

Aus der Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde
Universitätsklinik der Technischen Universität Dresden
Direktor: Herr Prof. Dr. med. Dr. h.c. Thomas Zahnert

**Mikrobielle Besiedlung der Nasenschleimhaut von postinfektiösen Patienten mit
Riechstörung**

D i s s e r t a t i o n s s c h r i f t

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt

der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus

der Technischen Universität Dresden

von

Elisabeth Hollemann

aus Jena

Dresden 2024

Gender-Erklärung:

Aus Gründen der besseren Lesbarkeit wird in dieser Dissertationsschrift die Sprachform des generischen Maskulinums angewandt. An dieser Stelle weise ich darauf hin, dass die ausschließliche Verwendung der männlichen Form geschlechtsunabhängig verstanden werden soll.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	III
1 Einleitung	1
1.1 <i>Das Nasenschleimhautmikrobiom</i>	5
1.2 <i>Nasenhöhle: Anatomie und Histologie, Rezeptormilieu und Einfluss des Mikrobioms</i>	10
1.3 <i>Geruchssinn und Riechstörungen</i>	14
1.4 <i>Motivation dieser Arbeit</i>	18
2 Material und Methoden	19
2.1 <i>Studiendesign und Stichprobenbeschreibung</i>	19
2.2 <i>Beschreibung von Material und Methoden.....</i>	23
2.2.1 <i>Fragebogen und subjektive Sinnesbewertung</i>	25
2.2.2 <i>Objektives Riech- und Schmeckvermögen</i>	26
2.2.3 <i>Molekularbiologische Analyse.....</i>	31
2.3 <i>Statistische Verfahren/ (statistische) Datenanalyse</i>	33
2.3.1 <i>Auswertung der Fragebögen und Klinischen Tests</i>	33
2.3.2 <i>Analyse des Mikrobioms</i>	35
3 Ergebnisse	38
3.1 <i>Fragebogen: Anamnese, Riech- und Schmecktestung</i>	38
3.2 <i>Mikrobielle Auswertung</i>	44
3.3 <i>Zusammenfassung der Ergebnisse.....</i>	52
4 Diskussion	54
4.1 <i>Diskussion der Ergebnisse: Mikrobielle Auswertung.....</i>	54
4.1.1 <i>Bakterielle Alpha-Diversität</i>	54
4.1.2 <i>Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaft.....</i>	57
4.1.3 <i>Einflussfaktoren der Variation.....</i>	60
4.2 <i>Diskussion der Methoden.....</i>	64
4.3 <i>Anamnese mittels Fragebogen, Testergebnisse des Riechens und Schmeckens.....</i>	66
4.3.1 <i>Demografische Aspekte</i>	66

4.3.2	Subjektive Einschätzung des Riechvermögens	68
4.3.3	Qualitative Sinnesstörungen	69
4.3.4	Beeinträchtigung der Lebensqualität	70
4.3.5	<i>Sniffin Sticks</i> : objektives Riechvermögen	71
5	Zusammenfassung und Ausblick	72
6	Summary.....	73
7	Abbildungsverzeichnis	IV
8	Tabellenverzeichnis	VI
9	Literaturverzeichnis	VII
10	Veröffentlichung und Vortrag im Rahmen dieser Arbeit	XVIII
11	Anhang.....	XIX
11.1	<i>Fragebogen</i>	<i>XIX</i>
11.2	<i>Schwellentestung: Beispielhaftes Ergebnis</i>	<i>XXI</i>
11.3	<i>Diskriminationstestung: Düfte</i>	<i>XXII</i>
11.4	<i>Identifikationstestung: Auswahlmöglichkeiten.....</i>	<i>XXIII</i>
11.5	<i>Schmecktestung</i>	<i>XXIV</i>
11.6	<i>Gruppenstatistik.....</i>	<i>XXIV</i>
11.7	<i>Test für unabhängige Stichproben</i>	<i>XXV</i>
11.8	<i>Effektstärke unabhängiger Stichproben.....</i>	<i>XXVI</i>
11.9	<i>Deskriptive Statistik.....</i>	<i>XXVII</i>
11.10	<i>Korrelationen.....</i>	<i>XXVIII</i>
11.11	<i>Erklärungen zur Eröffnung des Promotionsverfahrens (Anlage 1)</i>	<i>Fehler! Textmarke nicht definiert.</i>
11.12	<i>Bestätigung über Einhaltung der aktuellen gesetzlichen Vorgaben (Anlage 2) ..</i>	<i>Fehler! Textmarke nicht definiert.</i>

Abkürzungsverzeichnis

ASV	Amplikon-Sequenzierungsvariante
bp	Basenpaare
DMT2.....	Diabetes mellitus Typ 2
DNA.....	Desoxyribonukleinsäure
engl.....	englisch
HNO	Hals-Nasen-Ohrenheilkunde
Inc.....	Corporation
lat.....	lateinisch
MAX.....	Maximum
MIN.....	Minimum
MRSA	Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus
Nr.....	Nummer
OR	olfaktorische Rezeptoren
PCR.....	Polymerase-Kettenreaktion
RNA.....	Ribonukleinsäure
S. aureus	Staphylococcus aureus
s.u.....	siehe unten
SD	Standardabweichung
SDI	Schwellen-, Diskriminations-, Identifikationstest
vgl.....	vergleiche

1 Einleitung

Einführung in die Thematik und Relevanz

Die Erforschung des menschlichen Mikrobioms ist ein relativ junger medizinischer Forschungszweig. Die erste Definition des Mikrobioms erfolgte von Whipps et al. im Jahr 1988. Im Rahmen der Erforschung des menschlichen Mikrobioms wurde untersucht, in welchem Ausmaß Mikroorganismen die Gesundheit beeinflussen. Es konnte nachgewiesen werden, dass Mikroorganismen, welche die Körperoberflächen besiedeln, in komplexen Wechselwirkungen mit dem menschlichen Körper stehen und eine Vielzahl der biologischen Prozesse beeinflussen (Turnbaugh et al., 2007). Diese mikrobiellen Gemeinschaften sind um ein Vielfaches zahlreicher als die körpereigenen Zellen, sie spielen eine entscheidende Rolle bei der Immunabwehr und Entzündungsprozessen sowie bei der Regulation des Stoffwechsels (Hooper et al., 2012; Sagan & Margulis, 1993). Darüber hinaus ist das Mikrobiom bei der Entstehung von Krankheiten von besonderer Bedeutung, da Veränderungen des Mikrobioms in verschiedenen Krankheitsbildern resultieren können, darunter Stoffwechselstörungen, chronischen Entzündungen, Depressionen und neurodegenerativen Erkrankungen (Hartstra et al., 2015; Koskinen et al., 2018; Thangaleela et al., 2022). In der vorliegenden Arbeit wurde das Mikrobiom der Nasenschleimhaut sowie insbesondere dessen Einfluss auf die Riechfunktion betrachtet, was bisher in Studien nur unzureichend untersucht wurde (Biswas et al., 2020).

Überblick über das nasale Mikrobiom und dessen Erforschung

Untersuchungen des nasalen Mikrobioms zeigten, welche Bedeutung die nasale Schleimhautbesiedlung für die physiologischen Funktionen der Nase hat. Die gesunde Schleimhaut der Nasenhöhle fördert die Wiederherstellung eines intakten Epithels, um als Barriere gegen Krankheitserreger zu fungieren (Desrosiers & Pereira Valera, 2019; Man et al., 2017). Ist diese gesunde Barriere gestört, kann dies zur Entstehung verschiedener Krankheitsbilder wie der chronischen Rhinosinusitis oder allergischen Rhinitis beitragen, durch einen Etagenzuwachs kann sich ein Asthma bronchiale entwickeln. Neben Krankheitsbildern der Nase beeinflusst das nasale Mikrobiom auch die Entstehung neurodegenerativer Erkrankungen wie das Parkinson-Syndrom und M. Alzheimer (Sarkar et al., 2022; Thangaleela et al., 2022). Außerdem konnte durch die Analyse der mikrobiellen Besiedlung auf den Status der Nasengesundheit geschlossen werden, darüber hinaus konnten bestimmte *Corynebakterienarten* als potenzielle bakterielle Biomarker vorgeschlagen werden (Biswas et al., 2020; Thangaleela et al., 2022).

Zusammenhang zwischen Mikrobiom und Riechfunktion

In Deutschland liegen Riechstörungen mit einer Prävalenz von ca. 21.6% vor, davon treten 11% postinfektiös auf (AWMF, 2023; Vennemann et al., 2008). Im Dach der Nasenhöhle bildet die Riechspalte den Ursprungsort des physiologischen Riechvorgangs, aber bisher wurde diese Region hinsichtlich der lokalen mikrobiellen Besiedlung nur unzureichend erforscht (Biswas et al., 2020). Bei Patienten mit Riechstörungen konnte ein degenerativer Umbau des Riechepithels nachgewiesen werden (Hummel & Welge-Lüssen, 2009; Yamagishi et al., 1994). Dieser Veränderung des Riechepithels wiederum könnte ein ausgelenktes Mikrobiom zugrunde liegen (Thangaleela et al., 2022). Koskinen et al. (2018) konnten bereits einen direkten Einfluss des Mikrobioms auf die Riechfunktion nachweisen. Sie stellten einen direkten Zusammenhang der bakteriellen Besiedlung der Riechschleimhaut mit der Qualität der Riechfunktion fest und konnten bei der Kohorte mit reduzierter Riechfunktion einzelne Gattungen identifizieren, die mit Riechminderung assoziiert waren.

Darstellung der Forschungslücken

Die Nasenhöhle wurde bereits im Kontext verschiedener Fragestellungen untersucht, sodass heute eine ungefähre Vorstellung davon herrscht, wie ein gesundes Mikrobiom aufgebaut ist. Mehrfach konnte bereits nachgewiesen werden, dass die Bakterienstämme der *Actinobacterien* und *Firmicuten* besonders häufig vorkommen (Biswas et al., 2015, 2020; Koskinen et al., 2018; Thangaleela et al., 2022). Bislang nur unzureichend erforscht blieben die Veränderungen der Nasenschleimhautbesiedlung bei Patienten mit persistierendem Riechverlust infolge eines Infektes der oberen Atemwege.

Bisherige Studien der Nasenschleimhaut strichen hauptsächlich an einfach zugänglichen Stellen im Nasenvorhof oder an den Nasenmuscheln ab; da die Riechschleimhaut der Riechspalte schwieriger zu erreichen ist, wurde diese Stelle nicht ausreichend untersucht (Biswas et al., 2020; Thangaleela et al., 2022). Zwischen verschiedenen Körperstellen konnten bereits ortsabhängige Unterschiede der mikrobiellen Besiedlung nachgewiesen werden, sowohl zwischen räumlich weit voneinander entfernten Stellen, als auch zwischen verschiedenen Stellen innerhalb eines einzigen Organs (Costello et al., 2009; Grice et al., 2009; Whelan et al., 2014). Außerdem sind Regionen innerhalb der Nasenhöhle mit verschiedenen Epitheltypen ausgekleidet, was zusätzlich eine Variation der Besiedlung bedingen kann (Yan et al., 2013). Nur vereinzelt wurden wie bei Yan et al. (2013) mehrere Stellen untersucht (Nasenvorhof, mittleren Muschel und Recessus sphenoidal) oder eine direkte Untersuchung der Riechspalte durchgeführt (Koskinen et al., 2018). Da bisher kein einheitlicher Standard für die Untersuchung der Nasenhöhle existiert, können die bisherigen Untersuchungsergebnisse nicht uneingeschränkt miteinander verglichen werden (Thangaleela et al., 2022; Yan et al., 2013). Der Mehrwert der vorliegenden Studie liegt in

dem Studiendesign, an drei verschiedenen Stellen abzustreichen, welche in der Vergangenheit bisher nicht systematisch untersucht wurden. Dadurch wird ein Vergleich mit bisherigen Studienergebnissen gewährleistet, ebenso wird die direkte Untersuchung der Riechspalte ermöglicht. Die Untersuchung der verschiedenen Schleimhautregionen war notwendig, um zu klären, inwiefern von Abstrichen dieser Stellen innerhalb der Nasenhöhle auf das Mikrobiom der Riechspalte geschlossen werden kann.

Fragestellungen der Dissertation

Diese Arbeit untersucht den Zusammenhang zwischen der mikrobiellen Besiedlung der Nasenschleimhaut und der Riechfunktion des Menschen. Schwerpunktmäßig wurde die Rolle des Mikrobioms bei Patienten mit persistierendem Riechverlust infolge einer Infektion der oberen Atemwege untersucht. Als mögliche Ursache der persistierenden Riechstörung wurde die Veränderung der mikrobiellen Besiedlung betrachtet. Dafür wurden 20 Patienten mit postinfektiöser Riechstörung (im Folgenden „positinfektiöse Gruppe“) und 20 Gesunde an jeweils drei definierten Schleimhautstellen abgestrichen. Um zukünftig Studienergebnisse vergleichbar zu machen, wurden Methoden zur Entwicklung eines Standards für mikrobielle Abstriche aus der Nasenhaupthöhle erprobt. Anhand eines Vergleichs mit der Riechspalte konnte untersucht werden, inwiefern gut erreichbare Stellen Rückschlüsse auf die schwer erreichbare Riechspalte zulassen. Daher wurde jeweils zusätzlich an der unteren und der mittleren Muschel abgestrichen, um auf diese Weise zu überprüfen, inwiefern die Zusammensetzung des nasalen Mikrobioms vom Ort des Abstrichs abhing. Im Kontext von Riechstörungen wurde gezielt das Mikrobiom der Riechspalte von Probanden mit postinfektiöser Hyposmie oder Anosmie in Bezug auf infektionsbedingte Veränderungen des Mikrobioms der Riechspalte analysiert. Eine weitere Fragestellung dieser Studie war, ob mikrobielle Unterschiede in Abhängigkeit der vorliegenden Riechfunktion zwischen der erkrankten Gruppe im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe vorliegen könnten und welchen Einfluss das Alter auf die mikrobielle Zusammensetzung hatte. Darüber hinaus wurde die Zusammensetzung der Bakterien auf Stammes- und Gattungsebene untersucht und dahingehend geprüft, ob möglicherweise in den Proben einzelne Gattungen als potenzielle bakterielle Biomarker für Riechstörungen identifiziert werden könnten.

Bedeutung der Forschungsergebnisse für die Praxis

Die Studienergebnisse könnten für die Praxis von diagnostischer und therapeutischer Bedeutung sein. Unter der Annahme, dass die Ergebnisse der leichter erreichbaren Abstriche an der unteren oder mittleren Muschel auf die Riechspalte übertragbar sind, kann eine standardisierte Methodik für Studien entwickelt werden. Bereits Koskinen et al. (2018) und Biswas et al. (2020) implizierten, dass die Untersuchung des Mikrobioms den

Gesundheitszustand und die Funktionalität widerspiegeln kann, darüber hinaus könnte die Untersuchung des Mikrobioms zur klinischen Diagnostik genutzt werden.

Das Verständnis der Zusammenhänge des nasalen Mikrobioms und dem Riechvermögen kann zukünftig neue Möglichkeiten zur Behandlung und Prävention von Krankheiten eröffnen. Möglicherweise können mikrobiommodulierende Therapieformen zukünftig zur Behandlung von Riechstörungen in der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde eingesetzt werden (Sarkar et al., 2022; Schenck et al., 2016; Tai et al., 2021; Thangaleela et al., 2022).

1.1 Das Nasenschleimhautmikrobiom

Definition des Mikrobioms

Der Begriff Mikrobiom ist zusammengesetzt aus dem altgriechischen Wort "Mikro" (μικρος, klein) und aus dem Wort "Biom", einer Ableitung des griechischen Wortes βίος (βίος, Leben) (Berg et al., 2020). Die Beschreibung des Mikrobioms wurde im Verlauf der letzten Jahrzehnte immer wieder neu formuliert. Die erste konkrete Definition des Mikrobioms wurde von Whipps et al. (1988) veröffentlicht: „Ein geeigneter ökologischer Rahmen, in dem Biokontrollsystemen untersucht werden können, ist der des Mikrobioms. Dieses kann als eine charakteristische mikrobielle Gemeinschaft definiert werden, die einen hinreichend gut definierten Lebensraum mit bestimmten physikalisch-chemischen Eigenschaften bewohnt. Der Begriff bezieht sich also nicht nur auf die enthaltenen Mikroorganismen, sondern umfasst auch deren Aktionsraum.“

Gut zehn Jahre später definierten Lederberg & McCray 2001 das Mikrobiom als ökologische Gemeinschaft von kommensalen, symbiotischen und pathogenen Mikroorganismen innerhalb eines Körperraums, sodass auch die Mikroben-Wirt-Interaktion enthalten war. Im Jahr 2018 erweiterten Ho & Bunyavanich die Definition des Mikrobioms um den genetischen Aspekt und beschrieben es als die Summe der Mikroben und ihrer genomischen Elemente in einer bestimmten Umgebung. Auf der Webseite des NIH Human Microbiome Project (2023) wurde eine vom menschlichen Körper abhängige Definition veröffentlicht: „Das menschliche Mikrobiom ist die Sammlung aller Mikroorganismen, die in Verbindung mit dem menschlichen Körper leben. Diese Gemeinschaften bestehen aus einer Auswahl von Mikroorganismen, darunter Eukaryoten, Archaeen, Bakterien und Viren.“

Der Überblick über die verschiedenen Definitionen des Mikrobioms zeigt, dass innerhalb der letzten 35 Jahre vielzählige Bestimmungsversuche mit unterschiedlichen Schwerpunkten unternommen wurden, die sich inhaltlich teilweise widersprachen. Die fehlende Einheitlichkeit bot Anlass für eine Überarbeitung, sodass Berg et al. 2020 in einer Übersichtsarbeit die über die Jahrzehnte immer wieder neu formulierten Definitionen zusammenfassten. Sie zeigten Lücken auf und wogen Vor- und Nachteile der verschiedenen Definitionen gegeneinander ab. Berg et al. 2020 präsentierten die aktuellen Forschungsergebnisse, die in eine allgemein gültige Definition integriert werden sollen. Für besonders relevant erachteten Berg et al. (2020) unter anderem die konkrete Beschreibung der Mitglieder des Mikrobioms (vgl. Abbildung 1) und schwerpunktartig des zentralen Kernmikrobioms, die Darstellung der wechselseitigen Beziehungen zwischen diesen Mitgliedern und der durch Raum und Zeit bedingte Einfluss auf das Mikrobiom.

Mitglieder des Mikrobioms

Als die Mitglieder des Mikrobioms wurden von Marchesi & Ravel (2015) Bakterien, Archaeen, Pilze, Algen und kleine Protisten inklusive deren Gene klassifiziert. Diese Eingrenzung erhielt in der Wissenschaft viel Zustimmung – darüber jedoch, ob auch Viren miteingeschlossen werden sollten, herrschte laut Berg et al. (2020) Uneinigkeit. Terminologisch wurden die lebenden Organismen des Mikrobioms als „Mikrobiota“ vom Mikrobiom abgegrenzt (Marchesi & Ravel, 2015). Das gesamte Mikrobiom hingegen umschließt die Mikrobiota, also die lebenden Mikroorganismen, sowie deren „Aktionsraum“ (engl. „theatre of activity“, Whipps et al., 1988). Dieser Aktionsraum ist zusammengesetzt aus der Summe von Genom, Strukturelementen und Metaboliten (Berg et al., 2020; Whipps et al., 1988, s. zudem Abbildung 1).

Kernmikrobiom und Schlüsseltaxa

Das Kernmikrobiom umschließt sämtliche Faktoren, die dem Mikrobiom aller oder der großen Mehrheit der Menschen gemeinsam sind. Die Frage nach der Existenz eines Kernmikrobioms beim Menschen, eines universell bei jedem Individuum vorkommenden Set von Mikroben, wurde im Rahmen des *NIH Human Microbiome Project* gestellt (Turnbaugh et al., 2007). Hamady & Knight (2009) bestätigen ein gemeinsames Kernmikrobiom auf Stammesebene, welches sich jedoch auf Speziesebene nicht nachweisen ließe. Zum Kernmikrobiom können Schlüsseltaxa gehören, die unabhängig von Umwelteinflüssen bestünden (Banerjee et al., 2018; Shade & Handelsman, 2012). Da eine einheitliche Definition fehlte, schlugen Banerjee et al. (2018) eine Definition für die einflussreichsten Arten, die sogenannten Schlüsseltaxa, vor: „Schlüsseltaxa sind die Arten, die einen großen Einfluss auf die Zusammensetzung und Funktion des Mikrobioms an einem bestimmten Ort oder zu einer bestimmten Zeit haben. Diese Arten haben oft, aber nicht immer, einen überproportionalen Einfluss auf die Gemeinschaft im Verhältnis zu ihrer Häufigkeit“.

Beziehungen zwischen den Mitgliedern

Die Mikroben stehen in Beziehungen unterschiedlicher Natur zueinander, was sich auf die Dynamiken der Populationen auswirken kann (Banerjee et al., 2018). Berg et al. (2020) kategorisierten die Beziehungen in positive, neutrale oder negative Beziehungen. Einer neutralen Beziehung ist kein Vor- oder Nachteil zuzuordnen. Als positive Beziehungen werden Mutualismus, Kommensalismus und Synergismus genannt. Der Mutualismus beschreibt, dass beide Parteien voneinander profitieren (Hofbauer & Sigmund, 1998), der Kommensalismus (lat. „Tischgenossenschaft“) bezeichnet die Beziehung zwischen Parteien verschiedener Art, von welcher eine Nutzen trägt, während die andere nicht beeinflusst wird (Eugenius Warming, 1896). Als Synergismus (griechisch „die Zusammenarbeit“) wird eine Beziehung bezeichnet, von der beide Partner profitieren. Als negative Beziehungen wurden

Parasitismus und Räuber-Beute-Beziehungen (asymmetrische Beziehungen, bei welchen eine Partei profitiert während der anderen geschadet wird; Hofbauer & Sigmund, 1998) oder Konkurrenz (zwei Parteien konkurrieren um eine Ressource; Hofbauer & Sigmund, 1998) gewertet.

Einfluss von Raum und Zeit

Berg et al. (2020) diskutierten zudem den Einfluss von Raum und Zeit. Veränderungen des Mikrobioms lassen sich in einem Zeitraum von wenigen Minuten bis über mehrere Jahre hinweg beobachten (Berg et al., 2020; Uhr et al., 2019). Die Autoren gingen davon aus, dass das gesamte Mikrobiom neben einem persistierenden Kernmikrobiom auch aus temporär wechselnder Besiedlung gebildet wird, sodass sich im Zeitverlauf Veränderungen beobachten lassen. Diese zeitliche Variation der menschlichen Mikrobenbesiedlung konnte auch von Costello et al. (2009) und Yan et al. (2013) nachgewiesen werden.

Die mikrobielle Besiedlung des menschlichen Körpers ist nicht flächendeckend gleich, stattdessen lassen sich organ- und ortsspezifische Unterschiede feststellen (Costello et al., 2009; Proctor & Relman, 2017). Auch innerhalb eines Organs erfolgt eine feinere Differenzierung verschiedener Besiedlungsarten der jeweiligen Abschnitte. Beispielsweise ist die Hautbesiedlung nicht am ganzen Körper einheitlich, es ließen sich Unterschiede zwischen Achselhöhle, Kniekehle und Bauchnabel finden (Costello et al., 2009). Solche Unterschiede zeigten sich auch innerhalb der Atemwege: Die Besiedlung der oberen Atemwege unterschied sich von der der unteren Atemwege (Thangaleela et al., 2022).

Schlussendlich empfahlen Berg et al. (2020) die Wiederaufnahme der ursprünglichen Definition von Whipps et al. (1988) und schlugen ergänzend vor: „Das Mikrobiom ist definiert als eine charakteristische mikrobielle Gemeinschaft, die einen hinreichend gut definierten Lebensraum mit bestimmten physikalisch-chemischen Eigenschaften besiedelt. Das Mikrobiom bezieht sich nicht nur auf die beteiligten Mikroorganismen, sondern umschließt auch deren Aktionsraum, was zur Entstehung spezifischer ökologischer Nischen führt. Das Mikrobiom, das ein dynamisches und interaktives Mikroökosystem bildet und sich in Zeit und Umfang verändern kann, ist in Makroökosysteme integriert. Dazu zählen auch eukaryontische Wirte, für deren Funktion und Gesundheit das Mikrobiom maßgeblich ist. Die Mikrobiota besteht aus der Gesamtheit der Mikroorganismen, die den verschiedenen Reichen der Prokaryoten [Bakterien, Archaea], Eukaryoten [z. B. Protozoen, Pilze und Algen] angehören. Der zugehörige ‚Aktionsraum‘ umschließt zudem mikrobielle Strukturen, Stoffwechselprodukte, mobile genetische Elemente (z.B. [...] Viren) und in die Umgebungsbedingungen des Lebensraums eingebettete DNA-Relikte“.

Das nasale Mikrobiom

Die vorliegende Arbeit schließt sich Studien an, welche der Frage nach dem Einfluss des Mikrobioms der Nasenschleimhaut auf die Nasengesundheit und Riechfunktion nachgingen (Biswas et al., 2015, 2020; Frank et al., 2010; Koskinen et al., 2018; Thangaleela et al., 2022; Yan et al., 2013). Gerät das nasale Mikrobiom aus dem Gleichgewicht, kann die schützende Funktion des Immunsystems geschwächt werden, sodass sich Krankheitserreger ausbreiten können (Thangaleela et al., 2022). Demzufolge spiegelt die mikrobielle Besiedlung der Nase deren Gesundheitsstatus wieder, was von diagnostischer Bedeutung ist (Thangaleela et al., 2022). Biswas et al. (2020) schlugen bei Riechverlust bestimmte aufgefundene *Corynebakterienarten* als potenzielle bakterielle Biomarker vor. Zusammenfassend schrieben Thangaleela et al. (2022), dass die Ursache einer gestörten Riechfunktion auf Veränderungen des Riechepithels beruhen kann, welches durch das nasale Mikrobiom beeinflusst wird. So können Atemwegsinfekte zu einer Riechstörung führen, da die Krankheitserreger eine Veränderung der mikrobiellen Besiedlung bedingen, was wiederum die Physiologie des Riechvorgangs stört. Weiterhin können Krankheitserreger an Rezeptoren des Riechepithels binden und dadurch zu kurzzeitigen oder dauerhaften Riechstörungen führen (Thangaleela et al., 2022). Neben der Entstehung von Krankheitsbildern, welche sich vor allem lokal in der Nase und in den Atemwegen manifestieren wie beispielsweise chronischer Rhino-Sinusitis mit Polypen, allergischer Rhinitis und Asthma bronchiale, hat das nasale Mikrobiom auch Einfluss auf die Entstehung von neurologischen Erkrankungen wie dem Parkinson-Syndrom und M. Alzheimer. Auch ein Einfluss auf die Entwicklung von Multipler Sklerose wird diskutiert (Sarkar et al., 2022; Thangaleela et al., 2022).

Die Zusammensetzung der Besiedlung der Nasenhöhle wurde bereits in verschiedenen Studien untersucht (Frank et al., 2010; Thangaleela et al., 2022; Whelan et al., 2014). Costello et al. (2009) untersuchten in ihrer Studie verschiedene Körperstellen inklusive der Innenseite der Nasenlöcher, welche die äußerste Grenze des Nasenvorhofs bilden. Sie fanden einen hohen interpersonellen Unterschied der mikrobiellen Besiedlung und konnten auch eine zeitlich bedingte Variabilität des Mikrobioms nachweisen. Diese war beispielsweise an der untersuchten Stelle im Naseninneren größer als im Darm. Im Gegensatz dazu konnte in der Studie von Yan et al. (2013), in der zusätzlich zu den Nasenlöchern auch der mittlere Nasengang sowie der Recessus sphenoidalim oberen Nasengang untersucht wurde, keine relevante zeitliche Variation nachgewiesen werden. Yan et al. (2013) stellten jedoch fest, dass über 96% aller bakteriellen Gensequenzen zu den Stämmen der *Actinobakterien*, *Firmicuten* und *Proteobakterien* gehörten. In den Nasengängen des Menschen lassen sich *Staphylococcus aureus*,

Haemophilus influenzae, *Streptococcus pneumoniae* und *Moraxella catarrhalis* finden (de Steenhuijsen Piters et al., 2015). Am Beispiel der Besiedlung des Nasenvorhofs gesunder Menschen mit *S. aureus* zeigte sich, dass auch potentielle Krankheitserreger Teil der kommensalen Besiedlung sein können, ohne die Gesundheit zu beeinträchtigen (Frank et al., 2010).

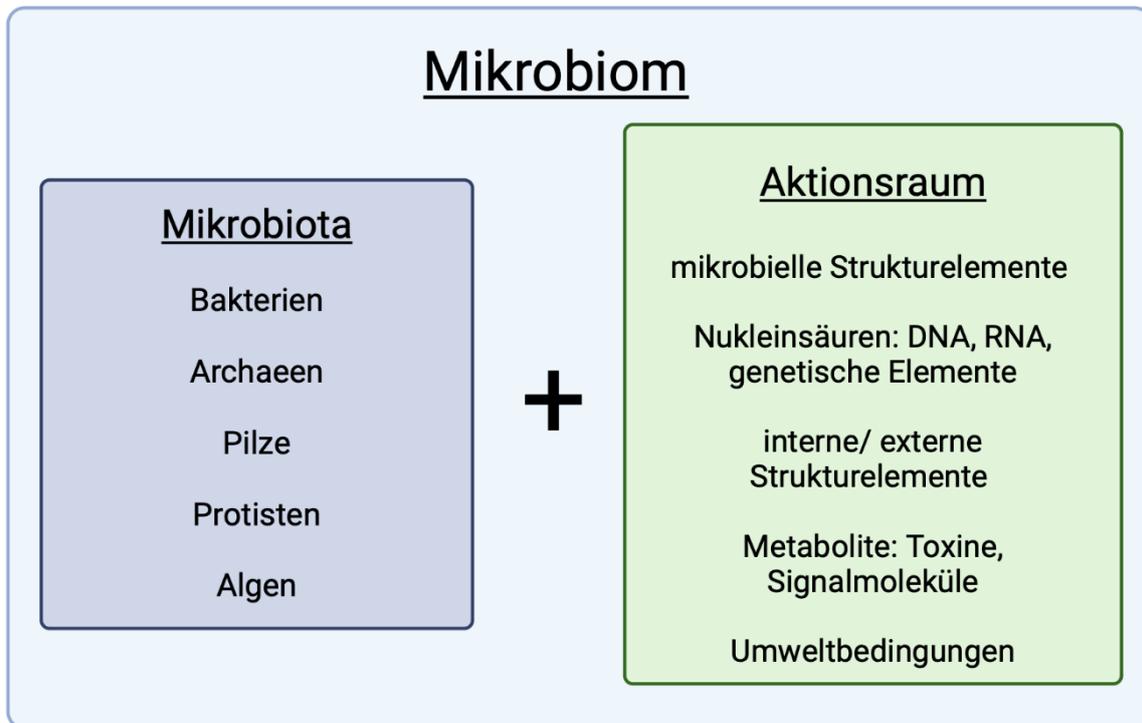


Abbildung 1 Übersicht von Mikrobiom und Mikrobiota. Grafik in Anlehnung an Berg et al. (2020), erstellt mit BioRender (2022).

1.2 Nasenhöhle: Anatomie und Histologie, Rezeptormilieu und Einfluss des Mikrobioms

Anatomie der Nasenhöhle

Die Nase nimmt eine zentrale Position inmitten des Gesichts ein und führt wichtige Funktionen aus. Während der Atmung wird die Atemluft gereinigt und gewärmt, als Sinnesorgan ermöglicht die Nase die Riechfunktion, und beim Sprechen dient sie als Resonanzraum (Behrbohm et al., 2009, S. 71; Lenarz & Boenninghaus, 2012a, S. 145–146). Die Nase sowie alle dazugehörigen Organstrukturen des Riechsystems sind bilateral angelegt, sodass der Mensch eine rechte und eine linke Nasenhöhle (lat. „Cavum nasi“) besitzt, welche medial durch das Nasenseptum (lat. „Septum nasi“) begrenzt sind (Aumüller et al., 2020; Behrbohm et al., 2009). Im Dach der Nasenhöhle liegt die Riechspalte, welche mit olfaktorischer Schleimhaut ausgekleidet ist und den Riechsinn ermöglicht (Behrbohm et al., 2009). Die Nasenhöhle ist in der Tiefe durch die paarigen Choanen mit dem Nasenrachenraum (lat. Nasopharynx) verbunden, durch welchen die Atemluft der Nasenhöhle in die tieferliegenden Atemwege geleitet wird (Lenarz & Boenninghaus, 2012a).

Von außen eröffnen die Nasenlöcher den Zugang in den Nasenvorhof (lat. „Vestibulum nasi“) und anschließend in die Nasenhaupthöhle, in welche sich jeweils von lateral drei Nasenmuscheln (lat. „Conchae nasales“) vorwölben (Aumüller et al., 2020; Lenarz & Boenninghaus, 2012a). Unter den Nasenmuscheln (lat. „Concha nasalis superior“, „media“, „inferior“) liegen die drei Nasengänge, welche ihrer Lage entsprechend „oberer“, „mittlerer“ und „unterer“ Nasengang (lat. „Meatus nasi superior“, „medius“, „inferior“) genannt werden und in welche die Ausführungsgänge aus den Nasennebenhöhlen münden (Aumüller et al., 2020, s. Abbildung 2). In den unteren Nasengang (lat. Meatus nasi inferior) unter der unteren Nasenmuschel mündet der Tränennasengang (lat. Ductus nasolacrimalis). In den mittleren Nasengang (lat. Meatus nasi medius) unter der mittleren Nasenmuschel öffnen sich die vorderen und mittleren Siebbeinzellen (lat. Cellulae ethmoidales anteriores und mediales), die Stirnhöhle (lat. Sinus frontalis) und die Kieferhöhle (lat. Sinus maxillaris). In den oberen Nasengang (lat. Meatus nasi superior), welcher sich unter der oberen Nasenmuschel befindet, münden die hinteren Siebbeinzellen (lat. Cellulae ethmoidales posteriores) und in das Dach, welches oberhalb der oberen Muschel liegt, öffnet sich die Keilbeinhöhle (lat. Sinus sphenoidalis) (Aumüller et al., 2020; Lenarz & Boenninghaus, 2012a). Ein Abstrich der Nasenmuscheln lässt in gewissem Maße Rückschlüsse über das schwer erreichbare Milieu der Nasennebenhöhlen zu, da deren Abfluss an den abgestrichenen Stellen an den Nasenmuscheln entlang fließt (Yan et al., 2013).

Histologie und Rezeptormilieu

Histologisch unterschieden Aumüller et al. (2020) die innere Nase in Regio cutanea (Hautregion), Regio respiratoria (Respiratorische Schleimhaut) und Regio olfactoria (Riechschleimhaut, s. Abbildung 2). Der Nasenvorhof liegt zwischen der Gesichtshaut und der Nasenschleimhaut, ist mit Epidermis ausgekleidet und wird dementsprechend als Regio cutanea bezeichnet. Schweiß- und Talgdrüsen sind dort ähnlich wie auch auf der äußeren Nase zu finden, jedoch wachsen im innenliegenden Nasenvorhof zusätzlich Nasenhaare. Die im Naseninneren angrenzende Schleimhaut lässt sich in zwei grundsätzlich unterschiedliche Bereiche unterteilen: die Regio respiratoria und die Regio olfactoria. Der Großteil der Nasenhöhle sowie die Nasennebenhöhlen werden von der Schleimhaut der Regio respiratoria ausgekleidet, welche aus mehrreihigem zylindrischen respiratorischem Flimmerepithel besteht (Witt, 2019). Hier finden sich auch Becherzellen und muköse Drüsen, welche den Nasenschleim produzieren (Aumüller et al., 2020; Schünke et al., 2022). Unter der Nasenschleimhaut liegt ein gut ausgebildeter Venenplexus, welcher beispielsweise durch Entzündungen zu einer starken Vasodilatation mit Schleimhautschwellung und vermehrter Sekretbildung führt, was die Nasenatmung und das Riechens behindern kann (Schünke et al., 2022). In der dritten Region im Dach der Nasenhöhle, der Regio olfactoria, liegt die Riechspalte (lat. Rima olfactoria, Behrbohm et al., 2009; Schmidt et al., 2010). Diese Schleimhautregion misst bis zu 5 cm² und ist mit mehrreihigem Zylinderepithel ausgekleidet (Schmidt et al., 2010). Hier befinden sich u.a. Riechzellen, Basalzellen und Stützzellen (Aumüller et al., 2020; Schmidt et al., 2010). In der Membran der Zellfortsätzen (Zilien) der Riechzellen sind die olfaktorischen Rezeptoren (OR) eingebettet (s. Abbildung 2). Die OR haben die Aufgabe, Geruchsmoleküle zu binden und in ein elektrisches Signal umzuwandeln, welches ins zentrale Nervensystem weitergeleitet und dort weiterverarbeitet wird. In der Regio olfactoria befinden sich sogenannte Bowman-Drüsen (lat. Glandulae olfactoriae), deren seröses Sekret das Milieu der OR der Riechzellen schafft (Aumüller et al., 2020; Schmidt et al., 2010). Das Sekret sorgt einerseits dafür, dass die Bindungsstellen der Rezeptoren für Geruchsmoleküle freigehalten werden, andererseits lösen sich diese Geruchsmoleküle im Sekret, um an die Rezeptoren binden zu können (Aumüller et al., 2020; Lenarz & Boenninghaus, 2012a). Ohne dieses Sekret wäre der Riechsinn wahrscheinlich nicht möglich (Hummel & Welge-Lüssen, 2009a). Das Sekret der Bowman-Drüsen bestimmt außerdem nicht nur den pH-Wert der Riechschleimhaut, sondern ist auch Teil der Immunabwehr. Es bietet Schutz vor pathogenen Keimen, welche entlang der Riechzellen ins zentrale Nervensystem gelangen können (Hummel & Welge-Lüssen, 2009a; Mellert et al., 1992). Die Fortsätze (Axone) der Riechzellen treten als Fila olfactoria durch das Dach der Nasenhöhle, sie bilden den N. olfactorius und ziehen im Schädelinneren zum Bulbus

olfactorius und ins zentrale Nervensystem (Aumüller et al., 2020; Schmidt et al., 2010; Schünke et al., 2022; Witt, 2019).

Einfluss des Mikrobioms auf die Riechschleimhaut

Eine gesundheitsfördernde Bakteriengemeinschaft schützt vor der Ansiedlung pathogener Keime und fördert die Wiederherstellung eines intakten Epithels (Desrosiers & Pereira Valera, 2019). Weiterhin konnten François et al. (2016) in einer Studie an Mäusen zeigen, dass das Mikrobiom die Entwicklung des Riechepithels beeinflusst. Sie konnten bei einem keimfreien Riechepithel eine geringer ausgeprägte Zilienschicht sowie ein verlangsamtes Wachstum der Riechzellen feststellen. Aus dieser Beobachtung schlossen Koskinen et al. (2018) auf einen Einfluss des Mikrobioms auf die Riechfunktion. Sie zeigten, dass die bakterielle Besiedlung der Riechschleimhaut direkt mit der Qualität der Riechfunktion zusammenhängt und konnten signifikante Unterschiede der mikrobiellen Besiedlung zwischen Gruppen mit normaler und eingeschränkter Riechfunktion nachweisen. Darüber hinaus konnten einzelne Gattungen bestimmt werden, welche mit einer geringeren Riechfunktion assoziiert waren, sodass bestimmte *Corynebakterien* als Biomarker bei Riechstörungen mit niedrigen Ergebnissen in der Schwellen- und Diskriminationstestung dienen könnten. Auch Biswas et al. (2020) konnten zeigen, dass sich die Häufigkeit bestimmter Gattungen in den verschiedenen Geruchskategorien unterscheidet. Bei Anosmikern wurde ein deutlich häufigeres Vorkommen von *Streptokokken-* und *Anaerokokkengattungen* nachgewiesen. Außerdem konnte ein signifikant reduziertes Vorkommen von bestimmten Arten der *Corynebakterien* bei Patienten mit Riechverlust festgestellt werden und so schlugen Biswas et al. (2020) diese als potenzielle Biomarker für den Verlust der Geruchsfunktion vor. Auch in der vorliegenden Arbeit konnte eine einzelne Art der *Corynebakterien* mit eingeschränktem Riechvermögen assoziiert werden (Biswas et al., 2023).

Durch die weitere Erforschung von bakteriellen Biomarkern bei Riechverlust könnten zukünftig Patienten früher diagnostiziert werden und von einem frühen Therapiebeginn mit besseren Heilungschancen profitieren (Biswas et al., 2020). Setzt man voraus, dass eine unvorteilhafte mikrobielle Nasenschleimhautbesiedlung eine Infektion begünstigt, dann könnte eine Modulation des nasalen Mikrobioms ein Schlüsselaspekt für zukünftige Therapieformen sein. Diese Überlegung wurde bereits in weiteren Übersichtsarbeiten aufgegriffen (Sarkar et al., 2022; Schenck et al., 2016; Tai et al., 2021; Thangaleela et al., 2022). Sarkar et al. (2022) schlugen für die Zukunft konkret die Anwendung probiotischer und postbiotischer Therapien und damit den Einsatz gesundheitsfördernder Mikroorganismen und derer Stoffwechselprodukte vor. Bell et al. (2019) stellten nicht nur

zukünftige Therapieansätze von Riechstörungen, sondern darüber hinaus auch von neurologischen Erkrankungen in Aussicht.

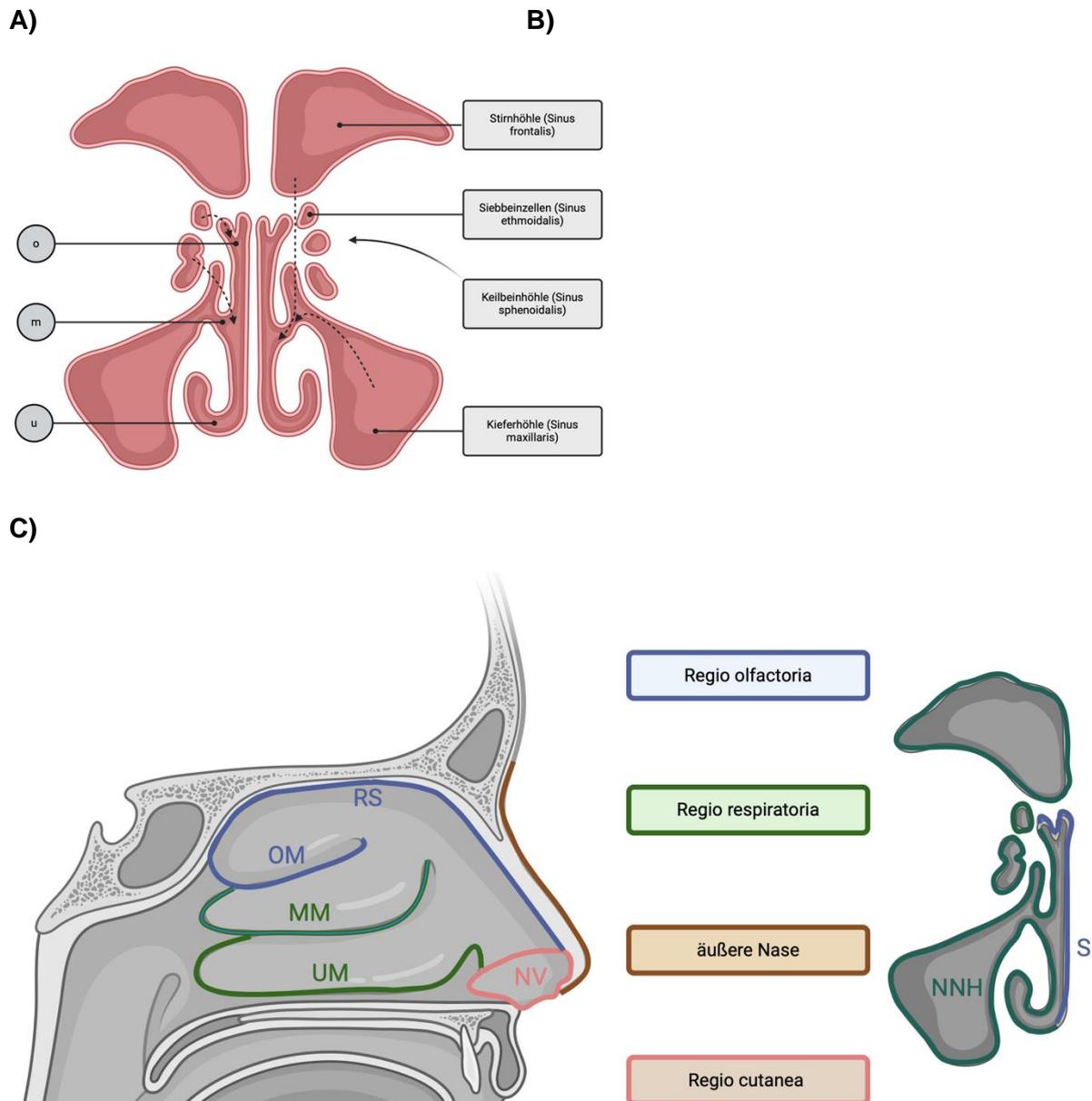


Abbildung 2 Darstellungen der Nasenschleimhaut. **2 A)** Schema der Riechzellen, modifiziert abgebildet nach [Schmidt et al. \(2010\)](#). **2 B)** Schematische Darstellung der Nasenhöhle und Nasennebenhöhlen. o = obere, m = mittlere, u = untere Nasengang. Gestrichelte Pfeile symbolisieren Verbindungen zwischen NNH und Nasengängen, angefertigt mit [BioRender \(2022\)](#). **2 C)** Schematische Darstellung der epithelialen Auskleidung der Nasenhöhle und NNH. Links: Sagittalschnitt, Ansicht der lateralen Wand der linken Nasenhöhle., rechts: Frontalschnitt der Nasenhöhle. Blau = Regio olfactoria (OM, Nasenhöhlendach und Septum; Mehrreihiges Zylinderepithel und Geruchssinneszellen). Grün = Regio respiratoria (NNH, UM, MM; mehrreihiges Zylinderepithel mit Kinozilien). Rosa und braun = Regio cutanea (NV, Nasenrücken; Epidermis und verhorntes PE). Legende: RS = Riechspalte, OM = obere Nasenmuschel, MM = mittlere Nasenmuschel, UM = untere Nasenmuschel, NV = Nasenvorhof, NH = Nasenhöhle, NNH= Nasennebenhöhlen, S= Septum, angefertigt mit [BioRender \(2022\)](#).

1.3 Geruchssinn und Riechstörungen

Der Geruchssinn

Der Geruchssinn ermöglicht dem Menschen die Wahrnehmung von Tausenden verschiedenen Düften oder auch über 10^{12} verschiedenen olfaktorischen Reizen (Keller et al., 2014; Schmidt et al., 2010, S. 394). Als „Chemosensor zur Wahrnehmung von Duftmolekülen“ (Lenarz & Boenninghaus, 2012, S. 146) ermöglicht er die „chemische Kontrolle der Atemluft“ (Aumüller et al., 2020). Über den orthonasalen Weg gelangen Duftmoleküle aus der Umgebung über die Nasenlöcher zum Riechepithel der Nasenhöhle, über den retronasalen Weg gelangen Moleküle aus der Mundhöhle über den Rachen in die Nasenhöhle und dort zum Riechepithel im Dach der Nasenhöhle (AWMF, 2023, S. 11; Hummel & Welge-Lüssen, 2009a, S. 11). Die Dufterkennung beginnt mit der Bindung des Moleküls an den OR einer Geruchssinneszelle. Pro Sinneszelle wird ein Rezeptortyp präsentiert, welcher eine Gruppe von Duftstoffen binden kann. Die Rezeptorbindung führt zu einem Ioneneinstrom in die Sinneszelle, welche daraufhin depolarisiert und das ursprünglich chemische Signal in ein elektrisches umwandelt (Schmidt et al., 2010, S. 395). Das so entstandene Aktionspotential wird dann axonal über den N. olfactorius, das erste Neuron der Riechbahn, als sogenannte Fila olfactoria zum Bulbus olfactorius geleitet. Als zweites Neuron der Riechbahn zählt man die Mitral- und Büschelzellen, deren Axone den Tractus olfactorius bilden (s. Abbildung 3). Im Gegensatz zum Geschmackssinn wird der Thalamus von der Riechbahn zunächst umgangen und das Signal wird ohne Umschaltung zum Großhirn geleitet (Witt, 2019, s. Abbildung 3). Dort werden die primäre Riechrinde (präpiriformer Kortex), der entorhinale Kortex und die Amygdala erreicht, welche den Sinneseindruck emotional bewerten und ins Gedächtnis aufnehmen (Hummel & Welge-Lüssen, 2009e; Schmidt et al., 2010, S. 393; Witt, 2019).

Riechstörungen

Um die wissenschaftliche Kommunikation über Riechstörungen zu vereinheitlichen, überarbeiteten Hernandez et al. (2023) die Begriffsdefinitionen und definierten in den Überbegriff *Dysosmie* als „generelle, quantitative oder qualitative Störung der Riechfunktion“, im Gegensatz dazu wurde die *Normosmie* als „quantitativ normale Riechfunktion“ definiert (s. Tabelle 1). Demnach können die Dysosmien in quantitative (Anosmie, Hyposmie) und qualitative (z.B. Parosmie, Phantosmie) Störungen eingeteilt werden (s. Abbildung 3 **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**). *Hyposmie* wurde definiert als „quantitativ reduzierte Riechfunktion“ und *Anosmie* als „quantitativ reduzierte Riechfunktion in dem Ausmaß, dass der [verbleibende] Riechsinn im täglichen Leben nicht mehr nützlich ist“, qualitative Störungen der *Parosmie* als „veränderte Wahrnehmung eines Geruchs in

Gegenwart eines Geruchsreizes“ und *Phantosmie* als „Geruchshalluzination“ oder „Geruchswahrnehmung in Abwesenheit eines Geruchsreizes“ ([Hernandez et al., 2023](#)).

Eine intakte Riechfunktion ermöglicht lebensnotwendige Fähigkeiten wie die Einschätzung der Qualität von Lebensmitteln hinsichtlich ihrer Genießbarkeit und das Bewerten von Gerüchen als Warnfunktion bei Rauchentwicklung oder der Wahrnehmung von giftigen Gasen. Auch im sozialen Lebensbereich ermöglicht sie eine nonverbale Kommunikation durch die Wahrnehmung des eigenen sowie eines fremden Körpergeruchs und beeinflusst somit die Partnerwahl und Eltern-Kind-Beziehungen (Aumüller et al., 2020, S. 1039; Hummel et al., 2005, S. 103; Schmidt et al., 2010). Die Bedeutung des Geruchssinnes fällt dem Individuum häufig erst auf, wenn eine Störung vorliegt. Interessanterweise häufig zuerst dadurch, dass Nahrungsmittel nicht mehr in der gewohnten Weise wahrgenommen werden können. Die Grundgeschmacksrichtungen süß, salzig, sauer, bitter und umami werden durch Geschmacksrezeptoren der Zunge vermittelt. Erst im Kombination mit der retronasalen Wahrnehmung von Aromen entsteht eine komplexe Geschmacksempfindung (AWMF, 2023, S. 11; Bojanowski & Hummel, 2012; Burdach & Doty, 1987). Dementsprechend wird die Lebensqualität durch eine Einschränkung des Geruchssinnes maßgeblich gemindert (Smeets et al., 2009). Zudem sind neben der Einschränkung positiver Lebensaspekte wie dem Genuss einer Mahlzeit auch grundlegende Warnfunktionen der überlebenssichernden Sinneswahrnehmungen betroffen. Beispielsweise können dann verdorbene Lebensmittel oder anderer olfaktorisch wahrnehmbarer Gefahren nur noch vermindert oder überhaupt nicht mehr wahrgenommen werden (Hummel et al., 2005; Schmidt et al., 2010).

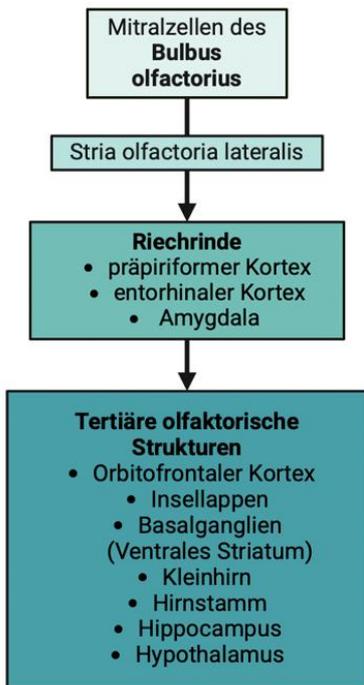
Um die Bedeutung von Riechstörungen angemessen aufzuzeigen, ist die Darstellung des Vorkommens von Riechstörungen innerhalb der Bevölkerung notwendig. Hyposmie und funktionelle Anosmie werden in Summe mit einer Prävalenz von ca. 20% angegeben (Doty, 2019; Vennemann et al., 2008). In Deutschland werden pro Jahr ca. 79.000 Patienten aufgrund ihrer Riechstörung in HNO-Kliniken behandelt (Damm et al., 2004). Ursächlich für Dysosmien kommen verschiedene Auslöser in Frage, häufig sind sie Symptome einer zugrundeliegenden Erkrankung (AWMF, 2023; Hummel & Welge-Lüssen, 2009a). Die häufigsten Ursachen für Riechstörung sind zu 72% sinunasale Erkrankungen, der Großteil der nicht-sinunasal bedingten Riechstörungen tritt zu 11% postinfektiös auf (AWMF, 2023). In der vorliegenden Studie wurden Patienten mit postinfektiöser Dysosmie untersucht. Diese spezielle Form der Riechstörung wird in der aktuellen Leitlinie der [AWMF \(2023\)](#), basierend auf der Veröffentlichung von [Hummel et al. \(1998\)](#), definiert als „persistierende Dysosmie im Anschluss an einen zeitlich begrenzten Infekt der (oberen) Atemwege, ohne symptomloses Intervall zwischen dem Ende des Infektes und dem Bemerkten der Riechstörung. Hiervon abzugrenzen sind Riechstörungen im Rahmen eines Atemwegsinfektes, bei denen sich nach

Abheilung des Infektes mit Rückgang der konduktiven/inflammatorischen Ursachen das Riechvermögen normalisiert“.

Die Entstehung des postinfektiösen Riechverlustes gilt als noch nicht vollständig verstanden, es werden zwei verschiedene Orte der Schädigung in Betracht gezogen: Die periphere Riechschleimhaut und Läsionen des zentralen Nervensystems (Hummel et al., 2023). Histologisch konnten bei Patienten mit postinfektiöser Dysosmie pathologische Veränderungen des Riechepithels nachgewiesen werden. Es konnte gezeigt werden, dass ein Teil des ursprünglich olfaktorischen Epithels in respiratorisches Epithel umgewandelt wurde, zudem wurden insgesamt weniger olfaktorische Rezeptoren nachgewiesen (Hummel et al., 2023; Hummel & Welge-Lüssen, 2009c, S. 78; Yamagishi et al., 1994). Darüber hinaus konnte eine Veränderung des zentralen Teils der Riechbahn im Schnittbildverfahren (Magnetresonanztomografie) beobachtet werden. Durch die Messung des Bulbus olfactorius von Patienten mit postviraler Dysosmie konnte dessen signifikante Volumenabnahme nachgewiesen werden (Mueller et al., 2005). Insbesondere bei an COVID-19 erkrankten Patienten wurden neu aufgetretene Dysosmien als starke prognostische Marker nachgewiesen (Lechien et al., 2020; Tan et al., 2022). Riech- und Schmeckstörungen gelten heute als ein Erstsymptom von COVID-19, im Verlauf können zusätzlich Par- und Phantosmien auftreten (Isenmann et al., 2021). Der Infektionsweg über die Riechschleimhaut als Eintrittspforte wird im Review von [Thangaleela et al. \(2022\)](#) für SARS-CoV-2 beschrieben. Der Pathomechanismus des SARS-CoV-2 bedingten Riechverlustes wird durch eine periphere Schädigung der Stützzellen der Riechschleimhaut und einem dadurch bedingten Schaden der olfaktorischen Rezeptorneurone sowie einer zentralen mikrovaskulären Schädigung erklärt (Hummel et al., 2023).

Zudem wird das Einwandern von pathogenen Erregern aus der peripheren Nasenschleimhaut in das zentrale Nervensystem als Pathomechanismus neurodegenerativer Krankheiten diskutiert, wobei das olfaktorische Epithel als Eintrittspforte dienen könnte. Über die Lamina cribrosa könnten pathogene Viren zum Bulbus olfactorius und weiter ins Gehirn gelangen (Bell et al., 2019; Lenarz & Boenninghaus, 2012a, S. 141). Dort rufen die Erreger Entzündungsreaktionen hervor, welche in Neurodegeneration resultieren, worauf basierend neben dem Riechverlust zudem die Entstehung neurologischer Krankheitsbilder wie Multipler Sklerose, M. Alzheimer und M. Parkinson diskutiert wird (Bell et al., 2019; Thangaleela et al., 2022). Gemeinsam ist diesen drei Krankheitsbildern, dass Riechstörungen als erste Frühsymptome auftreten (AWMF, 2023; Barresi et al., 2012; Hummel & Welge-Lüssen, 2009a, S. 107).

A)



B)

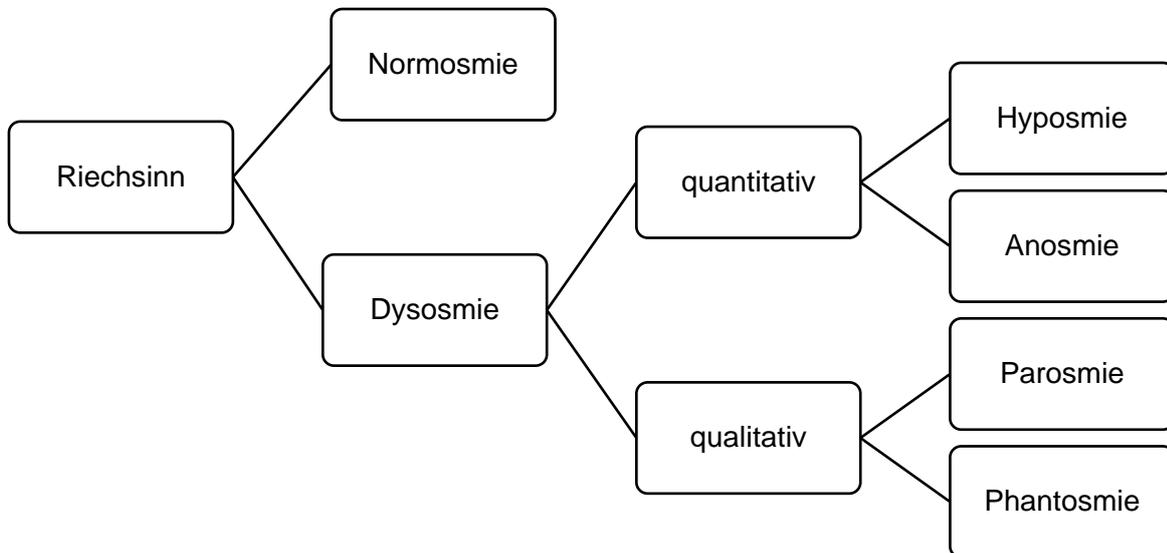


Abbildung 3 A) Links: Duftwahrnehmung mit Riechsinneszellen (1), Mitralzellen (2), Tractus olfactorius (3), Thalamus (5), Neokortex sowie limbische System [Amygdala und Hippocampus] (7), Quelle [Schmidt et al. \(2010, S. 394\)](#); **3 A)** Rechts: Schema der Riechbahn, erstellt mit [BioRender \(2022\)](#), modifiziert nach [Welge-Luessen & Hummel \(2014\)](#); **3 B)** Einteilung der Riechstörungen, modifiziert nach (Hernandez et al., 2023).

1.4 Motivation dieser Arbeit

Die Autoren der vorgestellten Studien sind sich darüber einig, dass das medizinische Verständnis des nasalen Mikrobioms zum jetzigen Zeitpunkt noch lückenhaft ist. Hier knüpft die vorliegende Arbeit mit dem Ziel an, den Zusammenhang zwischen der mikrobiellen Besiedlung der Nasenhöhle und dem Riechvermögen weiter zu erforschen.

Die Nasenhöhle ist mit verschiedenen Epitheltypen ausgekleidet, sodass an der unteren und mittleren Muschel sowie der Riechspalte die Besiedlung nischenspezifisch unterschiedlich beeinflusst wird, weshalb wir von einem ortsabhängigen Einfluss auf die nasale Schleimhautbesiedlung ausgingen. Demzufolge waren zwischen den untersuchten Orten innerhalb der Nasenhöhle Unterschiede zu erwarten. In der vorliegenden Studie wurde das Mikrobiom von riechgesunden Probanden mit dem Mikrobiom von Patienten mit postinfektiöser Riechstörung verglichen. Die zugrundeliegende Hypothese besagt, dass eine Infektion der oberen Atemwege das nasale Mikrobiom nachweislich beeinflussen kann. Dementsprechend wäre zwischen den Gruppen von anosmischen, hyposmischen und normosmischen Probanden ein signifikanter Unterschied der Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaft zu erwarten, darüber hinaus wurde der Einfluss des Alters überprüft. Durch die Untersuchung der bakteriellen Zusammensetzung auf Stammes- und Gattungsebene wurde erforscht, ob einzelne Gattungen als bakterielle Biomarker für Riechstörungen in Betracht gezogen werden können.

Bisher existierten keine einheitlichen Standards zur Untersuchung des Mikrobioms der Nasenschleimhaut, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse beschränkt. Wir untersuchten drei Orte innerhalb der Nasenhöhle, um die speziellen Stellen exakt mit bisherigen Ergebnissen entsprechender Stellen vergleichen zu können. Darüber hinaus gingen wir der Fragestellung nach, wie präzise eine Abstrichnahme von einer bestimmten Stelle erfolgen muss oder ob zukünftig technisch einfach zugängliche Abstrichstellen ausreichen, um Auskunft über das Mikrobiom der Riechspalte zu geben.

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign und Stichprobenbeschreibung

Studiendesign

Es wurde eine randomisierte klinische Studie in Form einer Querschnittsstudie durchgeführt, an welcher 20 Patienten mit Riechstörung nach Infektion der oberen Atemwege teilnahmen, die mit 20 gesunden Kontrollprobanden verglichen wurden.

Die Teilnahme an der Studie war freiwillig und unentgeltlich. Alle Teilnehmer wurden darüber informiert, dass sie die Teilnahme zu jedem Zeitpunkt ohne Begründung abbrechen konnten. Die Einwilligung der Teilnehmer erfolgte nach der mündlichen und schriftlichen Aufklärung und wurde mit Unterschrift festgehalten.

Die Studie wurden von der Ethikkommission der *Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus der Technischen Universität Dresden* positiv begutachtet (Antragsnummer EK-233072018). Die Studie verlief nach den Richtlinien der „Deklaration von Helsinki - Ethische Grundsätze für die medizinische Forschung am Menschen“ der World Medical Association (*WMA Declaration of Helsinki*, 2022).

Probanden

Die Probanden wurden aus der Klinik und Poliklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde des *Universitätsklinikums Carl Gustav Carus* in Dresden rekrutiert. Die zu untersuchende Gruppe bestand aus Patienten mit Riechstörungen nach viralen Infekten der oberen Atemwege (postinfektiöse Patienten). Infektionsursache war bei 80% dieser Patienten das Coronavirus SARS-CoV-2. Die Rekrutierung der postinfektiösen Patienten erfolgte aus der Sprechstunde im *Interdisziplinären Zentrum für Riechen und Schmecken*. Die gesunde Kontrollgruppe wurde über Mund-zu-Mund-Propaganda und über die Allergiesprechstunde der Rhinologie gefunden. Patienten mit Insektengiftallergie, deren Allergie nicht die Gesundheit der Nase oder die Riechfunktion beeinträchtigte, waren für die Kontrollgruppe geeignet. Es wurden Probanden zwischen 20 und 84 Jahren rekrutiert.

Ein- und Ausschlusskriterien

Die Kriterien zur Teilnahme waren Volljährigkeit sowie die schriftliche Einwilligung der Teilnehmer. Von der Teilnahme ausgeschlossen wurden Raucher, welche typischerweise in Riechtests geringere Werte erreichten (Ajmani et al., 2017; Frye, 1990), zudem konnte in früheren Studien ein Einfluss des Rauchens auf das Mikrobiom festgestellt werden (Charlson et al., 2010). Schwangere durften nicht teilnehmen, da bei dieser Gruppe eine Einschränkung beziehungsweise Veränderung der Geruchswahrnehmung und -bewertung

festgestellt werden konnte (Cameron, 2014; Dikici et al., 2017; Kölblle et al., 2001). Weiterhin ausgeschlossen wurden Patienten mit Morbus Parkinson oder Morbus Alzheimer, da diese Erkrankungen mit einer Beeinträchtigung des Geruchssinnes einhergehen (Doty, 2012; Haehner et al., 2011; Rahayel et al., 2012). Zudem wurden Patienten mit akuter oder chronischer Entzündung der Nase und den Nasennebenhöhlen (Rhinitis, akuter oder chronischer Rhinosinusitis) ausgeschlossen, da diese ebenfalls mit Riechstörungen einhergehen können (Hummel & Welge-Lüssen, 2019). Auch die Einnahme von systemisch wirksamen Antibiotika oder Glukokortikoiden innerhalb von vier Wochen vor der Untersuchung war ein Ausschlusskriterium, da diese Medikamente das Mikrobiom der Nasenschleimhaut beeinflussen können (Ferrer et al., 2017; Hartmann et al., 2021; Jakobsson et al., 2010).

Stichprobengröße

Die Berechnung der optimalen Stichprobengröße wurde in Form einer Fallzahlschätzung als 2-seitiger t-Test für unabhängige Stichproben mit dem Programm *G*Power* durchgeführt (*G*Power, Universität Düsseldorf, 2024*). Die optimale Stichprobengröße sollte Unterschiede zwischen Riechgesunden und Patienten mit Riechstörungen aufzeigen. Es wurde die mittlere Effektgröße von .5, ein alpha-Niveaus von .5, und eine Power von .95 verwendet. Rechnerisch ergab sich eine optimale Stichprobengröße von 210 Studienteilnehmern, für sichere Ergebnisse wurden 300 Teilnehmer empfohlen. Wir wogen die errechnete Empfehlung mit den praktischen Rahmenbedingungen der Studiendurchführung ab, am stärksten begrenzten die Kosten der Laboruntersuchungen und der zeitliche Rahmen den realistischen Stichprobenumfang. Schlussendlich wurde aus praktischen Gründen eine kleinere Gruppengröße von 20 postviralen Probanden ausgewählt, welche mit 20 gesunden Kontrollprobanden verglichen wurde.

Ablauf

Die Rekrutierung der Patienten erfolgte im Rahmen der Sprechstunde des Riech- und Schmeckzentrums der *Klinik und Poliklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde* des Universitätsklinikums. Bei Teilnahmeinteresse wurden die Patienten aufgeklärt und die studienbezogene Anamnese der Probanden anhand eines Fragebogens (s. Anhang 11.1) durchgeführt. Daraufhin erfolgte die HNO-ärztliche Untersuchung der Nase inklusive Nasenspiegelung (Nasenendoskopie) und Nasenschleimhautabstrich. Anschließend folgten die Riechtestung mithilfe der *Sniffin' Sticks* sowie Untersuchungen des Schmeckens (s. Abbildung 4). Die Datenerfassung erfolgte 2021 von März bis Oktober. Die Untersuchungsdauer betrug zwischen 60-90 Minuten je Patient und Termin. Da es sich um eine Querschnittsstudie handelte, erfolgte die die Studienuntersuchung für jeden Probanden an einem Zeitpunkt.

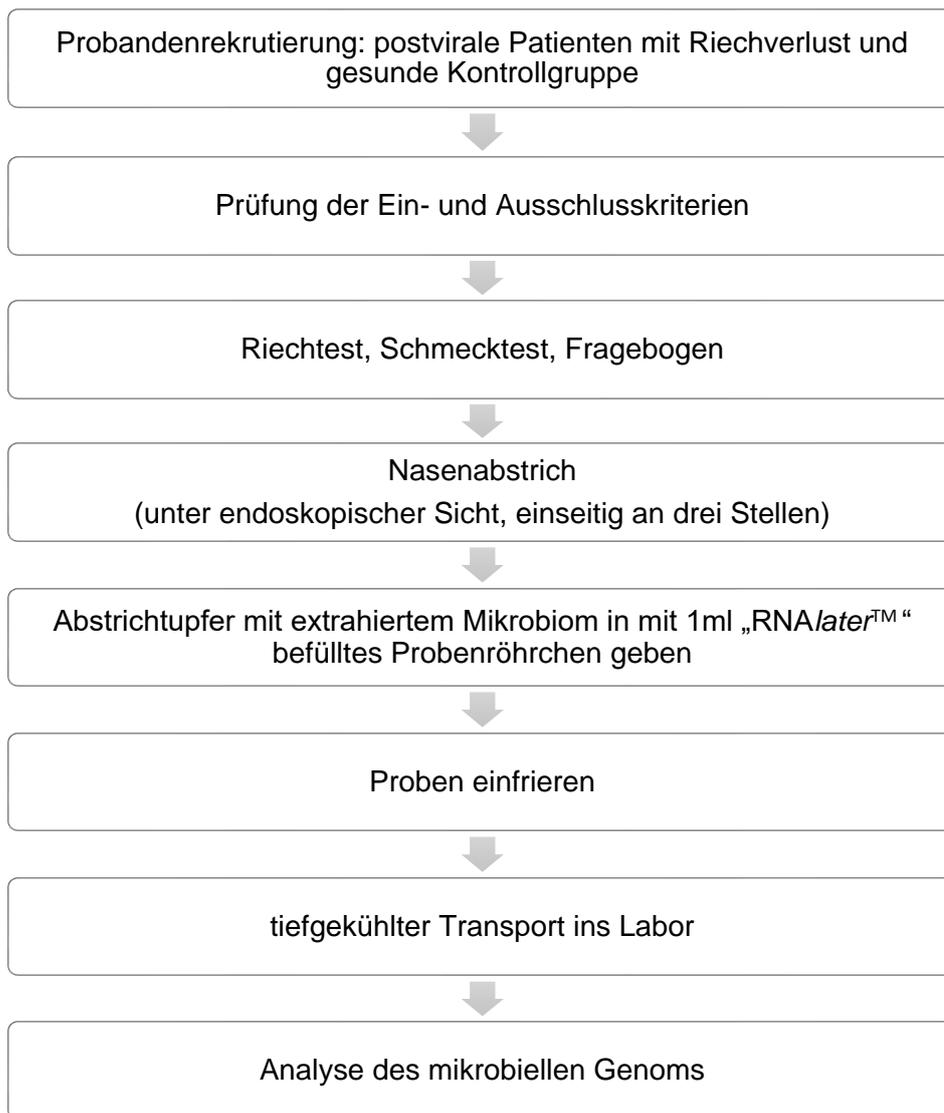


Abbildung 4 Übersicht über den Ablauf der Studie.

Nasenabstrich

Die Probanden wurden HNO-ärztlich endoskopisch untersucht. Der Abstrich der Schleimhaut erfolgte in drei Etagen: An der Riechspalte, an der mittleren, sowie der unteren Muschel (s. Abbildung 5). Da der Abstrich unter endoskopischer Sicht erfolgte, konnte sich an der Anatomie der Nase orientiert und präzise die jeweiligen Stellen abgestrichen werden. Um für das Abstreichen ausreichend Platz zu haben, wurde hierfür die jeweils besser zugängliche Nasenseite ausgewählt: 52,5% der Teilnehmer wurden rechts und 47,5% links abgestrichen. Durch diese Vorbereitungen wurden optimale Bedingungen für einen präzisen Abstrich geschaffen.

Direkt nach dem Abstreichen wurden die Abstrichtupfer in Röhrchen, welche mit RNAlater™ der Marke invitrogen™ der Firma Thermo Fisher Scientific Inc. (Murrieta, USA, Katalognr. AM7021) befüllt waren, eingefroren. Die Auswertung des Abstrichmaterials erfolgte in Kooperation mit Abteilungen, welche auf die Zwischenschritte der Mikrobiomauswertung spezialisiert sind. Die Analyse des mikrobiellen Genoms erfolgte in der *Division of Infectious Diseases* sowie des *Microbiome Research Consortium* der *University of Colorado School of Medicine* (Denver, Colorado, USA). Die statistische Datenanalyse erfolgte im *Department of Surgery* der *University of Auckland* (Auckland, Neuseeland) und dem *Department of Otolaryngology–Head and Neck Surgery* der *Indiana University School of Medicine* (Bloomington, Indiana, USA).

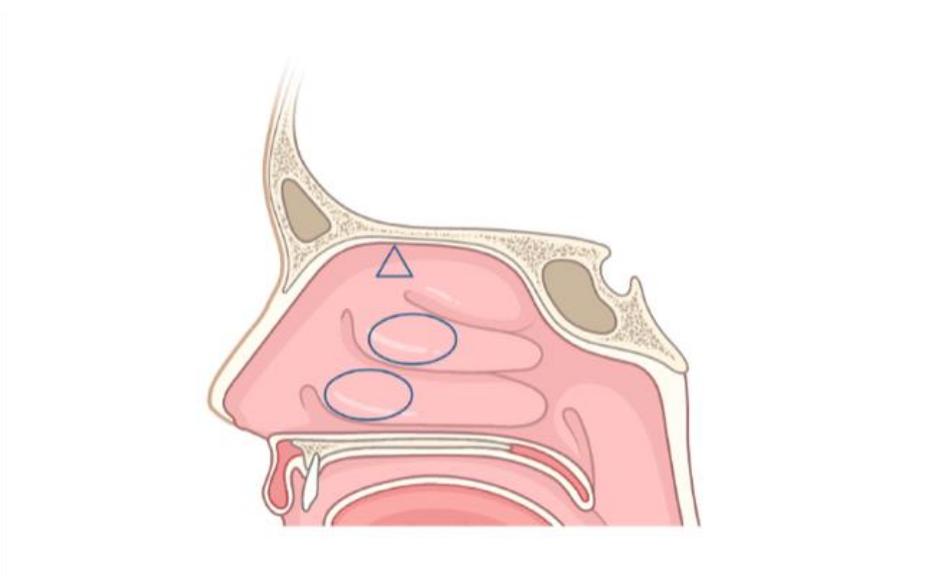


Abbildung 5 Stellen der Nasenabstriche. Kreise: Untere und mittlere Nasenmuschel, Dreieck: Riechspalte im Dach der Nasenhöhle, erstellt mit BioRender (2022).

2.2 Beschreibung von Material und Methoden

Endoskopie der Nasenhaupthöhle

Die Nasenendoskopie ermöglicht die schnelle und kostengünstige Untersuchung der Nasenhaupthöhle und der Nasengänge hinsichtlich der Anatomie und des Gesundheitszustandes (Lenarz & Boenninghaus, 2012b; Wuister et al., 2014, s. Abbildung 6). Die Abstriche der jeweils definierten Schleimhautstellen konnten unter Nutzung der Nasenendoskopie präzise erfolgen.

Für die Untersuchungen wurde ein Endoskop mit starrer, im Durchmesser 2,7 mm messender 30° Vorausblick-Optik (Hopkins®, Modell 28719BA) von *KARL STORZ SE & Co. KG* (Tuttlingen) verwendet. Laut Hersteller besteht die Endoskopoptik aus einem Stabliniensystem mit Fiberglas-Lichtleitung (*Karl Storz Arthroskopschäfte*, 2023). Als Lichtquelle fungierte eine LED-Batterielichtquelle (Artikel-Nr. 11301DE, *KARL STORZ SE & Co. KG*, Tuttlingen). Das Auftragen von Anti-Beschlag-Lösung (Antifog Agent, *MoNo chem-pharm Produkte GmbH*, Wien) ermöglichte eine klare Sicht. Die Reinigung des Endoskops erfolgte mittels Desinfektionslösung (gigasept® AF forte, *Schülke & Mayr GmbH*, Norderstedt).

Die endoskopische Untersuchung verlief bei allen Teilnehmern komplikationsarm, es war in keinem Fall eine lokale Betäubung erforderlich. Darüber hinaus wurde ein ärztlicher Nasenbefund zur Beurteilung von krankhaften Veränderungen erstellt, welche den Ausschluss von der Studienteilnahme bedeuteten. Durch die endoskopische Nasenbefundung wurden außerdem die anatomischen Verhältnisse untersucht. 53% der Teilnehmer wiesen eine Septumdeviation auf. Im Bevölkerungsdurchschnitt weisen ca. 70% eine Septumdeviation auf, welche ab 10° mit dem Auftreten einer Entzündung der Nasenschleimhaut (Rhinitis) sowie zusätzlich der Schleimhaut der Nasennebenhöhlen (Rhinosinusitis) in Zusammenhang gebracht wird (Ronge, 2011). Da Patienten mit chronischer Vorerkrankung der Nase von der Studie ausgeschlossen wurden, kam eine Septumdeviation innerhalb der Studienpopulation möglicherweise seltener vor. Die Riechspalte war in einem Fall einseitig durch eine starke Deviation verlegt, bei den restlichen Teilnehmern beidseitig einsehbar. Bei keinem der Probanden wurden Nasenpolypen beobachtet.

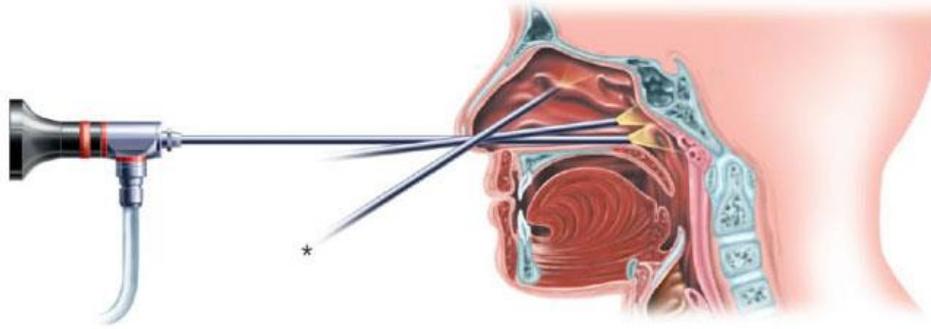


Abbildung 6 Schematische Darstellung der starren Nasenendoskopie. Verschiedene Ausrichtungen ermöglichen eine umfangreiche Untersuchung der Nasenhaupthöhle. Mit freundlicher Genehmigung von © Pierre Delaere (Delaere, 2019).

Abstrichtupfer

Die Nasenschleimhaut wurde mit Trockentupfern *CLASSIQswabs™* (Modell-Nr. 167KS01, *Copan Diagnostics Inc.*, Murrieta, USA) abgestrichen. Die Spitze des 14.5 cm messenden Applikatorstäbchens besteht aus Viskose. Die Abstrichstäbchen sind jeweils einzeln in medizinischen Aufreißbeuteln steril verpackt. Der mikrobielle Nasenabstrich wurde unter endoskopischer Sicht durch einen HNO-Arzt durchgeführt. Dann wurde der Abstrichtupfer kurz hinter der Spitze abgeschnitten und in dem vorbereiteten *RNAlater™*-Röhrchen eingefroren.

Probengefäß

Zur Aufbewahrung wurden mit Lithium-Heparin präparierte Mikro-Probengefäße mit Schraubverschluss der Marke *Sarstedt AG & Co KG* (Nürnbrecht, Bestell-Nr. 41.1393.005) verwendet. Die Gefäße fassen ein Volumen von 1.3 ml und wurden für die Lagerung der Abstrichtupfer mit 1 ml *RNAlater™*-Lösung () gefüllt.

RNAlater™

Als Transportmedium für das mikrobielle Genom wurde die RNA-Stabilisierungslösung *RNAlater™* (*Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific Inc.*, Waltham, USA, Katalog-Nr. AM7021) verwendet. Die wässrige Aufbewahrungslösung deaktiviert laut Hersteller die enzymatische Ribonuklease (RNase) und schützt damit das mikrobielle Genom vor dem Zerfall (*RNAlater™ Stabilisierungslösung*, 2022). Die Hersteller geben an, dass das RNA-Lagerreagenz RNA bei Raumtemperatur (25°C) bis zu einer Woche lang und bei 4°C bis zu einem Monat lang stabilisieren kann. Die Proben wurden bei -20°C eingefroren, was eine zeitlich unbegrenzte Stabilisierung der RNA ermöglichte. Nach der Sammlung der Proben konnten diese kollektiv in mit Trockeneis gefüllten Schaumstoffpaketen zur weiteren Analyse ins Labor der Kollegen

der *University of Colorado School of Medicine* (Denver, Colorado, USA) geschickt und dort bei -80°C eingefroren werden.

2.2.1 Fragebogen und subjektive Sinnesbewertung

Anamnestische Angaben

Die Teilnehmer der Studie wurden bezüglich der aktuellen Anamnese hinsichtlich der Riechstörung, Eigenanamnese, vegetativer Anamnese, Genuss- und Suchtmittelanamnese befragt. Außerdem wurden demografische Angaben zum Alter, Geschlecht, Vorerkrankungen, Medikamenteneinnahme, Voroperationen am Kopf und Allergien erhoben (siehe Abschnitt 11.1). Von einer anderen und seltenen Ursache wie die durch Medikamenteneinnahme bedingten Beeinträchtigung des olfaktorischen Systems war bei der Kohorte nicht auszugehen (Hummel & Welge-Lüssen, 2009b). Die gründliche Anamnese diente einerseits der Abgrenzung der postinfektiösen Genese der Riechstörung von anderen Ursachen, andererseits sollten möglichst umfangreiche Informationen zu den Patienten und dem krankheitsbedingten Leidensdruck in Erfahrung gebracht werden.

Die Diagnose der postviralen Ursache der Riechstörung erfolgte aufgrund der Angaben der Patienten im Anamnesegespräch, ein schriftlicher Nachweis von Coronatestergebnissen wurde nicht verlangt. Alle Teilnehmer wurden spezifisch nach dem Verlauf des Infekts gefragt: Zeitraum sowie Beginn, Dauer und Qualität des Geruchsverlustes und ob das Coronavirus SARS-CoV-2 die Ursache der viralen Erkrankung war.

Subjektive Einschätzung des Riechens, Schmeckens, Feingeschmacks und Nasenatmung

Die Studienteilnehmer wurden zunächst zu ihrer generellen subjektiven Sinneswahrnehmung befragt. Die Teilnehmer sollten beantworten, ob ihr Riech- oder Schmecksinn, die Wahrnehmung des Feingeschmacks sowie die Nasenatmung intakt oder beeinträchtigt sei.

Daraufhin wurden die Probanden aufgefordert, die Funktionalität ihrer Sinne in den vier Kategorien *Riechen*, *Schmecken*, *Feingeschmack* und *Nasenatmung* auf einer Skala von 0 bis 10 einer Zahl zuzuordnen. Hierbei sollte die Zahl Null dem Fehlen und die Zahl Zehn der idealen Ausprägung der jeweiligen Fähigkeit entsprechen. Diese konkreten Angaben ermöglichten eine detailliertere Darstellung der subjektiven Wahrnehmung.

Qualitative Sinnesstörungen

Anschließend wurden die Patienten nach qualitativen Sinnesphänomenen befragt, da Parosmien oder Phantosmien postinfektiös auftreten können. Die Parosmie beschreibt das Phänomen einer qualitativ verzerrten Geruchswahrnehmung, wobei die vorliegende Geruchsquelle verändert wahrgenommen wird (AWMF, 2023; Hernandez et al., 2023; Hummel et al., 2017). Die genaue Ursache dieser Phänomene ist noch unklar, man geht zurzeit davon aus, dass durch den Erreger der Infektion das Riechepithel angegriffen wird, wodurch manche Rezeptoren Schaden nehmen (Hummel & Welge-Lüssen, 2009b, S. 79). Ein Geruchsmolekül kann dann nicht mehr in seiner Vollständigkeit erkannt werden, da ein Teil der Rezeptoren fehlt oder nicht mehr funktionsfähig ist, sodass der Patient den Geruch verändert wahrnimmt (Hummel & Welge-Lüssen, 2009b, S. 79).

Die Phantosmie als „Geruchshalluzination“ beschreibt die Wahrnehmung eines Geruchs, ohne dass ein entsprechender Stimulus vorhanden ist (AWMF, 2023; Hernandez et al., 2023; Hummel et al., 2017). Meist werden die wahrgenommenen Gerüche als unangenehm beschrieben (Pellegrino et al., 2021). Die Phänomene wurden nach den Kriterien des täglichen Auftretens, der Intensität und der entstandenen Beeinträchtigung der Lebensqualität in Grade von Null bis Drei eingeteilt, wobei Grad Drei der stärksten Ausprägung dieser qualitativen Sinnesstörungen entspricht.

Bezüglich des Schmeckens wurden die Patienten nach dem Vorkommen einer Phantogeusie befragt. Bei dieser „Geschmackshalluzination“ (Fikentscher et al., 1987) wird analog zur Phantosmie des Riechens ein Geschmack im Mund wahrgenommen, ohne dass ein entsprechender Stimulus vorliegt (AWMF, 2023; Hummel & Welge-Lüssen, 2009d).

Beeinträchtigung der Lebensqualität

Die Patienten wurden befragt, ob ihre Lebensqualität durch die Symptomatik infolge der Infektion beeinträchtigt sei. Diesen Zusammenhang stellten bereits Smeets et al. (2009) her. Die Angaben erfolgten auf einer Skala, wobei der Zahlenwert Null *keiner* und Sechs einer *starken* Beeinträchtigung entsprach.

2.2.2 Objektives Riech- und Schmeckvermögen

SDI und Sniffin' Sticks

Zur Objektivierung des Riechvermögens wurden alle Probanden mit der standardisierten Riechtestung mithilfe der von Kobal et al. (1996) erstmalig beschriebenen *Sniffin' Sticks*

der Firma *Burghart Messtechnik GmbH* (Holms, Artikel-Nr. LA-13-00002, s. Abbildung 7) getestet.



Abbildung 7 Dreiteiliges „Sniffin‘ Sticks“-Set. Links: Diskriminationstestung, Mitte: Schwellentestung, Rechts: Identifikationstestung. Mit freundlicher Genehmigung von (BURGHART MESSTECHNIK, 2023).

Entwickelt wurden die *Sniffin‘ Sticks* als klinische Methode, um den Geruchssinn universell klassifizieren zu können (Hummel et al., 1997). Ein Stift hat eine Länge von 14 cm und einen Innendurchmesser von 1,3 cm (Hummel et al., 2007). Der Faserkern der Filzstifte ist mit 4 ml flüssigem Duftstoff, mit in Propylenglykol gelöstem Duftstoff oder mit geruchsneutralem Lösungsmittel getränkt (Hummel et al., 2007). Der SDI-Wert ist nach den Initialen der drei Tests benannt. Mit dem 112 Stifte umfassenden Set kann die Riechschwelle (S), Differenzierungs- (D) und Identifikationsfähigkeit (I) von Düften an Probanden getestet werden. Um gleichwertige Bedingungen zu schaffen, wurden alle Patienten mit verbundenen Augen in einem ruhigen Raum getestet. Dem standardisierten Ablauf entsprechend wurde den Probanden nach einem Wortsignal der geöffnete Duftstift in kreisenden Bewegungen drei Sekunden lang in einem Abstand von 2 cm unter der Nase präsentiert (Hummel et al., 2007). Auf diese Weise konnten die Duftstifte ohne direkten Hautkontakt und ohne Übertragung von gesundheitsschädlichen Keimen wiederverwendet werden (Hummel et al., 1997).

Durch die simple Handhabung und Wiederverwendbarkeit haben sich die *Sniffin' Sticks* in Deutschland laut aktueller S2k-Leitlinie zu Riech- und Schmeckstörungen der (AWMF, 2023) zur am häufigsten angewandten Methode der quantitativen Riechtestung etabliert. Bereits 2009 waren die *Sniffin' Sticks* in mehr als 1000 Studien die Methode der Wahl und wurden weltweit klinisch als Screening der Riechfunktion genutzt (Haehner et al., 2009).

Schwellentestung

Zuerst wurde die individuelle Riechschwelle bestimmt, welche als die niedrigste zuverlässig wiedererkennbare Konzentration definiert ist (Doty & Mishra, 2001). Als Duftstoff wurde Phenylethylalkohol, der vom Riechgesunden als Rosenduft wahrgenommen wird, in verschiedenen Konzentrationen in Form einer Verdünnungsreihe verwendet. Der Schwellentest besteht aus insgesamt 48 Stiften, welche in 16 Gruppen bestehend aus je 3 Stiften unterteilt sind (Rumeau et al., 2016). Dem verblindeten Probanden wurden in randomisierter Reihenfolge jeweils ein mit in Lösungsmittel gelöstem Duftstoff (Phenylethylalkohol) und zwei mit in nicht-riechendem Lösungsmittel (Propylenglykol) getränkte Stifte präsentiert. Jeweils aus einem solchen Tripletts musste der duftende Stift richtig erkannt werden – gewertet wurde die so erzwungene Antwort unabhängig davon, wie sicher der Stift ohne Versuchswiederholung erkannt wurde. Dieser sogenannten „triple-forced-choice“-Methode nach wurden dem Probanden zu Beginn Konzentrationen in aufsteigender Intensität getestet, bis eine Stufe zweimal nacheinander richtig erkannt wurde (s. Abbildung 17). Dann wurde von der erreichten Konzentration ausgehend in absteigender Intensität getestet, bis ein Tripletts falsch zugeordnet wurde. Daraufhin wurde wieder in aufsteigender Konzentration getestet, bis erneut eine Intensitätsstufe zweimal richtig erkannt wurde. Insgesamt wurden nach diesem Schema sieben Runden durchgeführt. Das Testergebnis berechnet sich aus dem *Mittelwert M* der vier letzten Wendepunkte. Auf diese Weise konnten Ergebnisse zwischen einem und sechzehn Punkten erreicht werden. Probanden, welchen den duftenden Stift auch in der höchsten Konzentration nicht wiedererkannten, erhielten einen Schwellenwert von einem Punkt (Hummel et al., 2007).

Diskriminationstestung

Anschließend folgte die Testung der Diskriminierungsvermögens. Hierfür wurden den verblindeten Patienten insgesamt 16 Tripletts präsentiert. Diese bestanden jeweils aus zwei Stiften, welche mit einem identischen Duft getränkt waren, sowie einem dritten, andersartig riechendem Stift (s. Abbildung 18). Ebenfalls nach der „triple-forced-choice“-Methode musste hier der anders riechende Stift benannt werden, unabhängig davon, ob der Patient die Antwort sicher geben konnte, oder raten musste. Es konnten Werte von null bis sechzehn Punkten erreicht werden (Oleszkiewicz et al., 2019).

Identifikationstestung

In einem dritten Schritt wurde die Duftidentifizierungsfähigkeit anhand von 16 Düften getestet. Zu jedem *Sniffin' Stick* bekamen die Probanden eine Tafel mit vier beschrifteten Bildern von vier hedonisch ähnlichen Düften (s. Abbildung 19). Aus dieser Auswahl musste der Duft gemäß der „forced-choice“ Methode erkannt werden, dafür durften die Teilnehmenden beliebig oft erneut an dem Stift riechen. Zwischen den einzelnen Stiften wurde den Probanden eine Pause von ca. 30 Sekunden gegeben, um einer olfaktorischen Desensibilisierung vorzubeugen (Rumeau et al., 2016). In der Identifikationstestung konnten null bis 16 Punkte erreicht werden.

In den drei Tests können jeweils maximal 16 Punkte erreicht werden, sodass ein maximaler SDI-Wert von 48 Punkten möglich ist. Ein SDI-Ergebnis ≥ 30.75 entspricht dabei einer Normosmie, also einem gesunden Geruchssinn. Als anosmisch (ohne Geruchssinn) gelten Patienten mit einem $\text{SDI} \leq 16$. Die Diagnose Hyposmie (eingeschränkter Geruchssinn) ergibt sich durch ein SDI-Ergebnis mit Werten von 16.25 bis 30.5, welche zwischen den Grenzen zu Norm- und Anosmie liegen (s. Tabelle 1; Oleszkiewicz et al., 2019).

Tabelle 1 Interpretation der SDI-Testergebnisse nach Oleszkiewicz et al. (2019).

Diagnose	Definition (Hernandez et al., 2023)	SDI-Ergebnis (Punkte)
Normosmie	„quantitativ normale Riechfunktion“	> 30.5
Hyposmie	„quantitativ reduzierte Riechfunktion“	16.25 – 30.5
Anosmie	„quantitativ reduzierte Riechfunktion in dem Ausmaß, dass der [verbleibende] Riechsinn im täglichen Leben nicht mehr nützlich ist“	≤ 16

Untersuchung des retronasalen Riechens und der Schmeckfunktion

Um den Riechsinn beziehungsweise das Ausmaß dessen Einschränkung umfangreich zu erfassen und zusätzlich einen groben Eindruck über die gustatorische Funktion zu gewinnen, wurde das retronasale Riechen und die Schmeckfunktion untersucht. Das retronasale Riechen wurde anhand von pulverförmigen Nahrungsmitteln getestet, welche den Probanden bei verbundenen Augen zum Probieren auf die Zunge gegeben wurden. Nach jeder Kostprobe musste jeweils aus einer schriftlichen Vorauswahl von sechs verschiedenen Nahrungsmitteln (s. Abbildung 20) das Pulver mit dem Aroma Banane,

Zimt oder Knoblauch richtig wiedererkannt werden. Durch das Erreichen der vollen Punktzahl (3 Punkte) galt das retronasale Riechen als uneingeschränkt.

Das gustatorische System wurde in den Grundschmeckrichtungen *süß*, *sauer*, *salzig* und *bitter* getestet. Dafür wurde den Patienten jeweils ein Sprühstoß eines der genannten Schmecksprays auf die Zunge gegeben, welches daraufhin richtig benannt werden sollte. Insgesamt konnten vier Punkte erreicht werden, was als uneingeschränkte Schmeckfähigkeit gewertet wurde.

2.2.3 Molekularbiologische Analyse

Um das Mikrobiom statistisch auswerten zu können, musste das genetische Material zunächst extrahiert, vervielfältigt und sequenziert werden. Die Analyse wurde in der *Division of Infectious Diseases* sowie dem *Microbiome Research Consortium* der *University of Colorado School of Medicine* (Denver, Colorado, USA) durchgeführt, der Ablauf ist schematisch in der folgenden Abbildung 8 dargestellt.

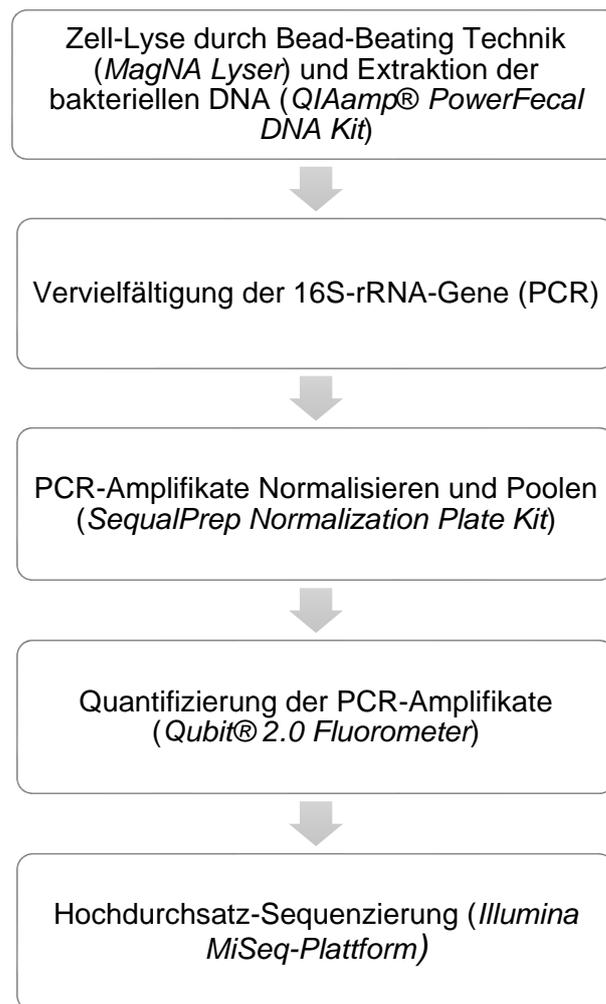


Abbildung 8 DNA-Extraktion, Vervielfältigung und Sequenzierung. Schematische Darstellung der Schritte.

Zunächst musste die bakterielle DNA für die folgenden Analyseschritte vorbereitet werden. Hierfür wurde die DNA mithilfe des *QIAamp® PowerFecal DNA Kit* (© *QIAGEN*, Germantown, Maryland, USA) von den restlichen Bestandteilen der Probe isoliert (Biswas et al., 2023). Dafür wurden die bakteriellen Zellen zur Gewinnung des genetischen Materials zunächst lysiert, was in Form einer mechanischen Zellyse durch den *MagNA Lyser* (*Roche Holding*

AG, Basel, Schweiz) erfolgte (Biswas et al., unveröffentlicht). In diesem Verfahren werden bakterielle Zellen durch den Zusammenstoß mit kleinen harten Keramik- oder Glaskügelchen zerstört, wodurch das im Zytosol befindliche Genmaterial der Bakterien für die weitere Analyseschritte zugänglich gemacht wird (*MagNA Lyser*, 2023). Anschließend wurde die an eine Silika-Membran gebundene bakterielle DNA mehrfach gewaschen, um Verunreinigungen zu entfernen, sodass gereinigte DNA gesammelt werden konnte (*QIAamp*®, 2013). Mit dieser Methode könne die Alphadiversität in einem hohen Umfang erhalten werden, was eine Voraussetzung für den Erfolg der darauffolgenden Analyse sei (*QIAamp*®, 2013).

Die Vervielfältigung der bakteriellen 16S-rRNA erfolgte durch die Polymerase-Kettenreaktion (engl: polymerase chain reaction, PCR) nach üblicher Methode (Frank et al., 2022; Vickery et al., 2021). Mittels PCR können durch die mehrfache Wiederholung bestimmter Prozesse spezifische DNA-Sequenzen amplifiziert werden, sodass der ausgewählte DNA-Bereich exponentiell vervielfacht wird (Mullis & Faloona, 1987). In der vorliegenden Studie wurden die bakteriellen Gene mit V1V2-spezifischen Primern (27FYM 5'-AGAGTTTGATYMTGGCTCAG und 338R 5'-TGCTGCCTCCCGTAGGAGT) amplifiziert, die an Regionen ansetzen, die in allen Bakterienarten vorkommen, sodass nur bakterielle 16S-rRNA-Gene vervielfacht werden (Biswas et al., unveröffentlicht). Die amplifizierten Gensequenzen beinhalten jeweils spezifische variable Regionen, wodurch die Zuordnung zu Bakteriengattungen oder sogar Bakterienarten erfolgen kann (Větrovský & Baldrian, 2013). Zur Bestätigung der Ergebnisse und Überprüfung einer fraglichen Kontamination wurden negative PCR- und DNA-Extraktionskontrollen im Sinne von „no template“-Kontrollen durchgeführt, welche eine Kontamination durch ein negatives Ergebnis ausschließen (Bento Bioworks Ltd, 2023; Biswas et al., unveröffentlicht; QIAGEN®, 2024). Es wurden keine PCR-Rückstände nachgewiesen und daher konnte eine fremde Nukleinsäurekontamination ausgeschlossen werden (Biswas et al., unveröffentlicht).

Im nächsten Schritt wurden die hergestellten PCR-Amplifikate mithilfe des *SequalPrep™ Normalization Plate Kits* (*Invitrogen*, Waltham, Massachusetts, USA) normalisiert und gepoolt. Durch die PCR kann es zu unterschiedlichen Konzentrationen der Amplifikate in den Proben kommen, was durch den Normalisierungsprozess so ausgeglichen werden kann, dass die PCR-Amplifikate schlussendlich in gleicher Konzentration vorliegen, wodurch die korrekte weitere Analyse gewährleistet wird (*Invitrogen™*, 2008). Anschließend wurden die PCR-Amplifikate mittels *Qubit® 2.0 Fluorometer* (*Invitrogen*, Waltham, Massachusetts, USA) fluorometrisch quantifiziert. Durch die Detektion von an DNA-Moleküle gebundenen Fluoreszenzfarbstoffe kann auf diese Weise die Menge der vorliegenden DNA bestimmt werden (Simbolo et al., 2013).

Die Sequenzierung und Analyse der Daten erfolgte anschließend mit dem *MiSeq*[™] System (*MiSeq Reagent Kit v3*, *Illumina*®, San Diego, CA, USA), welches durch Next Generation Sequencing (NGS) die „DNA-zu-Daten-Sequenzierung“ (*Illumina*®, 2024) ermöglichte. NGS kann die Nukleotidsequenz von DNA oder RNA entschlüsseln, durch parallele Sequenzierung kann NGS als Hochdurchsatz-Sequenzierungsmethode kostengünstig und schnell arbeiten und gilt als zweite Revolution der Sequenzierungstechnologie (*Illumina, Inc.*, 2024; Loman & Pallen, 2015; Shendure & Ji, 2008). Es wurde eine Sequenzierung mit gepaarten Enden (engl. „paired-end sequencing“) durchgeführt, welche durch die Sequenzierung beider Enden eines kurzen DNA-Abschnitts (Nukleotidsequenz, engl: „read“) kostengünstig eine große Menge ebendieser DNA-Abschnitte bzw. Nukleotidsequenzen herstellen kann (Ravi et al., 2018). Die Rohdaten der DNA-Sequenzen wurden von Biswas et al. (2023) in der Datenbank der NCBI (National Center for Biotechnology Information, bio-project PRJNA921889) hinterlegt.

2.3 Statistische Verfahren/ (statistische) Datenanalyse

2.3.1 Auswertung der Fragebögen und Klinischen Tests

Die Sammlung der Daten aus den Fragebögen und Untersuchungen erfolgte mit dem Tabellenkalkulationsprogramm *Microsoft Excel* (Version Excel 2019, Microsoft, Redmont, Washington, USA), die Auswertung wurde mit *SPSS*®, (Version 28, IBM®, New York, USA) durchgeführt. Grafiken wurden mit *Microsoft Word* (Version Microsoft Office 2021, Microsoft, Redmont, USA) und *Microsoft PowerPoint 2019* (Version 17.0, Microsoft, Redmont, USA) erstellt. Das Signifikanzniveau (Alphaniveau) wurde für alle durchgeführten Tests auf den Wert .05 festgelegt. Ein Wert $p \leq .05$ galt als signifikant, $p < .001$ als hochsignifikant, zusätzlich wurde die zweiseitige Signifikanz p angegeben. Befand sich diese unterhalb des Alphaniveaus von .05, so wurde die Nullhypothese „Es besteht kein Zusammenhang“ verworfen.

Deskriptive Statistik

Mithilfe der deskriptiven Statistik wurden die anamnestischen Angaben der Teilnehmer inklusive der demographischen Angaben sowie die Ergebnisse der SDI- und Schmecktestung berechnet. Dargestellt wurden die Lagemaße *Mittelwert (M)*, *Minimum (MIN)* und *Maximum (MAX)*, sowie relative und absolute Häufigkeiten. Als Maß zur Streuung der Daten wurde die *Standardabweichung (SD)* genutzt.

Hypothesentests

Um die Mittelwerte der Gruppen zu vergleichen, wurde der ungepaarte *Zweistichproben-T-Test* verwendet (s. Anhang 11.6). So konnten die unabhängigen Gruppen nach Alter, subjektiven Angaben über die Riech- und Schmeckfähigkeit, Beeinträchtigung der Lebensqualität und SDI- sowie Riechtestung verglichen werden.

Die zugrundeliegende deskriptive Statistik des *T-Tests* mit *M*, *SD* und *Standardfehler des Mittelwerts* ist im Anhang beigefügt (s. Anhang 11.9). Die Ergebnisse wurden in der Tabelle „Test für unabhängige Stichproben“ dargestellt (s. Anhang 11.7). Zur Prüfung der Gleichheit der Varianzen wurde der *Levene-Test* angewandt, welcher anhand des Medians der Stichprobe zuverlässig deren Signifikanzniveau testet (Lim & Loh, 1996). Schlussendlich wurden die *T*-Werte in Abhängigkeit der *Freiheitsgrade* (engl. „degrees of freedom“ = *df*) sowie der zweiseitigen Signifikanz *p* des *T-Tests* tabellarisch dargestellt (s. Anhang 11.7). Negative *T*-Werte bedeuten, dass die Mittelwerte der gesunden Kontrollgruppe kleiner sind als die Mittelwerte der postinfektiösen Gruppe.

Effektstärke

Bei signifikant unterschiedlichen Ergebnissen wurde die Effektstärke berechnet, um die praktische Relevanz der Differenzen der Mittelwerte zu bestimmen (s. Anhang 11.8). *Cohens's d* wird als ein dimensionsloses und von der Stichprobengröße unabhängiges Effektmaß für die Stärke eines Phänomens beschrieben, berechnet wird es aus der Differenz der Mittelwerte geteilt durch die Standardabweichung (Cohen, 1988). Dabei gelten *d*-Werte von .01 als *sehr klein*, .2 als *klein*, .5 als *mittlerer*, .8 als *großer*, 1.2 als *sehr großer* und 2.0 als *riesiger* Effekt (Becker, 2000; Sawilowsky, 2009). Das bedeutet beispielsweise im Fall von großen Effekten > 0.8 , dass $> 80\%$ der Kontrollgruppe unter dem Mittelwert der postinfektiösen Gruppe liegen. Bei Gruppendifferenzen $< .2$ sind diese Differenzen zu vernachlässigen. Negative Werte bedeuten eine entgegengesetzte Richtung des Unterschieds.

Korrelationsanalysen

Die *Korrelation nach Pearson* untersucht den linearen Zusammenhang zweier Variablen. Korreliert wurden Alter, Ergebnisse der SDI- und Schmecktestungen, subjektiven Angaben bezüglich des Riechens und Schmeckens, der Zeitpunkt des beginnenden Geruchsverlusts sowie die subjektive Einschätzung der Durchgängigkeit der Atemluft beim Atmen durch die Nase (s. Anhang 11.10). Der dimensionslose Korrelationskoeffizient *r* kann Werte zwischen minus 1 (perfekt negativer Zusammenhang) und 1 (perfekt positiver Zusammenhang) annehmen. Es besteht kein Zusammenhang, wenn $r \approx 0$. Zur Interpretation von *r* wird

vorgeschlagen, r -Werte von .1 bis .39 als *schwache*, .4 bis .69 als *moderate*, .7 bis .89 als *starke* und r -Werte größer .9 als *sehr starke* Korrelation zu bewerten (Schober et al., 2018).

2.3.2 Analyse des Mikrobioms

Die Besiedlung der Nasenschleimhaut mit Mikroorganismen wurde hinsichtlich Artenvielfalt und Zusammensetzung mikrobiologisch ausgewertet. In Anschluss an die in Kapitel 2.2.3 beschriebene Sequenzierung erfolgte die bioinformatische Auswertung der Daten.

Bioinformatische Analyse

Die Auswertung der Sequenzierungsdaten erfolgte im Anschluss an die Genomanalyse (s. Kapitel 2.2.3), die Zwischenschritte sind in der folgenden Abbildung 9 dargestellt.

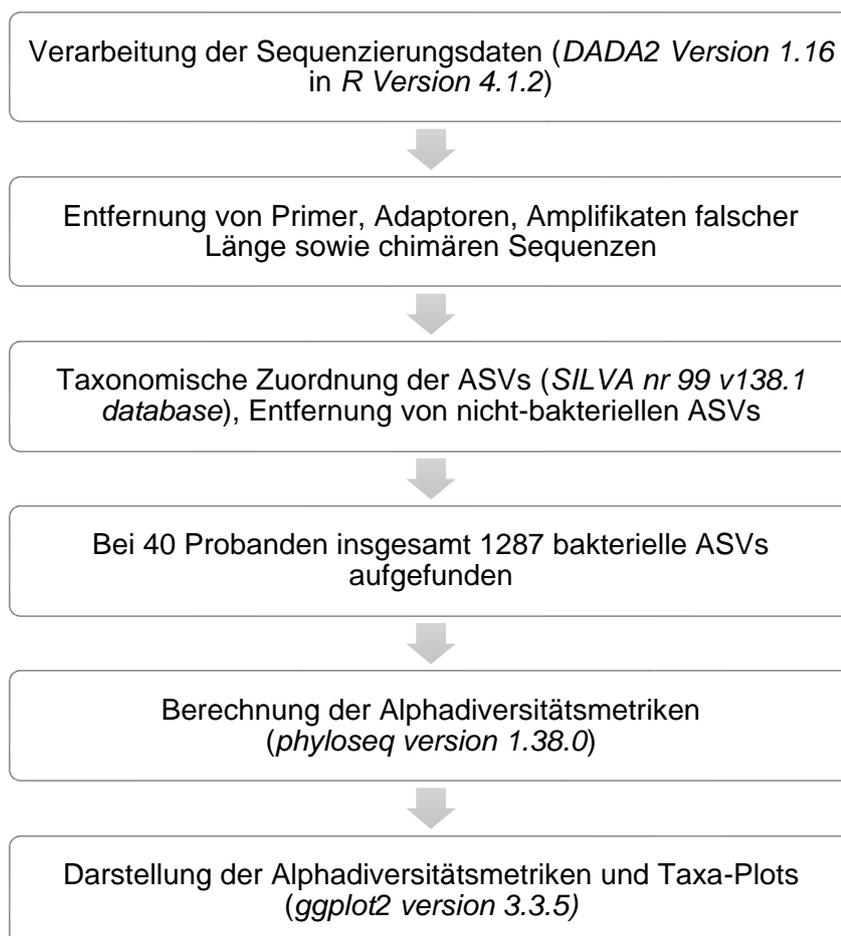


Abbildung 9 Reihenfolge der bioinformatischen Datenauswertung.

Die Sequenzierungsdaten wurden mit dem Softwarepaket *DADA2-Pipeline Version 1.16* nach der Methode von Callahan et al. (2016) bearbeitet und nach Fehlern korrigiert, hierfür

wurde das Statistikprogramm *R*, *Version 4.1.2* (Core R Team, 2021) nach geläufiger Verfahrensweise verwendet (Biswas et al., 2020, 2023; Siu et al., 2021). Im Rahmen der Überarbeitung des gesamten Datensatzes wurden die Sequenzierungsdaten jeweils um 53 Basenpaare (bp) vom Vorwärtsstrang bzw. 52 bp vom Rückwärtsstrang gekürzt und Primer und Adaptern wurden entfernt (Biswas et al., unveröffentlicht). Im Rahmen einer Qualitätskontrolle wurde die maximale Anzahl der erwarteten Fehler („maxEE“) auf drei und die maximale Anzahl unbekannter „N“-Basen („maxN“) auf null gesetzt, außerdem wurden zusammengesetzte Amplifikate mit falscher Länge (zu kurz < 258 bp oder zu lang > 270 bp) sowie chimäre Sequenzen entfernt (Biswas et al., unveröffentlicht).

Die taxonomische Zuordnung der Amplikon-Sequenzierungsvarianten (ASVs) zu rRNA-Gensequenzen erfolgte anhand der Datenbank *SILVA* nr99 v138.1 (Quast et al., 2013). Außerdem wurden nicht-bakterielle ASVs, mitochondriale ASVs, sowie ASVs, welche insgesamt zu selten (< zehnmal) aufgefunden wurden, entfernt. Für die nachgeschalteten Analysen wurden die Proben jeweils auf eine gleichmäßige Sequenzierungstiefe von 2400 Nukleotidsequenzen (engl. „reads“) je Probe verdünnt. Schlussendlich konnten für alle vierzig Probanden nach Durchführung der Kontroll- und Überarbeitungsschritte 1287 ASVs gefunden werden (Biswas et al., unveröffentlicht).

Bakterielle Alpha-Diversität

Die bakterielle Alpha-Diversität beschreibt die Struktur innerhalb einer bakteriellen Gemeinschaft und bezieht sich dabei auf die Anzahl der verschiedenen Gruppen (Artenvielfalt, engl. „richness“) innerhalb der Stichprobe sowie deren Gleichverteilung bzw. Gleichmäßigkeit (engl. „evenness“) (Liu et al., 2021; Willis, 2019). Alpha-Diversitätsmetriken können den Aufbau einer ökologischen Gemeinschaft analysieren und darstellen, sodass Gemeinschaften miteinander verglichen werden können (Willis, 2019). Für die vorliegende Analyse der Sequenzierungsdaten wurde die von McMurdie & Holmes (2012) beschriebene Programmbibliothek *phyloseq* (Version 1.38.0, *R*-Paket) genutzt, die graphische Darstellung erfolgte anhand des *R*-Pakets *ggplot2* (Version 3.3.5) (Biswas et al., unveröffentlicht; Villanueva & Chen, 2019). Die Artenvielfalt ist die Anzahl beobachteter taxonomischer Gruppen, häufig in Bezug auf die Anzahl beobachteter ASVs und wurde durch den Parameter (*Observed*) *Richness* dargestellt (Kers & Saccenti, 2022; Willis, 2019). Der Parameter *Chao1* dient der häufigkeitsbasierten Schätzung für Artenreichtum, *Shannon's* und *Simpson's Index* sind Schätzer für Artenreichtum und berücksichtigen dabei Artenvielfalt und Gleichverteilung (Chao, 1984; Kers & Saccenti, 2022; Lemos et al., 2011).

Multivarianzanalyse

Für die Darstellung des Einflusses der Faktoren Riechvermögen, interindividuellem Unterschied, Alter und Ort des Abstriches erfolgte die Permutationsanalyse der Varianz

(*PERMANOVA*), einem nicht-parametrischen, multivariaten Test (Anderson, 2017, s. **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**). *PERMANOVA* eignet sich zur Testung nicht-normalverteilter Daten, was bei ökologischen Datensätzen wie dem hier vorliegenden üblich ist (Anderson, 2001).

Zusammensetzung der bakteriellen Besiedlung

Um Ähnlichkeiten oder Unterschieden von Daten visuell darzustellen, wurde der *PCoA-Plot* (engl. „*Principal Coordinates Analysis*“, dt. „*Hauptkoordinatenanalyse*“) gewählt. Diese *Metrischen Multidimensionale Skalierung* ermöglicht es, Zusammenhänge von Daten grafisch darzustellen und dadurch Muster zu erkennen (Shi et al., 2020). In Abbildung 15 wurde die Ähnlichkeit der bakteriellen Zusammensetzung unter den Aspekten Ort des Abstrichs und Riechvermögen räumlich autokorreliert dargestellt.

Dunn-Test, Kruskal-Wallis-Test, Benjamini Hochberg-Anpassung

Um Unterschiede zwischen den Gruppen zu identifizieren, wurden die Rangsummentests *Dunn-Test* und *Kruskal-Wallis-Test* verwendet. Auf diese Weise können einzelne Taxa, die sich zwischen den Gruppen signifikant unterscheiden, ermittelt werden (Biswas et al., unveröffentlicht). Der *Dunn-Test* ermöglicht die Untersuchung von verschiedenen Stichproben dahingehend, ob diese aus gleichartig verteilten Grundgesamtheiten stammen (Dunn, 1964).

Nicht-normalverteilte Daten wie Ordinal- oder Rangdaten eigneten sich für den *Kruskal-Wallis-Test*, mit welchem die bakterielle Zusammensetzung in Abhängigkeit von Alter oder Ort der Probenentnahme untersucht werden konnte. Dieser nicht-parametrische Test bewertet die Unterschiede einer nicht normalverteilten kontinuierlichen Variablen von mindestens drei unabhängig voneinander untersuchten Gruppen (McKight & Najab, 2010).

Die *Benjamini Hochberg Falscherkennungsrate* eignete sich zum Erkennen von fälschlicherweise abgelehnten Nullhypothesen und damit dem Erkennen von Fehlern erster Art (Benjamini & Hochberg, 1995).

3 Ergebnisse

3.1 Fragebogen: Anamnese, Riech- und Schmecktestung

Demographische Auswertung und Anamnese

Es wurden insgesamt 40 Probanden zwischen 20 und 84 Jahren rekrutiert, deren Altersdurchschnitt bei 47.5 Jahren ($SD \pm 18.3$) lag. Die Altersdifferenz der Gesunden ($M = 49.5$ Jahre, $SD \pm 19.9$) und der Kranken ($M = 45.6$ Jahre, $SD \pm 16.8$) war nicht signifikant ($t[38] = .68$; $p = .50$). Die Teilnehmer waren zu 65 % (26 Probanden) weiblich und zu 35 % (14 Probanden) männlich, den beiden Gruppen waren zu gleichen Anteilen je 13 Frauen und 7 Männer zugeordnet. Die wichtigsten anamnestischen Informationen sind in Tabelle 2 dargestellt.

Der Riechverlust setzte bei den 20 postviralen Teilnehmern unmittelbar auf die Infektion folgend ein, bei 16 der 20 postviralen Patienten (80 %) war die Ursache eine Infektion mit dem Coronavirus SARS-CoV-2.

Die Geruchsverlustdauer betrug zum Zeitpunkt der Untersuchung durchschnittlich 12.3 Monate ($SD \pm 24.5$), dabei betrug die kürzeste Dauer vier Monate und die längste Dauer 115 Monate (9.6 Jahre). Ohne diesen Teilnehmer lässt sich zum Untersuchungszeitpunkt eine mittlere Geruchsverlustdauer von durchschnittlich 6.9 Monaten ($SD \pm 3.8$ Monate) berechnen.

Der Anteil chronisch Vorerkrankter betrug unter den 40 Teilnehmern insgesamt 47.5 % (19 Patienten). Davon waren zehn Vorerkrankte in der postviralen Gruppe und neun in der Kontrollgruppe. Die vier häufigsten Krankheitsbilder waren arterielle Hypertonie (25 %), Hypothyreose (12.5 %), Asthma bronchiale (10 %) und Diabetes mellitus Typ 2 (10 %). 21 Teilnehmer gaben eine tägliche Medikamenteneinnahme an.

Tabelle 2 Anamnestische Angaben der Probanden. MIN= Minimum, MAX= Maximum. Relative Häufigkeiten werden in Prozent angegeben. ¹Geruchsverlust, ²sofortiger Geruchsverlust nach 0 Monaten, ³arterielle Hypertonie, ⁴Gripeschutzimpfung.

Merkmal		Post- infektiöse	Gesunde	Insgesamt
Geschlecht	männlich	7	7	14 (35 %)
	weiblich	13	13	26 (65 %)
Alter (Jahre)	<i>MIN – MAX</i>	20 – 76	22 – 84	20 – 84
	<i>M</i>	45.6 (<i>SD</i> ± 16,8)	49.5 (<i>SD</i> ± 19.9)	47.5 (<i>SD</i> ± 18.3)
Dauer GV¹ (Monate)	<i>MIN – MAX</i>	4 – 115	–	–
	<i>M</i>	12.3 (<i>SD</i> ± 24.5)		
virale Ursachen	SARS-CoV-2	16 (80 %)	–	–
	Andere	4 (20 %)		
Vorer- krankungen	Insgesamt	10 (25 %)	9 (22.5 %)	19 (47.5 %)
	Art. HT ³	1 (2.5 %)	9 (22.5 %)	10 (25 %)
	Hypothyre.	3 (7,5 %)	2 (5 %)	5 (12.5 %)
	Asthma b.	4 (10 %)	0	4 (10 %)
	DMT2	0 (0 %)	4 (10 %)	4 (10 %)
Allergien		13 (32.5 %)	12 (30 %)	25 (62.5%)
Kopf-OP		11 (27.5 %)	5 (12.5 %)	16 (40%)
Alkohol		13 (32.5 %)	17 (42.5 %)	30 (75 %)
Impfung⁴		10 (25 %)	10 (25 %)	20 (50 %)
Abstrich	Rechts	13 (65 %)	8 (40 %)	21 (52.5 %)
	Links	7 (35 %)	12 (60 %)	19 (47.5 %)

Subjektive Einschätzung des Riechvermögens, des Schmeckens, des Feingeschmacks und der Nasenatmung

Alle Patienten mit Riechstörungen nach Infekten der oberen Atemwege gaben eine Beeinträchtigung des Geruchssinnes an (100 %, s. Tabelle 3). Davon gaben 13 (65 %) zudem eine Störung des Schmeckens und 17 (85 %) ein gestörtes Empfinden des Feingeschmacks an. Die gesunde Kontrollgruppe gab keinerlei (0 %) subjektive Defizite an. Folglich waren die Gruppenunterschiede signifikant: Sowohl beim Schmecken ($f[19] = 5.94$; $p < .001$; $d = -1.88$) als auch beim Feingeschmack ($f[19] = -10.38$; $p < .001$; $d = -3.28$) gaben in der postviralen Gruppe signifikant mehr Teilnehmer eine Einschränkung der Fähigkeiten an als in der Kontrollgruppe.

Tabelle 3 Häufigkeitsverteilung von anamnestischen Merkmalen und Ergebnissen der Riechtestung. Absolute Häufigkeiten als Zahlenwerte, relative Häufigkeiten in Prozent. ¹Normosmie >30.5; Hyposmie 16.25 – 30.5; funktionelle Anosmie ≤16, MIN 0 – MAX 48. ²MIN 0 – MAX 6.

	Merkmal	Postinfektiöse	Gesunde
Einschränkung der Sinne (subjektiv)	Riechen	20 (100 %)	0 %
	Schmecken	13 (65 %)	0 %
	Feingeschmack	17 (85 %)	0 %
Ergebnisse der Riechtestung (objektiv)	Schwelle (<i>M</i>)	2.38 (<i>SD</i> ± 2.25)	7.5 (<i>SD</i> ± 2.38)
	Diskrimination (<i>M</i>)	9.35 (<i>SD</i> ± 2.08)	14.0 (<i>SD</i> ± 1.72)
	Identifikation (<i>M</i>)	8.55 (<i>SD</i> ± 2.84)	13.85 (<i>SD</i> ± 1.84)
SDI-Ergebnis¹	(<i>M</i>)	20.28 (<i>SD</i> ± 4.61)	35.45 (<i>SD</i> ± 3.03)
Lebensqualität²	(<i>M</i>)	4.53 (<i>SD</i> ± 1.46)	-
Riech- und Schmeck-Phänomene	Parosmie	11 (55 %)	0 %
	Phantosmie	2 (10 %)	0 %
	Par- u. Phantosmie	2 (10 %)	0 %
	Phantogeusie	5 (25 %)	0 %

Zur genaueren Beurteilung wurden die Probanden gebeten, die Funktionalität ihrer Sinne in den vier Kategorien *Riechen*, *Schmecken*, *Feingeschmack* und *Nasenatmung* auf einer

Skala von minimal 0 bis maximal 10 einer Zahl zuzuordnen. Die symptomatischen postviralen Patienten bewerteten ihre Fähigkeiten in den Bereichen *Riechen*, *Schmecken* und *Feingeschmack* im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe durchschnittlich signifikant geringer. Lediglich die Fähigkeit der *Nasenatmung* war in den Gruppen nicht signifikant unterschiedlich (s. folgende Tabelle 4).

Tabelle 4 Subjektive Sinneswahrnehmung der Patienten, durchschnittliche Bewertung (Skala MIN 0 – MAX 10). Signifikante Ergebnisse ($p < 0,05$) sind mit „*“ gekennzeichnet.

Subjektive Wahrnehmung	Gesunde <i>M (SD)</i>	Postvirale <i>M (SD)</i>	t-Wert; Signifikanz <i>p</i>; Effektstärke <i>d</i>
Riechen	8.8 (<i>SD</i> ± .8)	3.4 (<i>SD</i> ± 2.1)	$t[24.80] = 10.70$; $p < .001^*$; $d = 3.38$
Schmecken	9.3 (<i>SD</i> ± 1.0)	4.8 (<i>SD</i> ± 2.6)	$t[23.99] = 7.03$; $p < .001^*$; $d = 2.22$
Feingeschmack	8.6 (<i>SD</i> ± .8)	3.3 (<i>SD</i> ± 3.0)	$t[21.75] = 7.60$; $p < .001^*$; $d = 2.40$
Nasenatmung	8.6 (<i>SD</i> ± 1.5)	7.7 (<i>SD</i> ± 2.0)	$t[38] = 1.51$; $p = .140$, $d = .48$

Qualitative Sinnesstörungen

Die gesunden Patienten berichteten von keinerlei Riech- oder Schmeckstörungen. Störungen des Riech- und Schmecksinnes kamen ausschließlich bei postviralen Patienten vor. Hinsichtlich qualitativer Riechstörungen konnte bei elf Patienten der postviralen Gruppe eine Parosmie festgestellt werden. Aus dieser Gruppe erlebten zwei Patienten zusätzlich eine Phantasmie. Neun der elf Parosmie-Patienten sowie beide Phantasmie-Patienten bewerten die empfundenen Gerüche als unangenehm.

Insgesamt gaben fünf der Patienten mit Riechstörungen nach Infekten der oberen Atemwege an, eine qualitative Schmeckstörung im Sinne einer Phantogeusie zu erleben. Diese Patienten nahmen einen Geschmack wahr, ohne dass eine entsprechende Geschmacksquelle vorhanden wäre. Der am häufigsten genannte, bei drei der fünf

betroffenen Patienten beschriebene Sinneseindruck, war die Wahrnehmung eines metallisch-eisenähnlichen Geschmacks.

Beeinträchtigung der Lebensqualität

Die postviralen Patienten gaben symptombedingt einen Durchschnittswert von 4.53 ($SD \pm 1.46$) auf einer Skala von 0 bis 6 an, wobei der Zahlenwert 0 *keiner* und 6 einer *starken* Beeinträchtigung entsprach. 55 % der postviralen Patienten gaben eine *starke* oder *sehr starke* Einschränkung an. Im Gegensatz dazu gaben die Gesunden ohne krankheitsbedingte Einschränkung keine Beeinträchtigung der Lebensqualität an ($M = 0$; $SD \pm 0$; $t[20.99] = -13.25$; $p < .001$; $d = -4.19$).

Sniffin' Sticks: Objektives Riech- und Schmeckvermögen

Von den Gruppen wurden in den SDI-Testungen durchschnittlich die in Abbildung 10 **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.** dargestellten Werte erreicht. Die Kontrollgruppe setzt sich aus neunzehn Normosmikern ($SDI > 30,5$) und einem Hyposmiker ($SDI 16,25 - 30,5$) zusammen (s. Tabelle 1; Oleszkiewicz et al., 2019). In der postviralen Gruppe bekamen fünfzehn Probanden die Diagnose Hyposmie, als anosmisch mit einem $SDI \leq 16$ (Oleszkiewicz et al., 2019) wurden fünf Patienten eingestuft.

Die Ergebnisse der Schwellentestung der postviralen Gruppe ($M = 2.38$; $SD \pm 2.25$) waren im Vergleich zur gesunden Gruppe ($M = 7.5$; $SD \pm 2.38$) signifikant niedriger ($t[37.88] = 6.99$; $p < .001$; $d = 2.21$). Auch die durchschnittlichen Diskriminationswerte der postviralen Gruppe ($M = 9.35$; $SD \pm 2.08$) waren niedriger als die der gesunden Kontrollgruppe ($M = 14.0$; $SD \pm 1.72$), die Differenz war signifikant ($t[36.65] = 7.70$; $p < .001$; $d = 2.44$). In der Identifikationstestung wurden von der postviralen Gruppe im Mittel 8.55 ($SD \pm 2.84$) der 16 Gerüche richtig zugeordnet, die Gesunden erkannten 13.85 ($SD \pm 1.84$) von 16 Stiften. Die Differenz war zugunsten der gesunden Gruppe signifikant ($t[32.61] = 7.01$; $p < .001$; $d = 2.22$). Insgesamt lag der erreichte SDI-Wert der postvirale Gruppe ($M = 20.28$; $SD \pm 4.61$) signifikant unter dem Wert der Kontrollgruppe ($M = 35.45$; $SD \pm 3.03$; $t[32.85] = 12.31$; $p < .001$; $d = 3.89$). Zusammengefasst fielen sowohl die Ergebnisse der drei zugrundeliegenden Einzeltests der SDI-Testung, als auch das Ergebnis des SDI-Tests bei der postviralen Gruppe signifikant niedriger aus als die der Gesunden (s. Abbildung 10).

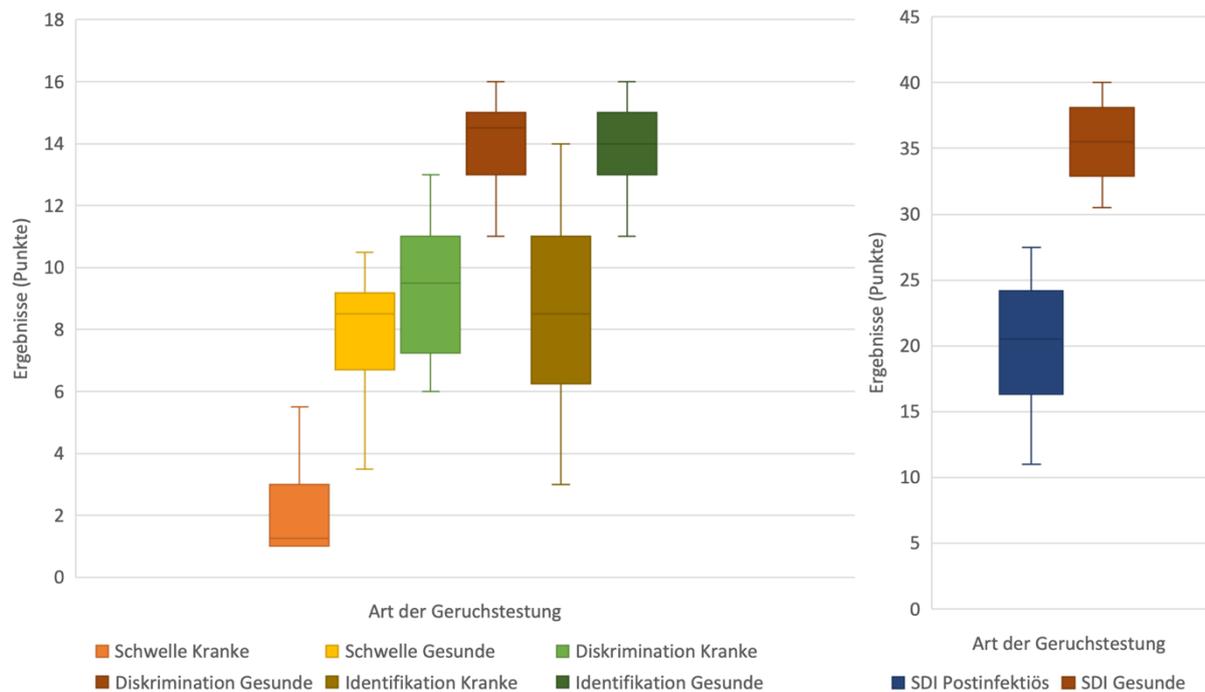


Abbildung 10 SDI-Testergebnisse der Gruppen im Vergleich.

Retronasales Screening und Schmecktestung

Die postviralen Patienten erkannten im retronasalen Screening durchschnittlich weniger Pulver richtig ($M = 1.8$; $SD \pm .77$) als die Gesunden ($M = 2.95$; $SD \pm 0.22$), der Unterschied war signifikant ($f[22.20] = 6.43$; $p < .001$; $d = 2.03$). Von den vier Schmecksprays ordneten die postviralen Patienten durchschnittlich 3.9 ($SD \pm .31$) richtig zu, die gesunden Teilnehmer erkannten alle 4 Sprays richtig ($SD \pm 0$). Der Unterschied war nicht signifikant ($f[38] = 1.45$; $p = .154$).

Korrelationen

Unter Einsatz der Pearson-Korrelation wurden die Zusammenhänge der Faktoren geprüft. Es lagen deutlich bis hoch signifikant positive Korrelationen zwischen der subjektiven Bewertung des antero- und retronasalen Riechsinnens mit den quantitativen Riechtestergebnissen der Schwelle, Diskrimination, Identifikation, dem SDI-Ergebnis sowie dem retronasalen Screening vor. Die Korrelationskoeffizienten nach Pearson sind in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5 Korrelationen nach Pearson von subjektiven Bewertungen des Riechsinnens und der Wahrnehmung von Feingeschmack auf einer Skala von 0 – 10 mit Testergebnissen des SDI und retronasalen Tests. (S= Schwelle,

D=Diskrimination, I= Identifikation, ¹retronasaler Test, r = Korrelationskoeffizient nach Pearson, p = Signifikanz, signifikante Werte mit „*“ gekennzeichnet, N =40).

Subjektive Bewertung		S	D	I	SDI	Retronasal¹
Riechvermögen	r	0.77	0.69	0.72	0.86	0.68
	p	< .001*	< .001*	< .001*	< .001*	< .001*
Wahrnehmung von Feingeschmack	r	0.62	0.57	0.68	0.74	0.54
	p	< .001*	< .001*	< .001*	< .001*	< .001*

Auch die Bewertung der eigenen Riech- und Schmeckfähigkeit korrelierte deutlich signifikant positiv miteinander ($r = .75$; $p < .001$; N = 40). Daneben zeigte sich ein mäßig positiver Zusammenhang zwischen Bewertung der eigenen Schmeckfunktion und dem Ergebnis der Schmecktestung anhand von Schmecksprays ($r = .39$; $p = .012$; N = 40).

Das Alter korrelierte nicht signifikant mit den Riech- und Schmeckfähigkeiten oder den entsprechenden Testergebnissen.

Es bestand kein Zusammenhang zwischen dem Zeitraum von Infektionsbeginn bis zum Einsetzen des Geruchsverlustes und dem SDI-Wert ($r = .21$; $p = .39$; N = 20).

3.2 Mikrobielle Auswertung

Bakterielle Alpha-Diversität

Die bakterielle Alpha-Diversität wurde hinsichtlich eines vermuteten Einflusses der Faktoren Alter, Riechfunktion des Individuums sowie der ortsspezifischen Epithelstruktur der abgestrichenen Stelle untersucht (s. Abbildung 11 B, Abbildung 15).

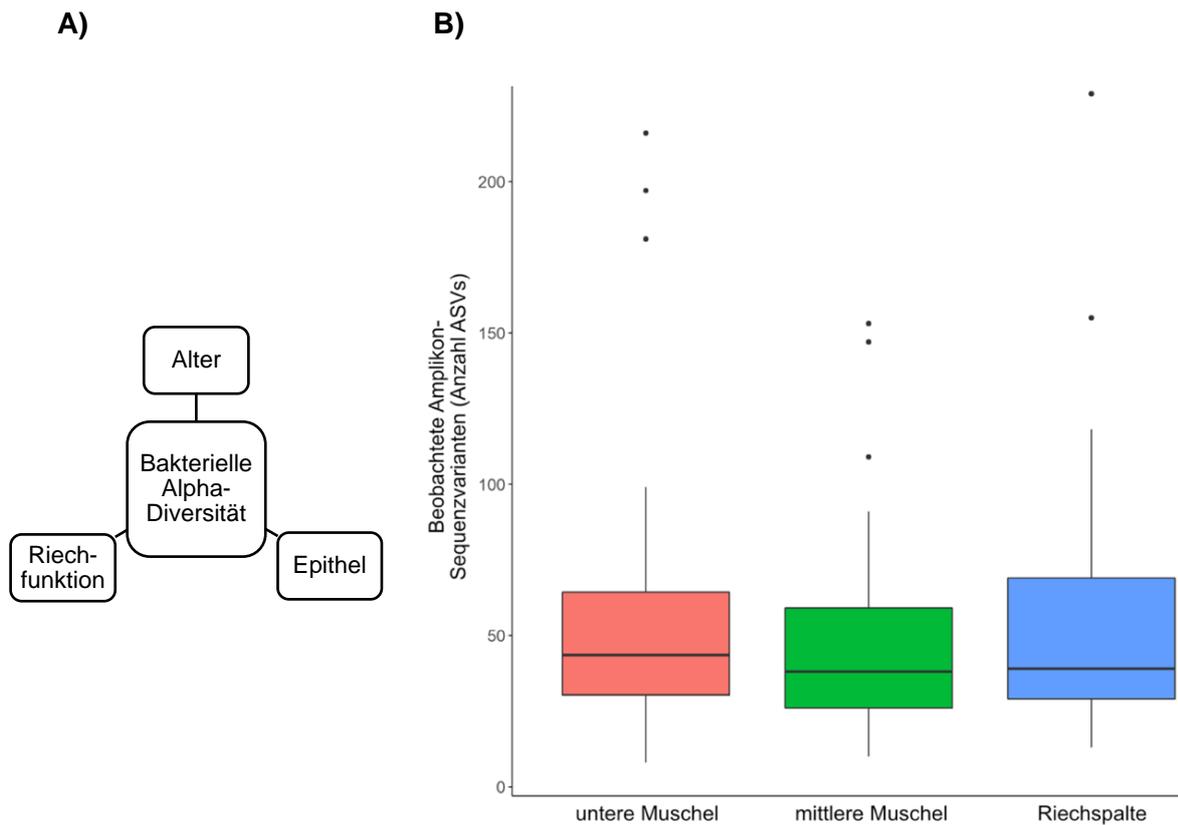


Abbildung 11 A) Einflussfaktoren der Alpha-Diversität. **B)** Anzahl beobachteter Amplicon-Sequenzvarianten. Bakterielle Vielfalt in Abhängigkeit der Probenstelle, keine signifikanten Unterschiede zwischen den Stellen der Probenentnahme.

In Abhängigkeit der Probenstelle (untere oder mittlere Muschel bzw. Riechspalte) wies die bakterielle Vielfalt unter der Anwendung verschiedener Alpha-Diversitätsmetriken (*Observed Richness, Chao1, Shannon's und Simpson's Index*) keine signifikanten Unterschiede auf ($p > .05$, s. **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**).

In den Riechspaltenproben konnte assoziiert mit der Riechfunktion der Probanden ein Unterschied hinsichtlich der bakteriellen Vielfalt gefunden werden, was bereits zuvor nachgewiesen werden konnte (Biswas et al., 2020, unveröffentlicht). Die bakterielle Vielfalt zeigte sich bei Personen mit Riechstörung reduziert (Biswas et al., 2023). Die Proben der postviralen Gruppe wurden mit denen der Gesunden hinsichtlich der bakteriellen Alpha-Diversität verglichen. Es konnten zwar keine signifikanten Unterschiede der bakteriellen Zusammensetzung gefunden werden, jedoch wurde die Tendenz beobachtet, dass der Artenreichtum (*Observed Richness*) bei riechgeminderten postviralen Patienten ($42.6; SD \pm 30.4$) geringer war als bei den Gesunden ($61.9; SD \pm 45.6$). Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant ($p = .06$; Biswas et al., 2023). Die bakterielle Vielfalt war zwischen den Geruchsfunktionsgruppen Anosmie und Hyposmie im Vergleich zur Normosmie signifikant

verschieden. Die Artenvielfalt war bei Gesunden verglichen mit Hyposmikern ($p = .013$), sowie verglichen mit Anosmikern ($p = .043$) signifikant größer (s. Abbildung 12).

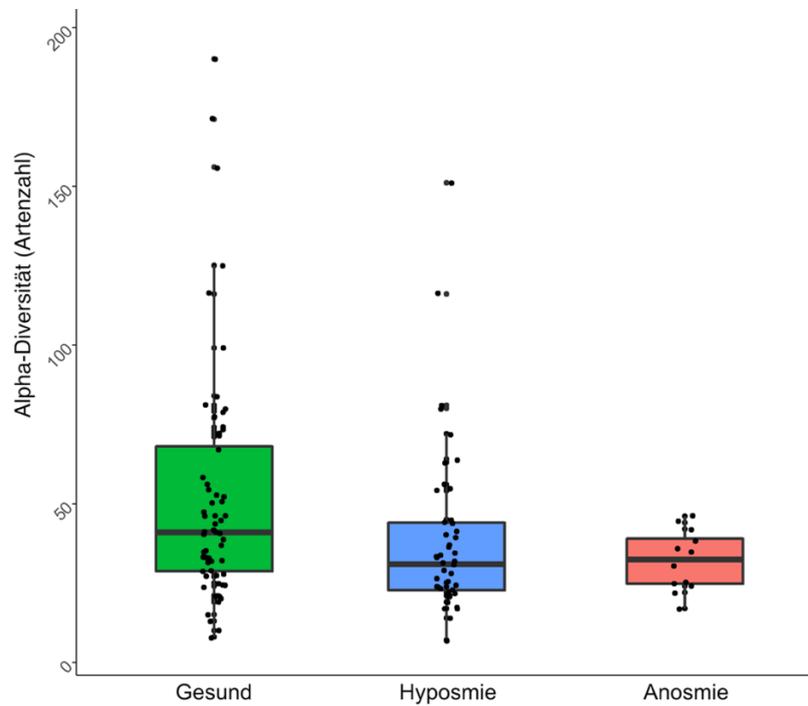
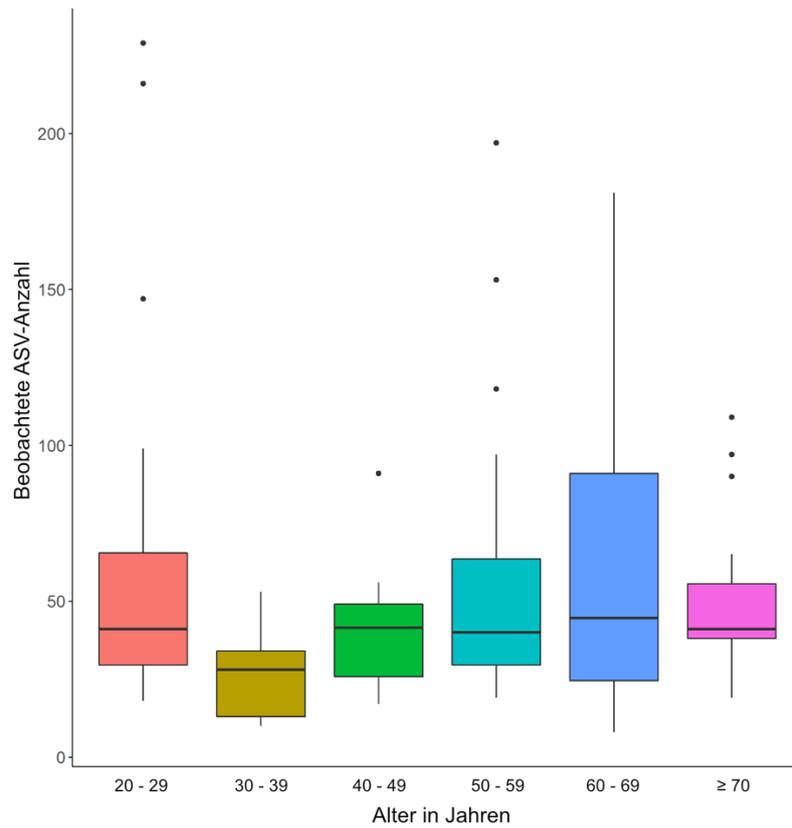


Abbildung 12 Vergleichende Darstellung der bakteriellen Vielfalt von Gesunden, verglichen mit Hyposmikern ($p = .013$) und Anosmikern ($p = .043$).

Die bakterielle Vielfalt wies in Abhängigkeit vom Alter keine signifikanten Unterschiede der Alpha-Diversität auf. Die Teilnehmer wurden nach Dekaden in Gruppen (s. Abbildung 13 A) und zusätzlich in Gruppen von unter und über 60 Jahren (s. Abbildung 13 B) betrachtet, es ließen sich keine signifikanten Unterschiede unter Anwendung der genutzten Alpha-Diversitätsmetriken finden.

A)



B)

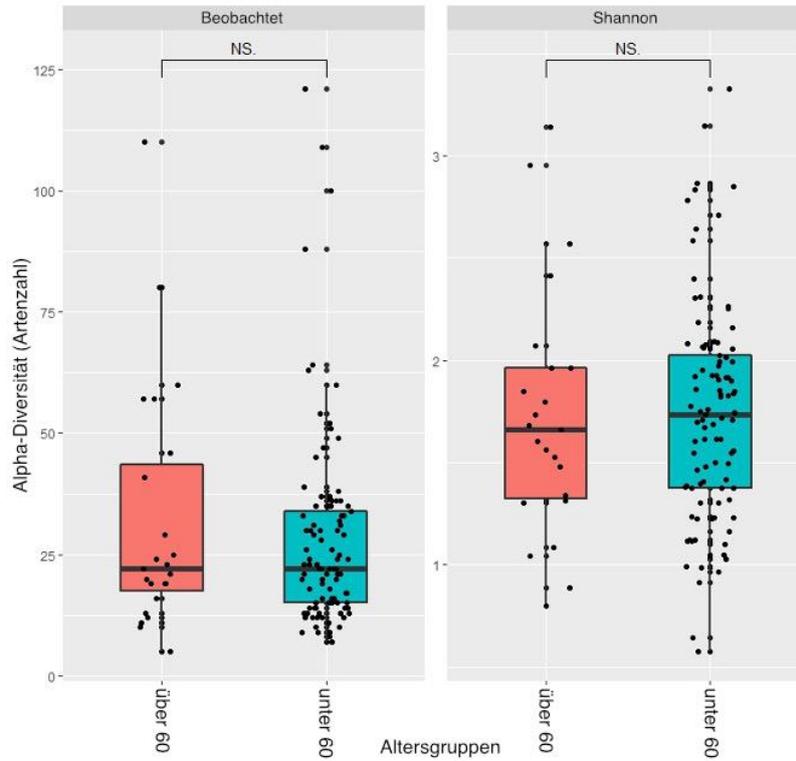
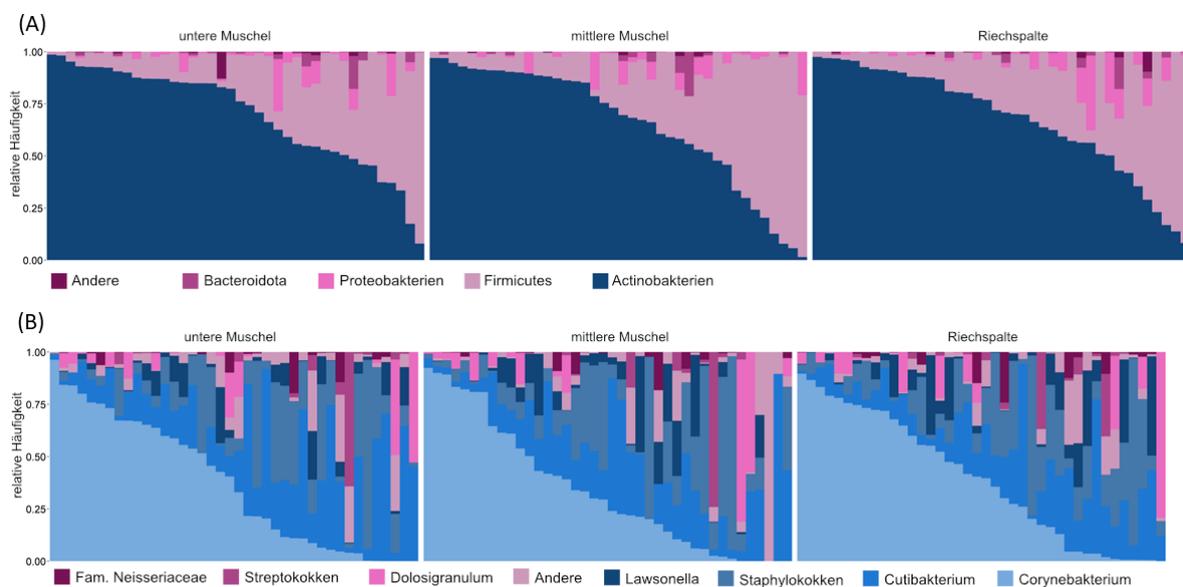


Abbildung 13 A) Beobachtete ASVs. Bakterielle Vielfalt in Abhängigkeit von Altersgruppen, nach Dekaden aufsteigend dargestellt; **14 B)** Bakterielle Vielfalt der < 60-Jährigen verglichen mit > 60-Jährigen. Keine signifikanten Unterschiede zwischen den Altersgruppen.

Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaft

Die Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaften, gruppiert nach Probenstelle, ist in Abbildung 14 dargestellt. Die dominierenden Gattungen waren mit den folgenden relativen Häufigkeiten aufzufinden: *Corynebakterien* (36.7 % \pm SD 30.9 %), *Cutibakterien* (21.9 % \pm SD 19.2 %), *Staphylokokken* (18.8 % \pm SD 21.4 %), *Dolosigranulum* (5.4 % \pm SD 13.8 %) und *Streptokokken* (2.6 % \pm SD 9.9 %; (Biswas et al., unveröffentlicht). Demnach bildeten die Actinobakterien den häufigsten Stamm, am zweithäufigsten waren die Firmicuten (s. Abbildung 14). Dieses Muster war an allen drei Stellen, an der unteren und mittleren Nasenmuschel und an der Riechspalte gleich.



Rang	relative Häufigkeit	Stamm (Phylum)	Gattung
1	36.7 % \pm SD 30.9 %	<i>Actinobakterien</i>	<i>Corynebakterien</i>
2	21.9 % \pm SD 19.2 %	<i>Actinobakterien</i>	<i>Cutibakterien</i>
3	18.8 % \pm SD 21.4 %	<i>Firmicuten</i>	<i>Staphylokokken</i>
4	5.4 % \pm SD 13.8 %	<i>Firmicuten</i>	<i>Dolosigranulum</i>
5	2.6 % \pm SD 9.9 %	<i>Firmicuten</i>	<i>Streptokokken</i>

Abbildung 14 oben: Darstellung der relativen Häufigkeiten der bakteriellen Gemeinschaften auf (A) Stammes- und (B) Gattungsebene eines jeden Probanden nach dem Ort der Probenstelle (von links nach rechts: untere Nasenmuschel, mittlere Nasenmuschel und Riechspalte). Unten: Relative Häufigkeit der dominierenden Stämme und Gattungen.

Durch die *PERMANOVA*-Ergebnisse (s. Abbildung 15 A) konnte gezeigt werden, dass die interpersonelle Variabilität, welche aus der Summe von unterschiedlichen Faktoren zwischen den Teilnehmern entsteht, den mit Abstand größten Teil ($R^2 = 84\%$, $p = .001$) der in dieser Studie beobachteten Variation ausmachen. Das Alter beeinflusste die Variation zu 12% ($p = .001$), die Riechfunktion machte 4.2% ($p = .001$) der Variation aus. Die Stelle des Abstrichs trug nicht signifikant zur Variation der bakteriellen Gemeinschaft bei (Biswas et al., 2023). Darüber hinaus konnte auch mittels *PCoA* bezüglich der Probenstelle keine Gruppierung festgestellt werden (s. Abbildung 15 B). Die bakteriellen Gemeinschaften unterschieden sich unter diesen Kriterien nicht signifikant, auch wenn von jedem Probanden mehrere Proben untersucht wurden.

A)

Einflussfaktoren	R^2 (% Variation)	p -Wert
Interpersonelle Variabilität	84 %	.001*
Altersbereich	12 %	.001*
Riechfunktion	4.2 %	.001*
Ort der Probenahme	-	nicht signifikant

B)

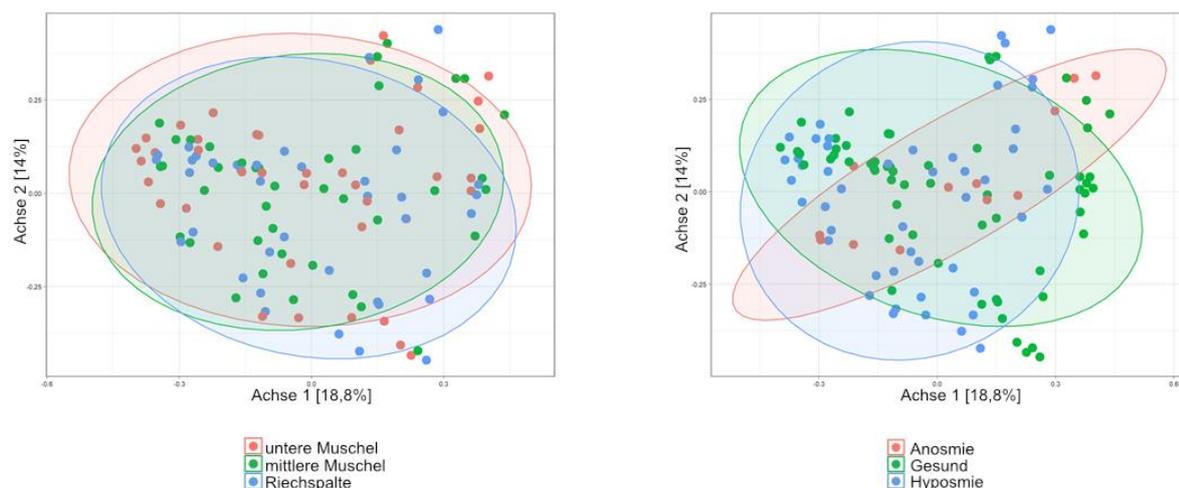


Abbildung 15 A) Einflussfaktoren der in der Stichprobe beobachteten Variation im Vergleich. Signifikante p -Werte wurden mit „*“ gekennzeichnet. **B)** Die Hauptkoordinatenanalyse (*PCoA*) zeigt die Verteilung der Proben auf den Achsen eines Ordinationsplots. Die Unterschiede in der Verteilung der Proben für links die drei Probenstellen (untere und mittlere Nasenmuschel, Riechspalte) und rechts die Riechfunktion (Anosmie, Gesund, Hyposmie) waren nicht signifikant (alle $p > .05$).

Es wurden paarweise *Dunn-Tests* durchgeführt, um einzelne Gattungen zu identifizieren, die sich zwischen den Gruppen signifikant unterschieden. Nur ein ASV der gesunden Gruppe unterschied sich signifikant von der postviralen Gruppe mit beeinträchtigter Riechfunktion: Das *Corynebakterium* ASV3 (s. Abbildung 16). Dessen relative Häufigkeit war in der gesunden Gruppe (relative Häufigkeit = 14.8 %; $SD \pm 18.9$ %) signifikant höher als in den postviralen Gruppen mit eingeschränktem Riechvermögen (relative Häufigkeit = 2.7 %; $SD \pm 7.7$ %). Um die Art des *Corynebakteriums* bestimmen zu können, wurde die Sequenz mit dem *nBLAST* (engl. „*Basic Local Alignment Search Tool*“, 2023) des *NCBI* (engl. „*National Center for Biotechnology Information*“, 2023) abgeglichen. Um statistisch die Zugehörigkeit zu einer Art zu berechnen, wurden die vorgefundenen Nukleotidsequenzen mit denen einer Datenbank abgeglichen. Auf diese Weise konnte das *Corynebakterium* ASV3 zu 100 % der Art *Corynebakterium accolens* zugeordnet werden.

A)

ASV	Gattung	Anosmie – Gesunde	Anosmie – Hyposmie	Gesunde – Hyposmie
ASV14	Corynebakterium	.006*	.004*	.5
ASV36	Corynebakterium	.006*	.004*	.5
ASV62	Streptokokken	.02*	.008*	.152
ASV3	Corynebakterium	.327	.179	.011*
ASV50	Streptokokken	.087	.029*	.069

B)

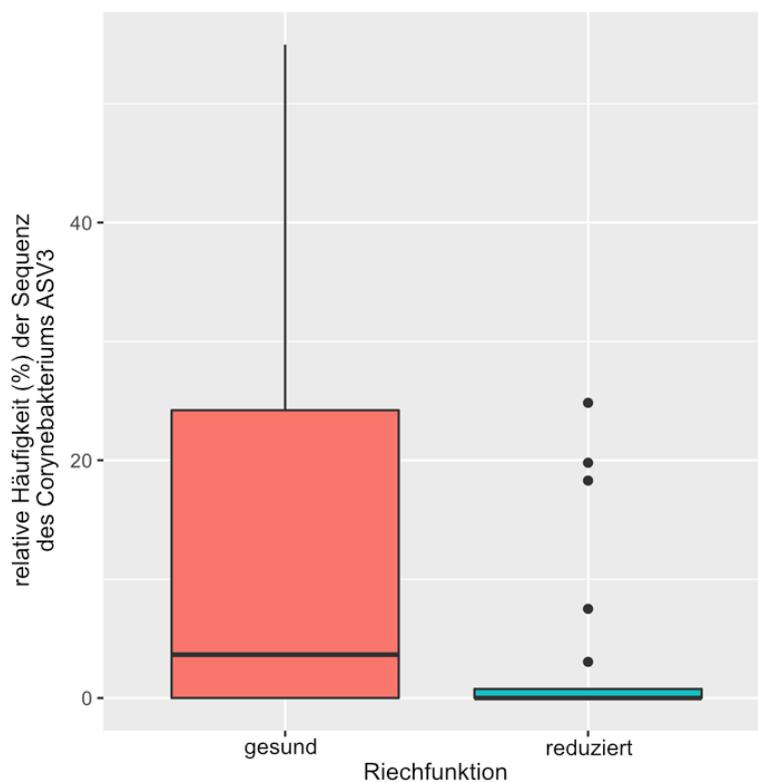


Abbildung 16 A) *Dunn-Test*: Paarweiser Vergleich des Vorkommens bestimmter ASVs in den SDI-Kategorien. Signifikante Werte ($p < .05$) sind mit „*“ markiert. *Corynebacterium* ASV3 wurde grau hervorgehoben. B) Boxplot: Die relative Häufigkeit der Amplikon-Sequenzvariante des *Corynebacterium* ASV3 ist bei den Gesunden signifikant ($p < .05$) höher als bei den postviral Riechgeminderten. Die schwarze Linie stellt den Median zwischen oberem und unterem Quartil der Probe dar, schwarze Punkte stellen Ausreißer dar.

3.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

Ergebnisse der Riech- und Schmecktestung

Alle postviralen Patienten gaben eine Störung des Riechvermögens an und der Großteil zusätzlich eine Beeinträchtigung des Schmecksinnes, sowie der Wahrnehmung von Feingeschmack. Auf einer Skala von 0 bis 10 schätzten die postviralen Patienten ihre Sinnesfähigkeiten mit signifikant geringeren Werten ein, als die gesunden Kontrollprobanden. Qualitative Riech- und Schmeckstörungen (Phantogeusien) traten ausschließlich in der postinfektiösen Teilnehmergruppe auf. Aufgrund der Symptome beschrieben alle Probanden der postviralen Gruppe im Durchschnitt mittlere bis starke Einschränkungen der Lebensqualität.

Der individuelle Geruchssinn wurde mittels SDI-Testung erfasst. Die Probanden der postinfektiösen Gruppe wiesen unterschiedlich stark ausgeprägte Riechminderungen auf. Diese stellten sich beim Großteil (15 Probanden) als Hyposmie und bei den restlichen 5 Teilnehmern als Anosmie dar. Verglichen wurden sie mit Probanden der gesunden Kontrollgruppe, welche abgesehen von einer Ausnahme eines milden Hyposmikers aus Normosmikern bestand.

Die Testung des retronasalen Riechens zeigte signifikante Einschränkungen in der postviralen Gruppe. Die Schmeckfunktionen der Qualitäten *süß*, *sauer*, *salzig* und *bitter* waren in beiden Gruppen uneingeschränkt erhalten.

Die subjektiven Beschwerden der Patienten korrelierten stark mit den Testergebnissen der Riech- und retronasalen Testung. Die Patienten der postviralen Gruppe gaben eine Störung der Wahrnehmung von Gerüchen und Feingeschmäcken an, was deutlich mit den Ergebnissen der SDI- sowie retronasalen Testung korrelierte. Auch die Selbsteinschätzungen des Riechens und Schmeckens korrelierten miteinander. Weder das Patientenalter noch der Zeitpunkt des Geruchsverlustes infolge der Infektion korrelierten mit SDI-Ergebnissen oder den Ergebnissen der Schmecktestungen.

Bakterielle Artenvielfalt

Die bakterielle Alpha-Diversität war zwischen den drei Probenstellen nicht signifikant unterschiedlich. Wurde jedoch ausschließlich die Riechspaltenproben verglichen, so konnte die Tendenz beobachtet werden, dass der beobachtete Artenreichtum in der gesunden Kontrollgruppe höher war als in der Gruppe mit postviraler Riechminderung. Diese Beobachtung war jedoch nicht signifikant. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied der bakteriellen Diversität in Abhängigkeit der Altersgruppen, unabhängig davon, ob die

Probanden altersabhängig in Dekaden oder in Gruppen unter bzw. über 60 Jahre alt gruppiert wurden.

Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaft

Die bakteriellen Gemeinschaften waren an den drei Probenstellen (untere und mittlere Nasenmuschel, Riechspalte) in gleicher Weise zusammengesetzt. Die häufigsten Gattungen waren *Corynebakterien*, *Cutibakterien*, *Staphylokokken*, *Dolosigranulum* und *Streptokokken*.

Die beobachtete Variation der bakteriellen Besiedlung zwischen den Teilnehmern war am stärksten auf die interpersonelle Variabilität zurückzuführen. Weitere, jedoch deutlich schwächere Einflussfaktoren stellten das Alter und die Riechfunktion dar. Der Ort der Probenentnahme trug nicht signifikant zur Variation der bakteriellen Gemeinschaft bei.

Das Vorkommen des *Corynebacterium* ASV3 unterschied sich signifikant zwischen der gesunden Gruppe und der Gruppen mit verminderter Riechfunktion. Die relative Häufigkeit dieser als *C. accolens* entschlüsselten Art war in der normalen Gruppe signifikant größer als bei den Patienten mit Riechminderung bzw. Riechverlust.

Zusammenfassung der Einflussfaktoren

Zusammenfassend konnten die Einflussfaktoren hinsichtlich ihres Effekts auf die bakterielle Diversität und die Zusammensetzung betrachtet werden.

Weder die bakterielle Vielfalt noch die Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaften unterschieden sich in Abhängigkeit der Probenstelle signifikant. Ebenso hatte die Probenstelle keinen Einfluss auf die beobachtete Variation. Bei der ausschließlichen Betrachtung der Riechspaltenproben konnte bei den riechgeminderten Patienten die Tendenz eines eingeschränkten Artenreichtums beobachtet werden, wenn auch diese Beobachtung statistisch nicht signifikant war.

Teilnehmer mit postviral geminderter Riechfunktion wiesen eine signifikant geringere Alpha-Diversität auf. Die relative Häufigkeit der Gattung *Corynebakterien* war bei den riechgeminderten Patienten signifikant kleiner als bei der gesunden Gruppe. Die Riechfunktion hatte einen geringen Anteil an der Variation der Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaft.

Der zwischen den Teilnehmern herrschende interindividuelle Unterschied übte den größten Einfluss auf die beobachtete Variation der Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaften aus.

Das Alter hatte keinen signifikanten Einfluss auf die bakterielle Vielfalt. Das Alter trug jedoch in geringem Maße zur Variation der Zusammensetzung des Mikrobioms bei.

4 Diskussion

Ziel der vorliegenden Studie war die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen der Riechfunktion und dem Mikrobiom der nasalen Schleimhaut. Im Folgenden werden die verwendeten Methoden und Ergebnisse beschrieben und mit denen vorheriger Studien verglichen. Der Fokus wurde weiterhin auf das Probandenalter und die anatomischen Stellen der Abstrichnahme gerichtet. Diese Kriterien waren in bisherigen Studien uneinheitlich (Biswas et al., 2020; Koskinen et al., 2018), sodass die Ergebnisse zum aktuellen Zeitpunkt nur unter Vorbehalt verglichen werden konnten. Besonders interessant war, inwiefern sich das Mikrobiom zwischen Bereichen innerhalb der Nase unterschied. Diese Frage ist klinisch relevant, um zu klären, ob bei zukünftigen Probennahmen zur Untersuchung von tiefer in der Nasenhöhle liegenden Arealen ein Abstrich an einer leicht zugänglichen Stelle wie der unteren Nasenmuschel ausreichend ist.

4.1 Diskussion der Ergebnisse: Mikrobielle Auswertung

4.1.1 Bakterielle Alpha-Diversität

Probenstelle

Die bakterielle Vielfalt wies in Abhängigkeit der Probenstellen (untere Muschel, mittlere Muschel bzw. Riechspalte) in keiner der verwendeten Alpha-Diversitätsmetriken signifikante Unterschiede auf ($p > .05$) auf (s. Abbildung 11 B).

In Kontrast dazu stehen die Ergebnissen von Grice et al. (2009), welche 20 verschiedenen Hautstellen inklusive Nasenvorhof, Bauchnabel und Kniekehle untersuchten und Diversitätsunterschiede in Abhängigkeit der Stelle nachweisen konnten. Die dort untersuchten Stellen weisen jedoch im Vergleich zu unserer Studie große räumliche Abstände zueinander auf, was ein Grund für die unterschiedlichen Beobachtungen sein kann. Auch in der Betrachtung räumlich näher beieinanderliegende Stellen innerhalb der Nasenhöhle konnten bereits ortsabhängige Unterschiede der mikrobiellen Zusammensetzungen gefunden werden. Yan et al. (2013) untersuchten gesunde Erwachsene am Nasenvorhof, am mittleren Nasengang und am Recessus sphenoidal. Es konnten verschiedene Gemeinschaften gefunden und Unterschiede in der Vielfältigkeit der mikrobiellen Besiedlung nachgewiesen werden (Yan et al., 2013). Damals wurde ein Epithel-abhängiger signifikanter Diversitätsunterschied zwischen Stellen der Nasenschleimhaut, welche mit mehrreihigem zylindrischem Flimmerepithel ausgekleidet sind (Mittlerer Nasengang und Rec. sphenoidal) und dem mit nicht-verhorntem

Plattenepithel ausgekleidetem Nasenvorhof festgestellt. Auch in unserer Studie wurden zwei verschiedene Epitheltypen untersucht. Der untere und mittlere Nasengang sind mit respiratorischem Epithel (mehrreihiges zylindrisches Flimmerepithel) ausgekleidet, die Riechspalte ist mit dem mehrreihigem Zylinderepithel der Regio olfactoria ausgekleidet. Wir konnten zwischen den Stellen keine signifikanten Epithel-abhängigen, die Vielfalt der bakteriellen Gemeinschaft betreffenden Unterschiede feststellen.

Fasst man die Ergebnisse von Yan et al. (2013) und unsere eigenen Ergebnisse zusammen, so scheint es innerhalb der Nasenschleimhaut keine Unterschiede zwischen den Stellen zu geben, jedoch existieren bezüglich der Alpha-Diversität Unterschiede zwischen dem mit Haut ausgekleideten Nasenvorhof und der funktionellen olfaktorischen bzw. respiratorischen Nasenschleimhaut. Die Analyse eines Abstrichs am Nasenvorhof ließe sich demnach nicht auf das Mikrobion der Riechspalte übertragen. Im Gegensatz dazu scheint das technisch einfachere Abstreichen an der unteren oder mittleren Nasenmuschel Rückschlüsse auf das Mikrobiom der Riechspalte zu erlauben, was zukünftige Untersuchungen der Nasenschleimhaut vereinfachen kann.

Ein riechfunktionsspezifischer Unterschied der Alpha-Diversität wurde in Riechspaltenproben gefunden, an diesen Stellen wiesen die postviralen Patienten ($42.6 \pm SD 30.4$) einen geringeren Artenreichtum auf, als die Gesunden ($61.9 \pm SD 45.6$). Diese Beobachtung war jedoch nicht signifikant ($p = .06$).

Koskinen et al. (2018) konnten zeigen, dass bei gesunden Probanden, welche dem SDI-Ergebnis nach in Riechfunktionsgruppen eingeteilt wurden, bezüglich der Diversität kein Unterschied in Abhängigkeit des Riechvermögens bestand. In der vorliegenden Studie wurden jedoch postvirale Patienten mit Gesunden verglichen, was im Vergleich der Studien beachtet werden muss. Bei postviralen Patienten konnten bereits Zusammenhänge zwischen der eingeschränkten Riechfunktion und bakteriellen Vielfalt hergestellt werden. Biswas et al. (2020) konnten bei Patienten mit verringertem Diskriminierungswert eine signifikant verminderte bakterielle Vielfalt nachweisen. Die Studie lässt sich gut mit der vorliegenden Studie vergleichen, da ähnliche Methoden verwendet wurden. Es wurden postvirale Patienten so wie in der hier vorliegenden Studie gemäß SDI-Ergebnis in die Geruchsfunktionsgruppen *Anosmie*, *Hyposmie* und *Normosmie* eingeteilt und am mittleren Nasengang abgestrichen.

Biswas et al. (2020) und ähnlichen Studien (Bassis et al., 2014; Biswas et al., 2015) untersuchten die Riechspalte nicht, was dort als Limitation erkannt wurde. Die Riechspalte im Dach der Nasenhöhle ist bezüglich der Riechfunktion von besonderer Bedeutung, da sich dort die Riechschleimhaut mit den Geruchssinneszellen befindet. Auffälligkeiten des Mikrobioms der Riechspalte wie beispielsweise ein verringerter Artenreichtum könnten als

Entstehungsfaktor der postviralen Riechstörung zugrunde liegen. Eine wichtige Erweiterung der hier vorliegenden Studie besteht darin, dass auch die Riechspalte untersucht wurde.

Riechfunktion

Die bakterielle Vielfalt war zwischen den Geruchsfunktionsgruppen Anosmie und Hyposmie im Vergleich zur Normosmiegruppe signifikant verschieden. Die Artenvielfalt war bei Normosmikern verglichen mit Hyposmikern ($p = .013$), sowie Anosmikern ($p = .043$) signifikant größer (s. Abbildung 12).

Ähnliche Ergebnisse wurden bereits von Biswas et al. (2020) beschrieben, welche 120 Probanden gemäß SDI-Ergebnis in die Geruchsfunktionsgruppen *Anosmie*, *Hyposmie* und *Normosmie* einteilten. Der Abstrich erfolgte bei Biswas et al. am mittleren Nasengang, die Analyse zeigte eine geringere Vielfalt bei Individuen, welche in der Diskriminationstestung schlechter abschnitten. Außerdem bestand ein signifikant geringeres Vorkommen von *Corynebakterien* bei Teilnehmern mit eingeschränkter Riechfunktion.

Altersgruppe

In Abhängigkeit vom Alter wies die bakterielle Vielfalt keine signifikanten Unterschiede auf, weder in der Alpha-, noch in der Beta-Diversität. Die Teilnehmer wurden nach Dekaden (s. Abbildung 13 A) und zusätzlich in Gruppen von unter 60-Jährige und über 60-Jährige kategorisiert (s. Abbildung 13 B), in keiner dieser Einteilungen zeigten sich in den verwendeten Alpha-Diversitätsmetrik signifikante Unterschiede.

Es ist bekannt, dass mit steigendem Alter das Riechvermögen nachlässt, ab 80 Jahren ist das Vorkommen von Riechstörungen am höchsten (Murphy et al., 2002). Auch Schubert et al. (2011) konnten zeigen, dass das Riechvermögen mit steigendem Alter zunehmend eingeschränkt ist: 4.1 % der 53- bis 59-Jährigen, 21.1 %, der 70- bis 79-Jährigen und 47.1 % der 80- bis 97-Jährigen zeigten eine Beeinträchtigung. Whelan et al. (2014) untersuchten das Mikrobiom des Nasenvorhofs und Oropharynx von 18- bis 40-jährigen Erwachsenen und verglichen es mit dem von über 65-Jährigen. Dabei konnten Sie hinsichtlich der Diversität feststellen, dass sich bei der jüngeren Gruppe das Mikrobiom zwischen diesen Orten noch unterschied, bei der älteren Gruppe ähnelte die Besiedlung des Nasenvorhofs dem des Oropharynx. Diese Beobachtung weist auf einen Zusammenhang zwischen dem Alter, der Riechfunktion und dem Mikrobiom hin, welchen wir in der vorliegenden Studie jedoch nicht bestätigen konnten. Des weiteren konnten Whelan et al. (2014) Diversitätseinbußen in der älteren Gruppe beobachten, bei welcher im Oropharynx eine geringere Artenvielfalt als noch bei der jüngeren Gruppe herrschte. In der vorliegenden Studie wurden Stellen der Nasenschleimhaut untersucht, welche bezüglich der Diversität nicht jenen Beobachtungen am Oropharynx ähneln.

In der Übersichtsarbeit von Thangaleela et al. (2022) wurde das Riechepithel, welches altersabhängigen Veränderungen unterliegt, als mögliche Ursache für den mit steigendem Alter häufiger auftretenden Riechverlust betrachtet. Doty & Kamath (2014) konnten zeigen, dass sich das nasale Riechepithel mit dem Alter verändert. Die Atrophie des Nasenepithels wird auch bei Parkinsonpatienten als Ursache des Riechverlustes beobachtet (Attems et al., 2015).

Eine Limitation der vorliegenden Studie besteht darin, dass insgesamt nur 40 Teilnehmern eingeschlossen wurden, wodurch die Altersgruppen durch jeweils relativ wenige Personen vertreten waren. Um zukünftig altersabhängige Nuancen sichtbar zu machen, bieten sich umfangreichere Stichprobengrößen an, die insgesamt mehr Personen und zudem höhere Altersgruppen einschließen, wodurch mehr Probanden je Altersgruppe vertreten sind.

4.1.2 Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaft

Zusammensetzung auf Stammes- und Gattungsebene

Die Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaften, gruppiert nach Probenstelle, ist in Abbildung 14 dargestellt. Die relativen Häufigkeiten der dominierenden Gattungen sind für *Corynebakterien* (36.7 % \pm SD 30.9 %), *Cutibakterien* (21.9 % \pm SD 19.2 %), *Staphylokokken* (18.8 % \pm SD 21.4 %), *Dolosigranulum* (5.4 % \pm SD 13.8 %) und *Streptokokken* (2.6 % \pm SD 9.9 %). Dieses Muster findet sich an allen drei Stellen: An der unteren und mittleren Nasenmuschel sowie an der Riechspalte.

Die Gattungen *Corynebakterien* und *Cutibakterien* gehören zum Stamm bzw. Phylum der *Actinobakterien*, welcher somit am häufigsten vertreten war. *Staphylokokken*, *Dolosigranulum* und *Streptokokken* gehören zu den hier am zweithäufigsten vertretenen *Firmicuten*. Diese Rangordnung wurde einheitlich an allen drei Stellen beobachtet. Dasselbe Verteilungsmuster auf Stammesebene wurde bereits nachgewiesen (Biswas et al., 2020; Koskinen et al., 2018). Neben den häufigsten Gattungen *Corynebakterien* und *Staphylokokken* wurden von Biswas et al. (2020) in etwas geringerer Häufigkeit *Dolosigranulum* und *Moraxellen* (Stamm *Pseudomonadota*) in Abstrichen der mittleren Nasenmuschel gefunden. Koskinen et al. (2018) fanden in ihren Abstrichen am Dach der Nasenhöhle in Übereinstimmung zu unseren Ergebnissen dieselben zwei dominierenden Stämme (50 % *Actinobakterien* und 28 % *Firmicuten*) sowie dominierenden Gattungen (43 % *Corynebakterien*, 15 % *Staphylokokken*).

Betrachtet man sich an die untersuchten Stellen räumlich anschließende Körperregionen, findet man dort eine ähnliche bakterielle Besiedlung, im Nasenvorhof waren die Arten

Corynebakterien, *Staphylokokken* und *Propionibakterien* bzw. *Cutibakterien* besonders stark vertreten (Costello et al., 2009; Frank et al., 2010; Grice et al., 2009; Huttenhower et al., 2012; Yan et al., 2013). Außerdem wurde das Vorkommen von *Staphylokokken* im Nasenvorhof nachgewiesen, jedoch bei stationären Patienten zu einem deutlich höheren Anteil als bei gesunden, nicht-stationären Probanden (Frank et al., 2010). *S. aureus* gilt als bekannter Kommensale der Nasenhöhle (Frank et al., 2010), gilt jedoch als potentiell pathogener Erreger sämtlicher Infekte (Davis et al., 2004; Wertheim et al., 2004).

Über den Nasenvorhof hat die Nasenhöhle eine direkte Verbindung zur Haut, was das Vorkommen der kommensalen *Cutibakterien* (dt. Hautbakterien) innerhalb der Nasenhöhle nahelegt. Der typische Artvertreter *Cutibacterium acnes*, früher „*Propionibacterium acnes*“ (Scholz & Kilian, 2016) genannt, kann an der Entstehung von Hauterkrankungen wie Acne vulgaris beteiligt sein (Bojar & Holland, 2004, damals noch "*Propionibacterium acnes*"). Die Gattung *Dolosigranulum* zählt zu den gutartigen Kommensalen der oberen Atemwege (Bosch et al., 2016). Bei Kindern wurde *Corynebacterium*- und *Dolosigranulum*-reiche Besiedlung mit Gesundheit der oberen Atemwege assoziiert (Biesbroek et al., 2014).

Auch bei unserer Studie fanden wir unter den dominierenden Arten *Corynebakterien*, *Cutibakterien*, *Staphylokokken* und *Dolosigranulum*. Damit besteht eine Ähnlichkeit des bekannten Musters aus dem Nasenvorhof und unseren Schleimhautstellen. Mittlerweile wurde die Taxonomie der Familie der *Propionibacteriaceae* überarbeitet und die neue Gattung der *Cutibakterien* eingeführt (Scholz & Kilian, 2016). Heute wird die Spezies *Cutibacterium acnes*, wie der neue Name zeigt, nicht mehr zu den *Propionibakterien* gezählt (Scholz & Kilian, 2016). Dementsprechend ist ein Vergleich mit den genannten Studien nur auf Stammesebene möglich, da durch die alte Nomenklatur unklar bleibt, um welche Gattung es sich nach heutiger Nomenklatur handelt. Beiden Gattungen der *Propionibakterien* und *Cutibakterien* gehören zur Familie der *Propionibacteriaceae*, welche zum Stamm der *Actinobakterien* gehören, sodass wir auf Familien- und Stammesebene dasselbe Muster wie in den genannten Studien bestätigen konnten.

In der vorliegenden Studie untersuchten wir nicht den mit Haut ausgekleidetem Nasenvorhof, sondern tiefer in der Nasenhöhle gelegene Schleimhautstellen, auf welche Epithel-abhängig andere Einflüsse herrschen. Die Studie von Yan et al. (2013) strich die Schleimhaut des mittleren Nasengangs und des Recessus sphenoidalıs von zwölf Erwachsenen in einem dreiwöchigem Zeitraum vierfach ab. Die häufigsten Stämme waren *Actinobakterien* (50.7 %), *Firmicuten* (24.7 %) und *Proteobakterien* (20.7 %). Es konnte gezeigt werden, dass sich die Zusammensetzung der Gemeinschaften an den beiden Schleimhautstellen sehr stark ähnelte. Der Anteil von *Proteobakterien* war am Nasenvorhof im Vergleich zu den Schleimhautstellen deutlich geringer. Zudem war die gesamte Artenvielfalt am Nasenvorhof

geringer als an der Schleimhaut. Diese beobachteten Unterschiede der Alpha-Diversität ordnen Yan et al. (2013) den Epithelunterschieden zu, welche zwischen den Schleimhautstellen und dem Nasenvorhof existieren. Auch in der hier durchgeführten Studie wurden keine signifikanten ortsabhängigen Unterschiede der mikrobiellen Gemeinschaften zwischen den Schleimhautstellen gefunden. Wir strichen in unserer Studie an drei Stellen innerhalb der Nasenhöhle ab, welche alle mit mehrreihigem Zylinderepithel ausgekleidet sind (s. Abbildung 2 C, Abbildung 5) und sich mikroskopisch nur bezüglich weniger Aspekte unterscheiden, wie dem Vorkommen von Kinozilien in der respiratorischen Nasenschleimhaut der unteren und mittleren Nasenmuschel beziehungsweise von Geruchssinneszellen in der Riechschleimhaut in der Riechspalte.

Lemon et al. (2010) suchten in ihrer Studie nach pathogenen Keimen der oberen Atemwege und strichen sieben gesunden Probanden am Nasenvorhof und Oropharynx ab. Während *Actinobakterien* wie *Corynebakterien* und *Cutibakterien* die Nase als Kommensalen besiedeln, gelten manche *Staphylokokken* wie beispielsweise *S. aureus* als potentiell pathogen (Lemon et al., 2010). Lemon et al. (2010) konnten zwischen den *Corynebakterien*, *Propionibakterien* (*Actinobakterien*) und *Staphylokokken* (*Firmicutes*) einen kompetitiven Zusammenhang zeigen. Das bedeutet, dass ein höheres Vorkommen von *Actinobakterien* vor einer Besiedlung mit potenziellen Pathogenen schützt. Bestimmt man, welche Stämme zu welchem Anteil vorhanden sind, so kann dadurch die Prädisposition für einen Infekt bestimmt werden (Lemon et al., 2010).

Relative Häufigkeit des *Corynebacterium* ASV3 in der Kontrollgruppe

Corynebacterium ASV3 war als einzige Gattung in der gesunden Kontrollgruppe signifikant häufiger vertreten als in der postviralen Patientengruppe mit Riechminderung (s. Abbildung 16). Durch nBLAST-Analyse der Nukleotidsequenz konnte dieses *Corynebacterium* zu 100% der Art *Corynebacterium accolens* zugeordnet werden.

Interessanterweise konnten schon Biswas et al. (2020) und Koskinen et al. (2018) zuvor die Beobachtung machen, dass *Corynebakterien* bei Probanden mit Riechminderung vermindert vorkamen. Dieser Effekt wurde SDI-abhängig bei Probanden mit verringertem Diskriminationswert gefunden. So scheint die Art *C. accolens* positiv mit einem intakten Riechvermögen zusammenzuhängen, unklar ist jedoch bisher, welcher Mechanismus diesem Effekt zugrunde liegt.

Grice et al. (2009) untersuchten den Nasenvorhof nach pathogener Besiedlung mit resistenten *S.-aureus*-Stämmen (*MRSA*), welche Infektionen verursachen können. *S.-aureus*-Trägerschaft erhöht das Risiko invasiver nosokomialer Infektionen (Kluytmans et al., 1997), bereits 2003 konnte *MRSA* als Erreger in nosokomialen Infektionen auf der Intensivstation gefunden werden (NNIS System, 2003). Der Nasenvorhof stellt einen

bekanntem Lebensraum von *S. aureus* dar (Kluytmans & Wertheim, 2005), selbiges konnte auch für die nasale Schleimhaut am Recessus sphenoidalis und der mittleren Muschel nachgewiesen werden (Yan et al., 2013). Hier wurden die gesunden Teilnehmer in dauerhafte *S.-aureus*-Träger, welche zu allen Zeitpunkten mit *S. aureus* besiedelt waren und sporadische *S.-aureus*-Träger, welche gar nicht oder nur zu manchen Zeitpunkten eine Besiedlung nachwies, eingeteilt. *S. aureus* kam bei den dauerhaften Trägern zudem häufiger vor, als bei den Nicht-Trägern. Es konnten Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen Arten untersucht werden. In beiden Gruppen machten die *Actinobakterien* den größten Teil aus, wobei jedoch bei näherer Betrachtung in der *S.-aureus*-Trägergruppe am häufigsten *C. accolens* vertreten war, während bei den sporadischen *S.-aureus*-Trägern hauptsächlich *C. pseudodiphthericum* vorkam. Daraus schließen Yan et al. (2013), dass es zwischen *S. aureus* und *C. accolens* eine mutualistische Beziehung gibt, unter der sich beide Arten ausbreiteten, während bei einer geringen Häufigkeit von *S.-aureus* die erhöhte Besiedlung mit *C. pseudodiphthericum* für einen Wettbewerb zwischen diesen Arten spricht. Es muss darauf hingewiesen werden, dass Yan et al. (2013) in ihrer Studie nur zwölf Erwachsene beprobten, sodass die Aussagekraft der Ergebnisse im Kontext der relativ kleinen Stichprobe betrachtet werden sollte. Entgegen dieser Beobachtungen konnte gezeigt werden, dass das *Corynebacterium accolens* in-vitro hemmend auf das Wachstum von potentiell pathogenen Staphylokokken- und Streptokokkenarten wirkt, darunter auch *S. aureus*, *MRSA* und *Strep. pneumoniae*, was in-vivo gesundheitsfördernd wirken könnte (Bomar et al., 2016; Menberu et al., 2021). Es wäre zukünftig interessant, diesen Effekt bei einer in-vivo-Studie mit umfangreicher Stichprobenpopulation zu erforschen, um die in-vitro beobachteten Effekte zu überprüfen. Perspektivisch wäre es interessant, herauszufinden, ob *Corynebakterien* wie bereits von Biswas et al. (2020) vorgeschlagen tatsächlich Biomarker für Riechgesundheit darstellen bzw. ob ihre Abwesenheit zur Diagnostik von Riechminderung gelten könnte. Darüber hinaus könnten die hemmende Wirkung auf pathogene Keime therapeutisch bei postinfektiösem Riechverlust genutzt werden.

4.1.3 Einflussfaktoren der Variation

Die beobachtete Variation ist in dieser Studie zum Großteil ($R^2 = 84 \%$, $p = .001$) auf die interpersonelle Variabilität zurückzuführen. Die Altersspanne beeinflusste die Variation zu 12 % ($p = .001$), die Riechfunktion machte 4.2 % ($p = .001$) der Variation aus. Der Standort der Probe beeinflusste die Variation der bakteriellen Gemeinschaft nicht signifikant.

Interpersonelle Variabilität

Der Großteil der in dieser Studie gefundenen Variation beruhte mit 84 % auf der interpersonellen Variabilität. Für die mikrobielle Besiedlung der Haut konnte bereits festgestellt werden, dass diese Besiedlung zwischen den einzelnen Menschen stark variiert (Huttenhower et al., 2012; Zeeuwen et al., 2013). Mit den Ergebnissen der hier vorliegenden Studie können diese Beobachtungen auch auf das Mikrobiom der nasalen Schleimhaut erweitert werden. Es bleibt offen, um welche speziellen Kriterien es sich hierbei handelt. Eine hohe Zahl von Einflussfaktoren, welche in der Summe die interpersonellen Unterschiede ausmachen, üben Effekte auf die mikrobielle Besiedlung aus. In der vorliegenden Studie wurde bereits durch sämtliche Ein- und Ausschlusskriterien (s. Abschnitt **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**) versucht, möglichst homogene Probandengruppen auszuwählen. Perspektivisch wäre es interessant, zunächst weitere ursächliche Einflussfaktoren auszumachen, um die interpersonelle Variabilität entschlüsseln zu können.

Trotz der sehr hohen interpersonellen Variabilität zeigen sich in den Abstrichen dieser Studie bei allen Teilnehmern die zu erwarteten bakterielle Gemeinschaften, welche schon von Biswas et al. (2020) und Koskinen et al. (2018) nachgewiesen wurden. Als die dominierenden Gattungen in der Nasenhöhle konnten in dieser Studie *Corynebakterium*, *Cutibakterium*, *Staphylokokken* und *Dolosigranulum* gefunden werden (s. Abbildung 14).

Als eine Quelle der Variation fiel die interpersonelle Variabilität der mikrobiellen Gemeinschaft bereits zuvor in Studien auf, welche das Mikrobiom der oberen Atemwege untersuchten (Lemon et al., 2010; Yan et al., 2013). Im Nasenvorhof und Oropharynx konnten Lemon et al. (2010) eine große interpersonelle Variation der Arten nachweisen, welche in geringerem Maße auch auf Stammesebene beobachtet wurde. Yan et al. (2013) untersuchten den Nasenvorhof und zwei Stellen der nasalen Schleimhaut (s.o.) und beobachteten, dass die bakterielle Diversität zwischen den Probanden variierte, wenn auch nicht so stark ausgeprägt wie in der hier vorliegenden Arbeit. Es muss beachtet werden, dass Lemon et al. (2010) und Yan et al. (2013) gesunde Probanden untersuchten, während unter unseren Teilnehmern die Hälfte infolge einer Virusinfektion riechgemindert war. Möglicherweise erhöht eine Infektion die Variation zwischen den Menschen und macht einen Teil der Faktoren der interpersonellen Variabilität aus.

Lemon et al. (2010) kommen durch ihre Beobachtung von gesunden Probanden zu dem Schluss, dass die beobachtete Variation zwischen den Menschen bedeutet, dass verschiedene Arten ähnliche grundlegende Funktionen zur Aufrechterhaltung der Organgesundheit besitzen müssen. Dieser Effekt der *funktionellen Redundanz* könnte wesentlich für die Stabilität innerhalb einer mikrobiellen Gemeinschaft sein (Lemon et al., 2010). Bereits Yachi & Loreau (1999) beschrieben in Ihrer „insurance hypothesis“ (dt.

„Versicherungshypothese“), dass ein Ökosystem davon profitiert, wenn die Funktionsweise von verschiedenen Arten garantiert werden kann. Sollte eine Art ausfallen, so kann die Funktion weiterhin von anderen Arten aufrechterhalten werden. Somit ist das mikrobielle System nicht von einer einzigen Spezies oder sogar Art abhängig, welche wesentlich für eine bestimmte Funktion ist, sondern diese Funktion wird im Rahmen der funktionellen Redundanz von verschiedenen Arten umgesetzt (Ley et al., 2006). Dieses Modell kann auf die Besiedlung der Nasenschleimhaut übertragen werden und erklären, warum auch bei hoher interpersoneller Variabilität dieselben dominierenden Stämme und Gattungen nachgewiesen werden können.

Alter

Das Alter beeinflusste die Variation zu 12 % ($p = 0,001$). Auch in vorangegangenen Studien wurden signifikante Unterschiede in der Zusammensetzung des nasalen Mikrobioms in Abhängigkeit vom Alter festgestellt (Schenck et al., 2016; Whelan et al., 2014). So konnte Whelan et al. (2014) im Nasenvorhof von Senioren über 65 Jahren eine andere mikrobielle Zusammensetzung als bei jüngeren Erwachsenen (18 bis 40 Jahren) nachweisen. Auch Lemon et al. (2010) konnten bei einer jungen Kohorte in Abstrichen Unterschiede zwischen Nasenvorhof und Oropharynx feststellen. Besonders auffällig war die mit dem Alter wachsende Häufigkeit von potenziell pathogenen *Streptokokken* im Nasenvorhof und Oropharynx, was eine Ursache der im Alter erhöhten Anfälligkeit für Pneumonien darstellen könnte (Whelan et al., 2014). Da ein Einfluss durch Geschlecht, Begleiterkrankungen, Wohnort und Impfungen ausgeschlossen wurde, gingen Whelan et al. (2014) davon aus, dass das Alter der entscheidende Faktor für die veränderte Besiedlung sei. Zudem wurden die Stellen verglichen und es konnte bei den Senioren festgestellt werden, dass die nasale Besiedlung mit zunehmendem Alter der des Oropharynx ähnelte. Es scheint eine mit dem Alter fortschreitende Veränderung der nasalen Besiedlung zu geben.

Riechfunktion

Die Riechfunktion beeinflusste die Variation nur in geringem Maße (4.2 %, $p = .001$). Zwar ließ sich ein signifikanter Diversitätsunterschied zwischen den Riechfunktionsgruppen feststellen (s. **Abbildung 12**), laut welchem in der gesunden Kontrollgruppe eine signifikant höhere Artenvielfalt als in den Gruppen mit Riechminderung herrschte (s. Abschnitt 4.1.1), jedoch war der Einfluss der Riechfunktion auf die Variation eher gering. Schon Biswas et al. (2020) teilten 162 Probanden gemäß deren SDI-Ergebnissen in die Geruchsfunktionsgruppen Anaosmie, Hyposmie und Normosmie ein. Der Abstrich erfolgte am mittleren Nasengang, die Analyse zeigte eine geringere Vielfalt bei Individuen, welche in der Diskriminationstestung schlechter abschnitten. Außerdem kamen *Corynebakterien* bei Teilnehmern mit eingeschränkter Riechfunktion signifikant seltener vor, was bereits von

Biswas et al. (2020) beobachtet wurde (s.u.). Diese Beobachtung deutet auf einen Zusammenhang auf Artebene zwischen dem Vorkommen von *C. accolens* und der Riechgesundheit hin (s. 4.1.2), was die beobachtete Variation jedoch nur gering beeinflusste.

Ort der Probenentnahme

Die Variation war in der vorliegenden Studie nicht signifikant vom Ort des Abstrichs abhängig.

Diese Beobachtung steht im Kontrast zu denen von Costello et al. (2009), welche beim Vergleich des Mikrobioms verschiedener Körperregionen zeigen konnten, dass die Komposition der Bakteriengemeinschaft am stärksten vom Ort abhängig war. In besagter Studie wurden neben dem Nasenvorhof bis zu 26 weitere Hautareale einschließlich Teilen des Verdauungstraktes (Mundhöhle und Darm), des äußeren Gehörgangs und der Kopfhaut von sieben bis neun gesunden Erwachsenen untersucht. Diese Haut- und Schleimhautregionen unterscheiden sich in vielen Aspekten und weisen relativ große räumliche Distanzen zueinander auf. Whelan et al. (2014) verglichen in ihrer Studie den Nasenvorhof und den Oropharynx, beides sind Stellen innerhalb der oberen Atemwege. Auch sie konnten zwischen den beiden Orten, welche im Vergleich zu Costello et al.s (2009) Studie räumlich näher beieinander liegen, unterschiedliche Zusammensetzungen feststellen. Zudem sind beide Stellen in Whelan et al.s Studie epithelial unterschiedlich ausgekleidet und weisen auch räumlich gesehen eine recht große Distanz zueinander auf, sodass Differenzen plausibel sind. Lemon et al. (2010) konnten Unterschiede zwischen Nasenvorhof und Oropharynx bei gesunden jungen, unter 65 Jahre alten Erwachsenen feststellen. Sie und Wilson (2004) erklärten diese Differenzen der Stellen durch lokal verschiedene Einflussfaktoren (Temperatur, pH-Wert, Epitheltyp (Nasenvorhof: mehrschichtiges verhorntes Plattenepithel; Oropharynx: mehrschichtiges unverhorntes Plattenepithel) und Sekret (Nase: Talg, Pharynx: Speichel)).

Innerhalb der in unserer Studie gewählten, relativ kleinen Nische kam es zu anderen Ergebnissen, nämlich dass die Zusammensetzung nicht signifikant vom Ort abhängig war und kein Einfluss der Abstrichstelle auf die Variation festgestellt werden konnte. Bei unserer Studie wurden Stellen innerhalb einer einzigen Körperöffnung untersucht, mit im Vergleich zu Costello et al.s und Whelan et al.s Studie relativ geringen Distanzen von nur wenigen Millimetern zueinander. Zudem sind beide Schleimhautstellen an den Muscheln mit demselben Epitheltyp ausgekleidet und die Riechspalte mit einem sehr ähnlichen (s.o.), sodass sich hinsichtlich der Epithelzusammensetzung nur wenige Unterschiede zwischen den Stellen ergaben. Vergleicht man die Distanzen sowie unterschiedlichen Eigenschaften der Hautstellen von Costello et al.s Studie also mit unserer Nasenhöhlen-Studie, so ist es bezüglich dieser Aspekte nachvollziehbar, dass sich die Ergebnisse unterscheiden. Wie

bereits oben beschrieben (s. 4.1.1) trägt der Ort der Nasenschleimhaut nicht signifikant zu Diversitätsunterschieden bei. Das ist klinisch insofern relevant, da zukünftig für Untersuchungen der Riechspalte bevorzugt an leichter zugänglichen Schleimhautstellen, welche für den Patienten zudem angenehmer sind, abgestrichen werden kann

4.2 Diskussion der Methoden

Abstrichnahme

Die Abstrichnahme erfolgte durch klinisch erfahrene HNO-Ärzte unter endoskopischer Kontrolle. Wie schon bei [Biswas et al. \(2020\)](#) beschrieben, wurde auf ein steriles Abstreichen geachtet. Unter endoskopischer Sicht konnte einerseits die anatomische Stelle korrekt identifiziert werden, andererseits konnte sichergestellt werden, dass der Tupfer beim Ein- und Ausführen aus der Nasenhöhle nicht durch den Kontakt zu anderen Stellen kontaminiert wurde. Diese Methode einer zielgerichteten Abstrichnahme wurde bereits zuvor verwendet (Yan et al., 2013). Um den Abstrich noch besser vor möglicher Kontaminierung durch benachbarte Haut- und Schleimhautareale zu schützen, könnte man die Untersuchung mit Tupfern nutzen, welche innerhalb eines sterilen Röhrchens in die Nase eingeführt werden und unter Sicht erst am Zielort für das Abstreichen aus dem Röhrchen herausgeschoben werden (vgl. Rasmussen et al, 2000).

Manche Teilnehmer empfanden die Instrumente in der Nasenhöhle als unangenehm, jedoch musste keiner der Probanden für den Schleimhautabstrich mittels Lokalanästhesie betäubt werden. Es kam in keinem Fall zu Komplikationen. Um eine Haltbarkeit des Genoms zu gewährleisten, wurden die Tupfer direkt nach dem Abstreichen in Röhrchen mit *RNAlater*TM eingelegt und bei minus 20 °C tiefgefroren.

Wir entschieden uns für ein Studiendesign in Form einer Querschnittstudie, in welcher an einem einzigen Termin abgestrichen wurde. Eine Limitierung der Studie war, dass wir somit keine zeitliche Änderung des Mikrobioms beobachten konnten. Es existieren Längsschnittstudien (Costello et al., 2009; Yan et al., 2013), welche den Einfluss der Zeit auf die Zusammensetzung des Mikrobioms betrachteten und hierfür Personen innerhalb eines Zeitraumes mehrfach abstrichen. Costello et al. (2009) strichen gesunde Erwachsene innerhalb eines Zeitraums viermal an verschiedenen Körperstellen ab und stellten eine hohe zeitliche Variabilität fest, welche jedoch geringer als der interpersonelle Unterschied war. An einigen der Hautstellen, unter anderem dem Nasenvorhof, war die zeitlich bedingte Variation größer als an anderen Körperstellen wie beispielsweise dem Darm. Diese Beobachtung könnte auf eine zeitliche Variation auch bei anderen Stellen der Nasenhöhle, wie den von uns untersuchten Stellen der Nasenschleimhaut, hindeuten.

Im Gegensatz zu diesen Beobachtungen des Hautmilieus konnten Yan et al. (2013) den Zeitfaktor nicht als Quelle der Variation bestätigen. In Ihrer Studie wurden 12 Personen innerhalb eines Zeitraums viermal am Nasenvorhof, dem mittleren Nasengang und dem Recessus sphenothmoidalis abgestrichen. Eine Längsschnittstudie, welche einen längeren Zeitraum erfasst, könnte zukünftig ergründen, wie sich das Mikrobiom der Nasenschleimhaut und Riechspalte einer Person mit der Zeit verändert.

Wahl der Abstrichstelle

Abgestrichen wurde an drei Stellen in der Nasenhöhle: An der unteren und der mittleren Nasenmuschel sowie an der Riechspalte (s. Abbildung 5). Die vorliegende Studie griff den Vorschlag von Biswas et al. (2020) auf, die Riechspalte mit einzuschließen, deren bisherige Untersuchung als lückenhaft dargestellt wurde.

In der vorliegenden Studie wurden die Probanden einseitig abgestrichen, dafür wurde die jeweils räumlich besser zugängliche Nasenseite gewählt. In ähnlichen Mikrobiomstudien wurden bisher uneinheitliche Methoden verwendet, sodass es beim Versuch, die Ergebnisse zu Vergleichen, zu Verzerrungen kommen kann. So wurde beispielsweise in der Studie von Yan et al. (2013) beidseitig abgestrichen, während sich bei Biswas et al. (2020) und ebenso in der vorliegenden Studie für einen einseitigen Abstrich entschieden wurde. Hierin liegt auch eine Limitation der vorliegenden Studie, da kein Seitenvergleich stattgefunden hat. Die Frage nach Unterschieden der beiden Nasenseiten kann zukünftig untersucht werden.

Stichprobe

Unter der Anwendung einer Fallzahlschätzung wurde eine Stichprobengröße von 210 Probanden ermittelt, für sichere Ergebnisse sollte eine Fallzahl von insgesamt 300 Teilnehmern angestrebt werden. Wir entschieden uns aus praktischen Gründen für eine Gruppengröße von 20 postviralen Probanden, welche mit 20 gesunden Kontrollprobanden verglichen wurde. Hierin liegt eine Limitation der Studie, da mit einer größeren Stichprobe die Übertragung auf eine Grundgesamtheit besser möglich ist. Es wäre interessant, die hier vorliegenden Ergebnisse mit einer identisch designten Studie, welche eine größere Stichprobenmenge umschließt, abzugleichen. Biswas et al.s (2020) Studie hat mit 120 Teilnehmern deutlich mehr Probanden eingeschlossen und liefert damit eine umfangreiche Datenmenge zur Untersuchung des nasalen Mikrobioms bei Riechverlust. Daneben liegen auch vergleichbare Studien mit deutlich geringerer Stichprobengröße vor: Rasmussen et al. (2000) untersuchten zehn Patienten, Yan et al. (2013) zwölf, Lemon et al. (2010) sieben. Verglichen mit Studien ähnlicher Fragestellungen ist der Stichprobenumfang von 40

eingeschlossenen Probanden der hier vorliegenden Studie somit als relativ groß einzuordnen.

Bei 16 der 20 postviralen Patienten (80 %) handelte es sich bei der Infektionsursache um eine SARS-CoV-2-Infektion, bei den restlichen vier Patienten war eine unbekannt Virusinfektion ursächlich. Das gehäufte Vorkommen von Patienten mit Status nach COVID-19 liegt hauptsächlich am zeitgleichen Pandemiegesehen. Der Zeitraum der Infektion vieler Studienteilnehmer fällt auf den März 2020, als sich in Deutschland die erste Pandemiewelle mit täglich tausenden Neuinfektionen ereignete (z.B. > 6000 Neuinfektionen am 16.03.2020, RKI, 2021). Diese Patienten erschienen bei fortbestehenden Beschwerden ca. ein Jahr später zur Untersuchung ihrer persistierenden Riechstörung, was in den Zeitraum der Rekrutierungsphase dieser Studie fällt. Zudem gilt die Riechminderung als ein Leitsymptom der SARS-CoV-2-Infektion (Moein et al., 2020), was mittlerweile als allgemein bekannt vorausgesetzt werden darf. Das erklärt, warum besonders viele Patienten, welche sich seit 2020 mit einer postviralen Riechstörung im Riech- und Schmeckzentrum vorstellten, zu dieser Gruppe zählen lassen und daher überproportional in der Stichprobe vertreten sind.

4.3 Anamnese mittels Fragebogen, Testergebnisse des Riechens und Schmeckens

4.3.1 Demografische Aspekte

Geschlechterverteilung

65 % (26) der Teilnehmer waren weiblich und 35 % (14) männlich, in beiden Gruppen waren jeweils 13 Frauen und 7 Männer waren. Es ist bekannt, dass Frauen häufiger als Männer von postinfektiösen Riechstörungen betroffen sind (Sugiura, 1998). Hummel & Hüttenbrink (2005) stellten fest, dass Frauen besser riechen können als Männer. Man kann also annehmen, dass von Frauen ein Riechverlust schneller bemerkt wird und diesen daraufhin frühzeitiger abklären lassen, folglich kam es in unserer Studie zu einem etwas höheren Frauenanteil. In einer vorherigen Studie wurde kein geschlechtsabhängiger Einfluss auf das Mikrobiom gezeigt (Whelan et al., 2014), daher kann man davon ausgehen, dass der Frauenüberschuss in unserer Studie nicht relevant ist. Zukünftig wäre die spezifische Untersuchung eines möglichen hormonellen Einflusses auf das Mikrobion möglicherweise interessant.

Probandenalter

Die postviralen Patienten waren im Mittel 45.6 Jahre ($SD \pm 16.8$ Jahre) alt, die gesunde Kontrollgruppe im Mittel 49.5 Jahre ($SD \pm 19.9$ Jahre). Damit liegt das Alter unserer

Teilnehmer zwischen 40 und 70 Jahren, was der Altersspanne entspricht, in welche man epidemiologisch postinfektiöse Riechstörungen einordnen kann (Sugiura, 1998). Mit steigendem Alter geht aus diversen Gründen eine Minderung des Riechvermögens einher (Attems et al., 2015; Schubert et al., 2011; Thangaleela et al., 2022). Daher entschieden wir uns dazu, eine Kontrollgruppe auszuwählen, deren Alter im Mittel nicht signifikant ($t[38] = .68; p = .50$) von dem der erkrankten Gruppe abwich.

Beginn und Dauer des Riechverlustes

Bei den postviralen Teilnehmern setzte der Geruchsverlust ohne symptomfreies Intervall zeitgleich mit den Symptomen der Infektion ein. Die Geruchsverlustdauer betrug zum Zeitpunkt der Untersuchung durchschnittlich 12.3 Monate ($SD \pm 24.5$ Monate), wobei 70 % der postviralen Patienten zum Zeitpunkt des Abstrichs eine kürzere Dauer von nur bis zu sechs Monaten angaben, die kürzeste Dauer betrug vier und die Längste 115 Monate. Gegenwärtig liegt eine Metastudie zur Dauer des Geruchsverlustes von COVID-19 infizierten Patienten vor, wonach nach drei Monaten 90.0 % und nach sechs Monaten ca. 95.7 % ihr Riechvermögen wiedererlangen (Tan et al., 2022). Im Umkehrschluss bedeutet dies, dass es eine kleine Patientengruppe mit Zustand nach SARS-CoV-2-Infektion gibt, deren Riechvermögen über einen deutlich längeren Zeitraum reduziert bleibt, während der Großteil den Riechsinn bereits vorher wiedererlangt. Zukünftig wäre es interessant, bei Studien mit ähnlichen Untersuchungszielen einen zweiten Abstrich zum Zeitpunkt des wiedererlangten Riechvermögens zu nehmen, um das Mikrobiom im zeitlichen Verlauf sowie in Abhängigkeit der Riechfunktion zu untersuchen.

Vorerkrankungen und Medikamenteneinnahme

Von den insgesamt 40 Teilnehmern der Studie waren 19 Patienten (47.5 %) chronisch vorerkrankt, davon zehn aus der Gruppe der postviralen Patienten und neun aus der riechgesunden Kontrollgruppe. Die vier häufigsten Krankheitsbilder waren arterielle Hypertonie (25 %), Hypothyreose (12.5 %), Asthma bronchiale (10 %) und DMT2 (10 %). Da laut Yazla et al. (2018) ein Zusammenhang zwischen DMT2 und einer eingeschränkten Riech- und Schmeckfunktion bestehen kann, wurden in der postviralen Gruppe keine Patienten mit DMT2 eingeschlossen, um die vorbestehende Riechstörung klar einer postviralen Ursache zuordnen zu können. Die beiden Probanden mit DMT2 in der Kontrollgruppe hatten einen normosmischen SDI-Wert, sodass sie als riechgesund galten. Zudem wurden Probanden von der Studienteilnahme ausgeschlossen, die neurologisch an Morbus Alzheimer oder Morbus Parkinson (idiopathisches Parkinson Syndrom) vorerkrankt waren, da diese Erkrankungen mit Riechstörungen einhergehen (Marin et al., 2018; Rahayel et al., 2012).

Auch Medikamenteneinnahme kann als Nebenwirkung zu einer Beeinträchtigung der Riechfunktion führen, diese seltene Ausschlussdiagnose gilt jedoch als reversibel (Hummel & Welge-Lüssen, 2009b). 21 Teilnehmer gaben eine tägliche Medikamenteneinnahme an. Zu den seltenerweise zu Riechstörungen führenden Medikamentengruppen zählen Antibiotika, topische nasale Medikamente, kardiovaskuläre Medikamente, Thyreostatika und Anti-Parkinson-Medikamente (Hummel & Welge-Lüssen, 2009b, S. 89). Zur Studienteilnahme war bei allen Teilnehmern eine mindestens vierwöchige Antibiotika-Karenz gefordert, sodass wir bei den Patienten mit persistierender Riechstörung zum Zeitpunkt der Untersuchung jene Substanzen als Ursache ausschließen konnten. Kardiovaskuläre Medikamente führen nur sehr selten zu Hyposmien (< 1 % bei Lipidsenkern (Hummel & Welge-Lüssen, 2009c)), zudem konnten wir anamnestisch durch den plötzlichen postinfektiösen Symptombeginn jenes als Ursache ausschließen. Die Nutzung steroidhaltiger Nasensprays als Ursache für den Riechverlust konnte anamnestisch durch dessen plötzliches Auftreten infolge einer Infektion ausgeschlossen werden. Zwei Patienten der postinfektiösen Gruppe gaben die Nutzung steroidhaltiger Nasensprays an, zukünftig könnte es interessant sein, das nasale Mikrobiom nicht nur unter Ausschluss von systemischer Antibiose und Kortikosteroiden, sondern auch ohne den Einfluss topischer antibakterieller oder immunsuppressiver Medikamente zu untersuchen. Keiner der Probanden nahm Thyreostatika oder Anti-Parkinson-Medikamente ein. Wir gehen somit bei unseren riechgeminderten Studienteilnehmern von einer viralen Infektionsursache aus, die Diagnose der postinfektiösen Riechstörung konnte aufgrund der Anamnese gestellt werden.

4.3.2 Subjektive Einschätzung des Riechvermögens

Infolge des Infekts der oberen Atemwege gaben alle Teilnehmer der postviralen Gruppe eine Beeinträchtigung des Geruchssinnes an. Davon gaben 65 % zusätzlich eine Störung des Schmeckens und 85 % ein gestörtes Empfinden des Feingeschmacks an. In der Kontrollgruppe wurden von keinem der Probanden subjektive Defizite angegeben. Dementsprechend signifikant stellen sich die Gruppenunterschiede dar: Sowohl beim Schmeckvermögen ($t[19] = - 5.94; p < .001; d = - 1.88$), als auch beim Feingeschmack ($t[19] = - 10.38; p < .001; d = - 3.28$) gaben in der postviralen Gruppe signifikant mehr Teilnehmer verminderte Fähigkeiten an.

Ein gesunder, komplexer Geschmackseindruck entsteht durch eines intaktes Riechvermögen, welches die Wahrnehmung von Aromen ermöglicht. Durch das sogenannte retronasale Riechen, bei welchem Nahrungsmoleküle durch den Nasenrachen zur Riechschleimhaut gelangen, kann der Feingeschmack bzw. das Aroma eines

Nahrungsmittels wahrgenommen werden (AWMF, 2023, S. 11). Anhand der intakten retronasalen Riechfunktion wird der durch die Geschmacksrezeptoren der Zunge wahrgenommene Grundgeschmack von Nahrungsmitteln um die Wahrnehmung von Aromen zu einem vollständigen Gesamteindruck ergänzt (AWMF, 2023). Infolge der Schädigung von olfaktorischen Sinneszellen durch SARS-CoV-2 ist dementsprechend nicht nur alleine das Riechen, sondern zusätzlich auch die Wahrnehmung von Feingeschmäcken beeinträchtigt (Isenmann et al., 2021). Dieser Mechanismus erklärt allerdings nicht die subjektiv gestörte Wahrnehmung der Grundgeschmacksrichtungen (süß, sauer, bitter, salzig und umami), welche unabhängig von Empfindungen aus der Nase über in der Zunge liegende Nerven vermittelt werden. Hier kann man annehmen, dass die Patienten durch die vorhandene olfaktorische Sinneseinschränkung unter der insgesamt veränderten Geschmacksempfindung litten und dies in der subjektiven Einschätzung zum Ausdruck brachten. Interessant war, dass sich in der darauffolgenden Testung bei 18 der 20 postviralen Patienten keine Einschränkung der Wahrnehmung von Grundgeschmäcken finden ließ und demnach das gustatorische System intakt war.

4.3.3 Qualitative Sinnesstörungen

Subjektive Beschreibungen qualitativer Sinnesstörungen wurden ausschließlich von Patienten der postviralen Gruppe geäußert. Elf postvirale Patienten (55 %) erfüllten die Kriterien einer Parosmie, zwei (10 %) dieser Patienten beschrieben zusätzlich das Phänomen der Phantosmie. Diese Riechphänomene wurden von neun der elf Parosmie-Patienten sowie von beiden Phantosmie-Patienten als unangenehm bewertet.

Bereits Hopkins et al. (2021) gingen in ihrer Studie der Frage nach dem Vorkommen von Parosmien infolge von SARS-CoV-2-Infektionen nach. In ihrer Online-Umfrage gaben die Probanden zu 43.1 % das Erleben einer Parosmie infolge eines Riechverlustes an, dabei lag der Median im Intervall von 0 bis 6 Monaten bei 2.5 Monaten. Wir untersuchten unsere Patienten durchschnittlich 12.3 Monate ($SD \pm 24.5$) nach Beginn des Riechverlustes. 70 % der postviralen Patienten gaben zum Zeitpunkt des Abstrichs ein Intervall von bis zu sechs Monaten an. Die Frage, seit wann die Parosmie bestand, konnte nicht von allen Patienten eindeutig beantwortet werden. Die Mehrheit der Befragten nahm die Symptome der Parosmie oder Phantosmie neben dem persistierenden Riechverlust eher als nebensächlich wahr, auf gezielte Nachfrage konnten die Symptome dann einem der Phänomene zugeordnet werden. Hopkins et al. (2021) beobachteten, dass bei 20.3 % der Patienten im Anschluss auf das Auftreten einer Parosmie die vollständige Genesung des Riechverlustes erfolgte und somit als prognostisch gutes Zeichen galt. Diese Beobachtung konnten wir nicht

machen, da wir die Patienten nur zu einem einzigen Zeitpunkt sahen, zu welchem sie noch nicht genesen waren. Eine interessante Erweiterung unserer Studie wäre, die Patienten zu einem Zeitpunkt nach der Genesung des Riechverlustes erneut zu untersuchen, um die Ergebnisse hinsichtlich der Parosmie oder Phantosmie vergleichen zu können. Zum besseren Verständnis der Entstehung von Par- und Phantosmien wäre es zukünftig interessant, das nasale Mikrobiom in diesem Kontext zu untersuchen.

Den Schmecksinn betreffend gaben fünf unserer postviralen Patienten an, eine Phantogeusie zu erleben. Die Befragung ergab, dass die Patienten einen Geschmack im Mund wahrnehmen würden, ohne dass eine passende Geschmacksquelle vorliegen würde, die Diagnose dieser qualitativen Schmeckstörung erfolgt anamnestisch (Hummel & Welge-Lüssen, 2009d, S. 96). Drei dieser fünf Patienten beschrieben die Qualität dieser Schmeckhalluzination als metallisch-eisenähnlich. Auch Tan et al. (2022) beobachteten qualitative Schmeckhalluzinationen infolge von SARS-CoV-2-Infektionen. Ercoli et al. (2021) forderten weitere Untersuchungen von Patienten mit Phantogeusie infolge von COVID-19, um den zugrundeliegenden Pathomechanismus zu entschlüsseln. Es ist mittlerweile bekannt, dass neben dem Riechsinn auch der Schmecksinn infolge einer SARS-CoV-2-Infektion quantitativ beeinträchtigt sein kann (Ercoli et al., 2021). Dies konnten wir in unserer Kohorte bei einem der postviralen Patienten in der Testung der Grundgeschmacksrichtungen *süß, sauer, salzig und bitter* beobachten. Auch ein weiterer postviraler Patient nach unbekannter Infektion im Dezember 2020 zeigte sich in der Schmecktestung hypogeusisch.

4.3.4 Beeinträchtigung der Lebensqualität

Die postviralen Patienten gaben symptombedingt einen Durchschnittswert von 4.53 ($SD \pm 1.46$) von 6 an, wobei der Zahlenwert 1 *keiner* und 6 einer *sehr starken* Beeinträchtigung entsprach. 55 % der postviralen Patienten gaben eine *starke* oder *sehr starke* Einschränkung an. Demgegenüber gaben die gesunden Teilnehmer der Kontrollgruppe ohne Krankheitslast auch keine Beeinträchtigung der Lebensqualität an. Es wurde bereits in früheren Untersuchungen beschrieben, dass sich eine Beeinträchtigung des Riechens und Schmeckens negativ auf die Lebensqualität sowie soziale Beziehungen und die psychische Gesundheit auswirken kann (Tan et al., 2022). Diese Beobachtung ist besonders relevant, da diese Sinneseinschränkungen noch Monate nach der Infektion persistieren, was für die Patienten eine anhaltende Einschränkung der Lebensqualität bedeutet. In Tan et al.s (2022) Metaanalyse konnte gezeigt werden, dass 74.1 % der Patienten nach 30 Tagen den Riechsinn wiedererlangten, 85.8 % nach zwei Monaten, 90.0 % nach drei Monaten und 95.7 % nach sechs Monaten. Daraus folgt, dass der subjektive Leidensdruck bei einem Teil

der Patienten über diesen Zeitraum hinaus persistiert und dementsprechend die Nachfrage nach erfolgreichen Therapiemaßnahmen Anlass zur Erforschung von Therapiemöglichkeiten bietet.

4.3.5 Sniffin Sticks: objektives Riechvermögen

Von den Gruppen wurden in den SDI-Testungen durchschnittlich die in Abbildung 10 dargestellten Werte erreicht. In der postviralen Gruppe bekamen 15 Probanden die Diagnose Hyposmie, als anosmisch wurden 5 Patienten eingestuft.

Die Kontrollgruppe setzt sich aus 19 Normosmikern und einem Hyposmiker zusammen, welcher ein Ergebnis erzielte, das .25 Punkte unter der Grenze (30.75 Punkte) zur Normosmie lag. Bei diesem Probanden handelte es sich um einen 84-jährigen Mann, der mit einem SDI-Testergebnis von 30.5 Punkten deutlich oberhalb der 75 % Perzentile (\cong 28.94 Punkten; Oleszkiewicz et al., 2019) seiner altersgerechten Vergleichsgruppe lag und mit diesem Ergebnis einen deutlichen Abstand von drei Punkten zum Bestwert der postviralen Gruppe aufweisen konnte. Dieser Proband gab subjektiv gute Fähigkeiten und keine Riechstörung an, in der retronasalen Testung sowie in der Schmecktestung war er durch das Erreichen der vollen Punktzahl unauffällig. Wir entschieden uns dazu, diesen Probanden in die Kontrollgruppe einzuschließen, da er im Kontext als riechgesund eingeordnet werden konnte und durch den Einschluss von älteren Teilnehmern in die Studie die Übertragbarkeit der Stichprobe auf eine vielfältige Bevölkerung gewährleistet werden konnte.

Insgesamt erreichten die postviralen Patienten signifikant niedrigere SDI-Testergebnisse als die Gesunden. Auch in allen drei Einzeltests (Schwellen-, Diskriminations- und Identifikationstestung), deren Summe den SDI-Wert bildet, lagen die Ergebnisse der postviralen Gruppe signifikant unter denen der Gesunden. Bereits zuvor wurden von Biswas et al. (2020) in einer ähnlich aufgebauten Studie Patienten mit postviraler Riechminderung untersucht und dem SDI-Ergebnis entsprechend in die Funktionsgruppen Normosmie, Hyposmie und Anosmie eingeteilt und analysiert. Eine weitere Studie, welche das nasale Mikrobiom untersuchte, wählte eine gesunde Probandengruppe und teilte diese den SDI-Ergebnissen entsprechend in Gruppen ein (Koskinen et al., 2018). Studien zum vorliegenden Thema sind nur eingeschränkt vergleichbar, unter anderem aufgrund der uneinheitlichen Auswahl der Studienteilnehmer. Eine hervorzuhebende Stärke dieser Studie liegt in der einheitlichen Wahl der riechgeminderten Teilnehmer, welche alle die Kriterien einer postinfektiösen Riechstörung erfüllten, deren Diagnose durch die ausführliche Anamnese und Untersuchung im *Riech- und Schmeckzentrum der Klinik und Poliklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde des Dresdner Universitätsklinikums* erfolgte.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Die Analyse des nasalen Mikrobioms zeigt, dass die bakterielle Alpha-Diversität sich zwischen den drei Probenstellen nicht signifikant unterschied. Weder die bakterielle Vielfalt noch die Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaften unterschieden sich signifikant zwischen den Probenstellen. Am häufigsten waren an allen drei Probenstellen die Gattungen *Corynebakterien*, *Cutibakterien*, *Staphylokokken*, *Dolosigranulum* und *Streptokokken* vertreten.

Teilnehmer mit postinfektiös geminderter Riechfunktion wiesen eine geringere Alpha-Diversität auf als die gesunde Kontrollgruppe, außerdem war die Häufigkeit des *Corynebakteriums* ASV 3 in der postinfektiösen Gruppe signifikant vermindert. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied der bakteriellen Diversität in Abhängigkeit der Altersgruppen. Das Alter trug jedoch in geringem Maße zur Variation der Zusammensetzung des Mikrobioms bei. Die beobachtete Variation der bakteriellen Besiedlung war hauptsächlich auf interindividuelle Unterschiede zurückzuführen, einen deutlich geringeren Einfluss übten das Alter und die Riechfunktion aus. Die Abstrichstelle trug nicht signifikant zur Variation der bakteriellen Gemeinschaft bei.

Die Ergebnisse zeigen, dass unter professionellen Bedingungen ein technisch einfacher Abstrich von der unteren Nasenmuschel ausreicht. Anhand dieser Probe ist es möglich, Rückschlüsse auf das Mikrobiom der Riechschleimhaut zu ziehen. Diese Erkenntnis kann die praktische Durchführung von Mikrobiomstudien der Riechschleimhaut deutlich vereinfachen. Darüber hinaus können auf diese Weise einheitlich vergleichbare Ergebnisse erzielt werden.

Das *Corynebakterium* ASV 3 könnte in Zukunft nicht nur einen diagnostisch nutzbaren Biomarker für Riechgesundheit darstellen, sondern auch in der Therapie des postinfektiösen Riechverlustes genutzt werden. Es wäre in diesem Zusammenhang lohnenswert, die in Studien beobachtete hemmende Wirkung von *Corynebakterien* auf pathogene Keime zukünftig weiter zu untersuchen.

Perspektivisch zeigt die Analyse der Variation einen Forschungsbedarf des interpersonellen Unterschieds auf. Durch die Bestimmung der zugrundeliegenden Einzelfaktoren und ihrer jeweiligen Gewichtung können weitere Erkenntnisse zur Diagnostik und Therapiemöglichkeiten von Riechstörungen gewonnen werden.

6 Summary

The following summary was translated from German into English using the translation program *DeepL* (2024).

The analysis of the nasal microbiome shows that the bacterial alpha-diversity did not differ significantly between the three sample sites. Neither the bacterial diversity nor the composition of the bacterial communities differed significantly between these sites. The genera *Corynebacteria*, *Cutibacteria*, *Staphylococcus*, *Dolosigranulum* and *Streptococcus* were most frequently represented at all three sample sites.

Participants who suffered from a post-infectious impaired olfactory function showed a lower alpha-diversity than the healthy control group, furthermore the abundance of *Corynebacterium ASV3* was significantly reduced in the post-infectious group. There was no significant difference in bacterial diversity between the age groups. However, age contributed to the variation in the composition of the microbiome to a small extent. The observed variation in bacterial colonization was mainly attributed to inter-individual differences, age and olfactory function had little influence. The swabbing site did not contribute significantly to the variation of the bacterial community.

The results show that a technically simple swab taken from the inferior turbinate is sufficient when executed under professional conditions. Based on this sample, it is possible to draw conclusions about the microbiome of the olfactory mucosa. This finding can significantly simplify the practical implementation of microbiome studies of the olfactory mucosa. In addition, uniformly comparable results can be achieved in this way.

In the future, the *Corynebacterium ASV3* could not only represent a diagnostically useful biomarker for olfactory health, but could also be used in the treatment of post-infectious olfactory loss. In this context, it would be worthwhile to further investigate the inhibitory effect of *Corynebacteria* on pathogenic germs observed in studies in future studies.

In perspective, the analysis of the variation shows a need for research on interpersonal differences. By determining the underlying individual factors and their respective impact, further insights into the diagnosis and treatment options for olfactory disorders can be gained.

7 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Übersicht von Mikrobiom und Mikrobiota. Grafik in Anlehnung an Berg et al. (2020), erstellt mit BioRender (2022).	9
Abbildung 2 Darstellungen der Nasenschleimhaut. 2 A) Schema der Riechzellen, modifiziert abgebildet nach Schmidt et al.(2010). 2 B) Schematische Darstellung der Nasenhöhle und Nasennebenhöhlen. o = obere, m = mittlere, u = untere Nasengang. Gestrichelte Pfeile symbolisieren Verbindungen zwischen NNH und Nasengängen, angefertigt mit BioRender (2022). 2 C) Schematische Darstellung der epithelialen Auskleidung der Nasenhöhle und NNH. Links: Sagittalschnitt, Ansicht der lateralen Wand der linken Nasenhöhle., rechts: Frontalschnitt der Nasenhöhle. Blau = Regio olfactoria (OM, Nasenhöhlendach und Septum; Mehrreihiges Zylinderepithel und Geruchssinneszellen). Grün = Regio respiratoria (NNH, UM, MM; mehrreihiges Zylinderepithel mit Kinozilien). Rosa und braun = Regio cutanea (NV, Nasenrücken; Epidermis und verhorntes PE). Legende: RS = Riechspalte, OM = obere Nasenmuschel, MM = mittlere Nasenmuschel, UM = untere Nasenmuschel, NV = Nasenvorhof, NH = Nasenhöhle, NNH= Nasennebenhöhlen, S= Septum, angefertigt mit BioRender (2022).	13
Abbildung 3 A) Links: Duftwahrnehmung mit Riechsinnzellen (1), Mitralzellen (2), Tractus olfactorius (3), Thalamus (5), Neokortex sowie limbische System [Amygdala und Hippocampus] (7), Quelle Schmidt et al. (2010, S. 394); 3 A) Rechts: Schema der Riechbahn, erstellt mit BioRender (2022), modifiziert nach Welge-Luessen & Hummel (2014); 3 B) Einteilung der Riechstörungen, modifiziert nach (Hernandez et al., 2023).....	17
Abbildung 4 Übersicht über den Ablauf der Studie.....	21
Abbildung 5 Stellen der Nasenabstriche. Kreise: Untere und mittlere Nasenmuschel, Dreieck: Riechspalte im Dach der Nasenhöhle, erstellt mit BioRender (2022).	22
Abbildung 6 Schematische Darstellung der starren Nasenendoskopie. Verschiedene Ausrichtungen ermöglichen eine umfangreiche Untersuchung der Nasenhaupthöhle. Mit freundlicher Genehmigung von © Pierre Delaere (Delaere, 2019).	24
Abbildung 7 Dreiteiliges „Sniffin‘ Sticks“-Set. Links: Diskriminationstestung, Mitte: Schwellentestung, Rechts: Identifikationstestung. Mit freundlicher Genehmigung von (BURGHART MESSTECHNIK, 2023).....	27
Abbildung 8 DNA-Extraktion, Vervielfältigung und Sequenzierung. Schematische Darstellung der Schritte.....	31
Abbildung 9 Reihenfolge der bioinformatischen Datenauswertung.....	35
Abbildung 10 SDI-Testergebnisse der Gruppen im Vergleich.....	43

Abbildung 11 A) Einflussfaktoren der Alpha-Diversität. B) Anzahl beobachteter Amplikon-Sequenzvarianten. Bakterielle Vielfalt in Abhängigkeit der Probenstelle, keine signifikanten Unterschiede zwischen den Stellen der Probenentnahme.....	45
Abbildung 12 Vergleichende Darstellung der bakteriellen Vielfalt von Gesunden, verglichen mit Hyposmikern ($p = .013$) und Anosmikern ($p = .043$).....	46
Abbildung 13 A) Beobachtete ASVs. Bakterielle Vielfalt in Abhängigkeit von Altersgruppen, nach Dekaden aufsteigend dargestellt; 14 B) Bakterielle Vielfalt der < 60-Jährigen verglichen mit > 60-Jährigen. Keine signifikanten Unterschiede zwischen den Altersgruppen.	47
Abbildung 14 oben: Darstellung der relativen Häufigkeiten der bakteriellen Gemeinschaften auf (A) Stammes- und (B) Gattungsebene eines jeden Probanden nach dem Ort der Probenstelle (von links nach rechts: untere Nasenmuschel, mittlere Nasenmuschel und Riechspalte). Unten: Relative Häufigkeit der dominierenden Stämme und Gattungen.....	48
Abbildung 15 A) Einflussfaktoren der in der Stichprobe beobachteten Variation im Vergleich. Signifikante p-Werte wurden mit „*“ gekennzeichnet. B) Die Hauptkoordinatenanalyse (PCoA) zeigt die Verteilung der Proben auf den Achsen eines Ordinationsplots. Die Unterschiede in der Verteilung der Proben für links die drei Probenstellen (untere und mittlere Nasenmuschel, Riechspalte) und rechts die Riechfunktion (Anosmie, Gesund, Hyposmie) waren nicht signifikant (alle $p > .05$).	49
Abbildung 16 A) Dunn-Test: Paarweiser Vergleich des Vorkommens bestimmter ASVs in den SDI-Kategorien. Signifikante Werte ($p < .05$) sind mit „*“ markiert. Corynebakterium ASV3 wurde grau hervorgehoben. B) Boxplot: Die relative Häufigkeit der Amplikon-Sequenzvariante des Corynebakteriums ASV3 ist bei den Gesunden signifikant ($p < .05$) höher als bei den postviral Riechgeminderten. Die schwarze Linie stellt den Median zwischen oberem und unterem Quartil der Probe dar, schwarze Punkte stellen Ausreißer dar.	51
Abbildung 17 Beispiel der Schwellentestung eines Normosmikers mit dem Ergebnis $S=7,75$ (Durchschnitt aus den letzten vier grau markierten Feldern), wobei 1 die stärkste und 16 die schwächste Konzentration darstellt. „xx“ bei doppelt richtig erkanntem Duftstift, „-“ bei Falscherkennung.....	XXI
Abbildung 18 Duftstoffe der Diskriminationstestung.....	XXII
Abbildung 19 Auswahl der für die Identifikationstestung verwendeten Duftstoffe.	XXIII
Abbildung 20 Wahlmöglichkeiten der Testung des retronasalen Riechens.	XXIV

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Interpretation der SDI-Testergebnisse nach Oleszkiewicz et al. (2019).	29
Tabelle 2 Anamnestische Angaben der Probanden. MIN= Minimum, MAX= Maximum. Relative Häufigkeiten werden in Prozent angegeben. ¹ Geruchsverlust, ² sofortiger Geruchsverlust nach 0 Monaten, ³ arterielle Hypertonie, ⁴ Grippeschutzimpfung.....	39
Tabelle 3 Häufigkeitsverteilung von anamnestischen Merkmalen und Ergebnissen der Riechtestung. Absolute Häufigkeiten als Zahlenwerte, relative Häufigkeiten in Prozent. ¹ Patienten mit Riechminderung nach Infektion der oberen Atemwege. ² Normosmie >30.5; Hyposmie 16.25 – 30.5; funktionelle Anosmie ≤16, MIN 0 – MAX 48. ³ MIN 0 – MAX 6.	40
Tabelle 4 Subjektive Sinneswahrnehmung der Patienten, durchschnittliche Bewertung (Skala MIN 0 – MAX 10). Signifikante Ergebnisse (p< 0,05) sind mit „*“ gekennzeichnet.	41
Tabelle 5 Korrelationen nach Pearson von subjektiven Bewertungen des Riechsinnens und der Wahrnehmung von Feingeschmack auf einer Skala von 0 – 10 mit Testergebnissen des SDI und retronasalen Tests. (S= Schwelle, D=Diskrimination, I= Identifikation, ¹ retronasaler Test, r= Korrelationskoeffizient nach Pearson, p= Signifikanz, signifikante Werte mit „*“ gekennzeichnet, N =40).	43

9 Literaturverzeichnis

- Ajmani, G. S., Suh, H. H., Wroblewski, K. E., & Pinto, J. M. (2017). Smoking and olfactory dysfunction: A systematic literature review and meta-analysis. *The Laryngoscope*, *127*(8), 1753–1761. <https://doi.org/10.1002/lary.26558>
- Anderson, M. J. (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, *26*(1), 32–46. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x>
- Anderson, M. J. (2017). Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA). In *Wiley StatsRef: Statistics Reference Online* (S. 1–15). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118445112.stat07841>
- Attems, J., Walker, L., & Jellinger, K. A. (2015). Olfaction and Aging: A Mini-Review. *Gerontology*, *61*(6), 485–490. <https://doi.org/10.1159/000381619>
- Aumüller, G., Aust, G., Conrad, A., Engele, J., Kirsch, J., Maio, G., Mayerhofer, A., Mense, S., Reißig, D., Salvetter, J., Schmidt, W., Schmitz, F., Schulte, E., Spanel-Borowski, K., Wennemuth, G., Wolff, W., & Wurzinger, L. J. (2020). In *Duale Reihe Anatomie* (5. korrigierte Auflage). Thieme. <https://doi.org/10.1055/b-007-170976>
- AWMF. (2023). *S2k-Leitlinie Riech- und Schmeckstörungen*. <https://register.awmf.org/de/leitlinien/detail/017-050>
- Banerjee, S., Schlaeppli, K., & van der Heijden, M. G. A. (2018). Keystone taxa as drivers of microbiome structure and functioning. *Nature Reviews. Microbiology*, *16*(9), 567–576. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0024-1>
- Barresi, M., Ciurleo, R., Giacoppo, S., Cuzzola, V. F., Celi, D., Bramanti, P., & Marino, S. (2012). Evaluation of olfactory dysfunction in neurodegenerative diseases. *Journal of the Neurological Sciences*, *323*(1), 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2012.08.028>
- Bassis, C. M., Tang, A. L., Young, V. B., & Pynnonen, M. A. (2014). The nasal cavity microbiota of healthy adults. *Microbiome*, *2*(1), 27. <https://doi.org/10.1186/2049-2618-2-27>
- Becker, L. A. (2000). *Effect Size (ES)*. <https://www.uv.es/~friasnav/EffectSizeBecker.pdf>
- Behrbohm, H., Kaschke, O., & Nawka, T. (2009). *Kurzlehrbuch Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde: 33 Tabellen*. Thieme.
- Bell, J. S., Spencer, J. I., Yates, R. L., Yee, S. A., Jacobs, B. M., & DeLuca, G. C. (2019). Invited Review: From nose to gut – the role of the microbiome in neurological disease. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, *45*(3), 195–215. <https://doi.org/10.1111/nan.12520>
- Benjamini, Y., & Hochberg, Y. (1995). Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*, *57*(1), 289–300. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>
- Bento Bioworks Ltd. (2023, Mai 26). *Controls in PCR and PCR assays with Bento Lab*. Bento Lab. <https://bento.bio/resources/bento-lab-advice/controls-in-pcr-and-pcr-assays-with-bento-lab/>
- Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M.-C. C., Charles, T., Chen, X., Cocolin, L., Eversole, K., Corral, G. H., Kazou, M., Kinkel, L., Lange, L., Lima, N., Loy, A., Macklin, J. A., Maguin, E., Mauchline, T., McClure, R., ... Schloter, M. (2020). Microbiome definition re-visited: Old concepts and new challenges [Mikrobiom-Definition neu betrachtet: alte Konzepte und neue Herausforderungen]. *Microbiome*, *8*(1), 103. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>
- Biesbroek, G., Tsvitshivadze, E., Sanders, E. A. M., Montijn, R., Veenhoven, R. H., Keijser, B. J. F., & Bogaert, D. (2014). Early Respiratory Microbiota Composition Determines Bacterial Succession Patterns and Respiratory Health in Children. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *190*(11), 1283–1292. <https://doi.org/10.1164/rccm.201407-1240OC>
- BioRender. (2022). <https://app.biorender.com/illustrations/633eae1a59f148979ffac02b>

- Biswas, K., Hoggard, M., Jain, R., Taylor, M. W., & Douglas, R. G. (2015). The nasal microbiota in health and disease: Variation within and between subjects. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2015.00134>
- Biswas, K., Ramakrishnan, V. R., Hollemann, E., Lorenz, K., Mackenzie, B. W., Frank, D. N., Douglas, R. G., & Hummel, T. (unveröffentlicht). *Bacterial communities in the nasal passage of post-viral olfactory dysfunction patients*.
- Biswas, K., Ramakrishnan, V. R., Hollemann, E., Lorenz, K., Wagner Mackenzie, B., Frank, D. N., Douglas, R. G., & Hummel, T. (2023). Bacterial communities in the nasal passage of postviral olfactory dysfunction patients. *International Forum of Allergy & Rhinology*, 13(10), 1962–1965. <https://doi.org/10.1002/alr.23149>
- Biswas, K., Wagner Mackenzie, B., Ballauf, C., Draf, J., Douglas, R. G., & Hummel, T. (2020). Loss of bacterial diversity in the sinuses is associated with lower smell discrimination scores. *Scientific Reports*, 10(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73396-3>
- BLAST. (2023, Dezember 22). <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
- Bojanowski, V., & Hummel, T. (2012). Retronasal perception of odors. *Physiology & Behavior*, 107(4), 484–487. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.03.001>
- Bomar, L., Brugger, S. D., Yost, B. H., Davies, S. S., & Lemon, K. P. (2016). Corynebacterium accolens Releases Antipneumococcal Free Fatty Acids from Human Nostril and Skin Surface Triacylglycerols. *mBio*, 7(1), e01725-15. <https://doi.org/10.1128/mBio.01725-15>
- Bosch, A. A. T. M., Levin, E., van Houten, M. A., Hasrat, R., Kalkman, G., Biesbroek, G., de Steenhuijsen Pipers, W. A. A., de Groot, P.-K. C. M., Pernet, P., Keijser, B. J. F., Sanders, E. A. M., & Bogaert, D. (2016). Development of Upper Respiratory Tract Microbiota in Infancy is Affected by Mode of Delivery. *EBioMedicine*, 9, 336–345. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.05.031>
- Burdach, K. J., & Doty, R. L. (1987). The effects of mouth movements, swallowing, and spitting on retronasal odor perception. *Physiology & Behavior*, 41(4), 353–356. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(87\)90400-8](https://doi.org/10.1016/0031-9384(87)90400-8)
- BURGHART MESSTECHNIK. (2023). <https://www.burghart-mt.de/>
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Cameron, E. L. (2014). Pregnancy and olfaction: A review. *Frontiers in Psychology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.00067>
- Chao, A. (1984). Nonparametric Estimation of the Number of Classes in a Population. *Scandinavian Journal of Statistics*, 11(4), 265–270.
- Charlson, E. S., Chen, J., Custers-Allen, R., Bittinger, K., Li, H., Sinha, R., Hwang, J., Bushman, F. D., & Collman, R. G. (2010). Disordered microbial communities in the upper respiratory tract of cigarette smokers. *PloS One*, 5(12), e15216. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015216>
- Cohen, J. (1988). *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*. Routledge.
- Core R Team. (2021). *R: a language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.r-project.org/>
- Costello, E. K., Lauber, C. L., Hamady, M., Fierer, N., Gordon, J. I., & Knight, R. (2009). Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science (New York, N.Y.)*, 326(5960), 1694–1697. <https://doi.org/10.1126/science.1177486>
- Damm, M., Temmel, A., Welge-Lüssen, A., Eckel, H. E., Kreft, M.-P., Klusmann, J. P., Gudziol, H., Hüttenbrink, K.-B., & Hummel, T. (2004). [Olfactory dysfunctions. Epidemiology and therapy in Germany, Austria and Switzerland]. *HNO*, 52(2), 112–120. <https://doi.org/10.1007/s00106-003-0877-z>

- Davis, K. A., Stewart, J. J., Crouch, H. K., Florez, C. E., & Hospenthal, D. R. (2004). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Nares Colonization at Hospital Admission and Its Effect on Subsequent MRSA Infection. *Clinical Infectious Diseases*, 39(6), 776–782. <https://doi.org/10.1086/422997>
- de Steenhuijsen Piters, W. A. A., Sanders, E. A. M., & Bogaert, D. (2015). The role of the local microbial ecosystem in respiratory health and disease. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1675), 20140294. <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0294>
- DeepL. (2024). <https://www.deepl.com/translator>
- Desrosiers, M., & Pereira Valera, F. C. (2019). Brave New (Microbial) World: Implications for nasal and sinus disorders. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 85(6), 675–677. <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2019.09.001>
- Dikici, O., Muluk, N. B., Şahin, E., & Altintoprak, N. (2017). Effects of pregnancy on olfaction. *ENT Updates*, 7(2), Article 2.
- Doty, R. L. (2012). Olfaction in Parkinson's disease and related disorders. *Neurobiology of Disease*, 46(3), 527–552. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.10.026>
- Doty, R. L. (2019). Chapter 1—Epidemiology of smell and taste dysfunction. In R. L. Doty (Hrsg.), *Handbook of Clinical Neurology* (Bd. 164, S. 3–13). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63855-7.00001-0>
- Doty, R. L., & Kamath, V. (2014). The influences of age on olfaction: A review. *Frontiers in Psychology*, 5, 20. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.00020>
- Doty, R. L., & Mishra, A. (2001). Olfaction and its alteration by nasal obstruction, rhinitis, and rhinosinusitis. *The Laryngoscope*, 111(3), 409–423. <https://doi.org/10.1097/00005537-200103000-00008>
- Dunn, O. J. (1964). Multiple Comparisons Using Rank Sums. *Technometrics*, 6(3), 241–252. <https://doi.org/10.1080/00401706.1964.10490181>
- Ercoli, T., Masala, C., Pinna, I., Orofino, G., Solla, P., Rocchi, L., & Defazio, G. (2021). Qualitative smell/taste disorders as sequelae of acute COVID-19. *Neurological Sciences*, 42(12), 4921–4926. <https://doi.org/10.1007/s10072-021-05611-6>
- Eugenius Warming. (1896). In *Lehrbuch der ökologischen Pflanzengeographie* (S. 106–107). Gebrüder Borntraeger. <http://archive.org/details/lehrbuchderkolo00warmingoo>
- Ferrer, M., Méndez-García, C., Rojo, D., Barbas, C., & Moya, A. (2017). Antibiotic use and microbiome function. *Biochemical Pharmacology*, 134, 114–126. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.09.007>
- Fikentscher, R., Gudziol, H., & Roseburg, B. (1987). Einteilung und Begriffsbestimmung der Riech- und Schmeckstörungen. *Laryngologie, Rhinologie, Otologie und ihre Grenzgebiete*, 66(7), 355–357. <https://doi.org/10.1055/s-2007-998675>
- François, A., Grebert, D., Rhimi, M., Mariadassou, M., Naudon, L., Rabot, S., & Meunier, N. (2016). Olfactory epithelium changes in germfree mice. *Scientific Reports*, 6(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/srep24687>
- Frank, D. N., Feazel, L. M., Bessesen, M. T., Price, C. S., Janoff, E. N., & Pace, N. R. (2010). The human nasal microbiota and *Staphylococcus aureus* carriage. *PloS One*, 5(5), e10598. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010598>
- Frank, D. N., Qiu, Y., Cao, Y., Zhang, S., Lu, L., Kofonow, J. M., Robertson, C. E., Liu, Y., Wang, H., Levens, C. L., Kuhn, K. A., Song, J., Ramakrishnan, V. R., & Lu, S.-L. (2022). A Dysbiotic Microbiome Promotes Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Oncogene*, 41(9), 1269–1280. <https://doi.org/10.1038/s41388-021-02137-1>
- Frye, R. E. (1990). Dose-Related Effects of Cigarette Smoking on Olfactory Function. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 263(9), 1233.

<https://doi.org/10.1001/jama.1990.03440090067028>

*G*Power*, Universität Düsseldorf. (2024, April 11).

<https://www.psychologie.hhu.de/arbeitsgruppen/allgemeine-psychologie-und-arbeitspsychologie/gpower>

Grice, E. A., Kong, H. H., Conlan, S., Deming, C. B., Davis, J., Young, A. C., NISC Comparative Sequencing Program, Bouffard, G. G., Blakesley, R. W., Murray, P. R., Green, E. D., Turner, M. L., & Segre, J. A. (2009). Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. *Science (New York, N.Y.)*, 324(5931), 1190–1192. <https://doi.org/10.1126/science.1171700>

Haehner, A., Hummel, T., & Reichmann, H. (2011). Olfactory Loss in Parkinson's Disease. *Parkinson's Disease*, 2011, 450939. <https://doi.org/10.4061/2011/450939>

Haehner, A., Mayer, A.-M., Landis, B. N., Pournaras, I., Lill, K., Gudziol, V., & Hummel, T. (2009). High Test–Retest Reliability of the Extended Version of the “Sniffin’ Sticks” Test. *Chemical Senses*, 34(8), 705–711. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjp057>

Hamady, M., & Knight, R. (2009). Microbial community profiling for human microbiome projects: Tools, techniques, and challenges. *Genome Research*, 19(7), 1141–1152. <https://doi.org/10.1101/gr.085464.108>

Hartmann, J. E., Albrich, W. C., Dmitrijeva, M., & Kahlert, C. R. (2021). The Effects of Corticosteroids on the Respiratory Microbiome: A Systematic Review. *Frontiers in Medicine*, 8. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2021.588584>

Hartstra, A. V., Bouter, K. E. C., Bäckhed, F., & Nieuwdorp, M. (2015). Insights into the role of the microbiome in obesity and type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 38(1), 159–165. <https://doi.org/10.2337/dc14-0769>

Hernandez, A. K., Landis, B. N., Altundag, A., Fjaeldstad, A. W., Gane, S., Holbrook, E. H., Huart, C., Konstantinidis, I., Lechner, M., Macchi, A., Portillo Mazal, P., Miwa, T., Philpott, C. M., Pinto, J. M., Poletti, S. C., Vodicka, J., Welge-Luessen, A., Whitcroft, K. L., & Hummel, T. (2023). Olfactory Nomenclature: An Orchestrated Effort to Clarify Terms and Definitions of Dysosmia, Anosmia, Hyposmia, Normosmia, Hyperosmia, Olfactory Intolerance, Parosmia, and Phantosmia/Olfactory Hallucination. *ORL; Journal for Oto-Rhino-Laryngology and Its Related Specialties*, 85(6), 312–320. <https://doi.org/10.1159/000530211>

Ho, H.-E., & Bunyavanich, S. (2018). Role of the Microbiome in Food Allergy [Die Rolle des Mikrobioms bei Nahrungsmittelallergien]. *Current Allergy and Asthma Reports*, 18(4), 27. <https://doi.org/10.1007/s11882-018-0780-z>

Hofbauer, J., & Sigmund, K. (1998). In *Evolutionary Games and Population Dynamics* (S. 3). Cambridge University Press.

Hooper, L. V., Littman, D. R., & Macpherson, A. J. (2012). Interactions between the microbiota and the immune system. *Science (New York, N.Y.)*, 336(6086), 1268–1273. <https://doi.org/10.1126/science.1223490>

Hopkins, C., Surda, P., Vaira, L. A., Lechien, J. R., Safarian, M., Saussez, S., & Kumar, N. (2021). Six month follow-up of self-reported loss of smell during the COVID-19 pandemic. *Rhinology*, 59(1), 26–31. <https://doi.org/10.4193/Rhin20.544>

Hummel, T., Hähner, A., Power Guerra, N., Gunder, N., & Menzel, S. (2023). Riechen und Riechstörungen. *Laryngo-Rhino-Otologie*, 01/23(01/23), 76–92. <https://doi.org/10.1055/a-1957-3267>

Hummel, T., & Hüttenbrink, K.-B. (2005). Sinunasal bedingte Riechstörungen. *HNO*, 53(1), S26–S32. <https://doi.org/10.1007/s00106-005-1233-2>

Hummel, T., Kobal, G., Gudziol, H., & Mackay-Sim, A. (2007). Normative data for the “Sniffin’ Sticks” including tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds: An upgrade based on a group of more than 3,000 subjects. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 264(3), 237–243. <https://doi.org/10.1007/s00405-006-0173-0>

- Hummel, T., Landis, B. N., Frasnelli, J. A., Heilmann, S., & Hüttenbrink, K.-B. (2005). Riechstörungen. In *Funktionsstörungen und funktionelle Störungen* (S. 99–107). Springer. https://doi.org/10.1007/3-540-26779-4_6
- Hummel, T., Rothbauer, C., Barz, S., Grosser, K., Pauli, E., & Kobal, G. (1998). Olfactory function in acute rhinitis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 855, 616–624. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb10632.x>
- Hummel, T., Sekinger, B., Wolf, S. R., Pauli, E., & Kobal, G. (1997). „Sniffin“ sticks’: Olfactory performance assessed by the combined testing of odor identification, odor discrimination and olfactory threshold. *Chemical Senses*, 22(1), 39–52. <https://doi.org/10.1093/chemse/22.1.39>
- Hummel, T., & Welge-Lüssen, A. (Hrsg.). (2009a). *Riech- und Schmeckstörungen: Physiologie, Pathophysiologie und therapeutische Ansätze ; 14 Tabellen*. Thieme.
- Hummel, T., & Welge-Lüssen, A. (Hrsg.). (2009b). Riechstörungen postinfektiöser, post-traumatischer, medikamentöser, toxischer, postoperativer und anderer Ätiologien. Medikamentöse Riechstörungen. In *Riech- und Schmeckstörungen* (1. Auflage, S. 77–93). Georg Thieme Verlag. <https://doi.org/10.1055/b-002-33686>
- Hummel, T., & Welge-Lüssen, A. (Hrsg.). (2009c). Riechstörungen postinfektiöser, posttraumatischer, medikamentöser, toxischer, postoperativer und anderer Ätiologien. Posinfektiöse Riechstörungen. In *Riech- und Schmeckstörungen* (1. Auflage, S. 77–93). Georg Thieme Verlag. <https://doi.org/10.1055/b-002-33686>
- Hummel, T., & Welge-Lüssen, A. (Hrsg.). (2009d). Schmeckstörungen. In *Riech- und Schmeckstörungen* (1. Aufl., S. 95–106). Thieme. <https://doi.org/10.1055/b-002-33686>
- Hummel, T., & Welge-Lüssen, A. (Hrsg.). (2009e). Strukturelle und funktionelle Grundlage des Riechens. Zentrale: Verschlungene Pfade der Riechbahn. In *Riech- und Schmeckstörungen* (S. 11–23). Thieme. <https://doi.org/10.1055/b-002-33686>
- Hummel, T., & Welge-Lüssen, A. (Hrsg.). (2019). Sinunasale Dysosmien. In *Riech- und Schmeckstörungen* (S. 61–76). Thieme. <https://doi.org/10.1055/b-002-33686>
- Hummel, T., Whitcroft, K. L., Andrews, P., Altundag, A., Cinghi, C., Costanzo, R. M., Damm, M., Frasnelli, J., Gudziol, H., Gupta, N., Haehner, A., Holbrook, E., Hong, S. C., Hornung, D., Hüttenbrink, K. B., Kamel, R., Kobayashi, M., Konstantinidis, I., Landis, B. N., ... Welge-Luessen, A. (2017). Position Paper on Olfactory Dysfunction. *Rhinology. Supplement*, 54(26), Article 26. <https://doi.org/10.4193/Rhino16.248>
- Huttenhower, C., Gevers, D., Knight, R., Abubucker, S., Badger, J. H., Chinwalla, A. T., Creasy, H. H., Earl, A. M., FitzGerald, M. G., Fulton, R. S., Giglio, M. G., Hallsworth-Pepin, K., Lobos, E. A., Madupu, R., Magrini, V., Martin, J. C., Mitreva, M., Muzny, D. M., Sodergren, E. J., ... The Human Microbiome Project Consortium. (2012). Structure, function and diversity of the healthy human microbiome—The Human Microbiome Project Consortium. *Nature*, 486(7402), Article 7402. <https://doi.org/10.1038/nature11234>
- Illumina®. (2024). *MiSeq™ System*. <https://emea.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/cluster-gen-sequencing-reagents/miseq-reagent-kit-v3.html>
- Illumina, Inc. (2024). *Next-generation Sequencing (NGS) | Explore the technology*. <https://emea.illumina.com/science/technology/next-generation-sequencing.html>
- Invitrogen™. (2008). *SequalPrep™ Normalization Plate (96) Kit Manual*. <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/de/de/A1051001>
- Isenmann, S., Haehner, A., & Hummel, T. (2021). Störungen der Chemosensorik bei Covid-19: Pathomechanismen und klinische Relevanz. *Fortschritte der Neurologie · Psychiatrie*, 89(06), 281–288. <https://doi.org/10.1055/a-1375-0761>
- Jakobsson, H. E., Jernberg, C., Andersson, A. F., Sjölund-Karlsson, M., Jansson, J. K., & Engstrand, L. (2010). Short-Term Antibiotic Treatment Has Differing Long-Term Impacts on the Human Throat and Gut Microbiome. *PLOS ONE*, 5(3), e9836. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009836>

- Karl Storz Arthroskopschäfte*. (2023, Oktober 21). KARL STORZ Arthroskopschäfte für eine schnellere und stabile Optik-Schaft-Verbindung. <https://www.karlstorz.com/de/de/product-detail-page.htm?productID=1000058651&cat=1000107622>
- Keller, A., Vosshall, L. B., Magnasco, M. O., & Bushdid, C. (2014). Humans Can Discriminate More than 1 Trillion Olfactory Stimuli. *Science*, *343*(6177), 1370–1372. <https://doi.org/10.1126/science.1249168>
- Kers, J. G., & Saccenti, E. (2022). The Power of Microbiome Studies: Some Considerations on Which Alpha and Beta Metrics to Use and How to Report Results. *Frontiers in Microbiology*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.796025>
- Kluytmans, J., van Belkum, A., & Verbrugh, H. (1997). Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clinical Microbiology Reviews*, *10*(3), 505–520.
- Kluytmans, J., & Wertheim, H. (2005). Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Prevention of Nosocomial Infections. *Infection*, *33*(1), 3–8. <https://doi.org/10.1007/s15010-005-4012-9>
- Kobal, G., Hummel, T., Seckinger, B., Barz, S., Roscher, S., & Wolf, S. (1996). „Sniffin’ sticks“: Screening of olfactory performance. *Rhinology*, *34*(4), 222–226.
- Kölble, N., Hummel, T., von Mering, R., Huch, A., & Huch, R. (2001). Gustatory and olfactory function in the first trimester of pregnancy. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, *99*(2), 179–183. [https://doi.org/10.1016/s0301-2115\(01\)00408-0](https://doi.org/10.1016/s0301-2115(01)00408-0)
- Koskinen, K., Reichert, J. L., Hoier, S., Schachenreiter, J., Duller, S., Moissl-Eichinger, C., & Schöpf, V. (2018). The nasal microbiome mirrors and potentially shapes olfactory function. *Scientific Reports*, *8*(1), 1296. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19438-3>
- Lechien, J. R., Chiesa-Estomba, C. M., De Siati, D. R., Horoi, M., Le Bon, S. D., Rodriguez, A., Dequanter, D., Blecic, S., El Afia, F., Distinguin, L., Chekkoury-Idrissi, Y., Hans, S., Delgado, I. L., Calvo-Henriquez, C., Lavigne, P., Falanga, C., Barillari, M. R., Cammaroto, G., Khalife, M., ... Saussez, S. (2020). Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): A multicenter European study. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology: Official Journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS): Affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*, *277*(8), 2251–2261. <https://doi.org/10.1007/s00405-020-05965-1>
- Lederberg, J., & McCray, A. T. (2001). ‘Ome Sweet’ Omics—A Genealogical Treasury of Words [*‘Ome Sweet’ Omics—Ein genealogischer Wortschatz*]. *15*(7), 8–8.
- Lemon, K. P., Klepac-Ceraj, V., Schiffer, H. K., Brodie, E. L., Lynch, S. V., & Kolter, R. (2010). Comparative Analyses of the Bacterial Microbiota of the Human Nostril and Oropharynx. *mBio*, *1*(3), e00129-10. <https://doi.org/10.1128/mBio.00129-10>
- Lemos, L. N., Fulthorpe, R. R., Triplett, E. W., & Roesch, L. F. W. (2011). Rethinking microbial diversity analysis in the high throughput sequencing era. *Journal of Microbiological Methods*, *86*(1), 42–51. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2011.03.014>
- Lenarz, T., & Boenninghaus, H.-G. (2012a). *Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-21131-7>
- Lenarz, T., & Boenninghaus, H.-G. (2012b). Untersuchungsmethoden. In T. Lenarz & H.-G. Boenninghaus (Hrsg.), *Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde* (S. 131–142). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-21131-7_8
- Ley, R. E., Peterson, D. A., & Gordon, J. I. (2006). Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell*, *124*(4), 837–848. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.017>
- Lim, T.-S., & Loh, W.-Y. (1996). A comparison of tests of equality of variances. *Computational Statistics & Data Analysis*, *22*(3), 287–301. [https://doi.org/10.1016/0167-9473\(95\)00054-2](https://doi.org/10.1016/0167-9473(95)00054-2)

- Liu, Y.-X., Qin, Y., Chen, T., Lu, M., Qian, X., Guo, X., & Bai, Y. (2021). A practical guide to amplicon and metagenomic analysis of microbiome data. *Protein & Cell*, *12*(5), 315–330. <https://doi.org/10.1007/s13238-020-00724-8>
- Loman, N. J., & Pallen, M. J. (2015). Twenty years of bacterial genome sequencing. *Nature Reviews Microbiology*, *13*(12), Article 12. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3565>
- MagNA Lyser. (2023). © 2023 F. Hoffmann-La Roche Ltd. <https://lifescience.roche.com/global/en/products/others/magna-lyser-green-beads-387121.html>
- Man, W. H., de Steenhuijsen Piters, W. A. A., & Bogaert, D. (2017). The microbiota of the respiratory tract: Gatekeeper to respiratory health. *Nature Reviews Microbiology*, *15*(5), Article 5. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.14>
- Marchesi, J. R., & Ravel, J. (2015). The vocabulary of microbiome research: A proposal. *Microbiome*, *3*(1), 31. <https://doi.org/10.1186/s40168-015-0094-5>
- Marin, C., Vilas, D., Langdon, C., Alobid, I., López-Chacón, M., Haehner, A., Hummel, T., & Mullol, J. (2018). Olfactory Dysfunction in Neurodegenerative Diseases. *Current Allergy and Asthma Reports*, *18*(8), 42. <https://doi.org/10.1007/s11882-018-0796-4>
- McKight, P. E., & Najab, J. (2010). Kruskal-Wallis Test. In *The Corsini Encyclopedia of Psychology* (S. 1–1). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470479216.corpsy0491>
- McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2012). Phyloseq: A bioconductor package for handling and analysis of high-throughput phylogenetic sequence data. *Pacific Symposium on Biocomputing. Pacific Symposium on Biocomputing*, 235–246.
- Mellert, T. K., Getchell, M. L., Sparks, L., & Getchell, T. V. (1992). Characterization of the immune barrier in human olfactory mucosa. *Otolaryngology--Head and Neck Surgery: Official Journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, *106*(2), 181–188.
- Menberu, M. A., Liu, S., Cooksley, C., Hayes, A. J., Psaltis, A. J., Wormald, P.-J., & Vreugde, S. (2021). *Corynebacterium accolens* Has Antimicrobial Activity against *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S. aureus* Pathogens Isolated from the Sinonasal Niche of Chronic Rhinosinusitis Patients. *Pathogens*, *10*(2), 207. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020207>
- Moein, S. T., Hashemian, S. M., Mansourafshar, B., Khorram-Tousi, A., Tabarsi, P., & Doty, R. L. (2020). Smell dysfunction: A biomarker for COVID-19. *International Forum of Allergy & Rhinology*, *10*(8), 944–950. <https://doi.org/10.1002/alr.22587>
- Mueller, A., Rodewald, A., Reden, J., Gerber, J., von Kummer, R., & Hummel, T. (2005). Reduced olfactory bulb volume in post-traumatic and post-infectious olfactory dysfunction. *Neuroreport*, *16*(5), 475–478. <https://doi.org/10.1097/00001756-200504040-00011>
- Mullis, K. B., & Faloona, F. A. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. In *Methods in Enzymology* (Bd. 155, S. 335–350). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)55023-6](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)55023-6)
- Murphy, C., Schubert, C. R., Cruickshanks, K. J., Klein, B. E. K., Klein, R., & Nondahl, D. M. (2002). Prevalence of Olfactory Impairment in Older Adults. *JAMA*, *288*(18), 2307–2312. <https://doi.org/10.1001/jama.288.18.2307>
- NCBI. (2023, Dezember 22). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- NIH Human Microbiome Project. (2023, Mai 7). <https://hmpdacc.org/ihmp/overview/>
- NNIS System. (2003). National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2003, issued August 2003. *American Journal of Infection Control*, *31*(8), 481–498. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2003.09.002>
- Oleszkiewicz, A., Schriever, V. A., Croy, I., Hähner, A., & Hummel, T. (2019). Updated Sniffin' Sticks normative data based on an extended sample of 9139 subjects. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, *276*(3), 719–728. <https://doi.org/10.1007/s00405-018-5248-1>

- Pellegrino, R., Mainland, J. D., Kelly, C. E., Parker, J. K., & Hummel, T. (2021). Prevalence and correlates of parosmia and phantosmia among smell disorders. *Chemical Senses*, *46*, bjab046. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjab046>
- Proctor, D. M., & Relman, D. A. (2017). The Landscape Ecology and Microbiota of the Human Nose, Mouth, and Throat. *Cell Host & Microbe*, *21*(4), 421–432. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.03.011>
- QIAamp®. (2013). QIAamp® PowerFecal Pro DNA Kit, © QIAGEN. <https://www.qiagen.com/us/products/discovery-and-translational-research/dna-rna-purification/dna-purification/genomic-dna/qiaamp-powerfecal-pro-dna-kit>
- QIAGEN®. (2024). *What negative controls are typically included in qPCR and/or qRT-PCR experiments?* <https://www.qiagen.com/us/resources/faq?id=527bfcc9-9bc3-4990-b439-61df2f2b06be&lang=en>
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., & Glöckner, F. O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, *41*(Database issue), D590–D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
- Rahayel, S., Frasnelli, J., & Joubert, S. (2012). The effect of Alzheimer’s disease and Parkinson’s disease on olfaction: A meta-analysis. *Behavioural Brain Research*, *231*(1), 60–74. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.02.047>
- Rasmussen, T. T., Kirkeby, L. P., Poulsen, K., Reinholdt, J., & Kilian, M. (2000). Resident aerobic microbiota of the adult human nasal cavity. *APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica*, *108*(10), 663–675. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0463.2000.d01-13.x>
- Ravi, R. K., Walton, K., & Khosroheidari, M. (2018). MiSeq: A Next Generation Sequencing Platform for Genomic Analysis. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, *1706*, 223–232. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7471-9_12
- RKI. (2021, April 6). *SARS-CoV-2-Nowcasting und -R-Schätzung*. https://github.com/robert-koch-institut/SARS-CoV-2-Nowcasting_und_-R-Schaetzung/blob/1626a50271d6a013c8cd1d36ab573332b9ed9cb7/Nowcast_R_aktuell.csv (Original work published 2021)
- RNAlater™ Stabilisierungslösung*. (2022). <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/AM7021>
- Ronge, R. (2011). Endoskopische Sinuschirurgie—Kombination mit Septumplastik bringt keine Vorteile. *Laryngoscope*, *91*(07), 420–421. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1320089>
- Rumeau, C., Nguyen, D. T., & Jankowski, R. (2016). How to assess olfactory performance with the Sniffin’ Sticks test®. *European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck Diseases*, *133*(3), 203–206. <https://doi.org/10.1016/j.anorl.2015.08.004>
- Sagan, D., & Margulis, L. (1993). *Garden of microbial delights: A practical guide to the subvisible world*.
- Sarkar, S., Routhray, S., Ramadass, B., & Parida, P. K. (2022). A Review on the Nasal Microbiome and Various Disease Conditions for Newer Approaches to Treatments. *Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*. <https://doi.org/10.1007/s12070-022-03205-y>
- Sawilowsky, S. (2009). New Effect Size Rules of Thumb. *Journal of Modern Applied Statistical Methods*, *8*(2). <https://doi.org/10.22237/jmasm/1257035100>
- Schenck, L. P., Surette, M. G., & Bowdish, D. M. E. (2016). Composition and immunological significance of the upper respiratory tract microbiota. *FEBS Letters*, *590*(21), 3705–3720. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12455>
- Schmidt, R. F., Lang, F., Heckmann, M., & Hatt, H. (2010). Geschmack und Geruch. In *Physiologie des Menschen* (S. 393–400). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-01651-6_19
- Schober, P., Boer, C., & Schwarte, L. A. (2018). Correlation Coefficients: Appropriate Use and

- Interpretation. *Anesthesia & Analgesia*, 126(5), 1763–1768.
<https://doi.org/10.1213/ANE.0000000000002864>
- Scholz, C. F. P., & Kilian, M. (2016). The natural history of cutaneous propionibacteria, and reclassification of selected species within the genus *Propionibacterium* to the proposed novel genera *Acidipropionibacterium* gen. Nov., *Cutibacterium* gen. Nov. And *Pseudopropionibacterium* gen. Nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Volume 66, Issue 11.
<https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001367>
- Schubert, C. R., Cruickshanks, K. J., Klein, B. E. K., Klein, R., & Nondahl, D. M. (2011). Olfactory impairment in older adults: Five-year incidence and risk factors. *The Laryngoscope*, 121(4), 873–878.
<https://doi.org/10.1002/lary.21416>
- Schünke, M., Schulte, E., Schumacher, U., Voll, M., Wesker, K., & Schünke, M. (2022). *Kopf, Hals und Neuroanatomie* (6., vollständig überarbeitete Auflage). Georg Thieme Verlag.
<https://doi.org/10.1055/000000615>
- Shade, A., & Handelsman, J. (2012). Beyond the Venn diagram: The hunt for a core microbiome. *Environmental Microbiology*, 14(1), 4–12. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02585.x>
- Shendure, J., & Ji, H. (2008). Next-generation DNA sequencing. *Nature Biotechnology*, 26(10), Article 10. <https://doi.org/10.1038/nbt1486>
- Shi, Y., Zhang, L., Do, K.-A., Peterson, C. B., & Jenq, R. R. (2020). aPCoA: Covariate adjusted principal coordinates analysis. *Bioinformatics*, 36(13), 4099–4101.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa276>
- Simbolo, M., Gottardi, M., Corbo, V., Fassan, M., Mafficini, A., Malpeli, G., Lawlor, R. T., & Scarpa, A. (2013). DNA Qualification Workflow for Next Generation Sequencing of Histopathological Samples. *PLOS ONE*, 8(6), e62692. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062692>
- Siu, J., Mackenzie, B. W., Klingler, L., Biswas, K., Wang, Y., Hung, C.-T., Jeong, S. H., Barnett, D., Tingle, M. D., & Douglas, R. G. (2021). Sinonasal and gastrointestinal bacterial composition and abundance are stable after 1 week of once-daily oral antibiotic treatment for chronic rhinosinusitis. *International Forum of Allergy & Rhinology*, 11(9), 1355–1366. <https://doi.org/10.1002/alr.22799>
- Smeets, M. A. M., Veldhuizen, M. G., Galle, S., Gouweloos, J., de Haan, A.-M. J. A., Vernooij, J., Visscher, F., & Kroeze, J. H. A. (2009). Sense of smell disorder and health-related quality of life. *Rehabilitation Psychology*, 54(4), 404–412. <https://doi.org/10.1037/a0017502>
- Sugiura, T. A., Junko Mori, Yoshiaki Nakai, Midori. (1998). An Epidemiological Study of Postviral Olfactory Disorder. *Acta Oto-Laryngologica*, 118(544), 191–196.
<https://doi.org/10.1080/00016489850182918>
- Tai, J., Han, M. S., Kwak, J., & Kim, T. H. (2021). Association between Microbiota and Nasal Mucosal Diseases in terms of Immunity. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4744.
<https://doi.org/10.3390/ijms22094744>
- Tan, B. K. J., Han, R., Zhao, J. J., Tan, N. K. W., Quah, E. S. H., Tan, C. J.-W., Chan, Y. H., Teo, N. W. Y., Charn, T. C., See, A., Xu, S., Chapurin, N., Chandra, R. K., Chowdhury, N., Butowt, R., Bartheld, C. S. von, Kumar, B. N., Hopkins, C., & Toh, S. T. (2022). Prognosis and persistence of smell and taste dysfunction in patients with covid-19: Meta-analysis with parametric cure modelling of recovery curves. *BMJ*, 378, e069503. <https://doi.org/10.1136/bmj-2021-069503>
- Thangaleela, S., Sivamaruthi, B. S., Kesika, P., Bharathi, M., & Chaiyasut, C. (2022). Nasal Microbiota, Olfactory Health, Neurological Disorders and Aging-A Review. *Microorganisms*, 10(7), 1405. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071405>
- Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Hamady, M., Fraser-Liggett, C. M., Knight, R., & Gordon, J. I. (2007). The Human Microbiome Project. *Nature*, 449(7164), Article 7164.
<https://doi.org/10.1038/nature06244>
- Uhr, G. T., Dohnalová, L., & Thaiss, C. A. (2019). The Dimension of Time in Host-Microbiome Interactions. *mSystems*, 4(1), e00216-18. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00216-18>

- Vennemann, M. M., Hummel, T., & Berger, K. (2008). The association between smoking and smell and taste impairment in the general population. *Journal of Neurology*, 255(8), 1121–1126. <https://doi.org/10.1007/s00415-008-0807-9>
- Větrovský, T., & Baldrian, P. (2013). The Variability of the 16S rRNA Gene in Bacterial Genomes and Its Consequences for Bacterial Community Analyses. *PLoS ONE*, 8(2), e57923. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057923>
- Vickery, T. W., Armstrong, M., Kofonow, J. M., Robertson, C. E., Kroehl, M. E., Reisdorph, N. A., Ramakrishnan, V. R., & Frank, D. N. (2021). Altered Tissue Specialized Pro-Resolving Mediators in Chronic Rhinosinusitis. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids*, 164, 102218. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2020.102218>
- Villanueva, R. A. M., & Chen, Z. J. (2019). ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis (2nd ed.). *Measurement: Interdisciplinary Research and Perspectives*, 17(3), 160–167. <https://doi.org/10.1080/15366367.2019.1565254>
- Welge-Luessen, A., & Hummel, T. (2014). Functional Anatomy of the Olfactory System II: Central Relays, Pathways, and their Function. In *Management of Smell and Taste Disorders* (2014. Aufl.). Thieme Verlag. <https://doi.org/10.1055/b-0034-91130>
- Wertheim, H. F. L., Vos, M. C., Ott, A., van Belkum, A., Voss, A., Kluytmans, J. A. J. W., van Keulen, P. H. J., Vandenbroucke-Grauls, C. M. J. E., Meester, M. H. M., & Verbrugh, H. A. (2004). Risk and outcome of nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteraemia in nasal carriers versus non-carriers. *Lancet (London, England)*, 364(9435), 703–705. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16897-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16897-9)
- Whelan, F. J., Verschoor, C. P., Stearns, J. C., Rossi, L., Luinstra, K., Loeb, M., Smieja, M., Johnstone, J., Surette, M. G., & Bowdish, D. M. E. (2014). The Loss of Topography in the Microbial Communities of the Upper Respiratory Tract in the Elderly. *Annals of the American Thoracic Society*, 11(4), 513–521. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201310-351OC>
- Whipps, J. M., Lewis, K., & Cooke, R. C. (1988). In M. Burge (Hrsg.), *Mycoparasitism and plant disease control [Mykoparasitismus und die Bekämpfung der Krankheiten von Pflanzen]* (S. 161-187.). Manchester University Press.
- Willis, A. D. (2019). Rarefaction, Alpha Diversity, and Statistics. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2407. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02407>
- Wilson, M. (2004). *Microbial Inhabitants of Humans: Their Ecology and Role in Health and Disease* (1. Aufl.). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511735080>
- Witt, M. (2019). Anatomy and development of the human taste system, Chapter 10. In R. L. Doty (Hrsg.), *Handbook of Clinical Neurology* (Bd. 164, S. 147–171). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63855-7.00010-1>
- WMA Declaration of Helsinki. (2022, Oktober 6). WMA World Medical Association Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. <https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki-ethical-principles-for-medical-research-involving-human-subjects/>
- Wuister, A. M. H., Goto, N. A., Oostveen, E. J., de Jong, W. U., van der Valk, E. S., Kaper, N. M., Aarts, M. C. J., Grolman, W., & van der Heijden, G. J. M. G. (2014). Nasal Endoscopy Is Recommended for Diagnosing Adults with Chronic Rhinosinusitis. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*, 150(3), 359–364. <https://doi.org/10.1177/0194599813514510>
- Yachi, S., & Loreau, M. (1999). Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: The insurance hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(4), 1463–1468. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.4.1463>
- Yamagishi, M., Fujiwara, M., & Nakamura, H. (1994). Olfactory mucosal findings and clinical course in patients with olfactory disorders following upper respiratory viral infection. *Rhinology*, 32(3), 113–118.

- Yan, M., Pamp, S. J., Fukuyama, J., Hwang, P. H., Cho, D.-Y., Holmes, S., & Relman, D. A. (2013). Nasal Microenvironments and Interspecific Interactions Influence Nasal Microbiota Complexity and *S. aureus* Carriage. *Cell Host & Microbe*, *14*(6), 631–640. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.11.005>
- Yazla, S., Özmen, S., Kızılcı, S., Yıldız, D., Haksever, M., & Gencay, S. (2018). Evaluation of olfaction and taste function in type 2 diabetic patients with and without peripheral neuropathy. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, *34*(3). <https://doi.org/10.1002/dmrr.2973>
- Zeeuwen, P. L. J. M., Kleerebezem, M., Timmerman, H. M., & Schalkwijk, J. (2013). Microbiome and skin diseases. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, *13*(5), 514–520. <https://doi.org/10.1097/ACI.0b013e328364ebeb>
- Zhou, Y., Gao, H., Mihindukulasuriya, K. A., La Rosa, P. S., Wylie, K. M., Vishnivetskaya, T., Podar, M., Warner, B., Tarr, P. I., Nelson, D. E., Fortenberry, J. D., Holland, M. J., Burr, S. E., Shannon, W. D., Sodergren, E., & Weinstock, G. M. (2013). Biogeography of the ecosystems of the healthy human body. *Genome Biology*, *14*(1), R1. <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-1-r1>

10 Veröffentlichung und Vortrag im Rahmen dieser Arbeit

Publikation

Biswas, K., Ramakrishnan, V. R., Hollemann, E., Lorenz, K., Wagner Mackenzie, B., Frank, D. N., Douglas, R. G., & Hummel, T. (2023). Bacterial communities in the nasal passage of postviral olfactory dysfunction patients. *International Forum of Allergy & Rhinology*, 13(10), 1962–1965. <https://doi.org/10.1002/alr.23149>

Vortrag

Konferenz “*The Odofant 2 conference - international lab meeting on smell and taste*”,
Oktober 2024

Riechverlust: gleichbleibend // wird schlechter // wird besser

Parosmie: Ein bestimmter Geruch riecht anders, als ich es von früher kenne. (Bsp: Kaffee jetzt wie Fensterreiniger.) was: seit wann:

täglich: ja / nein

Intensität auf Skala 1-10:

Phantosmie: Ich nehme Gerüche wahr, obwohl die Quelle nicht vorhanden ist. (Bsp: im Badezimmer rieche ich Brot.) was: seit wann:

täglich: ja / nein

Intensität auf Skala 1-10:

Ich empfinde einen Seitenunterschied im **Riechvermögen** (je ein Nasenloch zuhalten, einatmen):

besser kann ich rechts / links riechen

Ich empfinde einen Seitenunterschied in der **Nasenatmung** (je ein Nasenloch zuhalten, einatmen):

besser kann ich rechts / links Luft bekommen

Auf einer Skala von 0 (niedrigster Wert) bis 10 (höchster Wert) empfinde ich Heute ...

·mein subjektives Riechvermögen: (0= nichts bis 10= perfekt) _____

·mein subjektives Schmeckvermögen (süß, sauer, salzig, bitter) _____

·meinen subjektiven Feingeschmack (zB. verschiedene Kaffeesorten erkennen können) ____

·meine subjektive Nasenatmung (0 komplett verstopft, 10 hervorragende Nasenatmung) _____

Nochmal in Worten: Meine Nasendurchgängigkeit ist heute: nicht vorhanden/ schlecht/ mittel/ gut/ sehr gut (oder als Zahl von 1 kleinster Wert bis 5 maximaler Wert):

Rechte Seite: _____ Linke Seite: _____

Ich finde, meine Lebensqualität wird durch meine Symptome: garnicht/ kaum/ mäßig/ mittel/ stark/ extrem stark (1-6) beeinträchtigt: _____

Gewichtsverlust / Zunahme (kg) in den letzten 3 Monaten

Nasenbefund, von ärztlicher Seite auszufüllen:

Septumdeviation nach	R/	L;	Riechspalte einsehbar	R/	L					
Polypen	R	0 / I / II / III;	Polypen	L	0 / I / II / III					
S=	_____	D=	_____	I=	_____	SDI=	_____	/	SI=	_____
Schmecksprays	_____	/4	Retronasal	_____	/3					

11.2 Schwellentestung: Beispielhaftes Ergebnis

Abbildung 17 Beispiel der Schwellentestung eines Normosmikers mit dem Ergebnis $S=7,75$ (Durchschnitt aus den letzten vier grau markierten Feldern), wobei 1 die stärkste und 16 die schwächste Konzentration darstellt. „xx“ bei doppelt richtig erkanntem Duftstift, „-“ bei Falscherkennung.

Konzentration	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7			xx		xx		xx
8	xx		-	xx	-	-	
9	-	x-		-			
10	-						
11	-						
12	-						
13	-						
14	-						
15	-						
16	-						

11.3 Diskriminationstestung: Düfte

Abbildung 18 Duftstoffe der Diskriminationstestung.

Duftstoff	<i>Sniffin` Stick</i> Paar, identisch	Abweichender <i>Sniffin` Stick</i>
1	Octylacetat	Zimtaldehyd
2	n-Butanol	2-Phenylethanol
3	Isoamylacetat	Anethol
4	Anethol	Eugenol
5	Geraniol	Octylacetat
6	2-Phenylethanol	Isoamylacetat
7	(+) Limonen	(+) Fenchon
8	(-) Carvon	(+) Carvon
9	(-) Limonen	Citronellal
10	2-Phenylethanol	(+) Menthol
11	(+) Carvon	Geraniol
12	n-Butanol	(-) Fenchon
13	Citronellal	Linalool
14	Pyridin	(-) Limonen
15	Eugenol	Zimtaldehyd
16	Eucalypton	α -Ionon

11.4 Identifikationstestung: Auswahlmöglichkeiten

Abbildung 19 Auswahl der für die Identifikationstestung verwendeten Duftstoffe.

Reihenfolge	Duftstoff	Alternative Antwortmöglichkeiten		
1	Orange	Brombeere	Erdbeere	Ananas
2	Schuhleder	Rauch	Klebstoff	Gras
3	Zimt	Honig	Vanille	Schokolade
4	Pfefferminze	Schnittlauch	Zwiebel	Fichte
5	Banane	Kokos	Kirsche	Walnuss
6	Zitrone	Pfirsich	Apfel	Grapefruit
7	Lakritz	Gummibärchen	Kaugummi	Kekse
8	Terpentin	Gummi	Menthol	Senf
9	Knoblauch	Zwiebel	Sauerkraut	Möhren
10	Kaffee	Zigarette	Wein	Kerzenrauch
11	Apfel	Melone	Pfirsich	Orange
12	Gewürznelke	Senf	Pfeffer	Zimt
13	Ananas	Birne	Pflaume	Pfirsich
14	Rose	Kamille	Himbeere	Kirsche
15	Anis	Rum	Honig	Fichte
16	Fisch	Brot	Käse	Schinken

11.5 Schmecktestung

Reihenfolge	Alternative Antwortmöglichkeiten				
Pulver					
1) Zimt	Kakao	Muskat	Kakao	Kaffee	Haselnuss
2) Banane	Apfel	Kirsche	Orange	Himbeere	Brombeere
3) Knoblauch	Nelke	Paprika	Curry	Pfeffer	Senf

Abbildung 20 Testung des retronasalen Riechens, Auswahl der jeweils möglichen Antworten.

11.6 Gruppenstatistik

T-Test

[DataSet1]

Group Statistics					
	ctr0_vir1_crs2	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
age	,00	20	49,50	19,896	4,449
	1,00	20	45,55	16,754	3,746
subjective smelling dysfunction	,00	20	,00	,000 ^a	,000
	1,00	20	1,00	,000 ^a	,000
subjective taste dysfunction	,00	20	,00	,000	,000
	1,00	20	,65	,489	,109
subjective flavor dysfunction	,00	20	,00	,000	,000
	1,00	20	,85	,366	,082
rated olf function 0low 10high	,00	20	8,800	,8335	,1864
	1,00	20	3,375	2,1081	,4714
rated gustatory function 0-10	,00	20	9,250	,9665	,2161
	1,00	20	4,825	2,6421	,5908
rated retronasal function 0-10	,00	20	8,60	,821	,184
	1,00	20	3,25	3,041	,680
rated nasal patency 0-10	,00	20	8,55	1,504	,336
	1,00	20	7,70	2,029	,454
nasal patency left 1-5	,00	20	4,40	,681	,152
	1,00	20	3,55	,887	,198
subj impairment QoL 0no impact 6high impact	,00	20	,075	,3354	,0750
	1,00	20	4,525	1,4643	,3274
rated lateralized best olf function R1 L2 0 no side differences	,00	20	,55	,887	,198
	1,00	20	,85	,813	,182
odor threshold	,00	20	7,5000	2,38416	,53311
	1,00	20	2,3750	2,25146	,50344
odor discrimination	,00	20	14,00	1,717	,384
	1,00	20	9,35	2,084	,466
odor identification	,00	20	13,85	1,843	,412
	1,00	20	8,55	2,837	,634
TDI score	,00	20	35,4500	3,03011	,67755
	1,00	20	20,2750	4,60613	1,02996
retronasal screening (0-3)	,00	20	2,95	,224	,050
	1,00	20	1,80	,768	,172
taste sprays (0-4)	,00	20	4,00	,000	,000
	1,00	20	3,90	,308	,069

a. t cannot be computed because the standard deviations of both groups are 0.

11.7 Test für unabhängige Stichproben

		Levene's Test for Equality of Variances				t-test for Equality of Means				95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Significance		Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
						One-Sided p	Two-Sided p				
age	Equal variances assumed	,995	,325	,679	38	,251	,501	3,950	5,816	-7,824	15,724
	Equal variances not assumed			,679	36,930	,251	,501	3,950	5,816	-7,835	15,735
subjective taste dysfunction	Equal variances assumed	192,111	<,001	-5,940	38	<,001	<,001	-,650	,109	-,872	-,428
	Equal variances not assumed			-5,940	19,000	<,001	<,001	-,650	,109	-,879	-,421
subjective flavor dysfunction	Equal variances assumed	19,776	<,001	-10,376	38	<,001	<,001	-,850	,082	-1,016	-,684
	Equal variances not assumed			-10,376	19,000	<,001	<,001	-,850	,082	-1,021	-,679
rated off function 0low 10high	Equal variances assumed	12,384	,001	10,702	38	<,001	<,001	5,4250	,5069	4,3988	6,4512
	Equal variances not assumed			10,702	24,799	<,001	<,001	5,4250	,5069	4,3806	6,4694
rated gustatory function 0-10	Equal variances assumed	24,020	<,001	7,034	38	<,001	<,001	4,4250	,6291	3,1515	5,6985
	Equal variances not assumed			7,034	23,996	<,001	<,001	4,4250	,6291	3,1266	5,7234
rated retronasal function 0-10	Equal variances assumed	41,592	<,001	7,595	38	<,001	<,001	5,350	,704	3,924	6,776
	Equal variances not assumed			7,595	21,753	<,001	<,001	5,350	,704	3,888	6,812
rated nasal patency 0-10	Equal variances assumed	1,117	,297	1,505	38	,070	,140	,850	,565	-,293	1,993
	Equal variances not assumed			1,505	35,034	,071	,141	,850	,565	-,296	1,996
nasal patency left 1-5	Equal variances assumed	,498	,485	3,400	38	<,001	,002	,850	,250	,344	1,356
	Equal variances not assumed			3,400	35,612	<,001	,002	,850	,250	,343	1,357
subj impairment QoL Ono impact 6high impact	Equal variances assumed	70,654	<,001	-13,248	38	<,001	<,001	-4,4500	,3359	-5,1300	-3,7700
	Equal variances not assumed			-13,248	20,988	<,001	<,001	-4,4500	,3359	-5,1486	-3,7514
rated lateralized best of function R1 L2 0 no side differences	Equal variances assumed	,481	,492	-1,115	38	,136	,272	-,300	,269	-,845	,245
	Equal variances not assumed			-1,115	37,713	,136	,272	-,300	,269	-,845	,245
odor threshold	Equal variances assumed	,347	,559	6,989	38	<,001	<,001	5,12500	,73326	3,64060	6,60940
	Equal variances not assumed			6,989	37,876	<,001	<,001	5,12500	,73326	3,64044	6,60956
odor discrimination	Equal variances assumed	1,222	,276	7,701	38	<,001	<,001	4,650	,604	3,428	5,872
	Equal variances not assumed			7,701	36,654	<,001	<,001	4,650	,604	3,426	5,874
odor identification	Equal variances assumed	5,087	,030	7,005	38	<,001	<,001	5,300	,757	3,768	6,832
	Equal variances not assumed			7,005	32,613	<,001	<,001	5,300	,757	3,760	6,840
TDI score	Equal variances assumed	3,371	,074	12,309	38	<,001	<,001	15,17500	1,23284	12,67924	17,67076
	Equal variances not assumed			12,309	32,851	<,001	<,001	15,17500	1,23284	12,66633	17,68367

		Levene's Test for Equality of Variances				t-test for Equality of Means				95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Significance		Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
						One-Sided p	Two-Sided p				
retronasal screening (0-3)	Equal variances assumed	17,053	<,001	6,431	38	<,001	<,001	1,150	,179	,788	1,512
	Equal variances not assumed			6,431	22,200	<,001	<,001	1,150	,179	,779	1,521
taste sprays (0-4)	Equal variances assumed	10,688	,002	1,453	38	,077	,154	,100	,069	-,039	,239
	Equal variances not assumed			1,453	19,000	,081	,163	,100	,069	-,044	,244

11.8 Effektstärke unabhängiger Stichproben

Independent Samples Effect Sizes

		Standardizer ^a	Point Estimate	95% Confidence Interval	
				Lower	Upper
age	Cohen's d	18,392	,215	-,408	,835
	Hedges' correction	18,765	,210	-,400	,818
	Glass's delta	16,754	,236	-,392	,857
subjective taste dysfunction	Cohen's d	,346	-1,878	-2,619	-1,121
	Hedges' correction	,353	-1,841	-2,567	-1,098
	Glass's delta	,489	-1,328	-2,065	-,568
subjective flavor dysfunction	Cohen's d	,259	-3,281	-4,233	-2,310
	Hedges' correction	,264	-3,216	-4,149	-2,264
	Glass's delta	,366	-2,320	-3,267	-1,348
rated olf function 0low 10high	Cohen's d	1,6029	3,384	2,396	4,354
	Hedges' correction	1,6355	3,317	2,348	4,268
	Glass's delta	2,1081	2,573	1,539	3,582
rated gustatory function 0-10	Cohen's d	1,9894	2,224	1,420	3,011
	Hedges' correction	2,0297	2,180	1,392	2,951
	Glass's delta	2,6421	1,675	,847	2,477
rated retronasal function 0-10	Cohen's d	2,228	2,402	1,572	3,213
	Hedges' correction	2,273	2,354	1,541	3,149
	Glass's delta	3,041	1,759	,914	2,578
rated nasal patency 0-10	Cohen's d	1,786	,476	-,156	1,102
	Hedges' correction	1,822	,467	-,153	1,080
	Glass's delta	2,029	,419	-,220	1,047
nasal patency left 1-5	Cohen's d	,791	1,075	,404	1,734
	Hedges' correction	,807	1,054	,396	1,699
	Glass's delta	,887	,958	,258	1,638
subj impairment QoL Ono impact 6high impact	Cohen's d	1,0622	-4,189	-5,305	-3,056
	Hedges' correction	1,0838	-4,106	-5,199	-2,995
	Glass's delta	1,4643	-3,039	-4,169	-1,885

Independent Samples Effect Sizes

		Standardizer ^a	Point Estimate	95% Confidence Interval	
				Lower	Upper
rated lateralized best olf function R1 L2 0 no side differences	Cohen's d	,851	-,353	-,975	,274
	Hedges' correction	,868	-,346	-,956	,269
	Glass's delta	,813	-,369	-,995	,266
odor threshold	Cohen's d	2,31876	2,210	1,408	2,995
	Hedges' correction	2,36581	2,166	1,380	2,935
	Glass's delta	2,25146	2,276	1,315	3,212
odor discrimination	Cohen's d	1,909	2,435	1,600	3,252
	Hedges' correction	1,948	2,387	1,568	3,187
	Glass's delta	2,084	2,231	1,280	3,156
odor identification	Cohen's d	2,392	2,215	1,412	3,000
	Hedges' correction	2,441	2,171	1,384	2,941
	Glass's delta	2,837	1,868	1,000	2,710
TDI score	Cohen's d	3,89859	3,892	2,814	4,953
	Hedges' correction	3,97771	3,815	2,758	4,854
	Glass's delta	4,60613	3,295	2,073	4,493
retronasal screening (0-3)	Cohen's d	,565	2,034	1,256	2,794
	Hedges' correction	,577	1,993	1,231	2,739
	Glass's delta	,768	1,498	,706	2,265
taste sprays (0-4)	Cohen's d	,218	,459	-,172	1,085
	Hedges' correction	,222	,450	-,168	1,063
	Glass's delta	,308	,325	-,307	,949

- a. The denominator used in estimating the effect sizes.
 Cohen's d uses the pooled standard deviation.
 Hedges' correction uses the pooled standard deviation, plus a correction factor.
 Glass's delta uses the sample standard deviation of the control group.

11.9 Deskriptive Statistik

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
age	47,53	18,264	40
odor threshold	4,9375	3,46028	40
odor dscisrimination	11,68	3,016	40
odor identifciation	11,20	3,575	40
TDI score	27,8625	8,59393	40
retronasal screening (0-3)	2,38	,807	40
taste sprays (0-4)	3,95	,221	40
subjective smelling dysfunction	,50	,506	40
subjective taste dysfunction	,33	,474	40
subjective flavor dsyfuction	,43	,501	40
loss of smell since	19784,61	22179,149	38
interval loss of smell after infection (months)	,200	,6767	20
duration of loss of smell (months)	6,168	18,1707	40
rated olf function 0low 10high	6,088	3,1701	40
rated gustatory function 0-10	7,038	2,9794	40
nasal patency right 1low 5high	3,913	,8907	40
nasal patency left 1-5	3,98	,891	40

11.10 Korrelationen

		Correlations										
		age	odor threshold	odor discrimination	odor identification	TDI score	retronasal screening (0-3)	taste sprays (0-4)	subjective smelling dysfunction	subjective taste dysfunction	subjective flavor dysfunction	loss of smell since
age	Pearson Correlation	1	,024	,021	,138	,081	,033	-,076	-,110	-,142	-,059	-,162
	Sig. (2-tailed)		,881	,896	,395	,617	,838	,641	,501	,384	,719	,332
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
odor threshold	Pearson Correlation	,024	1	,524**	,490**	,798**	,580**	,256	-,750**	-,401*	-,599**	-,745**
	Sig. (2-tailed)			<,001	,001	<,001	<,001	,111	<,001	,010	<,001	<,001
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
odor discrimination	Pearson Correlation	,021	,524**	1	,746**	,877**	,599**	,206	-,781**	-,480**	-,619**	-,800**
	Sig. (2-tailed)				<,001	<,001	<,001	,202	<,001	,002	<,001	<,001
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
odor identification	Pearson Correlation	,138	,490**	,746**	1	,876**	,569**	,110	-,751**	-,478**	-,693**	-,765**
	Sig. (2-tailed)					<,001	<,001	,497	<,001	,002	<,001	<,001
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
TDI score	Pearson Correlation	,081	,798**	,877**	,876**	1	,685**	,223	-,894**	-,533**	-,752**	-,903**
	Sig. (2-tailed)						<,001	,167	<,001	<,001	<,001	<,001
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
retronasal screening (0-3)	Pearson Correlation	,033	,580**	,599**	,569**	,685**	1	-,036	-,722**	-,461**	-,659**	-,762**
	Sig. (2-tailed)							,825	<,001	,003	<,001	<,001
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
taste sprays (0-4)	Pearson Correlation	-,076	,256	,206	,110	,223	-,036	1	-,229	-,086	-,267	-,263
	Sig. (2-tailed)								,154	,599	,096	,111
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
subjective smelling dysfunction	Pearson Correlation	-,110	-,750**	-,781**	-,751**	-,894**	-,722**	-,229	1	,694**	,860**	,953**
	Sig. (2-tailed)							,154		<,001	<,001	<,001
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
subjective taste dysfunction	Pearson Correlation	-,142	-,401*	-,480**	-,478**	-,533**	-,461**	-,086	,694**	1	,699**	,596**
	Sig. (2-tailed)			,002	,002	<,001	,003	,599	<,001		<,001	<,001
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
subjective flavor dysfunction	Pearson Correlation	-,059	-,599**	-,619**	-,693**	-,752**	-,659**	-,267	,860**	,699**	1	,794**
	Sig. (2-tailed)							,096	<,001	<,001		<,001
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
loss of smell since	Pearson Correlation	-,162	-,745**	-,800**	-,765**	-,903**	-,762**	-,263	,953**	,598**	,794**	1
	Sig. (2-tailed)							,111	<,001	<,001	<,001	
	N	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38
interval loss of smell after infection (months)	Pearson Correlation	,268	-,009	,153	,228	,205	,030	,101	,143	,127	,127	,087
	Sig. (2-tailed)			,520	,335	,386	,899	,672	,547	,593	,730	,730
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	18
duration of loss of smell (months)	Pearson Correlation	,169	-,208	-,133	-,177	-,206	-,049	,028	,344*	,338*	,356*	,037
	Sig. (2-tailed)			,412	,274	,202	,764	,865	,030	,033	,024	,824
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	38

		Correlations					
		interval loss of smell after infection (months)	duration of loss of smell (months)	rated olf function 0low 10high	rated gustatory function 0-10	nasal patency right 1low 5high	nasal patency left 1-5
age	Pearson Correlation	,268	,169	,211	,207	,300	,136
	Sig. (2-tailed)	,253	,298	,192	,201	,060	,402
	N	20	40	40	40	40	40
odor threshold	Pearson Correlation	-,009	-,208	,767**	,620**	,414**	,492**
	Sig. (2-tailed)	,971	,199	<.001	<.001	,008	,001
	N	20	40	40	40	40	40
odor discrimination	Pearson Correlation	,153	-,133	,686**	,568**	,271	,417**
	Sig. (2-tailed)	,520	,412	<.001	<.001	,091	,007
	N	20	40	40	40	40	40
odor identification	Pearson Correlation	,228	-,177	,722**	,684**	,199	,291
	Sig. (2-tailed)	,335	,274	<.001	<.001	,219	,068
	N	20	40	40	40	40	40
TDI score	Pearson Correlation	,205	-,206	,857**	,740**	,352	,472**
	Sig. (2-tailed)	,386	,202	<.001	<.001	,026	,002
	N	20	40	40	40	40	40
retronasal screening (0-3)	Pearson Correlation	,030	-,049	,679**	,543**	,314	,477**
	Sig. (2-tailed)	,899	,764	<.001	<.001	,048	,002
	N	20	40	40	40	40	40
taste sprays (0-4)	Pearson Correlation	,101	,028	,263	,393	-,153	-,137
	Sig. (2-tailed)	,672	,865	,101	,012	,345	,400
	N	20	40	40	40	40	40
subjective smelling dysfunction	Pearson Correlation	. ^c	,344*	-,867**	-,752**	-,384*	-,483**
	Sig. (2-tailed)	.	,030	<.001	<.001	,015	,002
	N	20	40	40	40	40	40
subjective taste dysfunction	Pearson Correlation	,143	,338*	-,488**	-,726**	-,234	-,223
	Sig. (2-tailed)	,547	,033	,001	<.001	,145	,167
	N	20	40	40	40	40	40
subjective flavor dysfunction	Pearson Correlation	,127	,356*	-,727**	-,827**	-,288	-,378**
	Sig. (2-tailed)	,593	,024	<.001	<.001	,071	,016
	N	20	40	40	40	40	40
loss of smell since	Pearson Correlation	,087	,037	-,871**	-,727**	-,350*	-,501**
	Sig. (2-tailed)	,730	,824	<.001	<.001	,031	,001
	N	18	38	38	38	38	38
interval loss of smell after infection (months)	Pearson Correlation	1	-,028	,387	,109	,100	,114
	Sig. (2-tailed)	.	,908	,091	,648	,676	,632
	N	20	20	20	20	20	20
duration of loss of smell (months)	Pearson Correlation	-,028	1	-,256	-,259	-,252	-,128
	Sig. (2-tailed)	,908	.	,110	,107	,117	,431
	N	20	40	40	40	40	40

		Correlations										
		age	odor threshold	odor discrimination	odor identification	TDI score	retronasal screening (0-3)	taste sprays (0-4)	subjective smelling dysfunction	subjective taste dysfunction	subjective flavor dysfunction	loss of smell since
rated olf function 0low 10high	Pearson Correlation	,211	,767**	,686**	,722**	,857**	,679**	,263	-,867**	-,488**	-,727**	-,871**
	Sig. (2-tailed)	,192	<.001	<.001	<.001	<.001	<.001	,101	<.001	,001	<.001	<.001
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	38
rated gustatory function 0-10	Pearson Correlation	,207	,620**	,568**	,684**	,740**	,543**	,393	-,752**	-,726**	-,827**	-,727**
	Sig. (2-tailed)	,201	<.001	<.001	<.001	<.001	<.001	,012	<.001	<.001	<.001	<.001
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	38
nasal patency right 1low 5high	Pearson Correlation	,300	,414**	,271	,199	,352*	,314	-,153	-,384*	-,234	-,288	-,350*
	Sig. (2-tailed)	,060	,008	,091	,219	,026	,048	,345	,015	,145	,071	,031
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	38
nasal patency left 1-5	Pearson Correlation	,136	,492**	,417**	,291	,472**	,477**	-,137	-,483**	-,223	-,378**	-,501**
	Sig. (2-tailed)	,402	,001	,007	,068	,002	,002	,400	,002	,167	,016	,001
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	38

		Correlations					
		interval loss of smell after infection (months)	duration of loss of smell (months)	rated olf function 0low 10high	rated gustatory function 0-10	nasal patency right 1low 5high	nasal patency left 1-5
rated olf function 0low 10high	Pearson Correlation	,387	-,256	1	,753**	,366*	,459**
	Sig. (2-tailed)	,091	,110	.	<.001	,020	,003
	N	20	40	40	40	40	40
rated gustatory function 0-10	Pearson Correlation	,109	-,259	,753**	1	,252	,256
	Sig. (2-tailed)	,648	,107	<.001	.	,116	,110
	N	20	40	40	40	40	40
nasal patency right 1low 5high	Pearson Correlation	,100	-,252	,366*	,252	1	,885**
	Sig. (2-tailed)	,676	,117	,020	,116	.	<.001
	N	20	40	40	40	40	40
nasal patency left 1-5	Pearson Correlation	,114	-,128	,459**	,256	,885**	1
	Sig. (2-tailed)	,632	,431	,003	,110	<.001	.
	N	20	40	40	40	40	40

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

* . Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

c. Cannot be computed because at least one of the variables is constant.