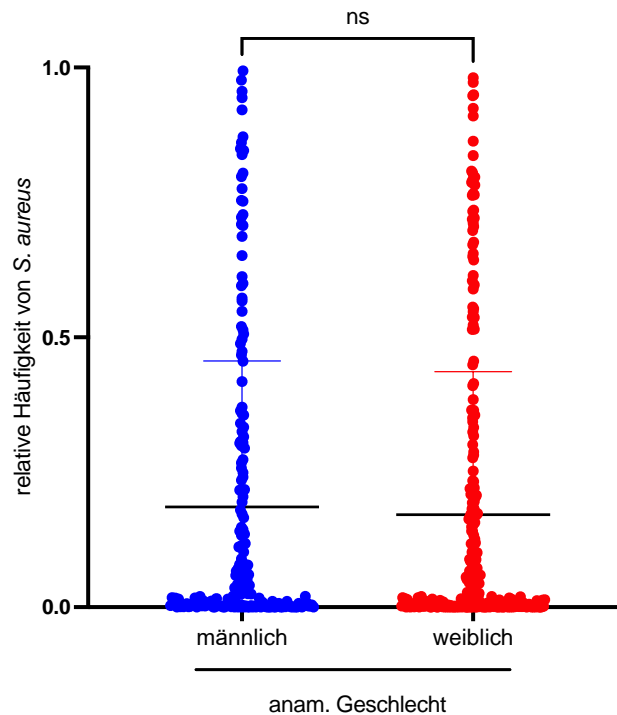


Abbildung 16: Vergleich der relativen *S. aureus* Häufigkeit zwischen Proben männlicher und weiblicher Studienteilnehmer. Statistische Auswertung erfolgte durch zweiseitigen Mann-Whitney U. Für $p < 0.05$ wurde statistische Signifikanz angenommen. Abgebildet sind die Einzelwerte, sowie der Mittelwert (m und Standardabweichung. ($n=462$; $p=0,36$)

3.2.2 Hautmikrobiom in Abhängigkeit des Hautzustandes

Die taxonomische Analyse der läSIONALen Proben zeigte eine offensichtliche Abnahme der bakteriellen Diversität mit steigendem SCORAD (Abbildung 17). Darüber hinaus konnte eine deutliche Korrelation zwischen der Verschlechterung des Hautzustandes (hier gemessen mit SCORAD) und der relativen Häufigkeit von *S. aureus* nachgewiesen werden (Abbildung 18). Allerdings, bestand diese Korrelation nicht homogen für jede Versuchsperson läSIONAL. So bestand bei einigen Versuchspersonen trotz hoher relativer Häufigkeit von *S. aureus* ein geringer SCORAD und umgekehrt. In weiteren Analysen wurde lediglich der globale SCORAD als Parameter des Hautzustandes genutzt. Grund war die im SCORAD erfolgte zusätzliche Betrachtung subjektiver Parameter bei äquivalenter Aussage. Des Weiteren erfolgte die Definition der Therapiegrenzen im Rahmen der therapeutischen Leitlinie anhand des SCORAD.

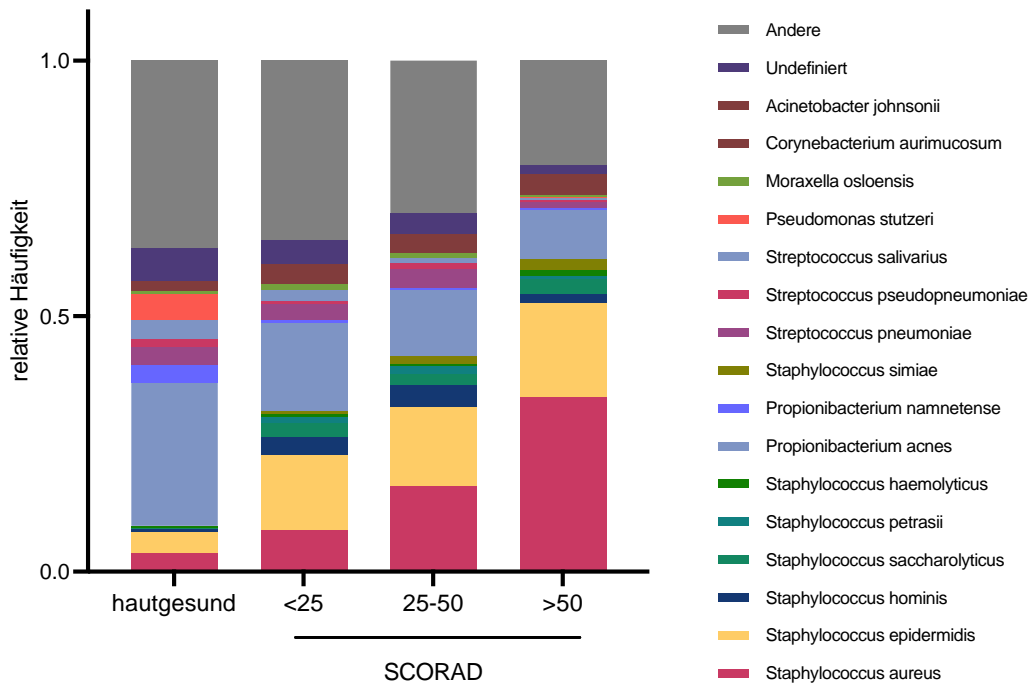


Abbildung 17: Taxonomische Verteilung der bakteriellen Arten aller läSIONalen Proben Dargestellt ist die relative Häufigkeit der 15 häufigsten bakteriellen Spezies in Abhängigkeit des Hautzustandes. Dieser wurde durch den SCORAD abgebildet, wobei zwischen milder, moderater und schwerer Ausprägung der AD unterschieden wurde. Bakterielle Spezies ohne mögliche Zuordnung sind lila dargestellt.

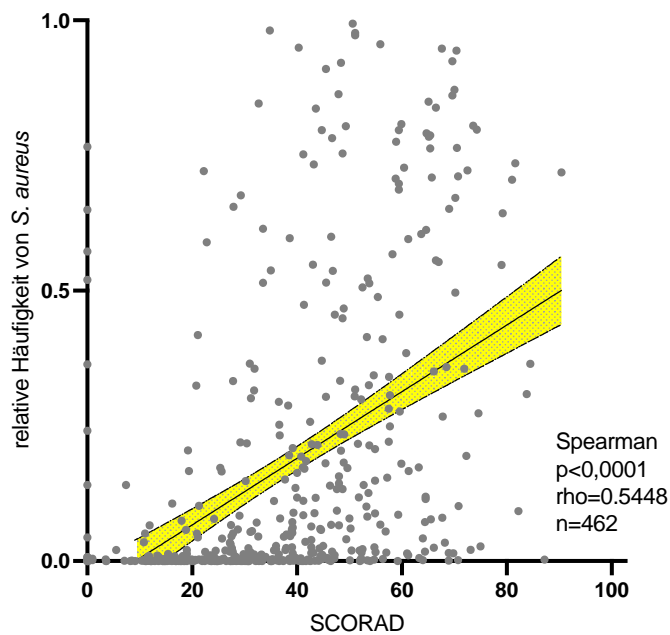


Abbildung 18: Korrelation von SCORAD und relativer Häufigkeit von S. aureus. Abgebildet sind SCORAD läSIONaler Proben (n=462) zum Zeitpunkt t0 der Materialgewinnung bei Erstvorstellung. Jeder Punkt markiert Score und rel. S. aureus Häufigkeit einer Versuchsperson. Der farblich gekennzeichnete Bereich um die Regressionsgerade kennzeichnet das Konfidenzintervall (95%). Statistische Analyse der Korrelation für nicht-normalverteilte Daten erfolgte durch einseitige Spearman Rangsummenkorrelation. Für rho >0,5 wurde eine starke positive Korrelation angenommen.

3.2.3 Einfluss der Therapie auf das Hautmikrobiom

Es zeigten sich deutliche Unterschiede im Hautmikrobiom bei unterschiedlichen Schweregraden der AD (Abbildung 17). Der starke Einfluss des Hautzustandes verhinderte eine unverzerrte Untersuchung möglicher Unterschiede zwischen den Therapiegruppen. Für weitere Vergleiche wurden deshalb die Gruppen leichter (SCORAD<25), mittelschwerer (SCORAD 25-50) und schwerer (SCORAD>50) Ausprägung gesondert betrachtet.

Eine Dominanz der Staphylokokken bzw. des *S. aureus*-Wachstums mit zunehmender Verschlechterung des Hautbildes konnte sowohl auf Familien- als auch auf Speziesebene gezeigt werden (Abbildung 18). Weiterhin zeigt sich mit zunehmender relativer Häufigkeit des *S. aureus* eine Abnahme der Häufigkeit von *Cutibacterium acnes* bzw. Koagulase-negativer Staphylokokken wie *S. epidermidis* oder *S. hominis* (Abbildung 19)

Bei moderater AD, unter systemisch-immunsuppressiver Therapie (Therapiestufe 4) konnte eine signifikante Reduktion des *S. aureus* im Vergleich mit topischen Therapien und Basistherapie gezeigt werden (Abbildung 21-A). Verschiedene Messgrößen der mikrobiellen Diversität (Richness, Evenness, Shannon-Diversity Index) zeigten jedoch keine signifikanten Unterschiede im Hautmikrobiom (Siehe Abbildung 20, Abbildung 21, Abbildung 22). Die durch Distanzmatrix dargestellte β -Diversität zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten Therapiegruppen (Abbildung 23).

Die Systemtherapeutika innerhalb der Studienkohorte umfassten eine heterogene Gruppe von Substanzen unterschiedlicher Wirkmechanismen und Effektivität. Sie bilden die höchste Eskalationsstufe im aktuellen Therapieschema. Unser Ziel war mögliche Unterschiede zwischen den Systemtherapeutika differenzierter darzustellen. Bei der geringen Anzahl von Testpersonen unter Systemtherapie wurde nicht auf Basis des SCORAD differenziert. Wie in Abbildung 24 ersichtlich unterschied sich das Hautmikrobiom der Teilnehmenden unter Systemtherapie erheblich. Teilnehmende unter Biologika oder Cyclosporin wiesen eine deutlich geringe Häufigkeit von *S. aureus* auf. Für systemische Corticosteroide zeigen jedoch ein heterogeneres Bild mit im Mittel stärker ausgeprägtem *S. aureus* Wachstum.

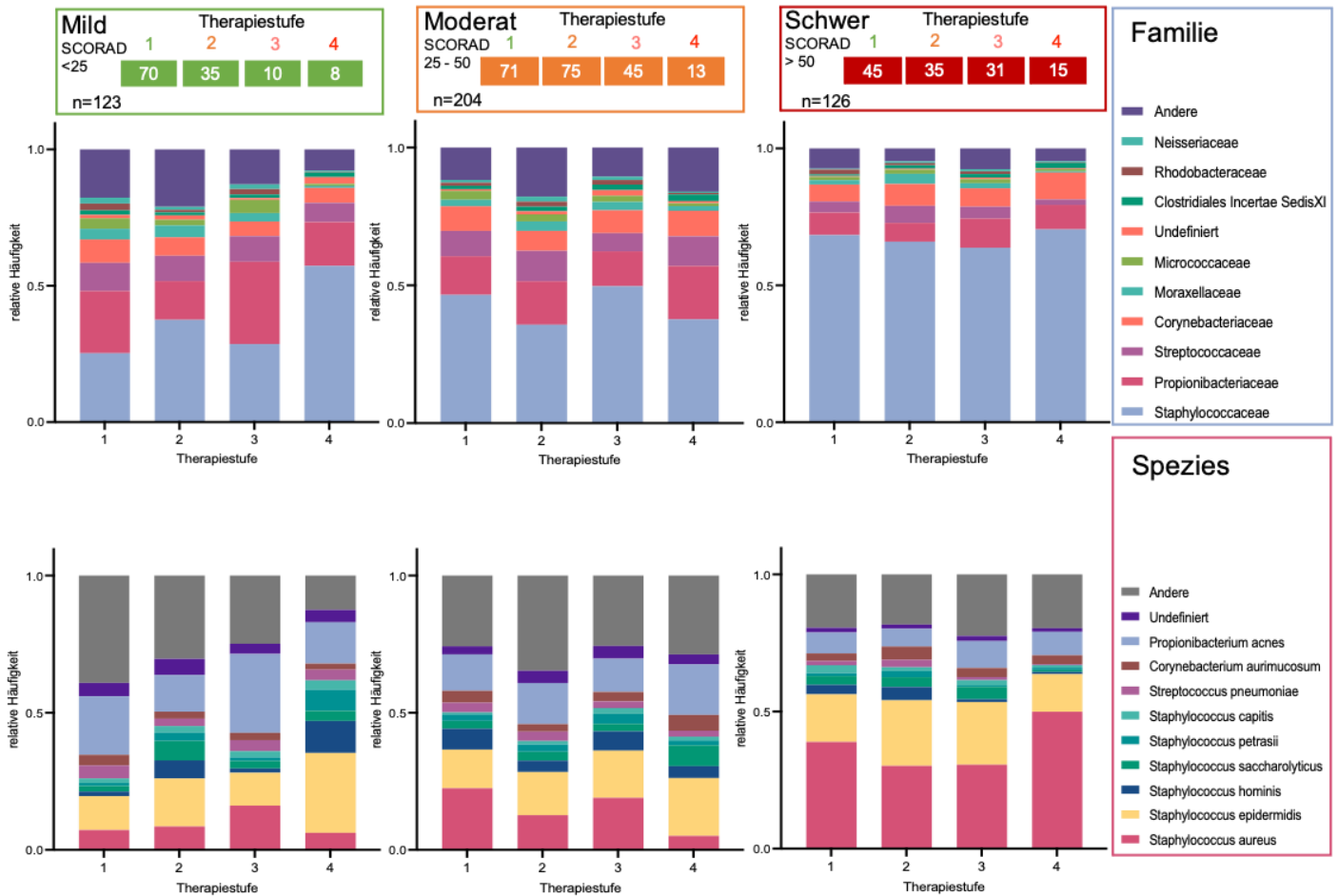


Abbildung 19: Taxonomische Unterscheidung der 10 häufigsten Familien und Spezies. Dargestellt ist die relative Häufigkeit der 10 häufigsten bakteriellen Familien und Spezies in läsionalen Trockenhautabstrichen von Teilnehmenden mit AD. Verglichen wurden unterschiedliche Therapiestufen, jeweils innerhalb eines Schweregrades (mild, moderat, schwer). Die Teilnehmendenzahl des jeweiligen Ausprägungsgrades, bzw. der jeweiligen Therapiestufe sind in den farblich hinterlegten Kästen angegeben. Die gewählten Therapiestufen entsprechen dem in Abbildung 7 dargestellten „Stufenschema zur Therapie der atopischen Dermatitis“.

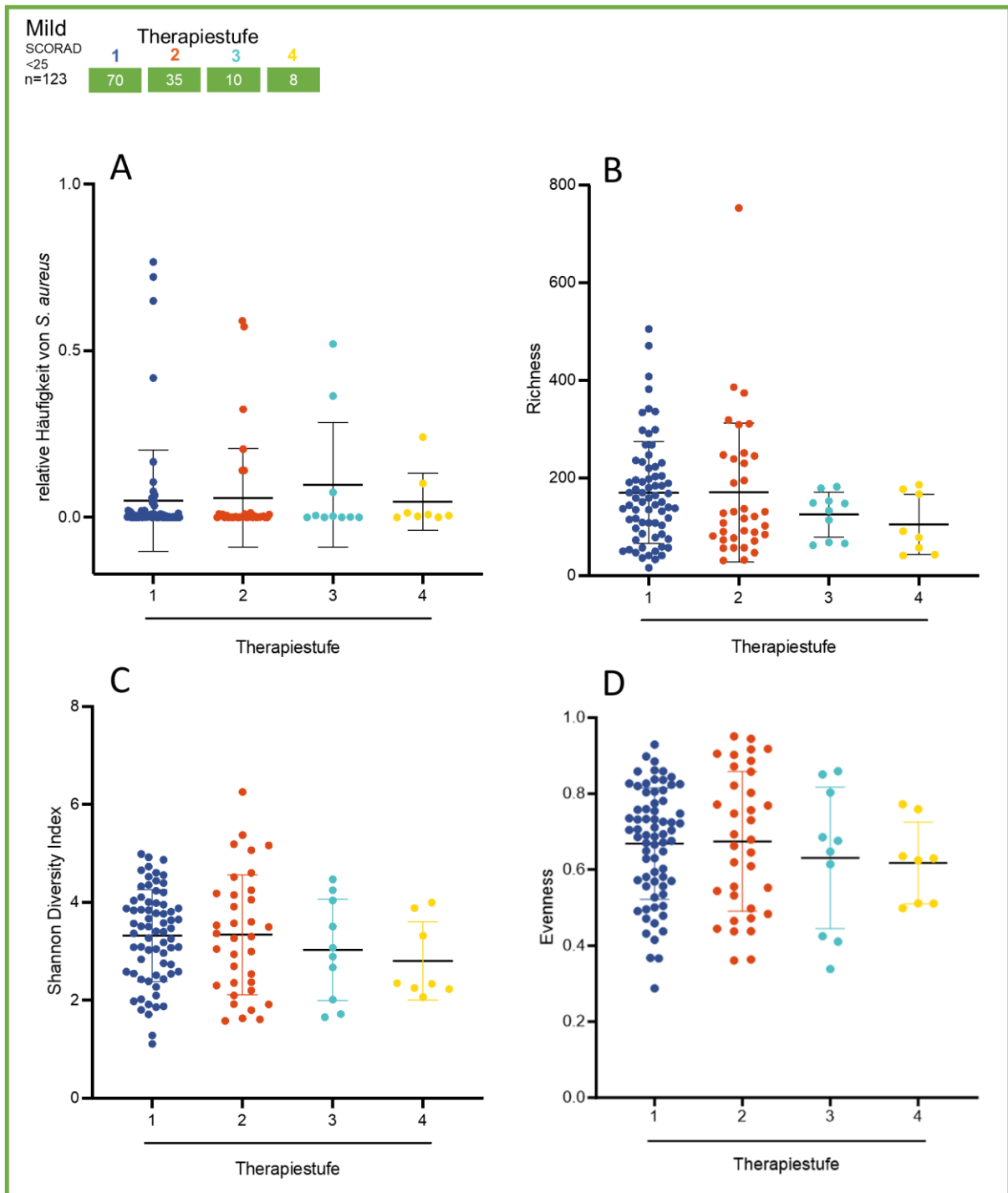


Abbildung 20: relative *S. aureus*-Häufigkeit und α -Diversität des Hautmikrobioms im Vergleich unterschiedlicher Therapiestufen bei mild ausgeprägter, atopischer Dermatitis. Dargestellt sind Richness, Evenness und Shannon Diversity Index als Parameter der mikrobiellen Diversität sowie Mittelwert und Standardabweichung. Jeder Punkt bildet eine läsionale Abstrichprobe einer Versuchsperson ab. Unterscheidung der Therapie erfolgte anhand der in Abbildung 7 dargestellten Therapiestufen. Statistische Auswertung der Unterschiede zwischen den Gruppen erfolgte durch Kurskal-Wallace Test. Statistische Signifikanz wurde ab einem $p < 0.05$ angenommen. ($p_A = 0,81$; $p_B = 0,26$; $p_C = 0,44$; $p_D = 0,69$)

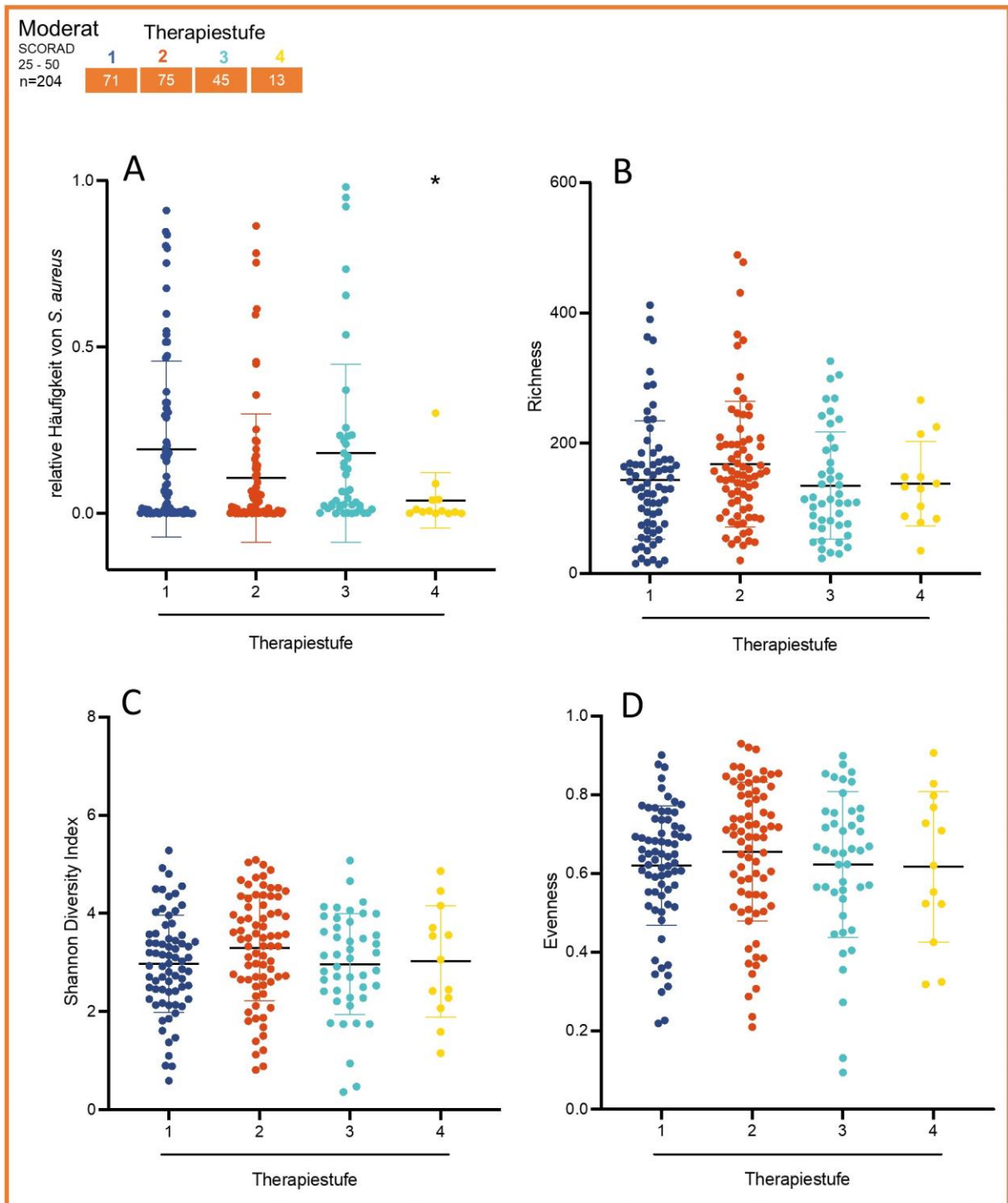


Abbildung 21: relative *S. aureus*-Häufigkeit und α -Diversität des Hautmikrobioms im Vergleich unterschiedlicher Therapiestufen bei moderat ausgeprägter, atopischer Dermatitis. Dargestellt sind Richness, Evenness und Shannon Diversity Index als Parameter der mikrobiellen Diversität sowie Mittelwert und Standardabweichung. Jeder Punkt bildet eine läsionale Abstrichprobe eines ab. Die Unterscheidung der Therapie erfolgte anhand der in Abbildung 7 dargestellten Therapiestufen. Statistische Auswertung der Unterschiede zwischen den Gruppen erfolgte durch Kurskal-Wallace Test. Statistische Signifikanz wurde ab einem $p < 0.05$ angenommen. ($p_A = 0,02$ (*); $p_B = 0,17$; $p_C = 0,15$; $p_D = 0,46$)

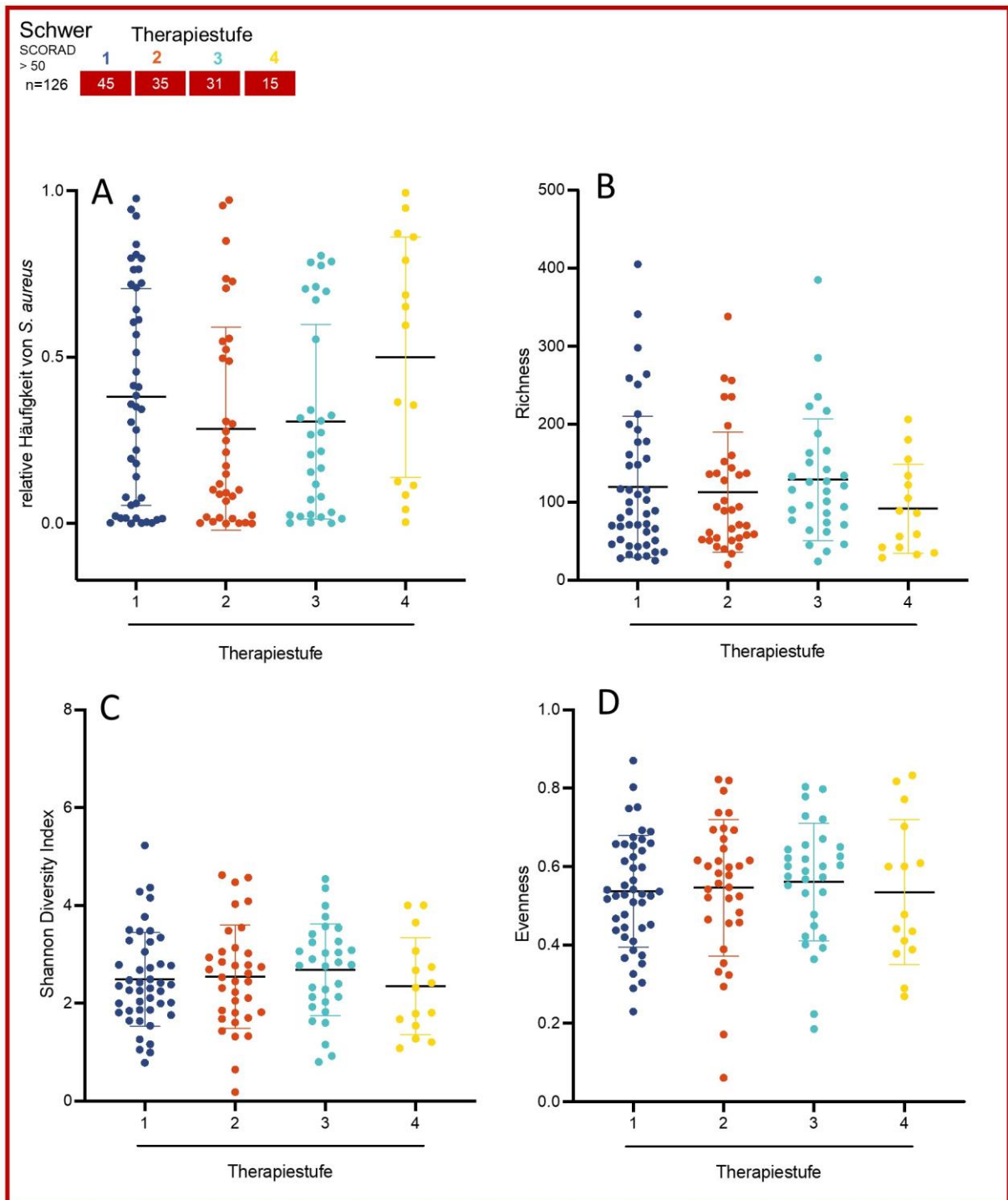


Abbildung 22: relative *S. aureus*-Häufigkeit und α -Diversität des Hautmikrobioms im Vergleich unterschiedlicher Therapiestufen bei schwer ausgeprägter, atopischer Dermatitis. Dargestellt sind Richness, Evenness und Shannon Diversity Index als Parameter der mikrobiellen Diversität sowie Mittelwert und Standardabweichung. Jeder Punkt bildet eine läSIONALE Abstrichprobe einer Versuchsperson ab. Die Unterscheidung der Therapie erfolgte anhand der in Abbildung 7 dargestellten Therapiestufen. Statistische Auswertung der Unterschiede zwischen den Gruppen erfolgte durch Kurskal-Wallace Test. Statistische Signifikanz wurde ab einem $p < 0,05$ angenommen. ($p_A = 0,13$; $p_B = 0,35$; $p_C = 0,52$; $p_D = 0,75$)

Mit zunehmender Ausprägung der AD zeigte sich auch eine zunehmende Polarisierung des Hautmikrobioms. Besonders deutlich wird dies in Abbildung 22-A. Die relative Häufigkeit des Bakteriums *S. aureus* übersteigt die 50% deutlich oder blieb deutlich

darunter. Um mögliche Unterschiede innerhalb der sehr heterogenen Gruppe der Systemtherapeutika weiter zu beleuchten, erfolgte die separate Betrachtung in Abbildung 24.

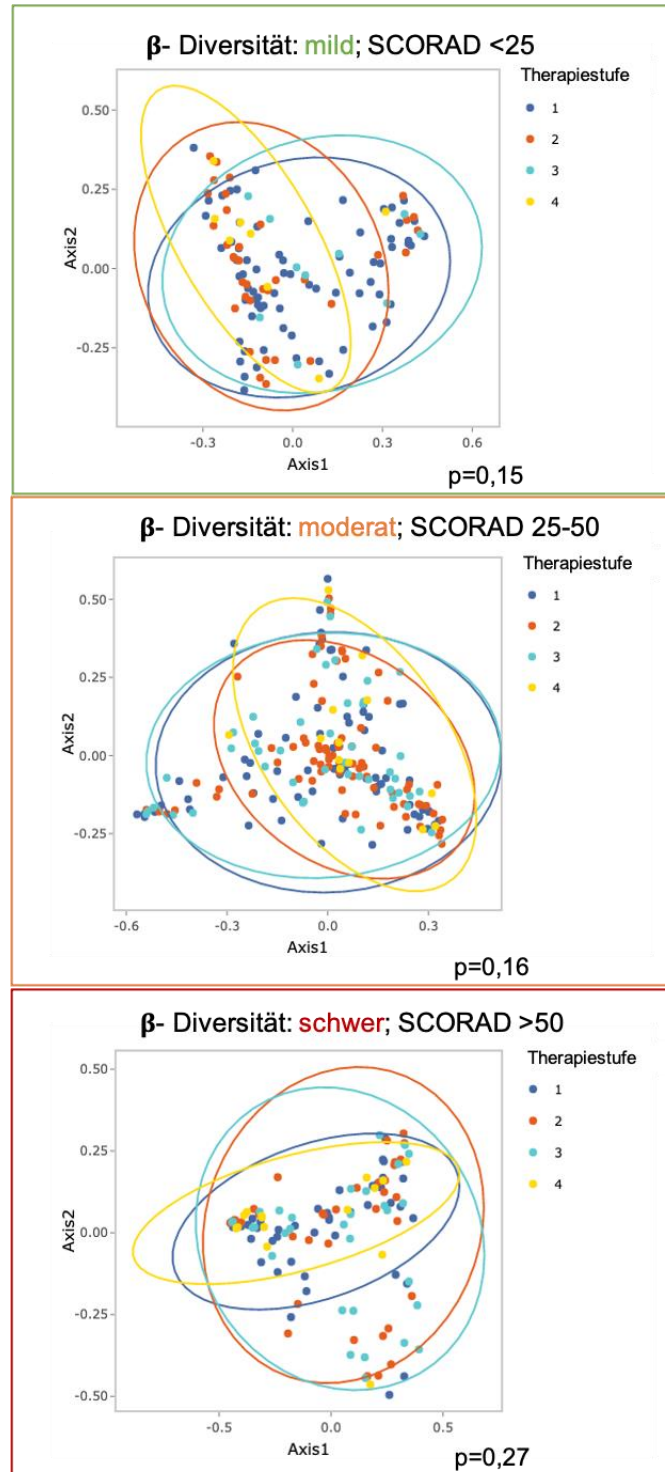


Abbildung 23: β -Diversität des Hautmikrobioms im Vergleich unterschiedlicher Therapiestufen und Ausprägungen der atopischen Dermatitis. Durch PCA dargestellt ist die Distanz zwischen den verschiedenen Proben. Jeder Punkt bildet eine läSIONALE Abstrichprobe ab. Unterscheidung der Therapie erfolgte wird Anhand der in Abbildung 7 dargestellten Therapiestufen. Statistische Signifikanz wurde ab einem $p < 0.05$ angenommen.

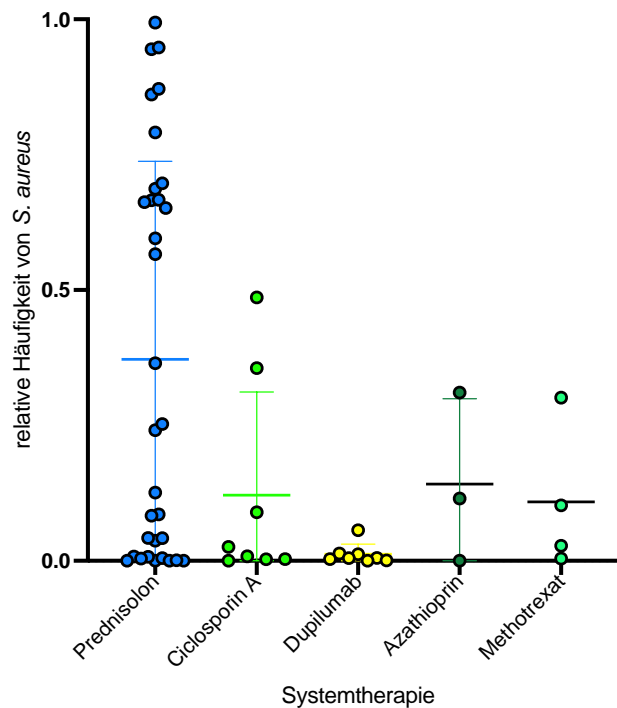


Abbildung 24: relative Häufigkeit von *S. aureus* in läsionalen Abstrichen (n=36) von Versuchspersonen unter systemisch-immunsuppressiver Therapie. Dargestellt ist die relative Häufigkeit von *S. aureus* pro Versuchsperson sowie der arithmetische Mittelwert und die Standardabweichung. Aufgeführt sind On- und off-Label-Therapien der atopischen Dermatitis zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses.

Die separate Betrachtung der eingesetzten systemischen Therapeutika erfolgte aufgrund der begrenzten Versuchspersonenzahl für alle Versuchspersonen unabhängig von der zugrunde liegenden Ausprägung der AD. Eine signifikante statistische Aussage ist aufgrund der geringen Versuchspersonenzahl nicht möglich. Es zeigte sich jedoch lediglich in läsionalen Abstrichen der Versuchspersonen unter zielgerichteter Therapie mit Dupilumab ein Trend zu geringerer relativer Häufigkeit von *S. aureus*. Alle anderen immunsuppressiven Systemtherapeutika erreichten diese Reduktion nicht.

4 Diskussion

4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Bei moderater atopischer Dermatitis zeigt das Hautmikrobiom unter Systemtherapie im Vergleich zu Lokal- und Basistherapie signifikant weniger Überwucherung durch *S. aureus*.

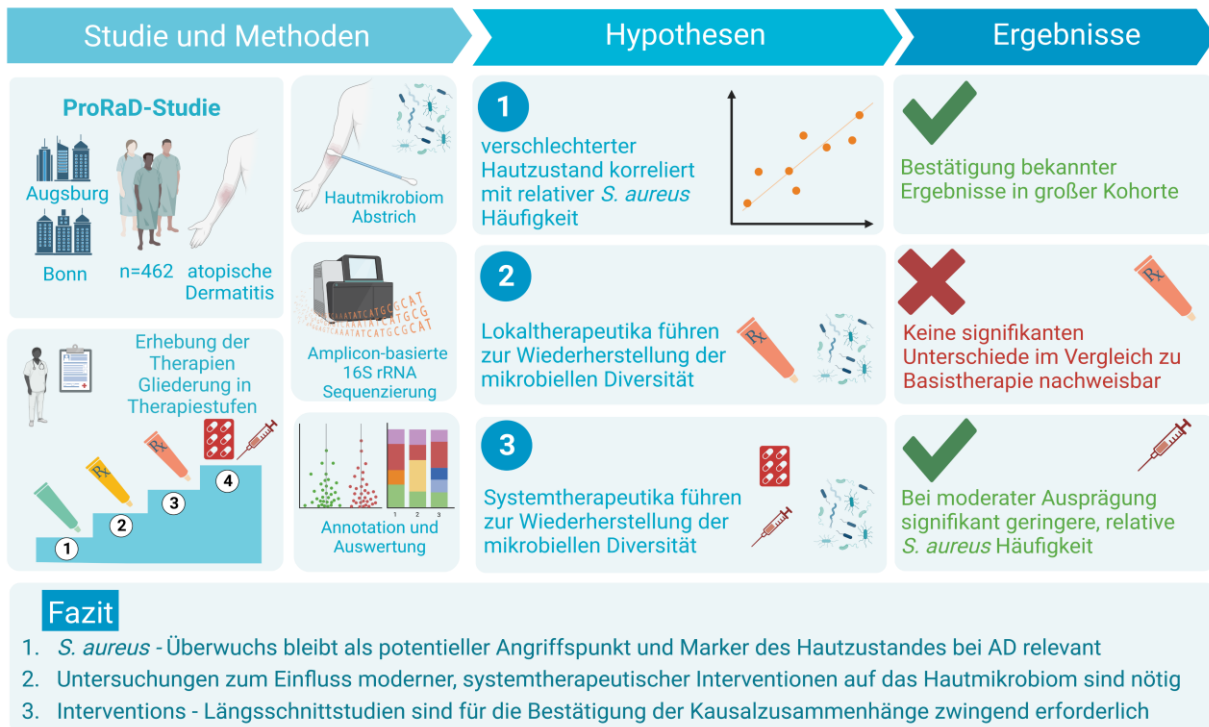


Abbildung 25: Grafischer Abstract der Disserationsarbeit, dargestellt sind Studiendesign, Hypothesen und generierte Ergebnisse, sowie mögliche Folgerungen. Graphischer Abstract erstellt von RR mit Biorender.com

Meine Arbeit bestätigt die wichtige Rolle des Bakteriums *S. aureus* im mikrobiellen Ungleichgewicht der Haut bei atopischer Dermatitis. In unserer Querschnittsstudie wurden 462 Personen mit Neurodermitis unterschiedlicher Ausprägung aus den Studienzentren Bonn und Augsburg untersucht. Im Rahmen der ProRaD-Studiensiten wurden der Hautzustand sowie die durchgeführten therapeutischen Interventionen standardisiert und systematisch erfasst. Die Charakterisierung des Hautmikrobioms erfolgte mittels 16S-rRNA-Amplicon-basierter Next-Generation-Sequenzierung von Trockenhautabstrichen läsionaler Areale und anschließender bioinformatischer Aufbereitung der Datensätze. Ziel dieser Dissertation war die Erfassung wesentlicher Unterschiede im Hautmikrobiom in Abhängigkeit der Ausprägung der atopischen Dermatitis. Darüber hinaus wurde der Effekt lokaler und systemischer Therapie auf die mikrobielle Diversität und die relative Häufigkeit des Bakteriums *S. aureus* untersucht.

Wir konnten bestätigen, dass die relative Häufigkeit von *S. aureus* mit dem Schweregrad der atopischen Dermatitis korreliert. Dieses Ergebnis bestätigt frühere Untersuchungen

des Hautmikrobioms von AD-Patientinnen und -Patienten. (Altunbulakli et al., 2018, Rauer et al., 2023, Gong et al., 2006)

Es wurden zudem Unterschiede im Hautmikrobiom der Teilnehmenden in Abhängigkeit des Therapieregimes untersucht. Dazu wurden die Teilnehmenden in definierte Therapiestufen gemäß der aktuellen Version der Therapieleitlinie zur atopischen Dermatitis eingeteilt (Wollenberg et al., 2018). Wir konnten keinen Zusammenhang zwischen lokaler, therapeutischer Intervention und Veränderung der mikrobiellen Diversität zeigen.

Für Teilnehmende unter Systemtherapie ließen sich Hinweise auf einen Mikrobiom-modulierenden Effekt darstellen. Besonders Teilnehmende unter zielgerichteter Systemtherapie zeigten bei moderat ausgeprägter atopischer Dermatitis eine Reduktion der relativen Häufigkeit von *S. aureus* im Vergleich zu Lokal- und Basistherapeutischen Interventionen.

4.2 Die Verschlechterung des Hautzustandes korreliert direkt mit der relativen Häufigkeit von *S. aureus*

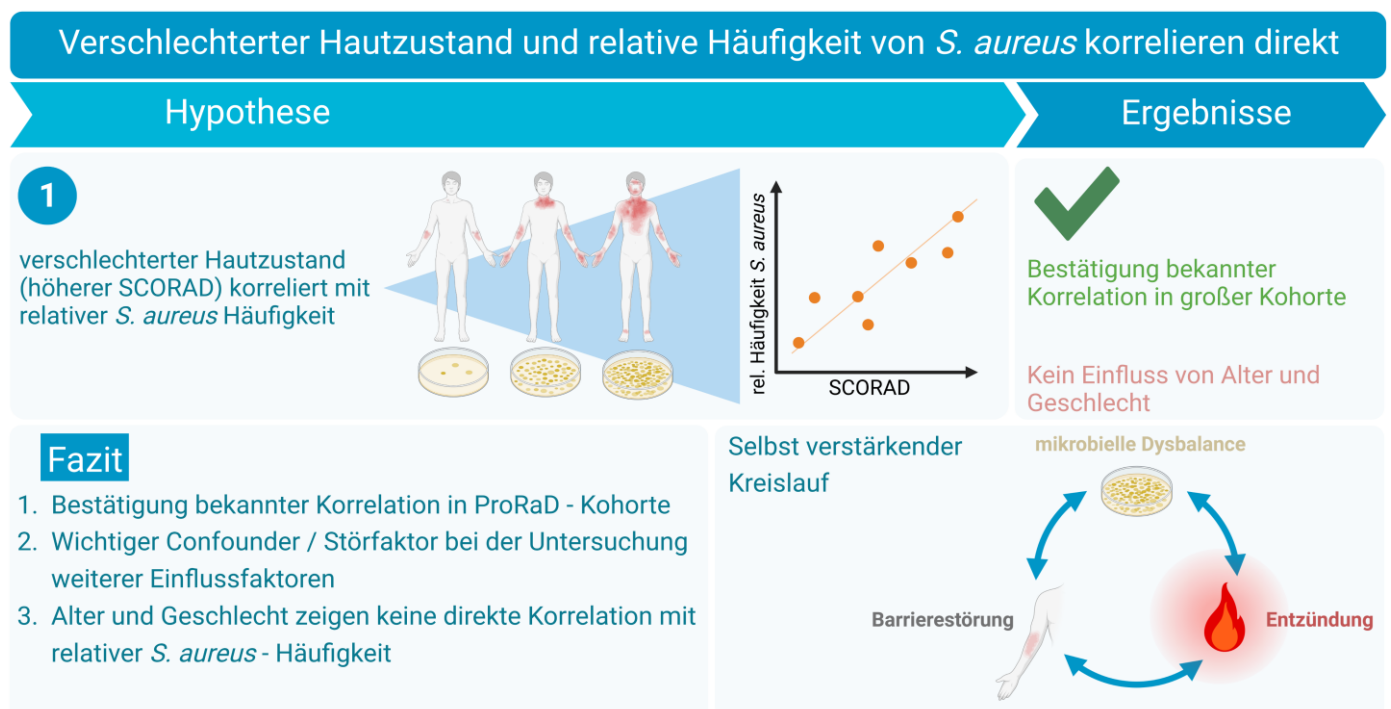


Abbildung 26: Grafischer Abstract Hypothese 1: Ein verschlechterter Hautzustand (höherer SCORAD) korreliert mit der relativen *S. aureus* Häufigkeit – Grafik erstellt von RR in Biorender.com

Unsere Arbeit konnte anhand der untersuchten ProRaD-Kohorte eine starke positive Korrelation zwischen der Ausprägung der atopischen Dermatitis und der relativen Häufigkeit von *S. aureus* im Hautmikrobiom nachweisen. Die Ausprägung der atopischen Dermatitis wurde dabei standardisiert durch SCORAD erfasst. Wir

bestätigten diese, bereits in früheren Arbeiten formulierte Beobachtung in unserer großen Teilnehmendenkohorte.

S. aureus ist das wahrscheinlich wichtigste opportunistisch-pathogene und kommensale Bakterium des menschlichen Hautmikrobioms. Das Auftreten des Bakteriums ist dabei nicht zwingend pathologisch. Die Prävalenz von *S. aureus* im Nasenvorhof gesunder Menschen wird je nach Studie auf 20 bis 30 % geschätzt (Lowy, 1998). Besonders in feuchten Hautarealen ist *S. aureus* häufig bei hautgesunden Erwachsenen nachweisbar (Williams, 1963). Aufgrund seiner einzigartigen Anpassung an den menschlichen Wirt verfügt *S. aureus* über eine Vielzahl von Mechanismen, die sein langfristiges Überleben auf der Haut sichern. Zentral sind dabei die Beeinflussung und Umgehung der adaptiven Immunantwort des Wirtes sowie eine hohe genetische Plastizität und Anpassungsfähigkeit (Thammavongsa et al., 2015). Bei der Entwicklung von Hauterkrankungen spielt auch die Quantität des Bakteriums eine Rolle. Das Wachstum von *S. aureus* auf atopischer Haut kann dabei das von hautgesunden hundertfach übersteigen (Williams et al., 2017). Diese „Überwucherung“ der Hautmikrobioms durch *S. aureus* bei atopischer Dermatitis ist seit 40 Jahren beschrieben (Leyden et al., 1974). In ihr wird ein Schlüsselfaktor für die reduzierte Vielfalt und das Ungleichgewicht des Hautmikrobioms bei atopischer Dermatitis gesehen (Rauer et al., 2023, Altunbulakli et al., 2018). Eine wichtige, jedoch ungeklärte Frage bleibt, ob die Überwucherung durch *S. aureus* nur eine Folge der atopischen Dermatitis ist oder ob sie zusätzlich eine wesentliche Rolle in der Entstehung der Hauterkrankung spielt. Für eine pathophysiologische Schlüsselrolle sprechen Tierversuche an Mäusen, bei denen *S. aureus* Isolate von Atopikern eine Verdickung der epidermalen Barriere und eine verstärkte T_H2 -vermittelte Immunantwort hervorriefen (Byrd et al., 2017b). Außerdem konnte gezeigt werden, dass der bakterielle Bewuchs der Haut durch *S. aureus* der Manifestation einer atopischen Dermatitis in Kleinkindern voraus geht. (Meylan et al., 2017) Es stellt sich jedoch die Frage, ob nicht auch eine asymptomatische AD, aufgrund der gestörten Hautbarriere, das Hautmikrobiom beeinflusst. Um einen kausalen Zusammenhang zwischen *S. aureus* Überwucherung und der Pathogenese der AD nachzuweisen, ist ein besseres Verständnis der pathophysiologischen Prozesse zwingend erforderlich. Dabei sollten entzündungsbedingte Veränderungen der Hautphysiologie und des bakteriellen Milieus, z.B. durch pH-Verschiebung und Reduktion des „Säureschutzmantels“ der Haut, berücksichtigt werden (Hülpüsch et al., 2020). Für die erleichterte bakterielle Penetration in die Dermis konnte bei Mäusen mit defekter Hautbarriere gezeigt werden, dass dies zu einer weiteren Exazerbation der proinflammatorischen Immunsituation führt (Nakatsuji et al., 2016). Immunologischen

Vorgängen im Sinne einer T_H2-vermittelten Entzündungsantwort wird ihrerseits ein modulierender Einfluss auf das Hautmikrobiom zugeschrieben. (Leyva-Castillo et al., 2019, Cho et al., 2001) Der sich so selbst verstärkende Kreislauf zwischen Barrierestörung, Entzündungsreaktion und mikrobiellem Ungleichgewicht ist ein möglicher Erklärungsansatz für die direkte Korrelation der relativen Häufigkeit von *S. aureus* und dem Hautzustand. Die Durchbrechung des inflammatorischen Kreislaufs bildet einen wichtigen Angriffspunkt moderner, zielgerichteter systemischer Therapeutika sowie lokaler antibakterieller Maßnahmen durch Antiseptika (Wollenberg et al., 2018).

Die beobachtete Veränderung des Hautmikrobioms mit zunehmendem Schweregrad der AD stellt einen starken Konfounder bei der Bewertung verschiedener Einflüsse auf das Hautmikrobiom von Patientinnen und Patienten mit AD dar.

Um die starke Verzerrung durch den Hautzustand in weiteren Analysen zu eliminieren, wurden leichte, mittelschwere und schwere Ausprägungen der AD getrennt betrachtet. Der Vergleich der Therapien erfolgte analog zu den europäischen Leitlinien in entsprechenden Therapiestufen (Wollenberg et al., 2018). (Abbildung 20-Abbildung 23) In den Therapiestufen 1-3 wurden die basistherapeutische Intervention durch Emollienzen (1), antientzündliche Lokaltherapeutika der Glukokortikoidklasse II und topische Calcineurininhibitoren (2) sowie topische Glukokortikoide der Klasse III (3) zusammengefasst.

4.3 Die Therapie mit Lokaltherapeutika korreliert nicht mit einer wiederhergestellten mikrobiellen Diversität oder einer Reduktion der relativen Häufigkeit von *S. aureus*.

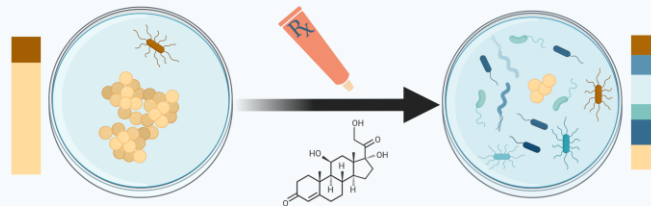
Das Hautmikrobiom von Teilnehmenden unter Lokaltherapeutika unterscheidet sich **nicht** signifikant von dem unter Basistherapie

Hypothese

Ergebnisse

2

Anti-inflammatorische Lokaltherapie korreliert mit erhöhter mikrobieller Diversität



Keine signifikanten Unterschiede unter Lokaltherapie im Vergleich zu Basistherapie nachweisbar

Fazit

1. Keine Unterschiede in der mikrobiellen Diversität bei Teilnehmenden unter anti-inflammatorischer Lokaltherapie im Vergleich zu Teilnehmenden unter Basistherapie
2. Möglicherweise lediglich indirekte Effekte durch Verbesserung der Hautbarriere zu beobachten
3. Neue, selektive Wirkstoffklassen bei Topicals (e.g lokale JAK-1 Inhibitoren) bieten Potential für die Beobachtung spezifischer Effekte auf das Hautmikrobiom

Abbildung 27 -Grafischer Abstract Hypothese 2: Das Hautmikrobiom von Teilnehmenden unter Lokaltherapeutika unterscheidet sich nicht signifikant von dem unter Basistherapie- Grafik erstellt von RR in Biorender.com

Im Rahmen meiner Dissertation konnte ich keinen Unterschied der mikrobiellen Diversität durch anti-inflammatorische Lokaltherapie im Vergleich mit basistherapeutischer Intervention zeigen. (Abbildung 20-Abbildung 23)

Ein wichtiger Baustein in der Therapie der atopischen Dermatitis ist die tägliche Anwendung von Emollienzien als Basistherapie. (Wollenberg et al., 2018). Während die klinische Bedeutung fettender Externa zur Stärkung der Hautbarriere unbestritten ist, wird der präventive Nutzen einer frühen Basistherapie bei Neugeborenen kontrovers diskutiert. Einige Studien konnten den protektiven Effekt einer frühen präventiven Basistherapie bei sogenannten „Risikokindern“ nachweisen (Horimukai et al., 2014, Ní Chaoimh et al., 2023, Zhong et al., 2022, Simpson et al., 2014). Dieser Schutzeffekt konnte jedoch in anderen randomisiert-kontrollierten Studien nicht reproduziert werden, in denen zum Teil eine höhere Inzidenz von Hautinfektionen unter präventiven Emollienzien bei Neugeborenen beobachtet wurde (Chalmers et al., 2020, Skjerven et al., 2020, Harder et al., 2023). Kürzlich durchgeführte Mikrobiomanalysen bei präventiv behandelten Neugeborenen zeigten keine signifikanten Unterschiede im Mikrobiom der Behandelten (Harder et al., 2023). Allerdings sind Unterschiede im Hautmikrobiom

zwischen Sebum-reichen, fettigen und feuchten Hautarealen bekannt (Oh et al., 2014). Die Frage, ob die lokale Therapie mit fettenden Externa ausreicht, um das Mikromilieu der Haut ausreichend zu modulieren, bleibt jedoch offen. So haben auch andere Faktoren wie der pH-Wert der Haut und die Sekretion antimikrobieller Substanzen einen wichtigen Einfluss auf die bakterielle Diversität der Haut. Weitere Untersuchungen zum Einfluss von Emollienzien auf das Hautmikrobiom sind daher notwendig.

Die Beeinflussbarkeit des Hautmikrobioms durch antiinflammatorische Lokalthérapien wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Während in einigen Studien eine Zunahme der mikrobiellen Diversität und eine Abnahme der *S. aureus*-Kolonisation durch Lokalthérapien beobachtet wurde (Kwon et al., 2019, Khadka et al., 2021, Kong et al., 2012), konnten andere keine signifikanten Unterschiede durch Lokalthérapie, sondern ausschließlich bei zielgerichteter Systemtherapie durch Biologika feststellen (Olesen et al., 2021, Callewaert et al., 2020, Hartmann et al., 2023). Für die Anwendung von verdünnten Bleichbädern im Rahmen einer dieser Studien wurde eine antimikrobielle Wirkung in Kombination mit einer Lokalthérapie postuliert, die zu einer Verbesserung der atopischen Dermatitis führte (Khadka et al., 2021). Folgeuntersuchungen konnten jedoch für die verwendeten Konzentrationen verdünnter Bleiche keinen antibakteriellen Effekt zeigen (Sawada et al., 2019). Vielmehr seien immunmodulierende Effekt durch die Hemmung von NF κ B zu beachten, welche unabhängig von der mikrobiellen Besiedlung zur Verbesserung des klinischen Bildes der atopischen Dermatitis führten. (Leung et al., 2013). Auch im Bereich der Lokalthérapie stehen interessante Entwicklungen durch neue topische Substanzklassen wie JAK1-Inhibitoren oder PDE-4 Hemmern an (Kleinman et al., 2022). Mit der Zulassung dieser Substanzen eröffnen sich neue Möglichkeiten, die Auswirkungen spezifischer immunmodulatorischer Effekte auf das Hautmikrobiom und die Hautbarriere zu beschreiben und Rückschlüsse auf die zugrunde liegenden Prozesse zu ziehen.

Das Zusammenspiel von Barrierefunktion mikrobieller Dysbalance und nachgeschalteter Immunmechanismen bleibt komplex (Altunbulakli et al., 2018, Eyerich et al., 2018, Baurecht et al., 2018). Diskutiert wird insbesondere der kausale Zusammenhang zwischen Barriestörung, mikrobieller Dysbalance und der Entstehung entzündlicher Hautveränderungen. Ob die mikrobielle Dysbalance Auslöser oder Folge einer gestörten Immunregulation ist, bleibt umstritten. Eine präzise Aussage wird dadurch erschwert, dass moderne, zielgerichtete Therapien neben der Wiederherstellung der mikrobiellen Diversität häufig gleichzeitig zu einer Wiederherstellung der Hautbarriere führen. Es bleibt daher offen, ob die Wiederherstellung der mikrobiellen Diversität Teilursache oder Folge der wiederhergestellten Hautbarriere ist (Bieber, 2020).

4.4 Die Therapie mit Systemtherapeutika korreliert bei moderater atopischer Dermatitis mit einer Reduktion der relativen Häufigkeit von *S. aureus*

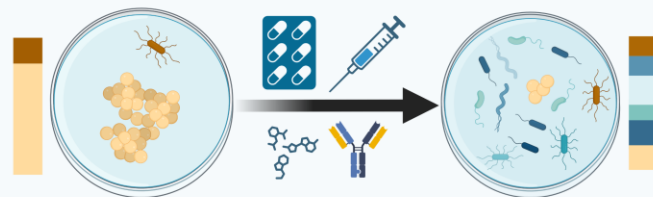
Das Hautmikrobiom von Teilnehmenden mit moderater AD unter Systemtheapie zeigt eine signifikant geringere, relative Häufigkeit von *S. aureus*

Hypothese

Ergebnisse

3

Immunmodulierende Systemtherapeutika führen zur Wiederherstellung der mikrobiellen Diversität



Bei moderater Ausprägung signifikant geringere, relative *S. aureus* Häufigkeit

Fazit

1. Teilnehmende unter systemtischer anti-inflammatorischer Therapie und moderater AD zeigten signifikant weniger relative Häufigkeit von *S. aureus* im Hautmikrobiom
2. Unterscheidung der Systemtherapien nach Wirkmechanismus essentiell um Rückschlüsse auf Wirt-Mikrobiom Interaktion zu ziehen und Pathomechanismus der mikrobiellen Dysbalance bei AD zu erklären
3. Erste Erklärungen für Wirkungen der T_H2 -Zytokinblockade auf das Mikrobiom in AMPs, Juckreiz- und Entzündungsreduktion

Abbildung 28 Grafischer Abstract Hypothese 3: Das Hautmikrobiom von Teilnehmenden unter Systemtherapie mit moderater atopischer Dermatitis zeigt eine signifikant geringere relative Häufigkeit von *S. aureus*. erstellt von RR in Biorender.com

Teilnehmende mit moderat ausgeprägter atopischer Dermatitis, zeigten in unserer Studie unter Systemtherapie eine signifikant geringere relative Häufigkeit von *S. aureus* als unter anti-inflammatorischer Lokalthherapie oder Basistherapie. Besonders auffällig war der deutliche Effekt der zielgerichteten Therapie durch den monoklonalen Antikörper Dupilumab. Im Vergleich zu breiten immunmodulatorischen Therapien führte diese zu einer signifikant geringeren relativen Häufigkeit von *S. aureus*.

Der modulierende Einfluss der pro-inflammatorischen T_H2 Zytokine IL-4 und IL-13 auf das Hautmikrobiom ist bekannt (Leyva-Castillo et al., 2019, Cho et al., 2001). Die Mikrobiom- balancierende Wirkung der selektiven Zytokinblockade, lässt sich durch die reduzierte, körpereigene Abwehr in Folge der inhibitorischen Wirkung der T_H2 - Zytokine erklären. So konnte eine verminderte Sekretion anti-mikrobieller Peptide, wie humanen β -defensins-3 oder Cathelicidinen gezeigt werden (Kisich et al., 2008). Auch wurde eine erhöhte Anfälligkeit der Keratinozyten gegenüber Staphylokokken-Toxin- α nach Exposition mit T_H2 -Zytokinen beschrieben. In Ihrer Konsequenz führte diese zu einem

vermehrten Absterben der Keratinozyten und einer gestörten Hautbarriere. (Brauweiler et al., 2014)

Für die zielgerichtete Systemtherapie der atopischen Dermatitis wurden in den letzten fünf Jahren eine Vielzahl an neuen Präparaten zugelassen (Traidl et al., 2021, Wollenberg et al., 2021, European Medicines Agency, 2017). Arbeiten zur therapeutischen Wirkung zielgerichteter Therapien auf das Hautmikrobiom basierten bisher auf kleineren Interventionsstudien mit geringer Teilnehmendenzahl und kurzer Studiendauer (Olesen et al., 2021, Callewaert et al., 2020). Erst kürzlich wurde für Dupilumab, jedoch nicht für Cyclosporin der Mikrobiom-wiederherstellende Effekt im Rahmen einer größeren Studie bestätigt (Hartmann et al., 2023). Die Restitution eines ausgeglichenen Hautmikrobioms geht dabei mit direktem klinischem Nutzen für die Betroffenen einher. So konnte nach Beendigung einer Intervalltherapie mit Dupilumab eine nachhaltige Reduktion der Hautinfektionsinzidenz bei Kindern mit AD beobachtet werden (Paller et al., 2022). Untersuchungen des Mikrobioms im Rahmen klinischer Arzneimittelstudien bleiben deshalb von großer Bedeutung, um die Wechselwirkungen zwischen Immunsystem und Mikrobiom besser zu verstehen.

Die Stärke der im Rahmen der ProRaD gewonnenen Daten ist die große Anzahl der untersuchten Studienteilnehmenden, sowie die Analyse des Hautmikrobioms nach standardisiertem Vorgehen, mit hoher Reliabilität. Wir untersuchten im Rahmen der Studienvisiten den Hautzustand, die Medikamenteneinnahme sowie eine Reihe von Umwelt- und anderen Einflussfaktoren nach systematisch-standardisiertem Vorgehen (European Task Force on Atopic Dermatitis, 1993). Definierte Verfahren zur Gewinnung von Metadaten und Hautabstrichen sind für die Analyse des kutanen Mikrobioms unerlässlich (Kong et al., 2017). Die systematische Erfassung von Einflussgrößen und Umweltfaktoren ist ein wichtiger, aber häufig vernachlässigter Baustein in der Erforschung mikrobieller Unterschiede bei verschiedenen Ausprägungen des heterogenen Krankheitsbildes der AD. Erst kürzlich wurde die Relevanz verschiedener Einflussfaktoren auf das Hautmikrobiom dargestellt (Rauer et al., 2023, Luna, 2020).

Unsere untersuchte Kohorte bildete ein heterogenes Spektrum von Geschlecht und Alter ab. Für Alter und Geschlecht konnten wir keine Unterschiede in der relativen Häufigkeit von *S. aureus* nachweisen. Für die stärkere Beteiligung weiblicher Studienteilnehmerinnen (siehe Abbildung 10) können verschiedene Erklärungsansätze herangezogen werden. So ist die Prävalenz des atopischen Ekzems in Europa in der erwachsenen, weiblichen Bevölkerung höher als in der männlichen. (Harrop et al., 2007,

Johansson et al., 2022). Zusätzlich wird eine höhere psychische Belastung durch die AD bei Frauen im Vergleich zu Männern diskutiert (Chernyshov, 2012). Diese könnte zu einer ärztlichen Vorstellung auch bei leichter Ausprägung führen. Dafür spräche, dass sich mit zunehmender Ausprägung der AD das Geschlechterverhältnis angleicht. Im Mittel zeigten Männer im Rahmen anderer Studien zur atopischen Dermatitis stärkere Ausprägungen als weibliche Studienteilnehmerinnen, was das Argument einer Vorstellung erst bei ausgeprägter Symptomatik unterstreicht (Maintz et al., 2021).

Wir konnten in unserer Untersuchung zeigen, dass zum Zeitpunkt der Studierhebung (2017-2019) ein großes Kollektiv mit schwerer Ausprägung (SCORAD >50) untertherapiert war. Die Therapie der AD orientiert sich an der aktuellen Therapieleitlinie (Wollenberg et al., 2018). Ausschlaggebend für die Zuordnung in eine Therapiestufe war der Schweregrad der atopischen Dermatitis erfasst durch den Hautzustand (SCORAD). Ursache könnten der zum Zeitpunkt der Studie noch andauernde Paradigmenwechsel in der systemischen Therapie der AD sein. Während für die Psoriasis vulgaris bereits potente Systemtherapeutika zur Verfügung standen, erfolgte die Zulassung des Biologikums Dupilumab (α -IL4R) durch die europäische Arzneimittelbehörde erst im September 2017. (European Medicines Agency, 2017).

4.5 Weitere Ergebnisse und Limitationen

Bei Einschluss in unserer Studie wurden lediglich ein kleiner Teil der schwer Betroffenen (n=5/125; 4%) mit Dupilumab behandelt. Diese Beobachtung deckt sich mit der anderer europäischer Universitätsklinika (Pascal et al., 2020). Neben der Zulassung der Biologika im Erhebungszeitraum könnte auch der administrative Mehraufwand in der ambulanten Versorgung (z.B. bei der Kostenübernahme durch die gesetzlichen Krankenkassen) eine Erklärung für die beobachtete Versorgungslücke darstellen. Darüber hinaus bestanden im Jahr 2017 Vorbehalte wegen befürchteter Nebenwirkungen und Toxizität bei einer Langzeittherapie. Diese führten dazu, dass das Biologikum kurz nach der Zulassung noch selten eingesetzt wurde. (Totri et al., 2017). Inzwischen ist eine Anpassung der Konsensusleitlinie für den Einsatz der Systemtherapeutika bei moderater und schwerer AD erfolgt. (Werfel et al., 2021) Biologika, sowie JAK-Inhibitoren finden somit breitere Anwendung in der Therapie der moderaten und schweren AD.

Die Unterscheidung der Systemtherapie nach Wirkstoffklasse konnte, trotz eines sichtbaren, starken Trends, keinen signifikanten Unterschied zwischen einzelnen Therapeutika in Bezug auf die relative *S. aureus* Häufigkeit zeigen. Ursächlich für die mangelnde statistische Stärke könnte die geringe Anzahl systemisch-therapierter

Versuchspersonen zum Zeitpunkt der Probenerhebung sein. (Abbildung 24) So wurden durch Zulassung der Biologika, Ende des Jahres 2017 und der JAK-Inhibitoren 2021 die systemischen Therapiemöglichkeiten bei atopischer Dermatitis revolutioniert (European Medicines Agency, 2017). Bei einer Wiederholung der Studie zum jetzigen Zeitpunkt wäre ein höherer Anteil zu erwarten, die mit systemischen Biologika und JAK-Inhibitoren behandelt werden. Prospektive Studien zum Einfluss moderner Systemtherapeutika verschiedener Wirkmechanismen auf das Hautmikrobiom sollten deshalb Ziel künftiger Forschung sein.

Diese Querschnittsuntersuchung kann als Pilotstudie lediglich den Grundstein für weitere, longitudinale Untersuchungen der ProRaD- Kohorte bilden. Hervorzuhebende Limitationen betreffen dabei das Studiendesign, die Kohortenzusammensetzung und den Untersuchungszeitraum. Aus dem Querschnittsdesign ergeben sich automatisch methodische Schwächen. So konnten zwar Assoziationen aufgezeigt werden, eine Ableitung kausaler Zusammenhänge ist jedoch nicht zulässig. Trotz der heterogenen, multizentrischen Studienkohorte sind Selektionsverzerrungen möglich. So setzte sich die untersuchte Kohorte aus Freiwilligen zusammen, die Zeit und Interesse für die Teilnahme an der Studie aufbrachten. Aussagen aus Untersuchungen der Studienkohorte können deshalb nur eingeschränkt repräsentativ auf die Allgemeinbevölkerung übertragen werden. Die umfassende Erhebung der Personendaten im Rahmen der ProRaD zielt auf die Erfassung möglichst vieler Einflussgrößen ab. Dennoch kann die Erfassung aller relevanten Variablen und Confounder nicht garantiert werden.

Mit der gehäuften Zulassung neuer Systemtherapien, innerhalb der letzten fünf Jahre, kommen zunehmend Fragen zu Ihren Effekten auf Hautbarriere und Hautmikrobiom auf. Die von uns untersuchten Datensätze wurden zu Beginn dieses therapeutischen Wandels in den Jahren 2017-2019 erhoben. Prospektive Mikrobiomanalysen ab der Einleitung von Systemtherapien durch Biologika oder JAK-Inhibitoren sind möglich, sinnvoll und sollten in weiteren Untersuchungen, bestenfalls longitudinal durchgeführt werden um wichtige Erkenntnisse zum Effekt therapeutischer Intervention auf das Hautmikrobiom zu gewinnen.

Weitere Limitationen unserer Untersuchung betreffen methodische Entwicklungen in der Analyse von Hautmikrobiomabstrichen. Die Untersuchung des Hautmikrobioms im Rahmen unserer Studie erfolgte durch die Analyse 16S-rRNA-basierter Amplicon-Sequenzierung. Diese ermöglicht die selektive Untersuchung bakterieller Erbinformation mit einer Differenzierung bis auf Speziesebene. Der vom Institut für Umweltmedizin

entwickelte Annotationsalgorithmus (AnnotIEM) trägt dabei zu einer hohen Identifikations- und Annotationsrate bei. (Bhattacharyya M, 2019)

Untersuchungen zur pathogenetischen Rolle von *C. acnes* bei Akne vulgaris haben allerdings gezeigt, dass Pathogenitätsfaktoren bzw. Unterschiede auf Stammesebene entscheidend für die Pathogenität der Mikrobiota sein können. (Fitz-Gibbon et al., 2013) Auch für *S. aureus* Isolate konnten genetische Unterschiede festgestellt werden. Diese Unterschiede könnten, mit Blick auf spezifische Pathogenitätsfaktoren und Toxine, auch relevant in der Pathogenese der AD sein. (Byrd et al., 2017a) Eine Analyse von *S. aureus* auf Stammesebene ließ sich allerdings durch das von uns verwendete Verfahren methodisch nicht durchführen.

Durch die selektive Betrachtung prokaryotischer rRNA wird überdies nur ein Teilaspekt des „Ökosystems Haut“ beleuchtet. Wichtige Informationen zu anderen Phyla des Hautmikrobioms wie Eukaryoten, Protozoen, Viren oder Phagen gehen verloren. In den letzten Jahren wurden methodische Lösungen entwickelt, um dieser Herausforderung zu begegnen. Das „whole metagenome shotgun sequencing“ (WMS) hat als wichtige Alternativmethode in der Analyse von Hautabstrichen in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen. (Meisel et al., 2016) Stärke dieser Methode ist die Verfügbarkeit der vollständigen Erbinformation aller auf der Haut befindlichen Mikroorganismen. Finanzielle Aspekte, die Handhabung der generierten Datenmengen und die starke Kontamination durch Wirtserbgut bei vergleichsweise wenig Mikrobiomerbgut auf der Haut stellen allerdings wichtige Herausforderung des WMS dar.

In unserer Pilotstudie konnten wir eine Korrelation zwischen der relativen Häufigkeit von *S. aureus* und dem Schweregrad der AD in den läsionalen Hautarealen bestätigen. Darüber hinaus konnten wir eine geringere Kolonisation mit *S. aureus* bei Individuen mit mittelschwerer atopischer Dermatitis (SCORAD 25-50) unter Systemtherapie im Vergleich zu Individuen unter Lokalthherapie nachweisen. Die Ergebnisse dieser Querschnittsstudie unterstreichen, dass Betroffene von modernen Therapieansätzen nicht nur symptomatisch, sondern auch präventiv durch die Wiederherstellung des mikrobiellen Gleichgewichts profitieren können. So ließ sich durch systemtherapeutische Intervention mit Biologika bereits in anderen Arbeiten eine Reduktion der Inzidenz von Hautinfektionen zeigen. Somit bildet die Erforschung der therapeutischen Effekte verschiedener Wirkstoffe auf die mikrobielle Dysbalance bei AD einen klinisch relevanten Faktor mit direktem Einfluss auf die Gesundheit und Lebensqualität der Betroffenen.

Die komplexen Zusammenhänge zwischen Hautbarriere, immunologischen Prozessen und Hautmikrobiom sind trotz zunehmender Erforschung dieser Mechanismen noch nicht vollständig aufgeklärt. Zukünftige Längsschnittuntersuchungen verschiedener Therapien und ihres Einflusses auf das Hautmikrobiom könnten daher einen entscheidenden Beitrag beim Verständnis der Wirt-Mikrobiom-Interaktionen leisten.

5 Zusammenfassung

Ziel dieser Dissertation war, den Einfluss lokaler und systemischer Therapeutika auf das Hautmikrobiom bei Patientinnen und Patienten mit atopischer Dermatitis zu untersuchen. Unsere Arbeit stützte sich auf im Rahmen der ProRaD gewonnene Proben und Daten. Die Erhebung der von mir analysierten Daten erfolgte multizentrisch an den Standorten Augsburg und Bonn in den Jahren 2017 bis 2019. Im Rahmen dieser Querschnittsanalyse wurden 1077 Hautmikrobiomabstriche mit Medikationsdaten von insgesamt 462 Teilnehmenden untersucht.

Die untersuchten Versuchspersonen im Alter von 0 bis 84 Jahren (\bar{x} 35,97) berichteten zu gleichen Teilen über chronisch-rezidivierende und chronisch-konstante Verläufe unterschiedlicher Ausprägung. Zum Untersuchungszeitpunkt wurden bei einem Viertel der Versuchspersonen milde (SCORAD<25) oder schwere (SCORAD>50) Verläufe objektiviert; die übrige Hälfte war moderat (SCORAD 25-50) betroffen.

Wir stellten eine starke Korrelation von Hautzustand und läsionaler Häufigkeit von *S. aureus* fest. Für Alter und Geschlecht wurde keine Assoziation mit der relativen *S. aureus* Häufigkeit nachgewiesen. Um Verzerrungen durch den Hautzustand zu eliminieren, erfolgte für milde, moderate und schwere Ausprägung die gesonderte Betrachtung der entsprechend (Wollenberg et al., 2018) festgelegten Therapiestufen.

Bei moderater Ausprägung der AD zeigte sich signifikant weniger häufig *S. aureus* bei Betroffenen unter Systemtherapie (Stufe IV) im Vergleich zu topischer Therapie.

Die Unterscheidung im Schweregrad spiegelte sich nicht im Therapieregime wider. So verwendete ein großer Teil (45/126; 35%) der schwer betroffenen Versuchspersonen entgegen der aktuellen Leitlinienempfehlungen ausschließlich Basistherapeutika.

Wir konnten keinen signifikanten Unterschied im Hautmikrobiom, in Abhängigkeit der Therapie, bei milder (SCORAD<25) oder schwerer (SCORAD 25-50) Ausprägung nachweisen. Teilnehmende unter Systemtherapie zeigten jedoch einen Trend zu Unterschieden in Abhängigkeit des untersuchten Wirkstoffes. Insbesondere war die relative Häufigkeit von *S. aureus* bei Teilnehmenden unter Dupilumabtherapie im Mittel geringer als unter systemischer Glucocorticoidtherapie.

Unsere Ergebnisse stehen im Einklang mit der aktuellen Forschung. So konnte einige kürzlich publizierte Studie den ausgleichenden Einfluss der zielgerichteten Therapie mit Dupilumab auf das Hautmikrobiom zeigen. Unter lokal applizierter Corticosteroiden bzw. der systemischen Therapie mit Cyclosporin konnte dieser Effekt hingegen nicht beobachtet werden.

Eine mögliche Erklärung hierfür bildet die Wirkung der T_H2-Zytokine IL-4 und IL-13 auf die Hautbarriere und die Sekretion antimikrobieller Peptide. Angesichts der rasanten Entwicklung auf dem Gebiet der Systemtherapie bei entzündlichen Hauterkrankungen bedarf es weiterer, intensiver Forschung, um das Zwischenspiel zwischen Immunsystem, Hautbarriere und Hautmikrobiom im pathophysiologischen Netzwerk der AD besser zu verstehen.

6 Abstract

The aim of this thesis was to investigate how local and systemic therapeutics affect the skin microbiome in patients with atopic dermatitis. Our work was based on samples and data obtained within the context of the ProRaD study. The data we analysed was collected multicentrally at the Augsburg and Bonn study sites between 2017 and 2019. In total, 1077 skin microbiome swabs and medication data from 462 subjects were studied in our cross-sectional analysis.

The examined subjects were between 0 and 84 years of age (± 35.97). Equal proportions reported chronic-relapsing and chronic-constant disease courses of varying severity. At the time of the study, a quarter of the subjects presented with a mild (SCORAD < 25) or severe (SCORAD > 50) disease course; while the remaining half were moderately affected (SCORAD 25-50).

We could confirm a strong correlation between skin condition and frequency of *S. aureus* in skin lesions. No association was found for age and sex with relative *S. aureus* frequency.

In order to eliminate bias due to skin condition, treatment levels were defined according to Wollenberg et al. (2018). Separate investigations of the skin microbiome were conducted for mild, moderate and severe disease manifestations. In the case of moderate AD, significantly less *S. aureus* was found on the skin of subjects receiving a systemic therapy (stage IV) compared to those receiving a local treatment only.

We found that the severity classification was not mirrored in the therapeutic choices. Thus, a large proportion (45/126; 35%) of severely affected subjects were administered exclusively basic treatment.

However, we were unable to detect a significant difference in the microbiome of skin lesions from mildly (SCORAD < 25) or severely (SCORAD 25-50) affected individuals in association to different therapies. In subjects receiving systemic therapy, there was a trend towards differences depending on the active ingredient studied. Specifically, the relative frequency of *S. aureus* was lower on average among subjects receiving dupilumab than among those receiving systemic glucocorticoid therapy.

Our findings are in line with current research. For instance, a recently published study exposed that the targeted therapy with dupilumab had a modulating effect on the skin microbiota. In contrast, this effect could not be observed with topical corticosteroid or systemic cyclosporine therapy.

One possible explanation is the influence of the T_H2 cytokines IL4 and IL13 on the skin barrier and the secretion of antimicrobial peptides. In view of the rapid development in the field of systemic therapy of inflammatory skin diseases, further intensive research is necessary to gain a better insight into microbial-immunological interplay with the skin barrier and its impact in the pathophysiological network of AD.

7 Literaturverzeichnis

- ABELES, S. R., JONES, M. B., SANTIAGO-RODRIGUEZ, T. M., LY, M., KLITGORD, N., YOOSEPH, S., NELSON, K. E. & PRIDE, D. T. 2016. Microbial diversity in individuals and their household contacts following typical antibiotic courses. *Microbiome*, 4.
- AKDIS, C. A. 2021. Does the epithelial barrier hypothesis explain the increase in allergy, autoimmunity and other chronic conditions? *Nature Reviews Immunology*, 21, 739-751.
- AKINLADE, B., GUTTMAN-YASSKY, E., BRUIN-WELLER, M., SIMPSON, E. L., BLAUVELT, A., CORK, M. J., PRENS, E., ASBELL, P., AKPEK, E., CORREN, J., BACHERT, C., HIRANO, I., WEYNE, J., KOROTZER, A., CHEN, Z., HULTSCH, T., ZHU, X., DAVIS, J. D., MANNENT, L., HAMILTON, J. D., TEPER, A., STAUDINGER, H., RIZOVA, E., PIROZZI, G., GRAHAM, N. M. H., SHUMEL, B., ARDELEANU, M. & WOLLENBERG, A. 2019. Conjunctivitis in dupilumab clinical trials. *British Journal of Dermatology*, 181, 459-473.
- ALEXANDER, H., PALLER, A. S., TRIDL-HOFFMANN, C., BECK, L. A., DE BENEDETTO, A., DHAR, S., GIROLOMONI, G., IRVINE, A. D., SPULS, P., SU, J., THYSSEN, J. P., VESTERGAARD, C., WERFEL, T., WOLLENBERG, A., DELEURAN, M. & FLOHR, C. 2020. The role of bacterial skin infections in atopic dermatitis: expert statement and review from the International Eczema Council Skin Infection Group. *British Journal of Dermatology*, 182, 1331-1342.
- ALTUNBULAKLI, C., REIGER, M., NEUMANN, A. U., GARZORZ-STARK, N., FLEMING, M., HUELPUESCH, C., CASTRO-GINER, F., EYERICH, K., AKDIS, C. A. & TRIDL-HOFFMANN, C. 2018. Relations between epidermal barrier dysregulation and Staphylococcus species-dominated microbiome dysbiosis in patients with atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 142, 1643-1647.e12.
- ALY, R., MAIBACH, H. I. & SHINEFIELD, H. R. 1977. Microbial Flora of Atopic Dermatitis. *Archives of Dermatology*, 113, 780-782.
- AUGUSTIN, M., RADTKE, M. A., GLAESKE, G., REICH, K., CHRISTOPHERS, E., SCHAEFER, I. & JACOBI, A. 2015. Epidemiology and Comorbidity in Children with Psoriasis and Atopic Eczema. *Dermatology*, 231, 35-40.
- BAGER, P., WOHLFAHRT, J. & WESTERGAARD, T. 2008. Caesarean delivery and risk of atopy and allergic disease: meta-analyses. *Clinical & Experimental Allergy*, 38, 634-642.
- BARBAROT, S., AUZIERE, S., GADKARI, A., GIROLOMONI, G., PUIG, L., SIMPSON, E. L., MARGOLIS, D. J., BRUIN-WELLER, M. & ECKERT, L. 2018. Epidemiology of atopic dermatitis in adults: Results from an international survey. *Allergy*, 73, 1284-1293.
- BAURECHT, H., RÜHLEMANN, M. C., RODRÍGUEZ, E., THIELKING, F., HARDER, I., ERKENS, A. S., STÖLZL, D., ELLINGHAUS, E., HOTZE, M., LIEB, W., WANG, S., HEINSEN-GROTH, F. A., FRANKE, A. & WEIDINGER, S. 2018. Epidermal lipid composition, barrier integrity, and eczematous inflammation are associated with skin microbiome configuration. *J Allergy Clin Immunol*, 141, 1668-1676.e16.
- BELKAID, Y. & SEGRE, J. A. 2014. Dialogue between skin microbiota and immunity. *Science*, 346, 954-959.
- BFARM, B. F. A. U. M. 2023. Rote Hand Brief: Cibinqo (Abrocitinib), Jyseleca (Filgotinib), Olumiant (Baricitinib), Rinvoq (Upadacitinib) und Xeljanz (Tofacitinib).
- BHATTACHARYYA M, R. M., RAUER L ET AL. 2019. L-34: AnnotIEM: A Novel algorithm for Species level annotation of 16S gene based microbial OTUs. *F1000Research 2019*, 8(ISCB Comm J):1660 (poster).
- BIEBER, T. 2010. Atopic Dermatitis. *Annals of Dermatology*, 22, 125.
- BIEBER, T. 2020. Targeting T2 Inflammation by Dupilumab Impacts on the Microbiomic "Ménage à Trois" of Atopic Dermatitis. *Journal of Investigative Dermatology*, 140, 15-17.

- BIEBER, T. 2022. Atopic dermatitis: an expanding therapeutic pipeline for a complex disease. *Nature Reviews Drug Discovery*, 21, 21-40.
- BIEBER, T., REICH, K., PAUL, C., TSUNEMI, Y., AUGUSTIN, M., LACOUR, J. P., GHISLAIN, P. D., DUTRONC, Y., LIAO, R., YANG, F. E., BRINKER, D., DELOZIER, A. M., MESKIMEN, E., JANES, J. M. & EYERICH, K. 2022. Efficacy and safety of baricitinib in combination with topical corticosteroids in patients with moderate-to-severe atopic dermatitis with inadequate response, intolerance or contraindication to ciclosporin: results from a randomized, placebo-controlled, phase III clinical trial (BREEZE-AD4). *Br J Dermatol*, 187, 338-352.
- BIEBER, T., TRIDL-HOFFMANN, C., SCHÄPPI, G., LAUENER, R., AKDIS, C. & SCHMID-GRENDELMEIER, P. 2020. Unraveling the complexity of atopic dermatitis: The CK-CARE approach toward precision medicine. *Allergy*, 75, 2936-2938.
- BITSCHAR, K., WOLZ, C., KRISMER, B., PESCHEL, A. & SCHITTEK, B. 2017. Keratinocytes as sensors and central players in the immune defense against *Staphylococcus aureus* in the skin. *Journal of Dermatological Science*, 87, 215-220.
- BONNESS, S., SZEKAT, C., NOVAK, N. & BIERBAUM, G. 2008. Pulsed-Field Gel Electrophoresis of *Staphylococcus aureus* Isolates from Atopic Patients Revealing Presence of Similar Strains in Isolates from Children and Their Parents. *Journal of Clinical Microbiology*, 46, 456-461.
- BRAUWEILER, A. M., GOLEVA, E. & LEUNG, D. Y. M. 2014. Th2 Cytokines Increase *Staphylococcus aureus* Alpha Toxin-Induced Keratinocyte Death through the Signal Transducer and Activator of Transcription 6 (STAT6). *Journal of Investigative Dermatology*, 134, 2114-2121.
- BROOKS, J. P., EDWARDS, D. J., HARWICH, M. D., RIVERA, M. C., FETTWEIS, J. M., SERRANO, M. G., RERIS, R. A., SHETH, N. U., HUANG, B., GIRERD, P., STRAUSS, J. F., JEFFERSON, K. K. & BUCK, G. A. 2015. The truth about metagenomics: quantifying and counteracting bias in 16S rRNA studies. *BMC Microbiology*, 15.
- BURGER, E. & GALLO, R. L. 2023. Host-microbiome interactions in the holobiome of atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 151, 1236-1238.
- BYLUND, S., KOBYLETZKI, L., SVALSTEDT, M. & SVENSSON 2020. Prevalence and Incidence of Atopic Dermatitis: A Systematic Review. *Acta Dermato Venereologica*, 100, adv00160.
- BYRD, A. L., BELKAID, Y. & SEGRE, J. A. 2018. The human skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 16, 143-155.
- BYRD, A. L., DEMING, C., CASSIDY, S. K. B., HARRISON, O. J., NG, W.-I., CONLAN, S., BELKAID, Y., SEGRE, J. A. & KONG, H. H. 2017a. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* strain diversity underlying pediatric atopic dermatitis. *Science Translational Medicine*, 9, eaal4651.
- BYRD, A. L., DEMING, C., CASSIDY, S. K. B., HARRISON, O. J., NG, W.-I., CONLAN, S., BELKAID, Y., SEGRE, J. A. & KONG, H. H. 2017b. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* strain diversity underlying pediatric atopic dermatitis. *Science Translational Medicine*, 9, eaal4651.
- CALLEWAERT, C., NAKATSUJI, T., KNIGHT, R., KOSCIOLEK, T., VRBANAC, A., KOTOL, P., ARDELEANU, M., HULTSCH, T., GUTTMAN-YASSKY, E., BISSONNETTE, R., SILVERBERG, J. I., KRUEGER, J., MENTER, A., GRAHAM, N. M. H., PIROZZI, G., HAMILTON, J. D. & GALLO, R. L. 2020. IL-4R α Blockade by Dupilumab Decreases *Staphylococcus aureus* Colonization and Increases Microbial Diversity in Atopic Dermatitis. *Journal of Investigative Dermatology*, 140, 191-202.e7.
- CASTELINO, M., EYRE, S., MOAT, J., FOX, G., MARTIN, P., HO, P., UPTON, M. & BARTON, A. 2017. Optimisation of methods for bacterial skin microbiome investigation: primer selection and comparison of the 454 versus MiSeq platform. *BMC Microbiology*, 17.
- CHALMERS, J. R., HAINES, R. H., BRADSHAW, L. E., MONTGOMERY, A. A., THOMAS, K. S., BROWN, S. J., RIDD, M. J., LAWTON, S., SIMPSON, E. L., CORK, M. J., SACH, T.

- H., FLOHR, C., MITCHELL, E. J., SWINDEN, R., TARR, S., DAVIES-JONES, S., JAY, N., KELLEHER, M. M., PERKIN, M. R., BOYLE, R. J. & WILLIAMS, H. C. 2020. Daily emollient during infancy for prevention of eczema: the BEEP randomised controlled trial. *The Lancet*, 395, 962-972.
- CHERNYSHOV, P. V. 2012. Gender differences in health-related and family quality of life in young children with atopic dermatitis. *International Journal of Dermatology*, 51, 290-294.
- CHNG, K. R., TAY, A. S. L., LI, C., NG, A. H. Q., WANG, J., SURI, B. K., MATTA, S. A., MCGOVERN, N., JANELA, B., WONG, X. F. C. C., SIO, Y. Y., AU, B. V., WILM, A., DE SESSIONS, P. F., LIM, T. C., TANG, M. B. Y., GINHOUX, F., CONNOLLY, J. E., LANE, E. B., CHEW, F. T., COMMON, J. E. A. & NAGARAJAN, N. 2016. Whole metagenome profiling reveals skin microbiome-dependent susceptibility to atopic dermatitis flare. *Nature Microbiology*, 1, 16106.
- CHO, S.-H., STRICKLAND, I., TOMKINSON, A., FEHRINGER, A. P., GELFAND, E. W. & LEUNG, D. Y. M. 2001. Preferential Binding of *Staphylococcus aureus* to Skin Sites of Th2-Mediated Inflammation in a Murine Model. *Journal of Investigative Dermatology*, 116, 658-663.
- CHOVATIYA, R. & PALLER, A. S. 2021. JAK inhibitors in the treatment of atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 148, 927-940.
- CLAUSEN, M.-L., AGNER, T., LILJE, B., EDSLEV, S. M., JOHANNESSEN, T. B. & ANDERSEN, P. S. 2018. Association of Disease Severity With Skin Microbiome and Filaggrin Gene Mutations in Adult Atopic Dermatitis. *JAMA Dermatology*, 154, 293.
- CORK, M. J., ECKERT, L., SIMPSON, E. L., ARMSTRONG, A., BARBAROT, S., PUIG, L., GIROLOMONI, G., DE BRUIN-WELLER, M., WOLLENBERG, A., KATAOKA, Y., REMITZ, A., BEISSERT, S., MASTEY, V., ARDELEANU, M., CHEN, Z., GADKARI, A. & CHAO, J. 2020. Dupilumab improves patient-reported symptoms of atopic dermatitis, symptoms of anxiety and depression, and health-related quality of life in moderate-to-severe atopic dermatitis: analysis of pooled data from the randomized trials SOLO 1 and SOLO 2. *Journal of Dermatological Treatment*, 31, 606-614.
- DRUCKER, A. M., WANG, A. R., LI, W.-Q., SEVETSON, E., BLOCK, J. K. & QURESHI, A. A. 2017. The Burden of Atopic Dermatitis: Summary of a Report for the National Eczema Association. *Journal of Investigative Dermatology*, 137, 26-30.
- ELMOSE, C. & THOMSEN, S. F. 2015. Twin Studies of Atopic Dermatitis: Interpretations and Applications in the Filaggrin Era. *Journal of Allergy*, 2015, 1-7.
- EUROPEAN MEDICINES AGENCY, E. 2017. Dupixent (dupilumab) - EMA/H/C/004390.
- EUROPEAN TASK FORCE ON ATOPIC DERMATITIS 1993. Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. *Dermatology*, 186, 23-31.
- EYERICH, S., EYERICH, K., TRIDL-HOFFMANN, C. & BIEDERMANN, T. 2018. Cutaneous Barriers and Skin Immunity: Differentiating A Connected Network. *Trends in Immunology*, 39, 315-327.
- FERREIRA, M. A., VONK, J. M., BAURECHT, H., MARENHOLZ, I., TIAN, C., HOFFMAN, J. D., HELMER, Q., TILLANDER, A., ULLEMAR, V., VAN DONGEN, J., LU, Y., RÜSCHENDORF, F., ESPARZA-GORDILLO, J., MEDWAY, C. W., MOUNTJOY, E., BURROWS, K., HUMMEL, O., GROSCHE, S., BRUMPTON, B. M., WITTE, J. S., HOTTENGA, J.-J., WILLEMSSEN, G., ZHENG, J., RODRÍGUEZ, E., HOTZE, M., FRANKE, A., REVEZ, J. A., BEESLEY, J., MATHESON, M. C., DHARMAGE, S. C., BAIN, L. M., FRITSCHKE, L. G., GABRIELSEN, M. E., BALLIU, B., NIELSEN, J. B., ZHOU, W., HVEEM, K., LANGHAMMER, A., HOLMEN, O. L., LØSET, M., ABECASIS, G. R., WILLER, C. J., ARNOLD, A., HOMUTH, G., SCHMIDT, C. O., THOMPSON, P. J., MARTIN, N. G., DUFFY, D. L., NOVAK, N., SCHULZ, H., KARRASCH, S., GIEGER, C., STRAUCH, K., MELLES, R. B., HINDS, D. A., HÜBNER, N., WEIDINGER, S., MAGNUSSON, P. K. E., JANSEN, R., JORGENSEN, E., LEE, Y.-A., BOOMSMA, D. I., ALMQVIST, C., KARLSSON, R., KOPPELMAN, G. H. & PATERNOSTER, L. 2017.

- Shared genetic origin of asthma, hay fever and eczema elucidates allergic disease biology. *Nature Genetics*, 49, 1752-1757.
- FITZ-GIBBON, S., TOMIDA, S., CHIU, B.-H., NGUYEN, L., DU, C., LIU, M., ELASHOFF, D., ERFE, M. C., LONCARIC, A., KIM, J., MODLIN, R. L., MILLER, J. F., SODERGREN, E., CRAFT, N., WEINSTOCK, G. M. & LI, H. 2013. Propionibacterium acnes Strain Populations in the Human Skin Microbiome Associated with Acne. *Journal of Investigative Dermatology*, 133, 2152-2160.
- FRØLUNDE, A. S., THYSSEN, J. P., DELEURAN, M. & VESTERGAARD, C. 2021. Appraisal of Proactive Topical Therapy in Atopic Dermatitis: Pros and Cons. *American Journal of Clinical Dermatology*, 22, 775-783.
- GONG, J. Q., LIN, L., LIN, T., HAO, F., ZENG, F. Q., BI, Z. G., YI, D. & ZHAO, B. 2006. Skin colonization by Staphylococcus aureus in patients with eczema and atopic dermatitis and relevant combined topical therapy: a double-blind multicentre randomized controlled trial. *Br J Dermatol*, 155, 680-7.
- GRICE, E. A. & SEGRE, J. A. 2011. The skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 9, 244-253.
- GRIMALT, R., MENGEAUD, V. & CAMBAZARD, F. 2007. The Steroid-Sparing Effect of an Emollient Therapy in Infants with Atopic Dermatitis: A Randomized Controlled Study. *Dermatology*, 214, 61-67.
- GUTTMAN-YASSKY, E., TEIXEIRA, H. D., SIMPSON, E. L., PAPP, K. A., PANGAN, A. L., BLAUVELT, A., THAÇI, D., CHU, C. Y., HONG, H. C., KATOH, N., PALLER, A. S., CALIMLIM, B., GU, Y., HU, X., LIU, M., YANG, Y., LIU, J., TENORIO, A. R., CHU, A. D. & IRVINE, A. D. 2021. Once-daily upadacitinib versus placebo in adolescents and adults with moderate-to-severe atopic dermatitis (Measure Up 1 and Measure Up 2): results from two replicate double-blind, randomised controlled phase 3 trials. *Lancet*, 397, 2151-2168.
- HANIFIN, J. M. & RAJKA, G. 1980. Diagnostic Features of Atopic Dermatitis. *Acta Dermato-Venereologica*, 60, 44-47.
- HARDER, I., STÖLZL, D., SANDER, N., HARTMANN, J., RODRIGUEZ, E., MAZUR, C., KERZEL, S., KABESCH, M., KÜSTER, D., SCHMITT, J., FÖLSTER-HOLST, R., GERDES, S., EMMERT, H. & WEIDINGER, S. 2023. Effects of Early Emollient Use in Children at High Risk of Atopic Dermatitis: A German Pilot Study. *Acta Dermato-Venereologica*, 103, adv5671.
- HARRIS-TRYON, T. A. & GRICE, E. A. 2022. Microbiota and maintenance of skin barrier function. *Science*, 376, 940-945.
- HARROP, J., CHINN, S., VERLATO, G., OLIVIERI, M., NORBÄCK, D., WJST, M., JANSON, C., ZOCK, J. P., LEYNAERT, B., GISLASON, D., PONZIO, M., VILLANI, S., CAROSSO, A., SVANES, C., HEINRICH, J. & JARVIS, D. 2007. Eczema, atopy and allergen exposure in adults: a population-based study. *Clinical & Experimental Allergy*, 37, 526-535.
- HARTMANN, J., MOITINHO-SILVA, L., SANDER, N., HARDER, I., HÄSLER, R., RODRIGUEZ, E., HAUFE, E., KLEINHEINZ, A., ABRAHAM, S., HERATIZADEH, A., WEISSHAAR, E., SCHÄKEL, K., HANDRICK, C., AUGUSTIN, M., WOLLENBERG, A., STAUBACH-RENN, P., ERTNER, K., STICHERLING, M., SCHWARZ, B., QUIST, S., WIEMERS, F., SCHENCK, F., WILDBERGER, J., TITTMANN, L., LIEB, W., SCHMITT, J., WERFEL, T. & WEIDINGER, S. 2023. Dupilumab but not cyclosporine treatment shifts the microbiome towards a healthy skin flora in patients with moderate to severe atopic dermatitis. *Allergy*.
- HIDAKA, T., OGAWA, E., KOBAYASHI, E. H., SUZUKI, T., FUNAYAMA, R., NAGASHIMA, T., FUJIMURA, T., AIBA, S., NAKAYAMA, K., OKUYAMA, R. & YAMAMOTO, M. 2017. The aryl hydrocarbon receptor AhR links atopic dermatitis and air pollution via induction of the neurotrophic factor artemin. *Nature Immunology*, 18, 64-73.

- HIGAKI, S., MOROHASHI, M., YAMAGISHI, T. & HASEGAWA, Y. 1999. Comparative study of staphylococci from the skin of atopic dermatitis patients and from healthy subjects. *International Journal of Dermatology*, 38, 265-269.
- HORIMUKAI, K., MORITA, K., NARITA, M., KONDO, M., KITAZAWA, H., NOZAKI, M., SHIGEMATSU, Y., YOSHIDA, K., NIIZEKI, H., MOTOMURA, K.-I., SAGO, H., TAKIMOTO, T., INOUE, E., KAMEMURA, N., KIDO, H., HISATSUNE, J., SUGAI, M., MUROTA, H., KATAYAMA, I., SASAKI, T., AMAGAI, M., MORITA, H., MATSUDA, A., MATSUMOTO, K., SAITO, H. & OHYA, Y. 2014. Application of moisturizer to neonates prevents development of atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 134, 824-830.e6.
- HOWDEN, B. P., GIULIERI, S. G., WONG FOK LUNG, T., BAINES, S. L., SHARKEY, L. K., LEE, J. Y. H., HACHANI, A., MONK, I. R. & STINEAR, T. P. 2023. Staphylococcus aureus host interactions and adaptation. *Nature Reviews Microbiology*.
- HÜLPÜSCH, C. 2021. Value and pitfalls of skin microbiome research in atopic diseases. *phD Thesis*, 118.
- HÜLPÜSCH, C., TREMMEL, K., HAMMEL, G., BHATTACHARYYA, M., DE TOMASSI, A., NUSSBAUMER, T., NEUMANN, A. U., REIGER, M. & TRIDL-HOFFMANN, C. 2020. Skin pH-dependent Staphylococcus aureus abundance as predictor for increasing atopic dermatitis severity. *Allergy*, 75, 2888-2898.
- IWASE, T., UEHARA, Y., SHINJI, H., TAJIMA, A., SEO, H., TAKADA, K., AGATA, T. & MIZUNOE, Y. 2010. Staphylococcus epidermidis Esp inhibits Staphylococcus aureus biofilm formation and nasal colonization. *Nature*, 465, 346-349.
- JIN, H., HE, R., OYOSHI, M. & GEHA, R. S. 2009. Animal models of atopic dermatitis. *J Invest Dermatol*, 129, 31-40.
- JO, J. H., HARKINS, C. P., SCHWARDT, N. H., PORTILLO, J. A., ZIMMERMAN, M. D., CARTER, C. L., HOSSEN, M. A., PEER, C. J., POLLEY, E. C., DARTOIS, V., FIGG, W. D., MOUTSOPOULOS, N. M., SEGRE, J. A. & KONG, H. H. 2021. Alterations of human skin microbiome and expansion of antimicrobial resistance after systemic antibiotics. *Sci Transl Med*, 13, eabd8077.
- JOHANSSON, E. K., BERGSTRÖM, A., KULL, I., MELÉN, E., JONSSON, M., LUNDIN, S., WAHLGREN, C. F. & BALLARDINI, N. 2022. Prevalence and characteristics of atopic dermatitis among young adult females and males—report from the Swedish population-based study BAMSE. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 36, 698-704.
- KATHURIA, P. & SILVERBERG, J. I. 2016. Association of pollution and climate with atopic eczema in US children. *Pediatr Allergy Immunol*, 27, 478-85.
- KHADKA, V. D., KEY, F. M., ROMO-GONZÁLEZ, C., MARTÍNEZ-GAYOSSO, A., CAMPOS-CABRERA, B. L., GERÓNIMO-GALLEGOS, A., LYNN, T. C., DURÁN-MCKINSTER, C., CORIA-JIMÉNEZ, R., LIEBERMAN, T. D. & GARCÍA-ROMERO, M. T. 2021. The Skin Microbiome of Patients With Atopic Dermatitis Normalizes Gradually During Treatment. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11.
- KIM, J. P., CHAO, L. X., SIMPSON, E. L. & SILVERBERG, J. I. 2016. Persistence of atopic dermatitis (AD): A systematic review and meta-analysis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 75, 681-687.e11.
- KISICH, K. O., CARSPACKEN, C. W., FIÉVE, S., BOGUNIEWICZ, M. & LEUNG, D. Y. M. 2008. Defective killing of Staphylococcus aureus in atopic dermatitis is associated with reduced mobilization of human β -defensin-3. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 122, 62-68.
- KLEINMAN, E., LABORADA, J., METTERLE, L. & EICHENFIELD, L. F. 2022. What's New in Topicals for Atopic Dermatitis? *American Journal of Clinical Dermatology*, 23, 595-603.
- KONG, H. H., ANDERSSON, B., CLAVEL, T., COMMON, J. E., JACKSON, S. A., OLSON, N. D., SEGRE, J. A. & TRIDL-HOFFMANN, C. 2017. Performing Skin Microbiome

- Research: A Method to the Madness. *Journal of Investigative Dermatology*, 137, 561-568.
- KONG, H. H., OH, J., DEMING, C., CONLAN, S., GRICE, E. A., BEATSON, M. A., NOMICOS, E., POLLEY, E. C., KOMAROW, H. D., MURRAY, P. R., TURNER, M. L. & SEGRE, J. A. 2012. Temporal shifts in the skin microbiome associated with disease flares and treatment in children with atopic dermatitis. *Genome Res*, 22, 850-9.
- KONG, H. H. & SEGRE, J. A. 2012. Skin microbiome: looking back to move forward. *J Invest Dermatol*, 132, 933-9.
- KOWALSKA-OLEDZKA, E., CZARNECKA, M. & BARAN, A. 2019. Epidemiology of atopic dermatitis in Europe. *J Drug Assess*, 8, 126-128.
- KWON, S., CHOI, J. Y., SHIN, J. W., HUH, C. H., PARK, K. C., DU, M. H., YOON, S. & NA, J. I. 2019. Changes in Lesional and Non-lesional Skin Microbiome During Treatment of Atopic Dermatitis. *Acta Derm Venereol*, 99, 284-290.
- LAI, Y., COGEN, A. L., RADEK, K. A., PARK, H. J., MACLEOD, D. T., LEICHTLE, A., RYAN, A. F., DI NARDO, A. & GALLO, R. L. 2010. Activation of TLR2 by a Small Molecule Produced by *Staphylococcus epidermidis* Increases Antimicrobial Defense against Bacterial Skin Infections. *Journal of Investigative Dermatology*, 130, 2211-2221.
- LEE, H. H., PATEL, K. R., SINGAM, V., RASTOGI, S. & SILVERBERG, J. I. 2019. A systematic review and meta-analysis of the prevalence and phenotype of adult-onset atopic dermatitis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 80, 1526-1532.e7.
- LEUNG, T. H., ZHANG, L. F., WANG, J., NING, S., KNOX, S. J. & KIM, S. K. 2013. Topical hypochlorite ameliorates NF- κ B-mediated skin diseases in mice. *Journal of Clinical Investigation*, 123, 5361-5370.
- LEYDEN, J. J., MARPLES, R. R. & KLINGMAN, A. M. 1974. *Staphylococcus aureus* in the lesions of atopic dermatitis. *British Journal of Dermatology*, 90, 525-525.
- LEYVA-CASTILLO, J.-M., MCGURK, A. & GEHA, R. S. 2019. IL-4 and IL-13 Produced During Allergic Skin Inflammation Exacerbate Mouse Model of Cutaneous *Staphylococcus aureus* Infection. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 143, AB66.
- LOWY, F. D. 1998. *Staphylococcus aureus* infections. *New England Journal of Medicine*, 339, 520-532.
- LUNA, P. C. 2020. Skin Microbiome as Years Go By. *Am J Clin Dermatol*, 21, 12-17.
- MAINTZ, L., WELCHOWSKI, T., HERRMANN, N., BRAUER, J., KLÄSCHEN, A. S., FIMMERS, R., SCHMID, M., BIEBER, T., SCHMID-GRENDELMEIER, P., TRIDL-HOFFMANN, C., AKDIS, C., LAUENER, R., BRÜGGEN, M.-C., RHYNER, C., BERSUCH, E., RENNER, E., REIGER, M., DREHER, A., HAMMEL, G., LUSCHKOVA, D. & LANG, C. 2021. Machine Learning-Based Deep Phenotyping of Atopic Dermatitis. *JAMA Dermatology*, 157, 1414.
- MCCAULEY, K. E., RACKAITYTE, E., LAMERE, B., FADROSH, D. W., FUJIMURA, K. E., PANZER, A. R., LIN, D. L., LYNCH, K. V., HALKIAS, J., MENDOZA, V. F., BURT, T. D., BENDIXSEN, C., BARNES, K., KIM, H., JONES, K., OWNBY, D. R., JOHNSON, C. C., SEROOGY, C. M., GERN, J. E., BOUSHEY, H. A. & LYNCH, S. V. 2022. Heritable vaginal bacteria influence immune tolerance and relate to early-life markers of allergic sensitization in infancy. *Cell Reports Medicine*, 3, 100713.
- MEISEL, J. S., HANNIGAN, G. D., TYLDSLEY, A. S., SANMIGUEL, A. J., HODKINSON, B. P., ZHENG, Q. & GRICE, E. A. 2016. Skin Microbiome Surveys Are Strongly Influenced by Experimental Design. *Journal of Investigative Dermatology*, 136, 947-956.
- MEYLAN, P., LANG, C., MERMOUD, S., JOHANNSEN, A., NORRENBORG, S., HOHL, D., VIAL, Y., PROD'HOM, G., GREUB, G., KYPRIOTOU, M. & CHRISTEN-ZAECH, S. 2017. Skin Colonization by *Staphylococcus aureus* Precedes the Clinical Diagnosis of Atopic Dermatitis in Infancy. *Journal of Investigative Dermatology*, 137, 2497-2504.

- MIAJLOVIC, H., FALLON, P. G., IRVINE, A. D. & FOSTER, T. J. 2010. Effect of filaggrin breakdown products on growth of and protein expression by *Staphylococcus aureus*. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 126, 1184-1190.e3.
- MITCHELL, A. E. 2018. Bidirectional relationships between psychological health and dermatological conditions in children. *Psychology Research and Behavior Management*, Volume 11, 289-298.
- MORITA, H., MORO, K. & KOYASU, S. 2016. Innate lymphoid cells in allergic and nonallergic inflammation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 138, 1253-1264.
- MUBANGA, M., LUNDHOLM, C., ROHLIN, E. S., REJNÖ, G., BREW, B. K. & ALMQVIST, C. 2023. Mode of delivery and offspring atopic dermatitis in a Swedish nationwide study. *Pediatric Allergy and Immunology*, 34.
- MUELLER, N. T., BAKACS, E., COMBELICK, J., GRIGORYAN, Z. & DOMINGUEZ-BELLO, M. G. 2015. The infant microbiome development: mom matters. *Trends in Molecular Medicine*, 21, 109-117.
- MUKHERJEE, S., MITRA, R., MAITRA, A., GUPTA, S., KUMARAN, S., CHAKRABORTTY, A. & MAJUMDER, P. P. 2016. Sebum and Hydration Levels in Specific Regions of Human Face Significantly Predict the Nature and Diversity of Facial Skin Microbiome. *Scientific Reports*, 6, 36062.
- MYLES, I. A., EARLAND, N. J., ANDERSON, E. D., MOORE, I. N., KIEH, M. D., WILLIAMS, K. W., SALEEM, A., FONTECILLA, N. M., WELCH, P. A., DARNELL, D. A., BARNHART, L. A., SUN, A. A., UZEL, G. & DATTA, S. K. 2018. First-in-human topical microbiome transplantation with *Roseomonas mucosa* for atopic dermatitis. *JCI Insight*, 3.
- MYLES, I. A., WILLIAMS, K. W., RECKHOW, J. D., JAMMEH, M. L., PINCUS, N. B., SASTALLA, I., SALEEM, D., STONE, K. D. & DATTA, S. K. 2016. Transplantation of human skin microbiota in models of atopic dermatitis. *JCI Insight*, 1.
- NAKAMURA, Y., OSCHERWITZ, J., CEASE, K. B., CHAN, S. M., MUÑOZ-PLANILLO, R., HASEGAWA, M., VILLARUZ, A. E., CHEUNG, G. Y. C., MCGAVIN, M. J., TRAVERS, J. B., OTTO, M., INOHARA, N. & NÚÑEZ, G. 2013. *Staphylococcus* δ -toxin induces allergic skin disease by activating mast cells. *Nature*, 503, 397-401.
- NAKATSUJI, T., CHEN, T. H., NARALA, S., CHUN, K. A., TWO, A. M., YUN, T., SHAFIQ, F., KOTOL, P. F., BOUSLIMANI, A., MELNIK, A. V., LATIF, H., KIM, J. N., LOCKHART, A., ARTIS, K., DAVID, G., TAYLOR, P., STREIB, J., DORRESTEIN, P. C., GRIER, A., GILL, S. R., ZENGLER, K., HATA, T. R., LEUNG, D. Y. & GALLO, R. L. 2017. Antimicrobials from human skin commensal bacteria protect against *Staphylococcus aureus* and are deficient in atopic dermatitis. *Sci Transl Med*, 9.
- NAKATSUJI, T., CHEN, T. H., TWO, A. M., CHUN, K. A., NARALA, S., GEHA, R. S., HATA, T. R. & GALLO, R. L. 2016. *Staphylococcus aureus* Exploits Epidermal Barrier Defects in Atopic Dermatitis to Trigger Cytokine Expression. *Journal of Investigative Dermatology*, 136, 2192-2200.
- NAKATSUJI, T., HATA, T. R., TONG, Y., CHENG, J. Y., SHAFIQ, F., BUTCHER, A. M., SALEM, S. S., BRINTON, S. L., RUDMAN SPERGEL, A. K., JOHNSON, K., JEPSON, B., CALATRONI, A., DAVID, G., RAMIREZ-GAMA, M., TAYLOR, P., LEUNG, D. Y. M. & GALLO, R. L. 2021. Development of a human skin commensal microbe for bacteriotherapy of atopic dermatitis and use in a phase 1 randomized clinical trial. *Nature Medicine*, 27, 700-709.
- NÍ CHAOIMH, C., LAD, D., NICO, C., PUPPELS, G. J., WONG, X. F. C. C., COMMON, J. E., MURRAY, D. M., IRVINE, A. D. & HOURIHANE, J. O. B. 2023. Early initiation of short-term emollient use for the prevention of atopic dermatitis in high-risk infants—The STOP-AD randomised controlled trial. *Allergy*, 78, 984-994.
- OH, J., BYRD, A. L., DEMING, C., CONLAN, S., KONG, H. H. & SEGRE, J. A. 2014. Biogeography and individuality shape function in the human skin metagenome. *Nature*, 514, 59-64.

- OH, J., CONLAN, S., POLLEY, E. C., SEGRE, J. A. & KONG, H. H. 2012. Shifts in human skin and nares microbiota of healthy children and adults. *Genome Medicine*, 4, 77.
- OLESEN, C. M., INGHAM, A. C., THOMSEN, S. F., CLAUSEN, M. L., ANDERSEN, P. S., EDSLEV, S. M., YÜKSEL, Y. T., GUTTMAN-YASSKY, E. & AGNER, T. 2021. Changes in Skin and Nasal Microbiome and Staphylococcal Species Following Treatment of Atopic Dermatitis with Dupilumab. *Microorganisms*, 9.
- PALLER, A. S., BECK, L. A., BLAUVELT, A., SIEGFRIED, E. C., CORK, M. J., WOLLENBERG, A., CHEN, Z., KHOKHAR, F. A., VAKIL, J., ZHANG, A., BANSAL, A. & CYR, S. L. 2022. Infections in children and adolescents treated with dupilumab in pediatric clinical trials for atopic dermatitis—A pooled analysis of trial data. *Pediatric Dermatology*, 39, 187-196.
- PALMER, C. N. A., IRVINE, A. D., TERRON-KWIATKOWSKI, A., ZHAO, Y., LIAO, H., LEE, S. P., GOUDIE, D. R., SANDILANDS, A., CAMPBELL, L. E., SMITH, F. J. D., O'REGAN, G. M., WATSON, R. M., CECIL, J. E., BALE, S. J., COMPTON, J. G., DIGIOVANNA, J. J., FLECKMAN, P., LEWIS-JONES, S., ARSECULERATNE, G., SERGEANT, A., MUNRO, C. S., EL HOUATE, B., MCELREAVEY, K., HALKJAER, L. B., BISGAARD, H., MUKHOPADHYAY, S. & MCLEAN, W. H. I. 2006. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nature Genetics*, 38, 441-446.
- PARK, J., SCHWARDT, N. H., JO, J. H., ZHANG, Z., PILLAI, V., PHANG, S., BRADY, S. M., PORTILLO, J. A., MACGIBENY, M. A., LIANG, H., PENSLER, M., SOLDIN, S. J., YANOVSKI, J. A., SEGRE, J. A. & KONG, H. H. 2022. Shifts in the Skin Bacterial and Fungal Communities of Healthy Children Transitioning through Puberty. *J Invest Dermatol*, 142, 212-219.
- PASCAL, C., MAUCORT-BOULCH, D., GILIBERT, S., BOTTIGIOLI, D., VERDU, V., JAULENT, C., HACARD, F., BÉRARD, F., NICOLAS, J.-F. & NOSBAUM, A. 2020. Therapeutic management of adults with atopic dermatitis: comparison with psoriasis and chronic urticaria. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 34, 2339-2345.
- PATERNOSTER, L., STANDL, M., WAAGE, J., BAURECHT, H., HOTZE, M., STRACHAN, D. P., CURTIN, J. A., BØNNELYKKE, K., TIAN, C., TAKAHASHI, A., ESPARZA-GORDILLO, J., ALVES, A. C., THYSSEN, J. P., DEN DEKKER, H. T., FERREIRA, M. A., ALTMAIER, E., SLEIMAN, P. M., XIAO, F. L., GONZALEZ, J. R., MARENHOLZ, I., KALB, B., YANES, M. P., XU, C. J., CARSTENSEN, L., GROEN-BLOKHUIS, M. M., VENTURINI, C., PENNELL, C. E., BARTON, S. J., LEVIN, A. M., CURJURIC, I., BUSTAMANTE, M., KREINER-MØLLER, E., LOCKETT, G. A., BACELIS, J., BUNYAVANICH, S., MYERS, R. A., MATANOVIC, A., KUMAR, A., TUNG, J. Y., HIROTA, T., KUBO, M., MCARDLE, W. L., HENDERSON, A. J., KEMP, J. P., ZHENG, J., SMITH, G. D., RÜSCHENDORF, F., BAUERFEIND, A., LEE-KIRSCH, M. A., ARNOLD, A., HOMUTH, G., SCHMIDT, C. O., MANGOLD, E., CICHON, S., KEIL, T., RODRÍGUEZ, E., PETERS, A., FRANKE, A., LIEB, W., NOVAK, N., FÖLSTER-HOLST, R., HORIKOSHI, M., PEKKANEN, J., SEBERT, S., HUSEMOEN, L. L., GRARUP, N., DE JONGSTE, J. C., RIVADENEIRA, F., HOFMAN, A., JADDOE, V. W., PASMANS, S. G., ELBERT, N. J., UITTERLINDEN, A. G., MARKS, G. B., THOMPSON, P. J., MATHESON, M. C., ROBERTSON, C. F., RIED, J. S., LI, J., ZUO, X. B., ZHENG, X. D., YIN, X. Y., SUN, L. D., MCALEER, M. A., O'REGAN, G. M., FAHY, C. M., CAMPBELL, L. E., MACEK, M., KUREK, M., HU, D., ENG, C., POSTMA, D. S., FEENSTRA, B., GELLER, F., HOTTENGA, J. J., MIDDELDORP, C. M., HYSI, P., BATAILLE, V., SPECTOR, T., TIESLER, C. M., et al. 2015. Multi-ancestry genome-wide association study of 21,000 cases and 95,000 controls identifies new risk loci for atopic dermatitis. *Nat Genet*, 47, 1449-1456.
- PLEWIG, G., RUZICKA, T. & KAUFMANN, R. 2017. *Braun-Falco's Dermatologie, Venerologie und Allergologie*, Berlin, Heidelberg, Springer.
- QUIROZ, F. G., FIORE, V. F., LEVORSE, J., POLAK, L., WONG, E., PASOLLI, H. A. & FUCHS, E. 2020. Liquid-liquid phase separation drives skin barrier formation. *Science*, 367, eaax9554.

- RAMÍREZ-MARÍN, H. A. & SILVERBERG, J. I. 2022. Differences between pediatric and adult atopic dermatitis. *Pediatric Dermatology*, 39, 345-353.
- RAUER, L., REIGER, M., BHATTACHARYYA, M., BRUNNER, P. M., KRUEGER, J. G., GUTTMAN-YASSKY, E., TRIDL-HOFFMANN, C. & NEUMANN, A. U. 2023. Skin microbiome and its association with host cofactors in determining atopic dermatitis severity. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*.
- REICH, K., THYSSEN, J. P., BLAUVELT, A., EYERICH, K., SOONG, W., RICE, Z. P., HONG, H. C., KATOH, N., VALENZUELA, F., DIBONAVENTURA, M., BRATT, T. A., ZHANG, F., CLIBBORN, C., ROJO, R., VALDEZ, H. & KERKMANN, U. 2022. Efficacy and safety of abrocitinib versus dupilumab in adults with moderate-to-severe atopic dermatitis: a randomised, double-blind, multicentre phase 3 trial. *Lancet*, 400, 273-282.
- RENZ, H. & SKEVAKI, C. 2021. Early life microbial exposures and allergy risks: opportunities for prevention. *Nature Reviews Immunology*, 21, 177-191.
- RING, J., ZINK, A., ARENTS, B. W. M., SEITZ, I. A., MENSING, U., SCHIELEIN, M. C., WETTEMANN, N., CARLO, G. & FINK-WAGNER, A. 2019. Atopic eczema: burden of disease and individual suffering – results from a large <sc>EU</sc> study in adults. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 33, 1331-1340.
- SANMIGUEL, A. J., MEISEL, J. S., HORWINSKI, J., ZHENG, Q., BRADLEY, C. W. & GRICE, E. A. 2018. Antiseptic Agents Elicit Short-Term, Personalized, and Body Site-Specific Shifts in Resident Skin Bacterial Communities. *J Invest Dermatol*, 138, 2234-2243.
- SAWADA, Y., TONG, Y., BARANGI, M., HATA, T., WILLIAMS, M. R., NAKATSUJI, T. & GALLO, R. L. 2019. Dilute bleach baths used for treatment of atopic dermatitis are not antimicrobial in vitro. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 143, 1946-1948.
- SCHARSCHMIDT, T. C. & FISCHBACH, M. A. 2013. What lives on our skin: ecology, genomics and therapeutic opportunities of the skin microbiome. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*, 10, e83-e89.
- SHUAI, K. & LIU, B. 2003. Regulation of JAK–STAT signalling in the immune system. *Nature Reviews Immunology*, 3, 900-911.
- SIMPSON, E. L., BRUIN-WELLER, M., FLOHR, C., ARDERN-JONES, M. R., BARBAROT, S., DELEURAN, M., BIEBER, T., VESTERGAARD, C., BROWN, S. J., CORK, M. J., DRUCKER, A. M., EICHENFIELD, L. F., FOELSTER-HOLST, R., GUTTMAN-YASSKY, E., NOSBAUM, A., REYNOLDS, N. J., SILVERBERG, J. I., SCHMITT, J., SEYGER, M. M. B., SPULS, P. I., STALDER, J.-F., SU, J. C., TAKAOKA, R., TRIDL-HOFFMANN, C., THYSSEN, J. P., VAN DER SCHAFT, J., WOLLENBERG, A., IRVINE, A. D. & PALLER, A. S. 2017. When does atopic dermatitis warrant systemic therapy? Recommendations from an expert panel of the International Eczema Council. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 77, 623-633.
- SIMPSON, E. L., CHALMERS, J. R., HANIFIN, J. M., THOMAS, K. S., CORK, M. J., MCLEAN, W. H. I., BROWN, S. J., CHEN, Z., CHEN, Y. & WILLIAMS, H. C. 2014. Emollient enhancement of the skin barrier from birth offers effective atopic dermatitis prevention. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 134, 818-823.
- SKJERVEN, H. O., REHBINDER, E. M., VETTUKATTIL, R., LEBLANC, M., GRANUM, B., HAUGEN, G., HEDLIN, G., LANDRØ, L., MARSLAND, B. J., RUDI, K., SJØBORG, K. D., SÖDERHÄLL, C., STAFF, A. C., CARLSEN, K.-H., ASARNOJ, A., BAINS, K. E. S., CARLSEN, O. C. L., ENDRE, K. M. A., GRANLUND, P. A., HERMANSEN, J. U., GUDMUNDSDÓTTIR, H. K., HILDE, K., HÅLAND, G., KREYBERG, I., OLSEN, I. C., MÄGI, C.-A. O., NORDHAGEN, L. S., SAUNDERS, C. M., SKRINDO, I., TEDNER, S. G., VÆRNESBRANDEN, M. R., WIIK, J., JONASSEN, C. M., NORDLUND, B. & CARLSEN, K. C. L. 2020. Skin emollient and early complementary feeding to prevent infant atopic dermatitis (PreventADALL): a factorial, multicentre, cluster-randomised trial. *The Lancet*, 395, 951-961.
- SPAULDING, A. R., SALGADO-PABÓN, W., KOHLER, P. L., HORSWILL, A. R., LEUNG, D. Y. M. & SCHLIEVERT, P. M. 2013. Staphylococcal and Streptococcal Superantigen Exotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 26, 422-447.

- STALDER, J. F., FLEURY, M., SOURISSE, M., ROSTIN, M., PHELINE, F. & LITOUX, P. 1994. Local steroid therapy and bacterial skin flora in atopic dermatitis. *Br J Dermatol*, 131, 536-40.
- TAKAI, T. & IKEDA, S. 2011. Barrier dysfunction caused by environmental proteases in the pathogenesis of allergic diseases. *Allergol Int*, 60, 25-35.
- THAMMAVONGSA, V., KIM, H. K., MISSIAKAS, D. & SCHNEEWIND, O. 2015. Staphylococcal manipulation of host immune responses. *Nature Reviews Microbiology*, 13, 529-543.
- TOTRI, C. R., EICHENFIELD, L. F., LOGAN, K., PROUDFOOT, L., SCHMITT, J., LARA-CORRALES, I., SUGARMAN, J., TOM, W., SIEGFRIED, E., CORDORO, K., PALLER, A. S. & FLOHR, C. 2017. Prescribing practices for systemic agents in the treatment of severe pediatric atopic dermatitis in the US and Canada: The PeDRA TREAT survey. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 76, 281-285.
- TOTTÉ, J. E. E., VAN DER FELTZ, W. T., HENNEKAM, M., VAN BELKUM, A., VAN ZUUREN, E. J. & PASMANS, S. G. M. A. 2016. Prevalence and odds of *Staphylococcus aureus* carriage in atopic dermatitis: a systematic review and meta-analysis. *British Journal of Dermatology*, 175, 687-695.
- TRIDL, S., FREIMOOSER, S. & WERFEL, T. 2021. Janus kinase inhibitors for the therapy of atopic dermatitis. *Allergologie select*, 5, 293-304.
- WERFEL, T., HERATIZADEH, A., ABERER, W., AHRENS, F., AUGUSTIN, M., BIEDERMANN, T., DIEPGEN, T., FÖLSTER-HOLST, R., KAHLE, J., KAPP, A., NEMAT, K., PETERS, E., SCHLAEGER, M., SCHMID-GRENDELMEIER, P., SCHMITT, J., SCHWENNESEN, T., STAAB, D., TRIDL-HOFFMANN, C., WERNER, R., WOLLENBERG, A., WORM, M. & OTT, H. 2021. Update "Systemic treatment of atopic dermatitis" of the S2k-guideline on atopic dermatitis. *J Dtsch Dermatol Ges*, 19, 151-168.
- WERFEL, T., HERATIZADEH, A., NIEBUHR, M., KAPP, A., ROESNER, L. M., KARCH, A., ERPENBECK, V. J., LÖSCHE, C., JUNG, T., KRUG, N., BADORREK, P. & HOHLFELD, J. M. 2015. Exacerbation of atopic dermatitis on grass pollen exposure in an environmental challenge chamber. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 136, 96-103.e9.
- WILLIAMS, M. R., COSTA, S. K., ZAMELA, L. S., KHALIL, S., TODD, D. A., WINTER, H. L., SANFORD, J. A., O'NEILL, A. M., LIGGINS, M. C., NAKATSUJI, T., CECH, N. B., CHEUNG, A. L., ZENGLER, K., HORSWILL, A. R. & GALLO, R. L. 2019. Quorum sensing between bacterial species on the skin protects against epidermal injury in atopic dermatitis. *Science Translational Medicine*, 11, eaat8329.
- WILLIAMS, M. R., NAKATSUJI, T. & GALLO, R. L. 2017. *Staphylococcus aureus*: Master Manipulator of the Skin. *Cell Host & Microbe*, 22, 579-581.
- WILLIAMS, R. E. 1963. Healthy carriage of *Staphylococcus aureus*: its prevalence and importance. *Bacteriol Rev*, 27, 56-71.
- WOESE, C. R. & FOX, G. E. 1977. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74, 5088-5090.
- WOLLENBERG, A., BARBAROT, S., BIEBER, T., CHRISTEN-ZAECH, S., DELEURAN, M., FINK-WAGNER, A., GIELER, U., GIROLOMONI, G., LAU, S., MURARO, A., CZARNECKA-OPERACZ, M., SCHÄFER, T., SCHMID-GRENDELMEIER, P., SIMON, D., SZALAI, Z., SZEPIETOWSKI, J. C., TAÏEB, A., TORRELO, A., WERFEL, T. & RING, J. 2018. Consensus-based European guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) in adults and children: part I. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 32, 657-682.
- WOLLENBERG, A., BLAUVELT, A., GUTTMAN-YASSKY, E., WORM, M., LYNDE, C., LACOUR, J. P., SPELMAN, L., KATOH, N., SAEKI, H., POULIN, Y., LESIAK, A., KIRCIK, L., CHO, S. H., HERRANZ, P., CORK, M. J., PERIS, K., STEFFENSEN, L. A., BANG, B., KUZNETSOVA, A., JENSEN, T. N., ØSTERDAL, M. L. & SIMPSON, E. L. 2021. Tralokinumab for moderate-to-severe atopic dermatitis: results from two 52-week,

- randomized, double-blind, multicentre, placebo-controlled phase III trials (ECZTRA 1 and ECZTRA 2)*. *British Journal of Dermatology*, 184, 437-449.
- WOLLENBERG, A., KINBERGER, M., ARENTS, B., ASZODI, N., AVILA VALLE, G., BARBAROT, S., BIEBER, T., BROUGH, H. A., CALZAVARA PINTON, P., CHRISTEN-ZÄCH, S., DELEURAN, M., DITTMANN, M., DRESSLER, C., FINK-WAGNER, A. H., FOSSE, N., GÁSPÁR, K., GERBENS, L., GIELER, U., GIROLOMONI, G., GREGORIOU, S., MORTZ, C. G., NAST, A., NYGAARD, U., REDDING, M., REHBINDER, E. M., RING, J., ROSSI, M., SERRA-BALDRICH, E., SIMON, D., SZALAI, Z. Z., SZEPIETOWSKI, J. C., TORRELO, A., WERFEL, T. & FLOHR, C. 2022. European guideline (EuroGuiDerm) on atopic eczema: part I – systemic therapy. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 36, 1409-1431.
- WONG, G. W. K., LEUNG, T. F. & KO, F. W. S. 2013. Changing Prevalence of Allergic Diseases in the Asia-Pacific Region. *Allergy, Asthma & Immunology Research*, 5, 251.
- WU, J. J., HONG, C.-H., MEROLA, J. F., GRUBEN, D., GÜLER, E., FEENEY, C., BHAMBRI, A., MYERS, D. E. & DIBONAVENTURA, M. 2022. Predictors of nonresponse to dupilumab in patients with atopic dermatitis. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 129, 354-359.e5.
- WÜTHRICH, B. & SCHMID-GRENDELMEIER, P. 2003. The atopic eczema/dermatitis syndrome. Epidemiology, natural course, and immunology of the IgE-associated ("extrinsic") and the nonallergic ("intrinsic") AEDS. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 13, 1-5.
- YEPES-NUÑEZ, J. J., GUYATT, G. H., GÓMEZ-ESCOBAR, L. G., PÉREZ-HERRERA, L. C., CHU, A. W. L., CECCACI, R., ACOSTA-MADIEDO, A. S., WEN, A., MORENO-LÓPEZ, S., MACDONALD, M., BARRIOS, M., CHU, X., ISLAM, N., GAO, Y., WONG, M. M., COUBAN, R., GARCIA, E., CHAPMAN, E., OYKHMANN, P., CHEN, L., WINDERS, T., ASINIWASIS, R. N., BOGUNIEWICZ, M., DE BENEDETTO, A., ELLISON, K., FRAZIER, W. T., GREENHAWT, M., HUYNH, J., KIM, E., LEBOVIDGE, J., LIND, M. L., LIO, P., MARTIN, S. A., O'BRIEN, M., ONG, P. Y., SILVERBERG, J. I., SPERGEL, J., WANG, J., WHEELER, K. E., SCHNEIDER, L. & CHU, D. K. 2023. Allergen immunotherapy for atopic dermatitis: Systematic review and meta-analysis of benefits and harms. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 151, 147-158.
- ZHONG, Y., SAMUEL, M., BEVER, H. & THAM, E. H. 2022. Emollients in infancy to prevent atopic dermatitis: A systematic review and meta-analysis. *Allergy*, 77, 1685-1699.
- ZIMMERMANN, M., RIND, D., CHAPMAN, R., KUMAR, V., KAHN, S. & CARLSON, J. 2018. Economic Evaluation of Dupilumab for Moderate-to-Severe Atopic Dermatitis: A Cost-Utility Analysis. *J Drugs Dermatol*, 17, 750-756.
- ZIPPERER, A., KONNERTH, M. C., LAUX, C., BERSCHIED, A., JANEK, D., WEIDENMAIER, C., BURIAN, M., SCHILLING, N. A., SLAVETINSKY, C., MARSCHAL, M., WILLMANN, M., KALBACHER, H., SCHITTEK, B., BRÖTZ-OESTERHELT, H., GROND, S., PESCHEL, A. & KRISMER, B. 2016. Human commensals producing a novel antibiotic impair pathogen colonization. *Nature*, 535, 511-6.

8 Appendix

I. Abkürzungsverzeichnis

AD	atopische Dermatitis
AE	atopisches Ekzem
ASV	Amplicon- Sequenzvariante
AMP	Anti-microbielle Peptide
CNI	Calcineurininhibitor
CS	Corticosteroide
EASI	Eczema Area and Severity Index
GC	Glucokortikosteroid
HBD-3	Humanes β -defensin 3
IgE	Immunglobulin der Klasse E
IL	Interleukin
IL4-R α	Interleukin-4-Rezeptor alpha
JAK	Janus- Kinase
KNS	Koagulase-negative Staphylokokken
OTU	operativ taxonomische Einheiten
PCOA	Hauptkomponentenanalyse
ProRaD	Progressive Längsschnittstudie zur Untersuchung der Remissionsphase bei Patienten und Patientinnen mit atopischer Dermatitis
p.o.	peroral
RNS	Ribonukleinsäure
rRNS	Ribosomale Ribonukleinsäure
SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
SCORAD	SCORing atopic dermatitis
SOP	Standart operating procedure

TCS	topischer Corticosteroide
T _H	T-Helferzelle
top.	topisch
TSLP	Thymisch stromales Lymphopietin
WMS	Whole metagenomic sequencing

II. Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1:** **A** Betroffen ist die Beugeseite des Knies, es zeigen sich multiple, teils zu Plaques konfluierende, unscharf begrenzte erythematöse, teils exkorierte Papeln im Sinne eines typischen Beugeekzems bei atopischer Dermatitis **B** Junger Patient mit klassischer Manifestation einer atopischen Dermatitis im Säuglingsalter, sowie typischer Aussparung des Windelbereiches. Quelle: mit der freundlichen Genehmigung von Altmeyers Enzyklopädie 6
- Abbildung 2** Ekzemlokalisierungen und Prädilektionsstellen der atopischen Dermatitis in Abhängigkeit des Alters. *Grafik erstellt von RR in Biorender.com* (adaptiert nach Braun-Falco Dermatologie)..... 6
- Abbildung 3** Wechselwirkungen des Hautmikrobioms und der T_H2-Immunität bei atopischer Dermatitis. **(1)** Die genetisch bedingte Barrierestörung der Haut fördert das Wachstum des Bakteriums *S. aureus*, das seinerseits zur Schädigung der Hautbarriere und zu entzündlichen Prozessen der Haut beiträgt. **(2;3)** Entzündliche Prozesse stimulieren die Expression von TSLP, IL-25 und IL-33 in Keratinozyten. **(4)** Unter anderem diese Zytokine induzieren die Differenzierung naiver T-Helferzellen (T_H0-Zellen) in T-Helferzellen vom Typ 2 (T_H2-Zellen). **(5)** T_H2-Zellen exprimieren die proinflammatorischen Zytokine IL-4, IL-5 und IL-13. **(A)** IL-4 fördert in einem sich selbst verstärkenden Kreislauf die Differenzierung weiterer naiver T_H0-Zellen. **(B)** IL-4 und IL-13 hemmen die Expression des Zellmatrixproteins Filaggrin. Dies führt zu einer weiteren Verschlechterung der Barriereigenschaften der Haut. **(C)** IL-4 und IL-13 hemmen die Sekretion antimikrobieller Peptide (AMPs) wie Cathelicidin und β -Defensin 2 und fördern so die Überwucherung mit *S. aureus*. **(D)** IL-4 induziert die Differenzierung von B-Zellen und regt diese zur Produktion von Immunglobulinen des Typs E (IgE) an. Diese lösen wiederum durch Bindung an Mastzellen die Degranulation und Histaminfreisetzung aus. Histamin wirkt proinflammatorisch und induziert Juckreiz. Kratzen ist die Folge des Juckreizes. Die mechanische Irritation der Hautbarriere treibt die Entzündung und Barrierestörung weiter voran. *Grafik erstellt von RR in Biorender.com*..... 9
- Abbildung 5: Qualitätskontrolle der Sequenzierung.** Vergleich der Sequenzierdurchläufe. Dargestellt ist Anzahl der ASVs sowie die Häufigkeit der Replikate für jeden der Sequenzierdurchläufe. 24
- Abbildung 6: Darstellung der Kopien und Replikate in den Negativkontrollen** (Wasser) des next-Generation Sequencing. Die Skalierung der Achsen wurden entsprechend der niedrigen Werte automatisch angepasst. Um Kontaminationen auszuschließen wurden ASVs unterhalb von 5000 reads nicht berücksichtigt. 25
- Abbildung 7: Stufenschema zur Therapie der atopischen Dermatitis.** Modifiziert nach (Wollenberg et al., 2018) Die Anzahl der eingeschlossenen Teilnehmenden ist in Klammern dargestellt. (CS – Corticosteroide, CNI- Calcineurininhibitoren, top.-topische appliziert) 26
- Tabelle 1:** Unterscheidung des Unterschiedlichen Ausprägungen und Therapiestufen, adaptiert nach (Wollenberg et al. 2018) 26
- Abbildung 8 Arbeits- und Selektionsschritte im Rahmen der Hauttrockenabstrichanalyse.** Dargestellt sind die Selektion und Analyse der Proben. Lediglich vollständige Metadatenätze für die Versuchspersonen wurden in die Analyse einbezogen, unvollständige Datensätze wurden bis auf die Erhebungsbögen zurückverfolgt und bei

fehlender Information ausgeschlossen. (NEG-Negativkontrolle; SCORAD-SCORing atopic dermatitis; *S. aureus* -Staphylococcus aureus) 28

Abbildung 9: Altersverteilung der untersuchten Kohorte (n=462). Dargestellt ist die Anzahl der Studienteilnehmenden des jeweiligen Alters. Das arithmetische Mittel beträgt 35,97 Jahre bei einer Standardabweichung von $\pm 20,28$ Jahren
30

Abbildung 10: Anamnestisches Geschlecht der untersuchten Kohorte unterteilt nach Ausprägung der AD . Dargestellt ist die absolute Anzahl der Versuchspersonen mit anamnestisch männlicher bzw. weiblicher Geschlechtsidentität. Unterschieden wird zwischen Teilnehmenden mit mildem, moderaten und schwerem SCORAD (<25 =mild; 25-50=moderat; >50 schwer). 31

Abbildung 11: Atopieanamnese der untersuchten Kohorte (n=462). Dargestellt ist die Anzahl der Teilnehmenden, sowie die jeweils anamnestisch erhobene Ausprägung der atopischen Dermatitis. Bei allen Teilnehmenden wurden läsionale Trockenhautabstriche gewonnen. (*AD- atopische Dermatitis*) 32

Abbildung 12: Schweregrad der atopischen Dermatitis innerhalb des untersuchten Kollektivs (n=464). Dargestellt ist die Ausprägung der atopischen Dermatitis und ihre objektive Erfassung durch globalen SCORAD. In dieser Darstellung erfolgte eine Unterteilung in mild, moderat und schwer auf Basis der Therapiegrenzen zur Therapie der atopischen Dermatitis. 32

Abbildung 13: Therapiestufe der untersuchten Kohorte entsprechend der Leitlinie zur Therapie der atopischen Dermatitis. Dargestellt ist die Anzahl der Teilnehmenden pro Therapiestufe (n=453). Stufe 1 entspricht einer Basistherapie mit fettenden Externa (Emollients), Betroffenenedukation und Allergenmeidung. Stufe 2 entspricht einer lokalen Therapie mit topischen Corticosteroiden der Klasse II und topischen Calcineurininhibitoren. Stufe III umfasst die lokale Therapie mit topischen Corticosteroiden der Klasse III. Stufe IV umfasst Teilnehmende unter Systemtherapie mit immunmodulatorischen Substanzen. 33

Abbildung 14: Verteilung innerhalb der Therapiestufen in Abhängigkeit des Schweregrades der atopischen Dermatitis Dargestellt ist die Therapiestufe der Teilnehmenden sowie die Mediane Therapiestufe in Abhängigkeit des SCORAD. Die statistische Analyse erfolgte durch zweiseitigen Man-Whitney U Test. Für $p < 0,05$ wurde statistische Signifikanz angenommen. ($p_1 < 0,001$; $p_2 = 0,001$)..... 33

Abbildung 15: Korrelation von Alter und relativer Häufigkeit von *Staphylokokkus aureus* Das Alter der Teilnehmenden wurde zum Zeitpunkt t0 der Abstrichgewinnung bei Erstvorstellung erfragt. Der gekennzeichnete Bereich um die Regressionsgerade markiert das Konfidenzintervall (95%) dar. Die statistische Analyse erfolgte durch zweiseitige Spearman Rangsummenkorrelation. Für $\rho > 0,5$ wurde eine starke positive Korrelation angenommen. 34

Abbildung 16: Vergleich der relativen *S. aureus* Häufigkeit zwischen Proben anamnestisch männlicher und weiblicher Studienteilnehmender. Statistische Auswertung erfolgte durch zweiseitigen Mann-Whitney U. Für $p < 0,05$ wurde statistische Signifikanz angenommen. Abgebildet sind die Einzelwerte, sowie der Mittelwert (m und Standardabweichung. ($n=462$; $p=0,36$) 35

Abbildung 17: Taxonomische Verteilung der bakteriellen Arten aller läsionalen Proben Dargestellt ist die relative Häufigkeit der 15 häufigsten bakteriellen Spezies in Abhängigkeit des Hautzustandes. Dieser wurde durch den SCORAD abgebildet, wobei zwischen milder, moderater und schwerer

Ausprägung der AD unterschieden wurde. Bakterielle Spezies ohne mögliche Zuordnung sind lila dargestellt. 36

Abbildung 18: Korrelation von SCORAD und relativer Häufigkeit von *S. aureus*.

Abgebildet sind SCORAD läsionaler Proben (n=462) zum Zeitpunkt t0 der Materialgewinnung bei Erstvorstellung. Jeder Punkt markiert Score und rel. *S. aureus* Häufigkeit einer Versuchsperson. Der farblich gekennzeichnete Bereich um die Regressionsgerade kennzeichnet das Konfidenzintervall (95%). Statistische Analyse der Korrelation für nicht-normalverteilte Daten erfolgte durch einseitige Spearman Rangsummenkorrelation. Für $\rho > 0,5$ wurde eine starke positive Korrelation angenommen..... 36

Abbildung 19: Taxonomische Unterscheidung der 10 häufigsten Familien und Spezies.

Dargestellt ist die relative Häufigkeit der 10 häufigsten bakteriellen Familien und Spezies in läsionalen Trockenhautabstrichen von Teilnehmenden mit AD. Verglichen wurden unterschiedliche Therapiestufen, jeweils innerhalb eines Schweregrades (mild, moderat, schwer). Die Teilnehmendenzahl des jeweiligen Ausprägungsgrades, bzw. der jeweiligen Therapiestufe sind in den farblich hinterlegten Kästen angegeben. Die gewählten Therapiestufen entsprechen dem in Abbildung 7 dargestellten „Stufenschema zur Therapie der atopischen Dermatitis“ 38

Abbildung 20: relative *S. aureus*-Häufigkeit und α -Diversität des Hautmikrobioms im Vergleich unterschiedlicher Therapiestufen bei mild ausgeprägter, atopischer Dermatitis.

Dargestellt sind Richness, Evenness und Shannon Diversity Index als Parameter der mikrobiellen Diversität sowie Mittelwert und Standardabweichung. Jeder Punkt bildet eine läsionale Abstrichprobe einer Versuchsperson ab. Unterscheidung der Therapie erfolgte anhand der in Abbildung 7 dargestellten Therapiestufen. Statistische Auswertung der Unterschiede zwischen den Gruppen erfolgte durch Kurskal-Wallace Test. Statistische Signifikanz wurde ab einem $p < 0,05$ angenommen. ($p_A = 0,81$; $p_B = 0,26$; $p_C = 0,44$; $p_D = 0,69$)..... 39

Abbildung 21: relative *S. aureus*-Häufigkeit und α -Diversität des Hautmikrobioms im Vergleich unterschiedlicher Therapiestufen bei moderat ausgeprägter, atopischer Dermatitis.

Dargestellt sind Richness, Evenness und Shannon Diversity Index als Parameter der mikrobiellen Diversität sowie Mittelwert und Standardabweichung. Jeder Punkt bildet eine läsionale Abstrichprobe eines ab. Die Unterscheidung der Therapie erfolgte anhand der in Abbildung 7 dargestellten Therapiestufen. Statistische Auswertung der Unterschiede zwischen den Gruppen erfolgte durch Kurskal-Wallace Test. Statistische Signifikanz wurde ab einem $p < 0,05$ angenommen. ($p_A = 0,02$ (*); $p_B = 0,17$; $p_C = 0,15$; $p_D = 0,46$)..... 40

Abbildung 22: relative *S. aureus*-Häufigkeit und α -Diversität des Hautmikrobioms im Vergleich unterschiedlicher Therapiestufen bei schwer ausgeprägter, atopischer Dermatitis.

Dargestellt sind Richness, Evenness und Shannon Diversity Index als Parameter der mikrobiellen Diversität sowie Mittelwert und Standardabweichung. Jeder Punkt bildet eine läsionale Abstrichprobe einer Versuchsperson ab. Die Unterscheidung der Therapie erfolgte anhand der in Abbildung 7 dargestellten Therapiestufen. Statistische Auswertung der Unterschiede zwischen den Gruppen erfolgte durch Kurskal-Wallace Test. Statistische Signifikanz wurde ab einem $p < 0,05$ angenommen. ($p_A = 0,13$; $p_B = 0,35$; $p_C = 0,52$; $p_D = 0,75$)..... 41

Abbildung 23: β -Diversität des Hautmikrobioms im Vergleich unterschiedlicher Therapiestufen und Ausprägungen der atopischen Dermatitis.

Durch PCA dargestellt ist die Distanz zwischen den verschiedenen Proben. Jeder Punkt bildet eine läsionale Abstrichprobe ab. Unterscheidung der Therapie

erfolgte wird Anhand der in Abbildung 7 dargestellten Therapiestufen. Statistische Signifikanz wurde ab einem $p < 0.05$ angenommen..... 43

Abbildung 24: relative Häufigkeit von *S. aureus* in läsionalen Abstrichen (n=36) von Versuchspersonen unter systemisch-immunsuppressiver Therapie. Dargestellt ist die relative Häufigkeit von *S. aureus* pro Versuchsperson sowie der arithmetische Mittelwert und die Standardabweichung. Aufgeführt sind On- und off-Label-Therapien der atopischen Dermatitis zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses..... 44

III. Danksagung

Prof. Dr. med. Claudia Traidl-Hoffmann danke ich für die Überlassung des Themas und die wohlwollende Unterstützung meines Promotionsvorhabens.

Dr. rer. nat. Claudia Hülpiusch danke ich für exzellente Betreuung, Unterstützung bei Auswertung und Durchführung der Dissertation, sowie geduldige Korrektur.

Mein Dank gilt außerdem der Kühne-Stiftung und allen Studienzentren, sowie ihren Studienärztinnen, Studienärzten und Studienteams, für die Möglichkeit der Datenanalyse aus ProRaD. Besonderer Dank gilt den Teams der Standorte Augsburg und Bonn.

Weiterhin gilt mein besonderer Dank Amedeo de Tomassi, sowie der „core facility microbiome“ des ZIEL Freisingen und Dr. Neuhaus für die sorgfältige Laborarbeit und Sequenzierung der Hauttrockenabstriche.

Auch möchte ich allen Mitarbeitenden des Instituts für Umweltmedizin für eine kollegiale Atmosphäre und die gemeinsame Zeit danken.

Meinen Eltern Prof. Dr. med. Jacques Rohayem, PD Dr. med. Julia Rohayem, meinem Bruder Felix Rohayem und meiner Verlobten Dr. med. Caren Schmidt sowie meinem Großvater Dr. iur. Ingolf Bode möchte ich für Rat, Unterstützung und Ermutigung danken.

SOP Hautmikrobiomsabstrichgewinnung



1. Ziel

Entnahme von Biomaterialien für die medizinische Forschung

2. Hintergrund

SOP zur Gewinnung von Haut- und Nasenabstriche für Haut- und Nasenmikrobiom

3. Geltungsbereich

ProRaD-Studie: Patienten mit atopischer Dermatitis und assoziierten Erkrankungen
Beobachtungs- und Studienzeitraum ab 2019

Diese SOP gilt für:

Institut für Umweltmedizin
UNIKA-T, Technische Universität München
Neusässer Str. 47, 86156 Augsburg (D)

4. Vorgehen

4.1 Materialien

1. Hautabstriche: Abstrichsystem mit beiliegendem Röhrchen.
Produktinformationen: "Abstrichsystem Amies-Medium mit Kunststoffstab, 150x12mm"
Süsse Abstrichsystem mit beiliegendem Röhrchen befüllt mit Amies Medium;
Größe: 150 x 12 mm; Artikel-Nr.: 11770M; VE: 400 Stück.
Die gängigen Wattetupfer mit Holzstiel sind nicht geeignet.
2. Biomaterialdokumentationsbogen für Haut- und Nasenmikrobiom:
ProRaD_Biomaterial_Mikrobiom_20190809_DL
3. Mundschutz, Handschuhe
4. QR-Code-Etiketten für Biomaterialproben?



4.2 Vorbereitung

1. Für die Vorbereitung und Präparation der Abstrich-Röhrchen zwingend Handschuhe und Mundschutz tragen, um Kontamination mit eigener DNA zu vermeiden.
2. Das Biomaterialabnahmeset inklusive aller oben erwähnten Materialien, Etiketten und dem Biomaterialdokumentationsbogen muss vor der Patientensite vorbereitet werden.

5. Hautmikrobiom

5.1 Durchführung:

1. Hautabstrich-Prozess dem Probanden erklären.
2. Mundschutz und Handschuhe anziehen.
3. Hautabstriche müssen unbedingt vor der Blutabnahme abgenommen werden, da die Haut auf keinen Fall vor dem Hautabstrich desinfiziert werden darf.
4. Abstrichsystem mit beiliegendem Röhrchen sollten unmittelbar vor der Abstrichnahme entpackt werden, um eine Kontamination zu vermeiden.
5. Der Abstrich sollte von der akuten Läsion, wenn vorhanden, abgenommen werden. Andersfalls wird der Abstrich von der Ellenbeuge abgenommen.
6. Abstrichgewinnung erfolgt jeweils durch sanftes Vor- und Zurückreiben (20x in 15 Sekunden) auf einem Bereich von 2-4 cm².
7. Abstrichsystem in das beiliegende Röhrchen geben ohne den Rand zu berühren. Röhrchen fest verschließen.
8. Das Röhrchen beschriften: Probandennummer, Abstrichentnahmestelle, Datum.
9. Die Durchführung wird auf dem Biomaterialdokumentationsbogen für Haut- und Nasenmikrobiom dokumentiert, inklusive Hautstatus und Entnahmestelle und falls erforderlich zusätzlichen Kommentaren.
10. Das Röhrchen wird bei Raumtemperatur gelagert und nach der Untersuchung in das Labor am Institut gebracht.

5.2 Dokumentation auf dem Biomaterialdokumentationsbogen:

1. Liegt ein schriftliches Einverständnis zur Biomaterialgewinnung vom Probanden vor?
 Ja Nein (falls Nein: obligatorisch einzuholen.)
2. Wo wurde der Abstrich entnommen?
 Code Läsion eintragen |__|__| (siehe Rückseite für Codierung),
 oder Code Ellenbeuge |_A_|_c_|
 Entnahmestelle: rechts links
3. Wurde die Haut in den letzten 12 Stunden gewaschen?
 Nein Ja
 Falls Ja: welche Pflegeprodukte wurden angewendet? Bitte aufzählen.
4. Wurde die Haut in den letzten 12 Stunden mit topischen Medikamenten (Insbesondere mit Steroiden oder/und Antiseptika, Antibiotika, Calcineurininhibitoren) behandelt oder wurden Pflegeprodukte angewendet?
 Nein Ja
 Falls Ja, welche Präparate wurden angewendet?
5. Zusätzlichen Kommentare, falls erforderlich.

6. Biomaterialtransport und Lagerung

Am Institut Bescheid geben, dass die Abstriche abgeholt werden können. Alle Röhrchen müssen mit dem komplett ausgefüllten Biomaterialbegleitschein am gleichen Tag bei Raumtemperatur an das Labor am Institut geliefert werden.

IV. Ethikvotum

23. 05. 2017



Technische Universität München

Technische Universität München · Fakultät für Medizin · Ethikkommission
Ismaninger Str. 22 · 81675 München · Germany



Fakultät für Medizin
Ethikkommission

Klinikum rechts der Isar
Lehrstuhl und Institut für Umweltmedizin
UNIKA-T
Prof. Dr. med. Claudia Traidl-Hoffmann
Neusässer Str. 47
86156 Augsburg

Prof. Dr.
Georg Schmidt
Vorsitzender

Prof. Dr.
Kurt Ulm
Stellvertretender Vorsitzender

München, 17.05.2017/S

Unser Zeichen: **112/16 S** (bitte bei Schriftwechsel angeben)

**Beratung nach § 15 Berufsordnung für Ärzte in Bayern
Ergänzung zum Votum vom 22.03.2016**

Ismaninger Str. 22
81675 München
Germany

Tel +49 89 4140 4371
Fax +49 89 4140 4199

Studientitel: Prospektive Längsschnittstudie zur Untersuchung der
Remissionsphase bei Patienten mit atopischer Dermatitis
und assoziierten Erkrankungen wie Asthma und allergischer Rhinitis (Heuschnupfen)
(ProRaD)
Antragsteller: Prof. Dr. med. Claudia Traidl-Hoffmann

ethikkommission@mri.tum.de
www.ek.med.tum.de

Sehr geehrte Frau Prof. Traidl-Hoffmann,

die Ethikkommission hat die unten gelisteten ergänzten/geänderten Unterlagen, Ihr Schreiben vom
24.04.2017, Eingang am 03.05.2017, geprüft.

Die Auflagen aus dem Votum vom 22.03.2016 sind hiermit erfüllt.

Mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. Georg Schmidt
Vorsitzender der Ethikkommission

Unterlagen vom 24.04.2017 (Eingang 03.05.2017)

Anschreiben 24.04.2017

Anlagenliste

Beobachtungsplan Version 4.1 21.04.2017

Patienteninformation und Einwilligungserklärung Eltern V4 21.04.2017

Patienteninformation und Einwilligungserklärung Eltern Biobank V4 21.04.2017

Patienteninformation und Einwilligungserklärung Erwachsene V4 21.04.2017

Patienteninformation und Einwilligungserklärung Erwachsene Biobank V4 21.04.2017

PRORAD-Aufnahme-Basisfragebogen 21.12.2016