

**Aus der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe  
der Universität zu Lübeck  
Direktor: Prof. Dr. med. K. Diedrich**

---

**Infektionen und Infektionsscreening  
bei Paaren mit unerfülltem Kinderwunsch**

**Inauguraldissertation**

**zur**

**Erlangung der Doktorwürde  
der Universität zu Lübeck**

**- aus der Medizinischen Fakultät -**

**vorgelegt von**

**Charlotte Bohne  
aus Bremen**

**Lübeck 2006**

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Michael Ludwig  
2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Diether Ludwig

Tag der mündlichen Prüfung: 26.04.2007  
zum Druck genehmigt. Lübeck, den 26.04.2007

gez. Prof. Dr. med. Werner Solbach  
- Dekan der Medizinischen Fakultät -

**Für meine Eltern**

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1 Ursachen für einen unerfüllten Kinderwunsch .....	1
1.2 Bedeutung von Infektionen für Schwangerschaft und Geburt .....	2
1.2.1 Chlamydia trachomatis .....	2
1.2.2 Röteln, Varizellen, Toxoplasmose .....	3
1.2.3 Intravaginale Keime .....	4
1.3 Problematik des Chlamydien-Screenings.....	5
1.3.1 Einführung .....	5
1.3.2 Vor- und Nachteile verschiedener Nachweismethoden.....	5
1.3.3 Daten zum Vergleich verschiedener Nachweismethoden .....	8
1.4 Fragestellungen.....	9
<b>2. Material und Methoden</b> .....	<b>10</b>
2.1 Design der Studie .....	10
2.1.1 Studienpopulation .....	10
2.1.2 Einschlusskriterien .....	11
2.1.3 Ausschlusskriterien .....	11
2.2 Fallzahlplanung .....	11
2.3 Definition der Ziel- und Einflussvariablen .....	12
2.3.1 Zielvariablen .....	12
2.3.2 Einflussvariablen.....	12
2.4 Ablauf der Datenerhebung .....	13
2.4.1 Allgemeines .....	13
2.4.2 Methoden zur Messung der Befunde.....	14
2.5 Datenspeicherung .....	19
2.6 Statistische Auswertung .....	19
<b>3. Ergebnisse</b> .....	<b>20</b>
3.1 Ergebnisse aus den Anamnesen und den durchgeführten Untersuchungen .....	20
3.1.1 Daten aus der gynäkologischen Anamnese .....	20
3.1.2 Durchgeführte Untersuchungen .....	21
3.1.3 Ergebnisse der Chlamydien-Diagnostik.....	22
3.1.4 Ergebnisse der HPV-Diagnostik .....	23
3.1.5 Ergebnisse der Bakterien-Diagnostik.....	24
3.1.6 Immunstatus .....	25
3.1.7 Primärtherapie bei unerfülltem Kinderwunsch.....	25

3.1.8 Ergebnisse der andrologischen Anamnese und Diagnostik.....	26
3.2 Gegenüberstellung von Ergebnissen.....	27
3.2.1 Vergleich von Befunden aus der Infektionsserologie und anamnestischen Daten .....	27
3.2.2 Vergleich von Befunden aus der Infektionsserologie und der Laparoskopie.....	29
3.2.3 Zusammenhang zwischen einer positiven Infektionsserologie und der Kinderwunsch- bzw. Nicht-Kontrazeptionsdauer .....	31
3.2.4 Gleichzeitige Infektion mit verschiedenen Keimen .....	32
3.3 Ergebnisse der Männer in der Chlamydienstudie.....	34
4. Diskussion .....	35
4.1 Einleitung .....	35
4.2 Chlamydieninfektionen .....	35
4.3 HPV-Infektionen.....	37
4.4 Andere intravaginale pathogene Keime .....	38
4.4.1 Gardnerella vaginalis.....	38
4.4.2 Ureaplasma urealyticum.....	39
4.4.3 B-Streptokokken und Darmkeime.....	39
4.4.4 Candida albicans.....	40
4.5 Immunschutz .....	40
4.6 Stärken und Schwächen der Arbeit.....	41
4.7 Schlussfolgerungen/Ausblick in die Zukunft .....	42
5. Zusammenfassung .....	44
Literaturverzeichnis .....	45
Danksagung.....	52
Lebenslauf .....	53

## Abkürzungsverzeichnis

cHSP60	chlamydial heat shock protein 60
CIN	zervikale intraepitheliale Neoplasie
EIA	Enzymimmunoassay
ELISA	enzym-linked immuno sorbent assay
EUG	Extrauterin gravidität
FDA	Food and Drug Administration
HAH-Test	Hämagglutinationshemmtest
HPV	humanes Papillomavirus
ICSI	intrazytoplasmatische Spermieninjektion
IFT	Immunfluoreszenztest
IUI	intrauterine Insemination
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IUD	Intrauterin pessar
IVF	In-vitro-Fertilisation
KBR	Komplementbindungsreaktion
LCR	Ligase Chain Reaction
LPS	Lipopolysaccharid
MIF	Mikroimmunfluoreszenztest
NAAT	nucleic acid amplification test
PCOS	Syndrom der polyzystische Ovarien
PCR	Polymerase Chain Reaction
TESE	testikuläre Spermienextraktion
VDGH	Verband der Diagnostica-Industrie
WHO	Weltgesundheitsorganisation

# 1. Einleitung

## 1.1 Ursachen für einen unerfüllten Kinderwunsch

Nach neuesten Schätzungen bleibt heutzutage etwa jede siebte Ehe ungewollt kinderlos, was bedeutet, dass in Deutschland rund 2 Millionen Paare mit unerfülltem Kinderwunsch leben ([www.gesundheit.com/gc\\_detail\\_11\\_gc05100404.html](http://www.gesundheit.com/gc_detail_11_gc05100404.html), aufgerufen am 17.03.2006). Die Gründe hierfür sind vielfältig: da die Familienplanung oft erst nach Abschluss der Berufsausbildung beginnt, sind rund 25% der Frauen heute älter als 30 Jahre, wenn sie das erste Mal schwanger werden. Die Qualität der Eizellen nimmt in diesem Alter bereits ab und Infektionen, die häufig asymptomatisch ablaufen, können zu entzündlichen Veränderungen der inneren Geschlechtsorgane führen, was sich negativ auf die Entwicklung einer Schwangerschaft auswirken kann.

Weitere Ursachen können endokriner Natur sein, z.B. aufgrund von Hypophysenadenomen oder dem Syndrom der polyzystischen Ovarien (PCOS). Adhäsionen nach vorausgegangenen Unterbauchoperationen oder Adnexitiden können ebenso zu pathologischen Veränderungen der Fortpflanzungsorgane führen wie eine Endometriose oder ein Uterus myomatosus. Ursachen wie Umwelt- und Genussgifte oder Essstörungen sollten in einer ausführlichen Anamnese erfasst werden. Nicht unerwähnt bleiben dürfen auch psychische Faktoren als Grund für ein Nichteintreten einer Schwangerschaft.

Beim Mann können exogene und endogene Noxen schädigend auf die Spermienqualität einwirken.

Die psychosozialen Folgen einer ungewollten Kinderlosigkeit sind für die betroffenen Paare häufig immens, so dass die Sinnhaftigkeit einer umfassenden Diagnostik und Therapie hier außer Frage stehen sollte.

## 1.2 Bedeutung von Infektionen für Schwangerschaft und Geburt

### 1.2.1 Chlamydia trachomatis

Aus dem oben Gesagten ergibt sich für genitale Infektionen eine bedeutende Rolle bei der Frage nach der Fertilität, weshalb sie hier näher untersucht werden sollen. Chlamydia trachomatis gehört zu den weltweit am häufigsten sexuell übertragenen Erregern von Infektionen des Urogenitaltrakts und des Auges. Chlamydien sind seit fast 100 Jahren als Krankheitserreger bekannt. Bis in die sechziger Jahre des 20. Jahrhunderts als eine Geißel der weniger entwickelten Länder angesehen (Trachom, Lymphgranuloma venereum), sind Infektionen mit Chlamydia trachomatis, der am längsten bekannten Chlamydienart, in den siebziger Jahren zur häufigsten venerischen Erkrankung in den entwickelten Industrieländern geworden (VDGH 2004).

Diese zu den gramnegativen Bakterien zählenden Erreger leben intrazellulär in den Epithelien von Schleimhäuten, auf deren energiereiche Phosphate sie angewiesen sind. Ihr einzigartiger, zwei bis drei Tage dauernder Entwicklungszyklus umfasst die 0,3 µm großen infektiösen Elementarkörperchen, die sich nach dem Eindringen in die Wirtszelle in die 1 µm großen, metabolisch aktiven Retikularkörperchen umwandeln. Diese vermehren sich durch Zweiteilung unter Ausnutzung des Energiestoffwechsels der Wirtszelle, um dann wieder zu Elementarkörperchen zu kondensieren. Nach Lyse der Wirtszelle werden diese frei und können neue Zellen infizieren.

Chlamydia trachomatis tritt in 18 verschiedenen Serotypen auf, die unterschiedlichste Krankheitsbilder hervorrufen. In den Industrieländern sind die Serotypen D-K für die okulogenitalen Infektionen verantwortlich. Charakteristisch für eine Chlamydieninfektion ist ihr überwiegend asymptomatischer Verlauf. Hieraus resultieren die vielen chronischen Erkrankungen, die durch die aszendierten und persistierenden Erreger unterhalten werden. Zwischen der Erstinfektion und chronischen Folgeerkrankungen vergehen häufig Monate und Jahre. Als Folge wiederholter Adnexitiden können die Tuben verkleben, was häufig zur Sterilität führt. Zusätzlich kann Chlamydia trachomatis bei eingetretener Schwangerschaft unter der Geburt vom infizierten Geburtskanal auf das

Neugeborene übertragen werden. Als Folge davon können sich eine Neugeborenenkonjunktivitis oder eine Pneumonie entwickeln.

Da die Infektion mit *Chlamydia trachomatis* bei der entzündlichen Veränderung der Tuben eine große Rolle spielt und ihr Nachweis als Marker für einen Tubenschaden gilt (Eggert-Kruse et al. 1997, Hartog et al. 2004), ist hier das Infektionsscreening gerade im Rahmen der Kinderwunschbehandlung von besonderer Bedeutung.

Auch wenn die Chlamydieninfektion beim Mann keinen direkten Einfluss auf die Spermienqualität hat (Eggert-Kruse et al. 2002, 2003), ist auch hier ein Screening wichtig, da die Möglichkeit der Übertragung des Krankheitserregers auf die Partnerin besteht. Immerhin wird *Chlamydia trachomatis* in 10-25% der Fälle im Ejakulat asymptomatischer Männer gefunden und Chlamydieninfektionen sind deutlich häufiger, wenn der Partner auch betroffen ist (Eggert-Kruse et al. 1997).

### **1.2.2 Röteln, Varizellen, Toxoplasmose**

Infektionen spielen aber nicht nur eine wichtige Rolle für das Eintreten einer Schwangerschaft, sie sind auch wichtiger Einflussfaktor auf deren Verlauf. In der Kinderwunschbehandlung sollte es daher nicht nur um die Erzielung einer Schwangerschaft gehen, sondern vorrangig um die Geburt eines gesunden Kindes. Daher kommt der Prävention von Infektionen während der Schwangerschaft eine große Bedeutung zu. Ein entsprechendes Screening hinsichtlich eines ausreichenden Immunstatus für relevante Infektionen wie Röteln, Varizellen oder Toxoplasmose ist hier besonders wichtig.

Das Risiko für eine Rötelnembryopathie bei diaplazentarer Übertragung des Rubivirus ist vor allem im ersten Trimenon hoch. Die Gesamtleitlät beim kongenitalen Röteln-syndrom mit Katarakt, Innenohrschwerhörigkeit und Herzfehler beträgt 15-20% bei einer Inzidenz von etwa fünf Fällen pro Jahr in Deutschland. Bei einem Titer im Röteln-HAH-Test unter 1:8 sollte dieser bis zur 17. Schwangerschaftswoche alle sechs Wochen kontrolliert werden. Nach der 18. Schwangerschaftswoche ist das Risiko für Fehlbildungen sehr gering (Haag et al. 2003, S.157f.).

Bei einer Varizellen-Erstinfektion bis zur 21. Schwangerschaftswoche besteht das Risiko für das seltene, jedoch schwerwiegende kongenitale Varizellensyndrom. Bei einer perinatalen Infektion bis fünf Tage vor der Geburt sind durch den gleichzeitigen IgG-Transfer keine Folgeschäden zu erwarten, wohingegen die Letalität bei einer neonatalen Varizelleninfektion bis zu 30% betragen kann. Bei seronegativen Frauen sollte daher vor einer geplanten Schwangerschaft eine Schutzimpfung durchgeführt werden (Haag et al. 2003, S.152).

Die diaplazentare Infektion mit dem Protozoon *Toxoplasma gondii* erfolgt meist im zweiten oder dritten Trimenon, wobei die Übertragung nur bei einer Erstinfektion der Mutter möglich ist. Im ersten Trimenon liegt das Infektionsrisiko bei 14%, eine Infektion führt hier in der Regel zum Abort. Im zweiten Trimenon steigt es auf 29% mit der Möglichkeit einer schweren Schädigung des Kindes, im dritten Trimenon liegt das Infektionsrisiko schon bei 59%, wobei dann aber meist nur leichte Schäden oder Spätschäden zu erwarten sind. Die Inzidenz einer Erstinfektion während der Schwangerschaft liegt bei ca. 0,5%, die Letalität für den Fetus insgesamt bei 20%. Die Aufklärung seronegativer Frauen über mögliche Infektionsquellen ist hier besonders wichtig (Haag et al. 2003, S.154f.).

### **1.2.3 Intravaginale Keime**

Auch intravaginale Infektionen müssen bei Kinderwunschpatientinnen und Schwangeren ausgeschlossen werden. So können beispielsweise Infektionen mit *Gardnerella vaginalis* oder *Candida albicans* zu Kolpitisen, vorzeitigem Blasensprung und damit verbundener Frühgeburtlichkeit und ihren Risiken führen (Haag et al. 2003, S.34,186). Streptokokken der Gruppe B bergen zusätzlich die Gefahr einer Meningitis oder Pneumonie für das Neugeborene (Haag et al. 2003, S.153). Eine Infektion mit dem humanen Papillomavirus (HPV) ist dagegen vor allem für die Mutter gefährlich, so können in praktisch allen schweren Dysplasien und Karzinomen der Zervix HP-Viren vom High Risk-Typ nachgewiesen werden (Bendrat et al. 2005).

Eine Infektion mit *Ureaplasma urealyticum* kann wiederum bei Männern zu einer eingeschränkten Beweglichkeit ihrer Spermien führen (Fowlkes et al. 1975).

## **1.3 Problematik des Chlamydien-Screenings**

### **1.3.1 Einführung**

Die Anamnese des zu behandelnden Paares gibt nur selten Hinweise auf eine akute oder abgelaufene Chlamydieninfektion. Andererseits liegt die Infektionsrate für Paare ohne Symptomatik schon bei 2,4% (Eggert Kruse 2003), neuere Studien ergaben hier vor allem für Jugendliche noch wesentlich höhere Werte. Bei 17-jährigen Mädchen aus Berlin liegt die Prävalenz zum Beispiel bei 10% (Gille et al. 2005). Bei Paaren mit unerfülltem Kinderwunsch ergab sich für IgG-Antikörper sogar eine Prävalenz von 32%, hierbei waren 24,2% der Frauen und 20,1% der Männer betroffen (Idahl et al. 2004). Die Folgeerkrankungen sind für die Betroffenen oft mit einem hohen Leidensdruck verbunden. Sie bedürfen meist einer langwierigen und kostenintensiven Behandlung. Hier gilt es also für eine häufige, aber klinisch oft unauffällige Erkrankung, die es nicht nur im Hinblick auf einen möglichen Kinderwunsch rechtzeitig zu erkennen und zu behandeln gilt, eine sichere, leicht durchzuführende und möglichst wirtschaftliche Screeningmethode zu finden.

### **1.3.2 Vor- und Nachteile verschiedener Nachweismethoden**

In der Chlamydiendiagnostik ergänzen sich Antigen- und Antikörpernachweis. Bei frühen peripheren Urogenitalinfektionen besitzt der Antigennachweis mittels PCR Priorität. Sind die Erreger bereits aszendiert oder besteht eine chronische Infektion ist die Serologie die beste und meist auch einzige diagnostische Möglichkeit. Dabei ist zu beachten, dass Frauen einerseits häufiger Antikörper bilden als Männer, andererseits aber in etwa 10% der Fälle nach einer Chlamydieninfektion keine Antikörperbildung stattfindet. Weitere 10% werden nach Antibiotikatherapie seronegativ.

Der Erregernachweis kann durch direkte oder indirekte Immunfluoreszenztests (IFT) erfolgen. Hier kommen fluoreszenzmarkierte, speziesspezifische monoklonale Antikörper zum Einsatz, die gegen äussere Membranproteine des

Erregers gerichtet sind. Als Probenmaterial dienen Abstriche, aber auch nicht invasiv gewonnenes Material wie Urin. Die Technik ist jedoch sehr arbeitsaufwendig und setzt ein zellreiches Untersuchungsmaterial voraus. Das Verfahren ist subjektiv und nur durch den Einsatz von gut geschultem Personal kann eine ausreichend hohe Spezifität erreicht werden.

Zum Antigennachweis stehen ferner eine Reihe von Enzymimmunoassays (EIA) zur Verfügung. Im Allgemeinen wird hierbei mit polyklonalen Antikörpern das genuspezifische Lipopolysaccharid (LPS) nachgewiesen. Die Tests wurden zum Nachweis von *Chlamydia trachomatis* in Zervix- und Urethralabstrichen entwickelt. Sie sind preisgünstig und für hohe Probenzahlen geeignet. Die Sensitivität der Tests liegt allerdings nur zwischen 60 und 80%.

Mit PCR und LCR sind heute hochspezifische und hochsensitive Detektionsverfahren verfügbar, die als Goldstandard für den Erregernachweis angesehen werden. Bei diesen Nukleinsäure-Amplifikationsverfahren wird ein kleiner Abschnitt der chlamydialen DNA innerhalb kurzer Zeit millionenfach vervielfältigt, um dann enzymatisch oder photometrisch nachgewiesen zu werden. Die Tests gelingen mit Abstrichmaterial ebenso wie mit Urinproben. Theoretisch lässt sich darin ein einzelnes Elementarkörperchen nachweisen. Nachteilig ist der noch relativ kostenintensive technische Aufwand. Auch birgt die hohe Sensitivität die Gefahr von Kreuzkontaminationen in sich, resultierend in falsch positiven Ergebnissen. Umgekehrt können Enzyminhibitoren in den Proben zu falsch negativen Ergebnissen führen.

Der direkte Erregernachweis durch mikroskopische Auswertung Giemsa-gefärbter Präparate und die Anzucht der Erreger in speziellen Zellkulturen spielen heute nur noch eine untergeordnete Rolle.

Bei der Diagnostik der Chlamydieninfektion führt der direkte Erregernachweis häufig nicht zum Ziel, da die Keime bereits kurze Zeit nach Infektion an den Eintrittspforten nicht mehr nachweisbar sind, die Erregernachweise werden falsch negativ. Eine zeitgemäße Chlamydiendiagnostik macht daher parallele serologische Untersuchungen unabdingbar. Die serologische Bestätigung einer Infektion verhindert falsch negative Ergebnisse.

Grundsätzlich stehen zwei Verfahren zum Nachweis von Chlamydien-Antikörpern zur Verfügung: Genuspezifische Tests, die Antikörper gegen das in der äusseren

Membran verankerte LPS aller Chlamydienarten erfassen, sowie speziesspezifische Tests, die zwischen den Arten unterscheiden.

Lange Zeit stellte die Komplement-Bindungsreaktion (KBR) den einzigen Test zum Nachweis von Antikörpern gegen Chlamydien dar. Die wenig sensitive Methode erlaubt weder eine Speziesunterscheidung noch eine Differenzierung zwischen den Antikörperklassen.

Die Unterscheidung speziesspezifischer Antikörper war zuerst mit der Mikroimmunfluoreszenz (MIF) möglich. Hierbei werden aufgereinigte Elementarkörperchen der einzelnen Chlamydienspezies nebeneinander auf einen Objektträger aufgetragen. Die Antigen-Antikörper-Reaktion wird fluoreszenzmikroskopisch sichtbar gemacht. Die MIF ist aufwändig, nicht automatisierbar und anfällig für subjektive Fehler. Bemühungen um eine Standardisierung waren bisher wenig erfolgreich.

Eine weitere Möglichkeit Chlamydien-Antikörper speziesspezifisch zu differenzieren, bietet der Western- oder Immunoblot. Dieses Verfahren, das mit chromatographisch aufgetrennten chlamydialen Antigenen arbeitet, ermöglicht die genauere Bestimmung, gegen welche Antigene die Patientenantikörper im einzelnen gerichtet sind. Als relativ aufwändiges Verfahren bleibt es in der Regel Forschungslabors vorbehalten.

Bei den speziesspezifischen Chlamydien-Antikörper-ELISAs dienen synthetische oder hochaufgereinigte Peptide aus den immundominanten Zellwandproteinen der jeweiligen Spezies als Antigene. Diese Tests sind automatengängig und liefern objektive, gut reproduzierbare Ergebnisse. Für Routinelabors sind sie die Methoden der Wahl.

Ungeachtet der Verfügbarkeit speziesspezifischer Chlamydien-Antikörper-ELISAs bleibt der Nachweis von genuspezifischen anti-LPS-Antikörpern weiterhin ein wertvolles Instrument der Chlamydienserologie.

Seit kurzem wird die Palette der Tests zum Nachweis von Chlamydien-Antikörpern durch einen kommerziellen ELISA ergänzt, mit dem IgG-Antikörper gegen chlamydiales Heat Shock Protein (cHSP) nachweisbar sind. Diese Proteine werden bei chronischen Chlamydieninfektionen verstärkt freigesetzt und ihr Nachweis ist ein sensibler Marker für persistierende Infektionen.

### **1.3.3 Daten zum Vergleich verschiedener Nachweismethoden**

Aufgrund der großen Bedeutung von *Chlamydia trachomatis* nicht nur für die Reproduktionsmedizin, ist dieser Erreger bereits zum Thema zahlreicher anderer Studien geworden.

So konnte gezeigt werden, dass LCR und PCR die Methoden der Wahl sind, wenn es gilt, eine Chlamydieninfektion zu diagnostizieren (Puolakkainen et al. 1998). Beide Verfahren sind in diesem Fall gleichwertig.

Für die tägliche Praxis wird hingegen die IgG-Bestimmung im Serum als leicht zugängliche Screeningmethode und Indikator für einen Tubenschaden empfohlen (Eggert-Kruse et al. 1997). Die durch das Gesundheitssystem beschränkten finanziellen Mittel erfordern auch immer die Prüfung der Kosteneffektivität einer Methode. Bei der Antikörpersuche wird hier der pELISA der Firma medac favorisiert (Fiddelers et al. 2004).

Kreuzreaktionen mit Antikörpern gegen *Chlamydia pneumoniae* traten bei der MIF auf und führten so zu falsch positiven Ergebnissen (Gijsen et al. 2001).

Eine andere Arbeit zeigte eine Überlegenheit des MIF Labsystems gegenüber verschiedenen ELISAs, wobei wiederum der pELISA medac der beste Test war, u. a. kam es hier nicht zu Kreuzreaktionen mit *Chlamydia pneumoniae* (Land et al. 2003). Eine Kombination verschiedener Tests konnte die Aussagekraft nicht verbessern.

Auch das Chlamydial Heat Shock Protein (cHSP) gilt als Marker für eine abgelaufene Chlamydieninfektion und somit für einen Tubenschaden (Batschulat et al. 2003) bzw. für weibliche Subfertilität im Allgemeinen (Karinen et al. 2003).

Das IgA sollte bei dem Verdacht einer akuten Infektion bestimmt werden (Steyaert et al. 2000).

Bei Männern kann in bis zu 50% der Fälle bei probenpositivem Erregernachweis keine ausreichende serologische Antwort nachgewiesen werden (Weidner und Kuipers, 2003), was die Notwendigkeit einer Diagnostik aus lokalen Sekreten unterstreicht.

## 1.4 Fragestellungen

Schwerpunkt dieser Arbeit war die infektiologische Komponente bei der Abklärung eines unerfüllten Kinderwunsches einerseits, sowie die Darstellung des zu erwartenden Immunstatus eines Kinderwunschkollektivs andererseits. Ein besonderes Augenmerk soll jedoch auf die Chlamydieninfektionen und ihre Diagnostik gerichtet werden. Aus den oben genannten Ausführungen ergaben sich folgende Fragestellungen:

Welche Prävalenz haben Chlamydien bei einem prospektiv erfassten Kollektiv von Kinderwunschpaaren?

Wie ist der Immunstatus hinsichtlich relevanter Infektionserkrankungen bei Kinderwunschpatientinnen?

Wie hoch ist die Prävalenz von intravaginalen pathogenen Keimen?

Wie sind die Ergebnisse im Vergleich mit anderen Arbeiten einzuordnen?

Lässt sich aus den Daten ein praktikables Vorgehen bei der Abklärung von infektiologischen Risiken bei Kinderwunschpaaren ableiten?

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Design der Studie**

Die Arbeit besteht aus zwei Teilen. Bei dem ersten Teil der Arbeit, im folgenden immer als „Infektionsscreening“ bezeichnet, handelt es sich um eine systematische Untersuchung von Patientinnen auf verschiedene genitale Infektionen im Rahmen eines Screenings. Der zweite Teil der Arbeit, im folgenden immer „Chlamydienstudie“ genannt, ist eine prospektive, nicht kontrollierte, offene Kohortenstudie, bei der es vor allem um die Prävalenz und Beurteilung von Chlamydia trachomatis sowie die Evaluierung der optimalen infektiologischen Abklärung von Paaren in der reproduktionsmedizinischen Diagnostik geht. Beide Studienteile wurden unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. Michael Ludwig von April 2003 bis Juli 2004 im ENDOKRINOLOGIKUM HAMBURG, Zentrum für Hormon- und Stoffwechselerkrankungen, gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin durchgeführt. Die Rekrutierung der Patienten erfolgte durch die verschiedenen in diesem Zentrum tätigen Gynäkologinnen und Gynäkologen. Die Studie wurde vor Studienbeginn von der Ethikkommission Hamburg positiv begutachtet.

#### **2.1.1 Studienpopulation**

Studienpopulation sind beim Infektionsscreening 163 Patientinnen, die sich zwischen dem 1. April und 31. Dezember 2003 wegen eines unerfüllten Kinderwunsches im ENDOKRINOLOGIKUM HAMBURG vorgestellt haben.

Bei der Chlamydienstudie entspricht die Studienpopulation 391 Kinderwunschpaaren, die sich aus demselben Grund zwischen dem 2. Juli 2003 und dem 30. Juli 2004 erstmals in der Kinderwunschsprechstunde des ENDOKRINOLOGIKUM HAMBURG vorstellten, wobei 70 Patientinnen auch auf Infektionen gescreent wurden, also ein Subkollektiv des „Infektionsscreenings“ darstellen. Bei 373 Paaren wurden von beiden Partnern Daten erhoben, in 18 Fällen nahmen nur die Frauen an der Studie teil.

### **2.1.2 Einschlusskriterien**

Voraussetzung zur Teilnahme an der Studie war neben der schriftlichen Einwilligung der Patientin und ihres Partners, die Erstvorstellung im ENDOKRINOLOGIKUM HAMBURG zwischen dem 1. Juli 2003 und dem 31. Juli 2004 sowie der Wunsch nach einer Behandlung im homologen System.

### **2.1.3 Ausschlusskriterien**

Ausgeschlossen aus der Studie waren PatientInnen, von denen keine schriftliche Einwilligung vorlag oder die eine Behandlung im heterologen System bzw. gar keine Behandlung wünschten.

## **2.2 Fallzahlplanung**

Aufgrund der Ergebnisse anderer hochrangig publizierter Studien schien ein Kollektiv von 1000 Kinderwunschpaaren sinnvoll, um die gestellten Fragen ausreichend zu beantworten. Dabei waren ungefähr 60 Frauen bzw. 100 Männer mit einer mittels PCR nachweisbaren Chlamydieninfektion zu erwarten.

Aufgrund der einschneidenden Veränderungen im Gesundheitssystem zum 1. Januar 2004, die unter anderem eine höhere finanzielle Selbstbeteiligung der betroffenen Paare bei der Kinderwunschbehandlung erfordern, die viele Patienten nicht leisten können, kam es jedoch zu einem unerwarteten Einbruch der Patientenzahlen, so dass nur 391 Paare in dem geplanten Zeitraum in die Studie eingeschlossen werden konnten, was aber immer noch eine repräsentative Zahl darstellen sollte.

## **2.3 Definition der Ziel- und Einflussvariablen**

### **2.3.1 Zielvariablen**

Zielvariablen waren beim Infektionsscreening Chlamydia trachomatis – Antikörper im Serum (IgG, IgA), der Humane Papilloma Virus (HPV) – Nachweis einschließlich der Typbestimmung aus dem Zervixabstrich sowie die Untersuchung auf eine pathologische Bakterienflora im Vaginalabstrich (Gardnerella vaginalis, Ureaplasma urealytium, Streptokokken der Gruppe B, Candida albicans u.a.). Bei der Chlamydienstudie war es das Ziel, Chlamydia trachomatis im Serum von Frau und Mann (IgG, IgA, cHSP), im Morgenurin von Frau und Mann (PCR), im Zervixabstrich der Frau (PCR und EIA) und im Ejakulat des Mannes (PCR und sekretorisches IgA im Seminalplasma) nachzuweisen. Zusätzlich wurden beide Kollektive auf Antikörper gegen Röteln, Varizellen und Toxoplasmose untersucht.

### **2.3.2 Einflussvariablen**

Als wichtigste Einflussvariablen waren vorangegangene entzündlichen Erkrankungen des Genitaltraktes (z.B. Adnexitiden), bekannte Chlamydieninfektionen in der Anamnese und eine bekannte Tubenpathologie anzusehen.

## **2.4 Ablauf der Datenerhebung**

### **2.4.1 Allgemeines**

Paare, die sich im oben genannten Zeitraum erstmals in der Kinderwunschsprechstunde bei einem der an der Studie beteiligten Gynäkologen vorstellten, füllten zunächst einen Fragebogen aus, der unter anderem allgemeine sowie gynäkologische und urologische/andrologische Vorerkrankungen und Operationen, die Einnahme von Medikamenten, die Zyklusanamnese, vorangegangene Schwangerschaften (Geburten, Aborte, Abruptiones), die Dauer des Kinderwunsches und der Nicht-Kontrazeption und die Häufigkeit des Geschlechtsverkehrs abfragt. Nach dem folgenden Erstgespräch und der Aufklärung über die Studie wurden die Patienten dann um ihre schriftliche Einwilligung gebeten.

Im Rahmen der üblichen gynäkologischen Untersuchung wurden die verschiedenen Abstriche von der Zervix uteri entnommen, die später auf die verschiedenen Erreger hin untersucht wurden. Anschließend wurde bei beiden Partnern im Rahmen der Routineblutentnahme zur Untersuchung auf HIV, Hepatitis, Rötelnantikörper etc. eine separate Blutprobe entnommen, die für die Serologie von *Chlamydia trachomatis* verwendet wurde. Eine zusätzliche Venenpunktion war somit nicht erforderlich. Außerdem wurde mit dem Mann, sofern aufgrund mangelhafter Voruntersuchungen noch notwendig, ein Termin zur Ejakulatabgabe und gegebenenfalls auch für eine andrologische Untersuchung vereinbart. Schließlich wurde jedem Partner ein Urinprobengefäß mitgegeben. Der zu Hause gewonnene Morgenurin wurde dann per Post in einem vorbereiteten und frankierten Umschlag an das ENDOKRINOLOGIKUM HAMBURG zurückgeschickt und dort zur weiteren Untersuchung aufbereitet.

Bei dem Verdacht auf eine pathologische Veränderung der inneren Genitale der Frau als Ursache für den unerfüllten Kinderwunsch (z. B. ein Tubenverschluss), wurde, sofern nicht bereits vorher geschehen, ein Termin zur laparoskopischen Abklärung, in der Regel in der kooperierenden Altonaer Tagesklinik, vereinbart.

## 2.4.2 Methoden zur Messung der Befunde

### Chlamydia trachomatis-IgG-Antikörper

Methode: ELISA (Chlamydia trachomatis-IgG-pELISA medac)  
Material: Serum (1:50 verdünnt mit Probenverdünnungspuffer)  
Menge: 50 µl  
Referenzbereich: Extinktion < 0,9

### Chlamydia trachomatis-IgA-Antikörper

Methode: ELISA (Chlamydia trachomatis-IgA-pELISA medac)  
Material: Serum (1:50 verdünnt mit Probenverdünnungspuffer)  
Menge: 50 µl  
Referenzbereich: Extinktion < 0,9

### Chlamydial Heat Shock Protein 60 (cHSP60)

Methode: ELISA (cHSP-IgG-ELISA medac)  
Material: Serum (1:50 verdünnt mit Probenverdünnungspuffer)  
Menge: 50 µl  
Referenzbereich: Extinktion < 0,9

### sekretorische Chlamydia trachomatis-IgA-Antikörper (Seminalplasma)

Methode: ELISA (Chlamydia trachomatis-IgA-pELISA medac)  
Material: Seminalplasma (1:10 verdünnt mit Probenverdünnungspuffer)  
Menge: 50 µl  
Referenzbereich: Extinktion < 0,9

Der Vollständigkeit halber sei das Testprinzip der verwendeten ELISAs (enzyme-linked immuno sorbent assay) an dieser Stelle kurz erläutert. In eine mit *Chlamydia trachomatis*-spezifischem, synthetischem Peptid bzw. mit rekombinantem Heat Shock Protein 60 beschichtete Mikrotiterplatte wird aufbereitetes Patientenserum oder –seminalplasma gegeben. Die *Chlamydia trachomatis*- bzw. cHSP60-spezifischen Antikörper aus dem Patientenserum bzw. –seminalplasma binden dann – wenn vorhanden – an das Antigen der Mikrotiterplatte. Hinzugegebenes Peroxidase-gekoppeltes Anti-Human-IgG bzw. IgA bindet an die IgG- bzw. IgA-Antikörper. Anschliessend wird mit TMB-Substrat inkubiert, positive Proben erscheinen dann blau gefärbt. Die Reaktion wird durch Zugabe von Schwefelsäure gestoppt, es erfolgt ein Farbumschlag von blau nach gelb und die Extinktion kann nun photometrisch gemessen werden.

#### Chlamydia trachomatis Antigen-EIA

Methode: Chlamydia Microplate EIA von Bio-Rad Laboratories  
Material: Zervixabstrich  
Menge: 100 µl  
Referenzbereich: < Grenzwert (liegt bei ca. 0,1)

Die Chlamydienantigene der aufbereiteten Patientenprobe binden bei dem verwendeten Enzymimmunoassay (EIA) an die monoklonalen Antikörper, mit denen die Mikrotiterplatte beschichtet ist. Nach Zugabe eines polyklonalen Antikörpers gegen Chlamydien bindet dieser an die Antigene. Ein hinzugegebenes Meerrettichperoxidasekonjugat bindet wiederum an den polyklonalen Antikörper. Anschliessend wird ein Peroxidasesubstrat hinzugefügt, das mit dem Peroxidase-markierten Antikörper unter Bildung einer gelb-roten Farbe reagiert, die nun spektrophotometrisch ausgewertet werden kann.

## Chlamydia trachomatis-PCR

Methode:	RealArt™ Chlamydia trachomatis RG PCR, Fa. Artus, Hamburg
Material:	Zervixabstrich, Ejakulat, Urin
Menge:	1 ml
Referenzbereich:	negativ

Die DNA wurde zunächst aus einem 1 ml fassenden Abstrich mit dem QIAmp Viral RNA Mini Kit (Zervixabstrich) bzw. dem QIAmp Mini Kit (Ejakulat, Urin), beide von der Firma Qiagen, Hilden, aufgereinigt. Anschliessend konnten mit Hilfe der PCR selektiv DNA-Abschnitte amplifiziert und durch mehrfache Wiederholung dieses Vorganges sichtbar gemacht werden.

Die PCR wurde nicht wie die anderen Untersuchungen von den Laboren des ENDOKRINOLOGIKUM HAMBURG durchgeführt, sondern von der ebenfalls in Hamburg ansässigen Firma Artus.

## Human Papilloma Virus (HPV)

Die HPV-Diagnostik wurde in dem von Prof. Niendorf geleiteten Labor an aus dem Zervixabstrich gewonnenen Einzelzellen durchgeführt. Die aus der Probe isolierte HPV-DNA wurde zunächst mittels einer zweistufigen Real Time PCR im Bereich des L1 Kapsidantigens amplifiziert, wobei theoretisch ein einziges HPV-DNA-Molekül für den Nachweis ausgereicht hat. Zur Typisierung wurde das amplifizierte virale DNA-Fragment entweder sequenziert, wodurch die Typen 61, 82, 84 und 91 identifiziert werden konnten oder in einer Hybridisierung durch typenspezifische Fangsonden identifiziert, was die Bestimmung der Typen 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 42, 44, 51, 52, 53, 56, 57, 58, 59, 66, 67 und 68 ermöglichte. Vorteil dieser Methode ist die sehr hohe Empfindlichkeit an allen vorhandenen Proben und das breite Typenspektrum.

### Vagin flora

Methode: transystem®, Hain Lifescience, Nehren  
Material: Vaginalabstrich  
Referenzbereich: negativ

### Röteln

Methode: HAH, Biomérieux, Boxtel/Niederlande  
Material: Serum  
Menge: 25 µl  
Referenzbereich:  $\geq 1:8 \rightarrow$  positiv

### Varizellen

Methode: ELISA, Genzyme Virotech, Rüsselsheim  
Material: Serum  
Menge: 5 µl  
Referenzbereich:  $> 11,0 \text{ VE} \rightarrow$  positiv

### Toxoplasmose

Methode: ELISA, Abbott AxSYM System®, Wiesbaden  
Material: Serum  
Menge: 150 µl  
Referenzbereich:  $\geq 3 \text{ IE/ml} \rightarrow$  positiv

## Spermiogramm

Die nach drei- bis fünftägiger Karenz durch Masturbation gewonnenen Ejakulate wurden im Andrologielabor des ENDOKRINOLOGIKUM HAMBURG nach WHO-Standard zum einen makroskopisch hinsichtlich Volumen, Konsistenz, Farbe, Geruch, pH-Wert und Verflüssigungszeit beurteilt und zum anderen mikroskopisch auf Zahl, Motilität und Morphologie der Spermien untersucht. Die Motilität der Spermien wurde nach null und zwei Stunden bestimmt, wobei hier eine Einteilung der WHO zugrunde gelegt wurde: Motilität A = progressiv beweglich, Motilität B = eingeschränkt beweglich, Motilität C = beweglich nur auf der Stelle und Motilität D = unbeweglich. Die Spermiogramme wurden zur Auswertung bzw. Datenerfassung anhand der Befunde wie folgt eingeteilt:

<u>„unauffällig“:</u>	Zahl	> 20 Millionen Spermien / ml	und
	Motilität	> 25% Motilität A oder	
		> 50% Motilität A + B	und
	Morphologie	> 15% normal konfiguriert	
<u>„auffällig“:</u>	Zahl	< 20 Millionen Spermien / ml	oder
	Motilität	< 25% Motilität A oder	
		< 50% Motilität A + B	oder
	Morphologie	< 15% normal konfiguriert	
<u>„ICSI-Befund“:</u>	Motilität	v.a. Motilität C + D	
		wenig bis keine Motilität A + B	oder
	Morphologie	< 4% normal konfiguriert	

## **2.5 Datenspeicherung**

Die Daten wurden entweder unter dem jeweiligen Patientennamen im MEDISTAR – Programm der Gemeinschaftspraxis gespeichert und/oder in den Patientenakten abgeheftet. Aus diesen beiden Quellen wurden später die für die Studie relevanten Daten herausgesucht und in jeweils eine eigene Microsoft-Excel-Tabelle für das Infektionsscreening und die Chlamydienstudie eingetragen und gespeichert.

## **2.6 Statistische Auswertung**

Die Daten wurden ausführlich deskriptiv ausgewertet. Für quantitative Daten (z.B. Alter) wurden Mittelwerte und Standardabweichungen berechnet. Zu qualitativen Daten wurden Vierfeldertafeln erstellt und sie wurden in Ergebnistabellen zusammengefasst. Die Auswertung erfolgte überwiegend mit Hilfe des Excel-Programms.

Auf die schließende Statistik wurde weitgehend verzichtet, da die Ausrichtung der Studie primär deskriptiv war. Somit sollte multiples Testen, welches zwangsläufig zu signifikanten Ergebnissen führen würde (bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% sind von 100 Tests 5 zufälligerweise signifikant), vermieden werden.

Für einige ausgewählte und klinisch relevante Ergebnisse wurde orientierend die statistische Signifikanz überprüft. Hier kam der Chi-Quadrat-Test zum Einsatz.

Die statistische Beratung erfolgte durch Herrn Priv. Doz. Dr. med. Alexander Katalinic, Institut für Krebsepidemiologie e.V., Universität Lübeck.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Ergebnisse aus den Anamnesen und den durchgeführten Untersuchungen

##### 3.1.1 Daten aus der gynäkologischen Anamnese

In Tabelle I sind Angaben aus den gynäkologisch relevanten Daten der Anamnesen getrennt nach den beiden Kohorten „Infektionsscreening“ und „Chlamydienstudie“ zusammengefasst.

Zu beachten ist, dass die Gesamtkohorte kleiner ist als die Summe der beiden Einzelkohorten, da einige Patientinnen in beiden Kohorten vertreten sind.

Tabelle I: Demographische Daten der beiden Kohorten.

Kohorte	Infektionsscreening	Chlamydienstudie	Gesamt
n	163	391	484
Alter (Jahre)*	32,23±4,79	32,73±4,25	32,48±4,52
Dauer des Kinderwunsches (Jahre)*	3,02±2,52	2,86±2,32	2,94±2,42
Dauer der Nicht-Kontrazeption (Jahre)*	3,57±3,26	3,41±3,22	3,42±3,24
Schwangerschaftsanamnese			
... Patientinnen mit vorangehender Schwangerschaft	52 (31,9%)	127 (32,5%)	154 (31,8%)
... Geburten	26 (16,0%)	61 (15,6%)	76 (15,7%)
... Aborte	19 (11,7%)	46 (11,8%)	56 (11,6%)
... Abruptiones	18 (11,0%)	45 (11,5%)	54 (11,2%)
... EUG	4 (2,5%)	7 (1,8%)	9 (1,9%)
Infektionsanamnese			
... Adnexitis	6 (3,7%)	16 (4,1%)	19 (3,9%)
... Tuboovarialabszess	1 (0,6%)	2 (0,5%)	3 (0,6%)
... Saktosalpinx	2 (1,2%)	8 (2,0%)	9 (1,9%)
... IUD	19 (11,7%)	47 (12,0%)	56 (11,6%)
Laparoskopie			
... durchgeführt	60 (36,8%)	154 (39,4%)	184 (38,0%)
... Tubenverschluss einseitig	9 (15,0%)	25 (16,2%)	27 (14,7%)
... Tubenverschluss beidseitig	18 (30,0%)	23 (14,9%)	33 (17,9%)
... Tubenverschluss gesamt	27 (45,0%)	48 (31,2%)	60 (32,6%)
... Adhäsionen	20 (33,3%)	56 (36,4%)	65 (35,3%)
... Endometriose	15 (25,0%)	57 (37,0%)	65 (35,3%)
... Myome	6 (10,0%)	24 (15,6%)	27 (14,7%)
... Zervixstenose	1 (1,7%)	5 (3,2%)	5 (2,7%)

\* Mittelwerte ± Standardabweichung

Kohorte	Infektionsscreening	Chlamydienstudie	Gesamt
n	163	391	484
Sterilität			
... idiopathisch	26 (16,0%)	76 (19,4%)	89 (18,4%)
... tubar	26 (16,0%)	48 (12,3%)	62 (12,8%)
... männlich bedingt	77 (47,2%)	182 (46,5%)	224 (46,3%)
... sonstiges	3 (1,8%)	5 (1,3%)	7 (1,4%)
... endokrin	28 (17,2%)	79 (20,2%)	99 (20,5%)
... unbekannt	3 (1,8%)	1 (0,3%)	3 (0,6%)

### 3.1.2 Durchgeführte Untersuchungen

Neben Art und Zahl der durchgeführten Untersuchungen und ihrem prozentualen Anteil im Verhältnis zur Gesamtkohorte zeigt Tabelle II wie häufig die verschiedenen Untersuchungen bei Frauen und Männern zu einem positiven Ergebnis führten.

Tabelle II: Durchgeführte Untersuchungen in den verschiedenen Kohorten und getrennt nach Geschlechtern.

Kohorte	Frauen			Männer
	Infektionsscreening	Chlamydienstudie	Gesamt	Chlamydienstudie
n	163	391	484	373
HPV-Abstrich entnommen	137 (84,0%)	170 (43,5%)	237 (49,0%)	n.d.
... positives Ergebnis*	25 (18,2%)	40 (23,5%)	55 (23,2%)	
Bakterienabstrich entnommen	142 (87,1%)	187 (47,8%)	259 (53,5%)	n.d.
... positives Ergebnis*	62 (43,7%)	83 (44,4%)	114 (44,0%)	
Chlamydien-IgG entnommen	157 (96,3%)	391 (100%)	478 (98,8%)	373 (100%)
... positives Ergebnis	34 (21,7%)	74 (18,9%)	90 (18,8%)	45 (12,1%)
Chlamydien-IgA entnommen	157 (96,3%)	391 (100%)	478 (98,8%)	373 (100%)
... positives Ergebnis	12 (7,6%)	33 (8,4%)	37 (7,7%)	22 (5,9%)
cHSP60 entnommen	n.d.	391 (100%)	391 (100%)	373 (100%)
... positives Ergebnis		83 (21,2%)	83 (21,2%)	63 (16,9%)
Zervixabstrich (Chlamydien-EIA) entnommen	n.d.	381	381	
... positives Ergebnis		2 (0,5%)	2 (0,5%)	
Zervixabstrich (Chlamydien-PCR) entnommen	n.d.	378	378	
... positives Ergebnis		4 (1,1%)	4 (1,1%)	
Urin: Chlamydien-PCR durchgeführt	n.d.	343	343	345 (92,5%)
... positives Ergebnis		2 (0,6%)	2 (0,6%)	2 (0,6%)
sekret. IgA (Seminalplasma) entnommen				173 (46,4%)
... positives Ergebnis				27 (15,6%)
Ejakulat :Chlamydien-PCR durchgeführt				172 (46,1%)
... positives Ergebnis				1 (0,6%)

\* für Details siehe Tabelle IIb u. IIc, n.d. = nicht durchgeführt

### 3.1.3 Ergebnisse der Chlamydien-Diagnostik

In Tabelle IIa wurden die einzelnen Ergebnisse der Chlamydien-IgA- und -IgG-Antikörper- und cHSP60-Bestimmung aus der Chlamydienstudie miteinander vernetzt, um später daraus eine geeignete Kombination zum Chlamydien-Screening in der täglichen Praxis ableiten zu können.

Tabelle IIa: Kombination der Ergebnisse von Chlamydien-IgG-, -IgA- und cHSP60-Bestimmung in der Chlamydienstudie

	Chlamydienstudie	
	Frauen	Männer
n	391	373
Chlamydien-IgG oder -IgA positiv	83 (21,2%)	50 (13,4%)
Chlamydien-IgA oder cHSP60 positiv	94 (24,0%)	74 (19,8%)
Chlamydien-IgG oder cHSP60 positiv	119 (30,4%)	88 (23,6%)
Chlamydien-IgA oder -IgG oder cHSP60 positiv	123 (31,5%)	92 (24,7%)
Chlamydien-IgA und -IgG und cHSP60 positiv	17 (4,4%)	11 (3,0%)

### 3.1.4 Ergebnisse der HPV-Diagnostik

HPV-Infektionen fanden sich bei 55 von 237 Patientinnen, bei denen ein HPV-Abstrich entnommen wurde. Die verhältnismäßig niedrige Entnahmerate ist darin begründet, dass die HPV-Diagnostik nicht Bestandteil der Chlamydienstudie war. Die Ergebnisse aus der folgenden Tabelle sind daher nur sehr begrenzt verwertbar. Tabelle IIb stellt die Häufigkeitsverteilung der verschiedenen HPV-Typen dar. Dabei ergaben sich in fünf Fällen Doppelinfektionen (Typen 59 und 68, Typen 58 und 42, Typen 31 und 35, Typen 18 und 51 und Typen 16 und 51).

Tabelle IIb: Häufigkeit der verschiedenen HPV-Typen.

	Kohorte	Infektionsscreening	Chlamydienstudie	Gesamt
	n	163	391	484
	HPV-Abstrich entnommen	137 (84,0%)	170 (43,5%)	237 (49,0%)
	positives Ergebnis (pro entnommenem Abstrich)	25 (18,2%)	40 (23,5%)	55 (23,2%)
HPV - Typ	99*	9	7	15
	16	2	4	5
	31	1	4	5
	42	2	5	5
	66		5	5
	51	2	4	4
	56	1	2	3
	58	1	3	3
	33	1	1	2
	39	1	1	2
	59	1	2	2
	91	1	2	2
	18		1	1
	35		1	1
	45	1		1
	52	1	1	1
	67	1		1
68	1	1	1	
82	1	1	1	

\*99 = andere Typen

### 3.1.5 Ergebnisse der Bakterien-Diagnostik

Bakterielle Infektionen fanden sich insgesamt bei 114 von 259 untersuchten Patientinnen. Tabelle IIc gibt Aufschluss über die verschiedenen Erreger und die Häufigkeit ihres Auftretens. Die häufigsten Keime waren hier Gardnerella vaginalis (28,8%) und Ureaplasma urealyticum (23,5%). Außerdem finden sich in der Tabelle Angaben zu Mehrfachinfektionen, da im Gesamtkollektiv 36,8% der Patientinnen mit einer pathologischen bakteriellen Besiedelung, mit zwei oder mehr Keimen infiziert waren. Auch hier sind die Ergebnisse wieder nur begrenzt verwertbar, da die Untersuchung der Vaginalflora auf pathologische Keime ebenfalls nicht Teil der Chlamydienstudie war und somit nur eine relativ niedrige Entnahmekote vorliegt.

Tabelle IIc: Häufigkeit der verschiedenen Keime im Vaginalabstrich.

	Kohorte	Infektionscreening	Chlamydienstudie	Gesamt
	n	163	391	484
	Bakterienabstrich entnommen	142 (87,1%)	187 (47,8%)	259 (53,4%)
	positives Ergebnis	62 (43,7%)	83 (44,4%)	114 (44,0%)
		40 Einfachinfektionen	52 Einfachinfektionen	72 Einfachinfektionen
		18 Doppelinfektionen	23 Doppelinfektionen	31 Doppelinfektionen
		2 Dreifachinfektionen	7 Dreifachinfektionen	9 Dreifachinfektionen
		1 Vierfachinfektionen	1 Fünffachinfektion	1 Vierfachinfektionen
		1 Fünffachinfektion		1 Fünffachinfektion
Keimart	Gardnerella vaginalis	34 (37,4%)	33 (26,6%)	49 (28,8%)
	Ureaplasma urealyticum	26 (28,6%)	28 (22,6%)	40 (23,5%)
	B-Streptokokken	7 (7,7%)	22 (17,7%)	24 (14,1%)
	Darmkeime*	9 (9,9%)	19 (15,3%)	24 (14,1%)
	Candida albicans	10 (10,0%)	17 (13,7%)	25 (14,7%)
	Sonstige*	5 (5,5%)	5 (4,0%)	8 (4,7%)

\* Darmkeime: E.coli, Enterococcus faecalis, Enterobacter cloacae

Sonstige : Staph. aureus, Staph. haemolyticus, Saccharomyces cervisiae, Mykoplasmen

### 3.1.6 Immunstatus

Der Impfschutz bzw. Immunstatus der Patientinnen bezüglich Röteln, Varizellen und Toxoplasmose war in über 90% der Fälle bekannt oder ist im Rahmen der Erstuntersuchungen bestimmt worden. Die Ergebnisse sind in Tabelle III zusammengefasst. Dabei fand sich in den meisten Fällen ein Immunschutz gegen Röteln (98%), ähnlich häufig lag auch ein Schutz gegen Varizellen vor (97%). Der Immunschutz gegen eine Toxoplasmose lag hingegen nur bei etwa 32%. Bei denjenigen Patientinnen, bei denen der Immunschutz gegen Röteln nicht bekannt war, handelte es sich um solche, die nach der Erstvorstellung nicht wiedergekommen waren oder bei denen (noch) keine Kinderwunschtherapie begonnen wurde (siehe auch Tabelle IV).

Tabelle III: Immunschutz gegen Röteln, Varizellen und Toxoplasmose.

Kohorte	Infektionsscreening	Chlamydienstudie	Gesamt
n	163	391	484
Röteln (Immunstatus bekannt)	151 (92,6%)	359 (91,8%)	444 (91,7%)
... Immunschutz	150 (99,3%)	350 (97,5%)	434 (97,7%)
... kein Immunschutz	1 (0,7%)	9 (2,5%)	10 (2,3%)
... Immunstatus unbekannt	12 (7,4%)	32 (8,2%)	40 (8,3%)
Varizellen (Immunstatus bekannt)	150 (92,0%)	375 (95,9%)	460 (95,0%)
... Immunschutz	143 (95,3%)	362 (96,5%)	444 (96,5%)
... kein Immunschutz	7 (4,7%)	13 (3,5%)	16 (3,5%)
... Immunstatus unbekannt	13 (8,0%)	16 (4,1%)	24 (5,0%)
Toxoplasmose (Immunstatus bekannt)	155 (95,1%)	376 (96,2%)	463 (95,7%)
... Immunschutz	47 (30,3%)	121 (32,2%)	149 (32,2%)
... kein Immunschutz	108 (69,7%)	255 (67,8%)	314 (67,8%)
... Immunstatus unbekannt	8 (4,9%)	15 (3,8%)	21 (4,3%)

### 3.1.7 Primärtherapie bei unerfülltem Kinderwunsch

Tabelle IV gibt eine Übersicht zur gewählten Primärtherapie bei den Paaren in der Chlamydienstudie. Die Primärtherapie wurde für die Gruppe mit dem reinen Infektionsscreening nicht erhoben.

Tabelle IV: Primärtherapie bei unerfülltem Kinderwunsch.

Primärtherapie	Chlamydienstudie
IUI	79 (20,2%)
IVF	48 (12,3%)
ICSI	73 (18,7%)
Hormone/Metformin	59 (15,1%)
noch nicht festgelegt/Pat. nicht wiedergekommen	123 (31,5%)
... davon Spontankonzeptionen	13 (10,6%)
Sonstiges	6 (1,5%)
keine Therapie sinnvoll	2 (0,5%)
nicht bekannt	1 (0,3%)

### 3.1.8 Ergebnisse der andrologischen Anamnese und Diagnostik

Bei den Spermogrammen lagen 373 Befunde im Rahmen der Chlamydienstudie vor. Davon waren 94 Befunde unauffällig (25,2%). 198 Spermogramme zeigten Auffälligkeiten (53,1%) und in 81 Fällen ergab sich ein ICSI-Befund (21,7%). Zu den Kriterien der Einteilung der Spermogrammbefunde siehe auch „2.4.2 Methoden zur Messung der Befunde“, S.18. 37 Männer hatten bereits in einer anderen Partnerschaft eine Schwangerschaft erzielt. In Tabelle V sind Angaben zur andrologischen Anamnese zusammengestellt.

Tabelle V: Angaben zur andrologischen Anamnese.

Vorerkrankungen/Voroperationen	Chlamydienstudie
n	373
Epididymitis	5 (1,3%)
Sterilisatio	3 (0,8%)
Refertilisierung (bezogen auf Sterilisatio)	2 (66,6%)
Varikozele	84 (22,5%)
Hydrozele	22 (5,9%)
Spermatozele	13 (3,5%)
Z.n. Hodenhochstandsbehandlung	25 (6,7%)
Entzündungen (Prostatitis, Orchitis)	9 (2,4%)
Mikrolithiasis	5 (1,3%)
Z.n. Chemotherapie	9 (2,4%)
Tumor (Hoden, Nebenhoden)	7 (1,9%)
Orchiektomie	7 (1,9%)
TESE notwendig	10 (2,7%)

## 3.2 Gegenüberstellung von Ergebnissen

### 3.2.1 Vergleich von Befunden aus der Infektionsserologie und anamnestischen Daten

Tabelle VI stellt dar, wie viel Prozent der Patientinnen bei einem positiven Ergebnis in der Chlamydien-, HPV- oder Bakteriendiagnostik, in der Vorgeschichte eine Adnexitis, einen Tuboovarialabszess oder eine Saktosalpinx haben. Die Beziehung zu einem zeitweiligen Tragen eines Intrauterinpeessars (IUD) ist ebenfalls dargestellt. Umgekehrt wird auch gezeigt, wie häufig eine negative infektiologische Abklärung bei einem auffälligen Befund in der Anamnese vorliegt.

Tabelle VI: Positive und negative Infektionsserologie bei einem positiven Befund in der Anamnese.

	Kohorte	Infektionsscreening		Chlamydienstudie		Gesamt		
		Befund	Test positiv	Test negativ	Test positiv	Test negativ	Test positiv	Test negativ
Chlamydien IgG	n		34	123	74	317	90	388
	Adnexitis		2 (5,9%)	3 (2,4%)	7 (9,5%)	9 (2,8%)	8 (8,9%)	10 (2,6%)
	Tuboovarialabszess		0	1 (0,8%)	0	2 (0,6%)	0	3 (0,8%)
	Saktosalpinx		1 (2,9%)	0	6 (8,1%)	2 (0,6%)	6 (6,7%)	2 (0,5%)
	IUD		9 (26,4%)	8 (6,5%)	14 (18,9%)	33 (10,4%)	18 (20,0%)	36 (9,3%)
Chlamydien IgA	n		12	145	33	358	37	441
	Adnexitis		1 (8,3%)	4 (2,8%)	3 (9,1%)	13 (3,6%)	3 (8,1%)	15 (3,4%)
	Tuboovarialabszess		0	1 (0,7%)	0	2 (0,6%)	0	3 (0,7%)
	Saktosalpinx		1 (8,3%)	0	4 (12,1%)	4 (1,1%)	4 (10,8%)	4 (0,9%)
	IUD		5 (41,7%)	12 (8,3%)	9 (27,3%)	38 (10,6%)	10 (27,0%)	44 (10,0%)
cHSP60-Titer	n				83	308	83	308
	Adnexitis				4 (4,8%)	12 (3,9%)	4 (4,8%)	12 (3,9%)
	Tuboovarialabszess				1 (1,2%)	1 (0,3%)	1 (1,2%)	1 (0,3%)
	Saktosalpinx				8 (9,6%)	0	8 (9,6%)	0
	IUD				16 (19,3%)	31 (10,1%)	16 (19,3%)	31 (10,1%)
Cervix-HPV Abstrich	n		25	112	40	130	55	182
	Adnexitis		0	5 (4,5%)	0	7 (5,4%)	0	9 (4,9%)
	Tuboovarialabszess		1 (4,0%)	0	0	0	0	0
	Saktosalpinx		0	1 (0,9%)	2 (5,0%)	2 (1,5%)	2 (3,6%)	2 (1,1%)
	IUD		4 (16,0%)	12 (10,7%)	5 (12,5%)	14 (10,8%)	7 (12,7%)	18 (9,9%)
Cervix-Bakt. Abstrich	n		62	80	83	106	114	147
	Adnexitis		3 (4,8%)	2 (2,5%)	2 (2,4%)	4 (3,8%)	4 (3,5%)	4 (2,7%)
	Tuboovarialabszess		0	0	0	1 (0,9%)	0	1 (0,7%)
	Saktosalpinx		0	1 (1,3%)	1 (1,2%)	3 (2,8%)	1 (0,9%)	3 (2,0%)
	IUD		9 (14,5%)	7 (8,8%)	10 (12,0%)	10 (9,4%)	13 (11,4%)	13 (8,8%)

Tabelle VII stellt im Gegensatz zu Tabelle VI dar, wie häufig die Infektionsabklärung bei Patientinnen bezüglich Chlamydien, HPV und Bakterien positiv ist, wenn sie bereits einmal an einer Adnexitis, einem Tuboovarialabszess oder einer Saktosalpinx erkrankt waren oder ein IUD getragen haben (positive Anamnese) bzw. wie häufig eine positive Infektionsabklärung bei einer unauffälligen (negativen) Anamnese vorkommt.

Tabelle VII: Positiver und negativer Befund in der Anamnese bei einer positiven Infektionsserologie.

	Kohorte	Infektionsscreening		Chlamydienstudie		Gesamt		
		Befund	Anamnese positiv	Anamnese negativ	Anamnese positiv	Anamnese negativ	Anamnese positiv	Anamnese negativ
Adnexitis	n		8	157	16	373	19	463
	Chlamydien IgG		2 (33,3%)	32 (20,4%)	7 (43,8%)	67 (18,0%)	8 (42,1%)	82 (17,7%)
	Chlamydien IgA		1 (16,7%)	11 (7,0%)	3 (18,8%)	30 (8,0%)	3 (15,8%)	34 (7,3%)
	cHSP60-Titer				4 (25,0%)	79 (21,2%)	4 (25,0%)	79 (21,2%)
	Cervix-HPV		0	25 (15,9%)	0	40 (10,7%)	0	55 (11,9%)
	Cervix-Bakterien		5 (50,0%)	59 (37,6%)	2 (12,5%)	81 (21,7%)	4 (21,1%)	110 (23,8%)
Tuboovarialabszess	n		1	162	2	388	3	480
	Chlamydien IgG		0	34 (21,0%)	0	74 (19,1%)	0	90 (18,8%)
	Chlamydien IgA		0	12 (7,4%)	0	33 (8,5%)	0	37 (7,7%)
	cHSP60-Titer				1 (50,0%)	82 (21,1%)	1 (50,0%)	82 (21,1%)
	Cervix-HPV		1 (100%)	24 (14,8%)	0	40 (10,3%)	1 (33,3%)	54 (11,3%)
	Cervix-Bakterien		0	62 (38,3%)	0	83 (21,4%)	0	114 (23,8%)
Saktosalpinx	n		2	161	8	382	9	474
	Chlamydien IgG		1 (50,0%)	33 (20,5%)	6 (75,0%)	68 (17,8%)	6 (66,7%)	84 (17,7%)
	Chlamydien IgA		1 (50,0%)	11 (6,8%)	4 (50,0%)	29 (7,6%)	4 (44,4%)	33 (7,0%)
	cHSP60-Titer				8 (100%)	75 (19,6%)	8 (100%)	75 (19,6%)
	Cervix-HPV		0	25 (15,5%)	2 (25,0%)	38 (9,9%)	2 (22,2%)	53 (11,2%)
	Cervix-Bakterien		0	62 (38,5%)	1 (12,5%)	82 (21,5%)	1 (11,1%)	113 (23,8%)
IUD	n		19	144	47	342	56	426
	Chlamydien IgG		9 (47,4%)	25 (17,4%)	14 (29,8%)	60 (17,5%)	18 (32,1%)	72 (16,9%)
	Chlamydien IgA		4 (21,1%)	7 (4,9%)	9 (19,1%)	24 (7,0%)	10 (17,9%)	27 (6,3%)
	cHSP60-Titer				16 (34,0%)	67 (19,6%)	16 (34,0%)	67 (19,6%)
	Cervix-HPV		4 (21,1%)	21 (14,6%)	5 (10,6%)	35 (10,2%)	7 (12,5%)	48 (11,3%)
	Cervix-Bakterien		9 (47,4%)	53 (36,8%)	10 (21,3%)	73 (21,3%)	13 (23,2%)	101 (23,7%)

### 3.2.2 Vergleich von Befunden aus der Infektionsserologie und der Laparoskopie

In Tabelle VIII ist aufgeführt, wie häufig sich eine positive Infektionsabklärung findet, wenn die laparoskopische Untersuchung einen positiven Befund im Sinne eines ein- oder beidseitigen Tubenverschlusses oder Adhäsionen im Bereich des kleinen Beckens ergeben hat bzw. wenn die Laparoskopie keinen pathologischen, also einen negativen Befund ergab.

Tabelle VIII: Positive und negative Befunde in der Laparoskopie bei einer positiven Infektionsserologie.

Befund	Kohorte	Infektionsscreening		Chlamydienstudie		Gesamt	
		Laparoskopie positiv	Laparoskopie negativ	Laparoskopie positiv	Laparoskopie negativ	Laparoskopie positiv	Laparoskopie negativ
Tubenverschuß	n	27	22	48	90	60	102
	Chlamydien IgG	8 (29,6%)	7 (31,8%)	16 (33,3%)	22 (24,4%)	19 (31,7%)	24 (23,5%)
	Chlamydien IgA	4 (14,8%)	2 (9,1%)	8 (16,7%)	7 (7,8%)	9 (15,0%)	7 (6,9%)
	cHSP60-Titer			21 (43,8%)	19 (21,1%)	21 (43,8%)	19 (21,1%)
	Cervix-HPV	4 (14,8%)	4 (18,2%)	7 (14,6%)	15 (16,7%)	9 (15,0%)	16 (15,7%)
	Cervix-Bakterien	7 (25,9%)	8 (36,4%)	11 (22,9%)	17 (18,9%)	13 (21,7%)	20 (19,6%)
Adhäsionen	n	20	31	56	83	65	101
	Chlamydien IgG	5 (25,0%)	11 (35,5%)	20 (35,7%)	18 (21,7%)	22 (33,8%)	23 (22,8%)
	Chlamydien IgA	3 (15,0%)	3 (9,7%)	12 (21,4%)	5 (6,0%)	12 (18,5%)	6 (5,9%)
	cHSP60-Titer			22 (39,3%)	18 (21,7%)	22 (39,3%)	18 (21,7%)
	Cervix-HPV	3 (15,0%)	5 (16,1%)	8 (14,3%)	14 (16,9%)	10 (15,4%)	15 (14,9%)
	Cervix-Bakterien	7 (35,0%)	10 (32,3%)	11 (19,6%)	18 (21,7%)	14 (21,5%)	22 (21,8%)
Tubenverschuß/u/o Adhäsionen	n	35	16	77	67	93	77
	Chlamydien IgG	9 (25,7%)	7 (43,8%)	24 (31,2%)	16 (23,9%)	28 (30,1%)	18 (23,4%)
	Chlamydien IgA	4 (11,4%)	2 (12,5%)	12 (15,6%)	6 (9,0%)	13 (14,0%)	6 (7,8%)
	cHSP60-Titer			27 (35,1%)	14 (20,9%)	27 (35,1%)	14 (20,9%)
	Cervix-HPV	5 (14,3%)	4 (25,0%)	10 (13,0%)	12 (17,9%)	13 (14,0%)	13 (16,9%)
	Cervix-Bakterien	11 (31,4%)	5 (31,3%)	16 (20,8%)	13 (19,4%)	20 (21,5%)	15 (19,5%)

Tabelle IX stellt umgekehrt dar, wie häufig sich bei den verschiedenen Infektionen ein pathologischer Befund in der Laparoskopie findet bzw. wie häufig die Infektionsserologie negativ ist bei einem positiven Laparoskopiebefund .

Tabelle IX: Positive und negative Infektionsserologie bei einem positiven Befund in der Laparoskopie.

	Kohorte	Infektionsscreening		Chlamydienstudie		Gesamt	
	Befund	Test positiv	Test negativ	Test positiv	Test negativ	Test positiv	Test negativ
Chlamydien IgG	n	34	123	74	317	90	388
	Tubenverschluß	9 (26,5%)	16 (13,0%)	16 (21,6%)	33 (10,4%)	19 (21,1%)	40 (10,3%)
	Adhäsionen	6 (17,6%)	13 (10,6%)	20 (27,0%)	36 (11,4%)	22 (24,4%)	42 (10,8%)
	Tubenverschluß u/o Adhäsionen	10 (29,4%)	23 (18,7%)	24 (32,4%)	54 (17,0%)	28 (31,1%)	64 (16,5%)
Chlamydien IgA	n	12	145	33	358	37	441
	Tubenverschluß	4 (33,3%)	21 (14,5%)	8 (24,2%)	40 (11,2%)	9 (24,3%)	49 (11,1%)
	Adhäsionen	3 (25,0%)	16 (11,0%)	12 (36,4%)	44 (12,2%)	12 (32,4%)	52 (11,8%)
	Tubenverschluß u/o Adhäsionen	4 (33,3%)	29 (20,0%)	12 (36,4%)	66 (18,4%)	13 (35,1%)	79 (17,9%)
cHSP60- Titer	n			83	308	83	308
	Tubenverschluß			21 (25,3%)	27 (8,8%)	21 (25,3%)	27 (8,7%)
	Adhäsionen			22 (26,5%)	34 (11,0%)	22 (26,5%)	34 (11,0%)
	Tubenverschluß u/o Adhäsionen			27 (32,5%)	50 (16,2%)	27 (32,5%)	50 (16,2%)
Cervix-HPV Abstrich	n	25	112	40	130	55	182
	Tubenverschluß	4 (16,0%)	21 (18,8%)	7 (17,5%)	21 (16,2%)	9 (16,4%)	29 (15,9%)
	Adhäsionen	3 (12,0%)	14 (12,5%)	8 (20,0%)	21 (16,2%)	10 (18,2%)	25 (13,7%)
	Tubenverschluß u/o Adhäsionen	5 (20,0%)	26 (23,2%)	10 (25,0%)	32 (24,6%)	13 (23,6%)	41 (22,5%)
Cervix-Bakt. Abstrich	n	62	80	83	106	114	147
	Tubenverschluß	7 (11,3%)	18 (22,5%)	11 (13,3%)	18 (17,0%)	13 (11,4%)	26 (17,7%)
	Adhäsionen	7 (11,3%)	12 (15,0%)	11 (13,3%)	20 (18,9%)	14 (12,3%)	25 (17,0%)
	Tubenverschluß u/o Adhäsionen	11 (17,7%)	22 (27,5%)	16 (19,3%)	28 (26,4%)	20 (17,5%)	38 (25,9%)

### 3.2.3 Zusammenhang zwischen einer positiven Infektionsserologie und der Kinderwunsch- bzw. Nicht-Kontrazeptionsdauer

In den folgenden Tabellen Xa und Xb ist der Zusammenhang zwischen einer positiven Infektionsserologie und der Dauer des Kinderwunsches bzw. der Dauer der Nicht- Kontrazeption für die Gesamtkohorte dargestellt.

Tabelle Xa: Zusammenhang zwischen der Kinderwunschdauer und einer positiven Infektionsserologie.

Kohorte	Gesamt				Chi-Quadrat-Test für linearen Trend
	0-1 Jahr	>1-3 Jahre	>3-5 Jahre	>5 Jahre	
n	110	245	74	54	p-Wert
IgG positiv	14 (12,7%)	45 (18,4%)	15 (20,3%)	16 (29,6%)	0,01
IgA positiv	6 (5,5%)	19 (7,8%)	7 (9,5%)	5 (9,3%)	n.s.
cHSP60 positiv	17 (19,1%)	35 (17,6%)	18 (30,0%)	13 (31,0%)	0,05
HPV positiv	13 (11,8%)	25 (10,2%)	10 (13,5%)	7 (13,0%)	n.s.
Bakterien positiv	33 (30,0%)	48 (19,6%)	17 (23,0%)	16 (29,6%)	n.s.

n.s. = nicht signifikant

Tabelle Xb: Zusammenhang zwischen der Dauer der Nicht-Kontrazeption und einer positiven Infektionsserologie. (Der Chi-Quadrat-Test für linearen Trend zeigte hier keine Signifikanz.)

Kohorte	Gesamt			
	0-1 Jahr	>1-3 Jahre	>3-5 Jahre	>5 Jahre
n	104	209	92	77
IgG positiv	13 (12,5%)	39 (18,7%)	18 (19,6%)	20 (26,0%)
IgA positiv	6 (5,8%)	14 (6,7%)	8 (8,7%)	9 (11,7%)
cHSP60 positiv	17 (20,0%)	26 (15,5%)	20 (26,3%)	20 (32,8%)
HPV positiv	10 (9,6%)	22 (10,5%)	13 (14,1%)	9 (11,7%)
Bakterien positiv	31 (29,8%)	45 (21,5%)	17 (18,5%)	21 (27,3%)

### 3.2.4 Gleichzeitige Infektion mit verschiedenen Keimen

Ob die verschiedenen Infektionen mit Chlamydien, HPV oder Bakterien sich häufiger finden, wenn auch eine Infektion mit einem der jeweils anderen Keime vorliegt, zeigen die Tabellen XIa bis XI d.

Die Quersummen stimmen hier nicht mit den Gesamtsummen überein, was sich dadurch erklären lässt, dass beispielsweise nicht alle Patientinnen, bei denen ein IgG-Titer bestimmt wurde, auch auf Bakterien oder HPV untersucht wurden.

Tabelle XIa: Positive und negative Chlamydien-Antikörper-Titer im Verhältnis zu einem positiven Nachweis von cHSP60, HPV und Bakterien.

	n	cHSP60 positiv	cHSP60 negativ	HPV positiv	HPV negativ	Bakterien positiv	Bakterien negativ
n		83	308	55	182	114	145
IgG positiv	90	38 (42,2%)	36 (40,0%)	13 (14,4%)	21 (23,3%)	28 (31,1%)	19 (21,1%)
IgG negativ	388	45 (11,6%)	272 (70,1%)	41 (10,6%)	161 (41,5%)	86 (22,2%)	126 (32,5%)
IgA positiv	37	22 (59,5%)	11 (29,7%)	7 (18,9%)	11 (29,7%)	7 (18,9%)	14 (37,8%)
IgA negativ	441	61 (13,8%)	297 (67,3%)	47 (10,7%)	171 (38,8%)	107 (24,3%)	131 (29,7%)

Tabelle XIb: Positive und negative HPV-Befunde im Verhältnis zu einem positiven Nachweis von Chlamydien-Antikörpern, cHSP60 und Bakterien.

	n	IgG positiv	IgG negativ	IgA positiv	IgA negativ	cHSP60 positiv	cHSP60 negativ	Bakterien positiv	Bakterien negativ
n		90	388	37	441	83	308	114	145
HPV positiv	55	13 (23,6%)	42 (76,4%)	7 (12,7%)	48 (87,3%)	11 (20,0%)	44 (80,0%)	22 (40,0%)	21 (38,2%)
HPV negativ	182	34 (18,7%)	148 (81,3%)	14 (7,7%)	168 (92,3%)	28 (15,4%)	154 (84,6%)	74 (40,7%)	77 (42,3%)

Tabelle XIc: Positive und negative Bakterienbefunde im Verhältnis zu einem positiven Nachweis von Chlamydien-Antikörpern, cHSP60 und HPV.

	n	IgG positiv	IgG negativ	IgA positiv	IgA negativ	cHSP60 positiv	cHSP60 negativ	HPV positiv	HPV negativ
n		90	388	37	441	83	308	55	182
Bakterien positiv	114	28 (24,6%)	86 (75,4%)	7 (6,1%)	107 (93,9%)	15 (18,1%)	99 (86,8%)	22 (19,3%)	52 (45,6%)
Bakterien negativ	145	23 (15,9%)	122 (94,1%)	16 (11,0%)	129 (89,0%)	24 (23,1%)	121 (83,4%)	29 (20,0%)	69 (47,6%)

Tabelle XI d: Positive und negative cHSP60-Titer im Verhältnis zu einem positiven Nachweis von Chlamydien-Antikörpern, HPV und Bakterien.

	n	IgG positiv	IgG negativ	IgA positiv	IgA negativ	HPV positiv	HPV negativ	Bakterien positiv	Bakterien negativ
n		74	317	33	358	40	130	83	104
cHSP60 positiv	83	38 (45,8%)	45 (54,2%)	22 (26,5%)	61 (73,5%)	11 (13,3%)	28 (33,7%)	15 (18,1%)	24 (28,9%)
cHSP60 negativ	308	36 (11,7%)	272 (88,3%)	11 (3,6%)	297 (96,4%)	29 (9,4%)	102 (33,1%)	68 (22,1%)	80 (26,9%)

### 3.3 Ergebnisse der Männer in der Chlamydienstudie

Tabelle XII zeigt die Häufigkeit einer beim Mann nachgewiesenen Chlamydieninfektion bezogen auf den Befund im Spermogramm.

Tabelle XII: Chlamydieninfektion bezogen auf den Spermogrammbefund.

Spermogrammbefund	unauffällig	auffällig	ICSI-Befund
n	94	198	81
Chlamydien-IgG positiv	12 (12,7%)	21 (10,6%)	8 (9,9%)
Chlamydien-IgA positiv	6 (6,4%)	10 (5,1%)	5 (6,2%)
cHSP60 positiv	9 (9,6%)	37 (18,7%)	14 (17,3%)
Urin: Chlamydien-PCR positiv	1 (1,1%)	0	1 (1,2%)
sekret. IgA (Seminalplasma) positiv	6 (6,4%)	17 (8,6%)	4 (4,9%)
Ejakulat: Chlamydien-PCR positiv	1 (1,1%)	0	0

Die Tabellen XIIIa bis XIIIc zeigen, wie die verschiedenen Befunde in der Chlamydiendiagnostik beim Mann miteinander korrelieren.

Tabelle XIIIa: Positive und negative Chlamydien-Antikörper-Titer im Verhältnis zu einem positivem Nachweis von cHSP60 und sekretorischem IgA.

	n	cHSP60 positiv	cHSP60 negativ	sekret. IgA positiv	sekret. IgA negativ
n		63	310	27	146
IgG positiv	45	20 (44,4%)	25 (55,6%)	13 (28,9%)	8 (17,8%)
IgG negativ	328	43 (13,1%)	285 (86,9%)	14 (4,3%)	138 (42,1%)
IgA positiv	22	11 (50,0%)	11 (50,0%)	8 (36,4%)	3 (13,6%)
IgA negativ	351	52 (14,8%)	299 (85,2%)	19 (5,4%)	143 (40,7%)

Tabelle XIIIb: Positive und negative cHSP60-Titer im Verhältnis zu einem positiven Nachweis von Chlamydien-Antikörpern und sekretorischem IgA.

	n	IgG positiv	IgG negativ	IgA positiv	IgA negativ	sekret. IgA positiv	sekret. IgA negativ
n		45	328	22	351	27	146
cHSP60 positiv	63	20 (31,7%)	43 (68,3%)	11 (17,5%)	52 (82,5%)	11 (17,5%)	20 (31,7%)
cHSP60 negativ	310	25 (8,1%)	285 (91,9%)	11 (3,5%)	299 (96,5%)	16 (5,2%)	126 (40,6%)

Tabelle XIIIc: Positive und negative Bestimmung von sekretorischem IgA (Seminalplasma) im Verhältnis zu einem positiven Nachweis von Chlamydien-Antikörpern und cHSP60.

	n	IgG positiv	IgG negativ	IgA positiv	IgA negativ	cHSP60 positiv	cHSP60 negativ
n		45	328	22	351	63	310
sekret. IgA positiv	27	13 (28,9%)	14 (51,9%)	8 (29,6%)	19 (70,4%)	11 (40,7%)	16 (59,3%)
sekret. IgA negativ	146	8 (5,5%)	138 (94,5%)	3 (2,1%)	143 (97,9%)	20 (13,7%)	126 (86,3%)

## **4. Diskussion**

### **4.1 Einleitung**

Es wurde eine umfangreiche, mehrteilige Untersuchung zu Infektionen bei Paaren mit unerfülltem Kinderwunsch durchgeführt. Dabei zeigte sich in der prospektiven, nicht kontrollierten Erhebung ein sehr guter Immunstatus der Patientinnen bezüglich Röteln- und Varizellenschutz (97,7% bzw. 96,5%), der Toxoplasmoseschutz war dagegen mit 32,2% relativ niedrig. Vaginale Infektionen wiesen eine hohe Prävalenz auf, z.B. konnte bei 28,8% der Patientinnen *Gardnerella vaginalis* nachgewiesen werden.

In der prospektiven, standardisierten Studie zu Chlamydieninfektionen ließen sich zwei Aspekte darstellen: zum einen ist offensichtlich die gleichzeitige Bestimmung von IgG-Antikörpern und cHSP60 anderen diagnostischen Verfahren überlegen, zum anderen fand sich eine relevante Prävalenz von Chlamydieninfektionen in 31,5% der Fälle, basierend auf dem Nachweis von IgG- und IgA-Antikörpern und cHSP60.

### **4.2 Chlamydieninfektionen**

Bei der Auswertung der Daten wird deutlich, dass die Prävalenz von Chlamydieninfektionen in diesem prospektiv erfassten Kollektiv von Kinderwunschpaaren gegenüber der Normalbevölkerung erhöht ist. Von 391 untersuchten Patientinnen in der Chlamydienstudie, konnten bei 74 (18,9%) IgG-Antikörper gegen *Chlamydia trachomatis* nachgewiesen werden, 33 (8,4%) wiesen IgA-Antikörper auf und 83 (21,1%) cHSP60. Die Kombination der drei Parameter ergab eine Gesamtprävalenz von 123 (31,5%) Chlamydieninfektionen, wobei die zusätzliche Bestimmung von IgA-Antikörpern keinen nennswerten diagnostischen Vorteil brachte (31,5% versus 30,4%), aber trotzdem mit durchgeführt werden sollte, da ihr Nachweis Hinweis auf eine akute Chlamydieninfektion geben kann. IgA-Antikörper müssen aber nicht immer Ausdruck einer akuten Infektion sein, da sie selbst nach erfolgreicher Therapie

noch über Jahre hinweg persistieren können (Bax et al. 2003). Bei Frauen ohne unerfüllten Kinderwunsch liegt die Prävalenz einer Chlamydieninfektion ausgehend von nachgewiesenen IgG-Antikörpern je nach Alter bei den 20 bis 24-Jährigen bei 8% und bei den 35 bis 39-Jährigen bei 2,5 % (Koch et al. 1997). Teilt man die Population nicht nach dem Alter ein sondern nach dem Risiko, an einer Chlamydieninfektion zu erkranken, liegt die Prävalenz für Frauen mit einem niedrigen Risiko bei 1,3%, für Risikopatientinnen bei 9,8% (Semeniuk 2002). Als Risikofaktoren gelten vor allem junges Alter und Promiskuität.

Von den 373 untersuchten Männern hatten 45 (12,1%) IgG-Antikörper, 22 (5,9%) IgA-Antikörper und 63 (16,9%) cHSP60 gebildet. Aus der Kombination aller Parameter ergab sich eine Prävalenz von 24,7%, womit eine Chlamydieninfektion in diesem Kollektiv um knapp 7% häufiger bei Frauen als bei Männern zu finden war. In einer anderen Studie (Mason et al. 2000) lag die Prävalenz von *Chlamydia trachomatis* bei asymptomatischen Männern bei 4%, bei Männern mit Symptomatik bei 15%. Der Nachweis erfolgte hier mittels EIA aus dem Urin der Patienten.

Wie schon andere Arbeiten zuvor (Idahl et al. 2004) zeigt damit auch diese Arbeit, dass Kinderwunschaare besonders im Hinblick auf genitale Infektionen mit *Chlamydia trachomatis* ein Kollektiv mit erhöhter Prävalenz bilden, auch wenn der Antikörpernachweis nicht immer auch gleichbedeutend mit einer Tubenpathologie ist. So können Frauen mit *Chlamydia trachomatis*-Antikörpern eine intakte Tubenfunktion haben, andersherum müssen Patientinnen mit pathologischen Tubenveränderungen nicht zwangsläufig eine Chlamydieninfektion durchgemacht haben (Bax et al. 2003). In der vorliegenden Arbeit hatten nur 8,9% der Patientinnen mit einem positiven IgG-Titer in der Anamnese eine Adnexitis (versus 2,6% bei negativem Titer) und 6,7% eine Saktosalpinx (versus 0,5% bei negativem Titer). Andersherum hatten aber 42,1% der Patientinnen mit einer vorausgegangenen Adnexitis bzw. 66,7% mit einer Saktosalpinx einen positiven Antikörpernachweis. Patientinnen ohne Adnexitis oder Saktosalpinx in der Anamnese hatten dagegen nur in jeweils 17,7% einen positiven IgG-Titer. Bei laparoskopisch gesichertem Tubenverschluss fanden sich in 31,7% der Fälle Chlamydien-Antikörper (versus 23,5% bei durchgängigen Tuben), 21,1% der IgG-positiven und laparoskopierten Patientinnen hatten umgekehrt auch einen Tubenverschluss (versus 10,3% bei negativem Titer).

Der Zusammenhang ( $p=0,11$  für Chlamydien-IgG) zwischen der Dauer des Kinderwunsches und dem Nachweis einer Chlamydieninfektion sollte großzügige Screeninguntersuchungen auf *Chlamydia trachomatis* rechtfertigen, sinnvoller Weise jedoch bereits bevor ein Kinderwunsch auftritt oder unerfüllt bleibt, damit eventuelle Folgeschäden, die zur Sterilität führen können, noch abgewendet werden können.

### **4.3 HPV-Infektionen**

Das besonders in Verbindung mit der Entstehung eines Zervixkarzinoms bedeutsame humane Papillomavirus (HPV) konnte in 55 von 237 Abstrichen (23,2%) gesichert werden, wovon immerhin 37 Proben (67,3%) nach aktuellen Klassifikationen (de Villiers et al. 2004, Munoz et al. 2003) den High-Risk-Typen zuzuordnen sind und weiter kontrolliert werden sollten. In einer amerikanischen Studie, die zur Diagnostik nicht die PCR sondern den Hybrid Capture Assay nutzte, lag die HPV-Durchseuchung unter IVF-Patientinnen bei 16% (Spandorfer et al. 2006)

In anderen Studien differieren die Positiv-Raten unter asymptomatischen Nicht-Kinderwunschpatientinnen zwischen 5,9% bei polnischen (Lukaszuk et al. 2001), 15,9% bei italienischen (Centurioni et al. 2005), 17% bei ungarischen (Nyari et al. 2001) und 27% bei brasilianischen Frauen (Nonnenmacher et al. 2002), wobei ein positiver Zusammenhang zwischen einer HPV-Infektion und jungem Alter, früher Kohabitarche, hoher Zahl von Sexualpartnern, ledigem Familienstand und niedrigem Bildungsstatus gezeigt werden konnte (Nonnenmacher et al. 2002, Nyari et al. 2001). Außer bei der ungarischen Studie, die den Hybrid Capture Assay zum HPV-Nachweis nutzte, wurden auch in diesen Studien die Papillomaviren mittels PCR nachgewiesen. In Deutschland geht man bei Frauen von einer Durchseuchungsrate von etwa 10% aus (Haag et al. 2003, S.379), so dass die Ergebnisse dieser Arbeit im Vergleich zu Frauen, die sich keiner Kinderwunschbehandlung unterziehen, deutlich erhöht sind und ein HPV-Screening auch im Rahmen einer Kinderwunschbehandlung sinnvoll erscheint. Hinzu kommt, dass eine Studie gezeigt hat, dass HPV-positive Patientinnen eine

deutlich niedrigere Schwangerschaftsrate nach IVF haben als HPV-negative Frauen (Spandorfer et al. 2006).

#### **4.4 Andere intravaginale pathogene Keime**

Im Bakterienabstrich ließen sich in 114 von 259 Proben (44%) potenziell pathogene Keime nachweisen. Dieses Ergebnis entspricht anderen Studien (Di Bartolomeo et al. 2002, Acikgoz et al. 2002, Rodriguez et al. 2001), wobei sich immer eine genaue Betrachtung des Patientenkollektivs empfiehlt, da beispielsweise schwarze Frauen häufiger unter einer bakteriellen Vaginose leiden als weiße (Ness et al. 2003) und Patientinnen aus schwächeren sozialen Schichten häufiger als sozial besser gestellte (Bradshaw et al. 2005). Vor diesem Hintergrund erscheint eine Prävalenz von 44% bei den europäischen Frauen aus stabilen Sozialverhältnissen dieser Studie durchaus erhöht.

Der Nachweis dieser Keime ist später besonders für eine rechtzeitige Therapieeinleitung im Hinblick auf die Geburt von Bedeutung. Ihre klinische Relevanz im Hinblick auf die Entstehung einer Schwangerschaft zeigte sich in einer umfangreichen prospektiven Studie aus Heidelberg (Häcker 1999) vernachlässigbar.

##### **4.4.1 Gardnerella vaginalis**

*Gardnerella vaginalis* kann zu einem erhöhten Abortrisiko, vorzeitigem Blasensprung und damit verbundener Frühgeburtslichkeit mit der zusätzlichen Gefahr eines Amnioninfektionssyndroms führen. Mit einer Prävalenz von 28,8% war *Gardnerella vaginalis* der am häufigsten vertretene Keim und kam in dieser Kohorte mehr als doppelt so häufig vor als in einem gesunden Kollektiv zu erwarten wäre (Nicand et al. 1994). Dies lässt sich nur zum Teil durch das etwas niedrigere Durchschnittsalter erklären, da andererseits die Paare, die sich gemeinsam in eine Kinderwunschbehandlung begeben, in der Regel in einer sehr stabilen Beziehung leben und Monogamie vor vaginalen Infektionen schützt (Bradshaw et al. 2005).

Die Annahme, dass Infektionen mit *Gardnerella vaginalis* häufiger bei HPV-positiven Patientinnen auftreten (Murta et al. 2000, Neuer und Menton 1995), konnte durch diese Arbeit ebenfalls bestätigt werden. In der Chlamydienstudie konnte bei 40 Patientinnen HPV nachgewiesen werden, wobei 9 von 37 Untersuchten (24,3%) zusätzlich unter einer Infektion mit *Gardnerella vaginalis* litten. Lag keine HPV-Infektion vor, ließ sich *Gardnerella vaginalis* nur in 16,3% der 123 gleichzeitig durchgeführten Bakterienabstriche nachweisen. Der Unterschied war allerdings nicht signifikant ( $p= 0,26$ ).

#### **4.4.2 Ureaplasma urealyticum**

*Ureaplasma urealyticum* im Genitaltrakt der Schwangeren birgt ähnliche Risiken wie *Gardnerella vaginalis* und konnte bei 23,5% der entnommenen Abstriche nachgewiesen werden. Ein erhöhtes Vorkommen bei Patientinnen mit unerfülltem Kinderwunsch konnte bereits in anderen Arbeiten gezeigt werden (Fenkci et al. 2002, Häcker 1999). Bei gesunden Frauen geht man von einer Prävalenz von 8% aus (Elias et al. 2005).

#### **4.4.3 B-Streptokokken und Darmkeime**

Streptokokken der Gruppe B und Darmkeime wie *E. coli* oder *Enterococcus faecalis* bergen beim Übergang auf das Kind während der Geburt die Gefahr einer Neugeborenenpneumonie, -meningitis oder -sepsis. Bei der Mutter kann es zu Puerperalinfektionen kommen. Mit etwa 14% kamen diese Keime gleichhäufig vor. Die bereits erwähnte Heidelberger Studie ergab für asymptomatische Frauen mit unerfülltem Kinderwunsch mit 9,9% für B-Streptokokken und 7,8% für *E. coli* niedrigere Prävalenzen (Häcker 1999). Unterschiede zu unserer Studie lagen in dem etwas niedrigeren Durchschnittsalter der Patientinnen (30 Jahre versus 32,5 Jahre), einem etwas länger bestehenden Kinderwunsch (5 Jahre versus 3 Jahre) und der einheitlichen Abstrichentnahme in der Zyklusmitte. Bei einer zu erwartenden Prävalenz von 5 – 25% (Haag et al. 2003, S.153) liegen aber beide Resultate im Normbereich.

#### **4.4.4 Candida albicans**

Auch *Candida albicans* kann zu vorzeitiger Wehentätigkeit und den damit verbundenen Risiken führen. In gut 14% der untersuchten Proben konnte dieser Hefepilz nachgewiesen werden. Ähnliche Ergebnisse aus anderen Untersuchungen an Frauen mit unerfülltem Kinderwunsch bestätigen diesen Wert (Rodriguez et al. 2001, Häcker 1999). In der gesunden weiblichen Normalbevölkerung liegt die Prävalenz mit 22,5% dagegen deutlich höher (Adad et al. 2001).

Das quantitative Verhältnis von Bakterien zu *Candida albicans* im weiblichen Genitaltrakt scheint sich somit umgekehrt proportional zu verhalten: Kinderwunschpatientinnen haben häufiger eine bakterielle Besiedelung als eine *Candida*-Infektion wohingegen bei Frauen der Normalbevölkerung das Vorkommen von *Candida albicans* gegenüber dem Vorhandensein der verschiedenen Bakterienarten erhöht ist.

#### **4.5 Immunschutz**

Immunschutz gegen Röteln war in 97,7%, gegen Varizellen in 96,5% der Fälle vorhanden. Die Immunitätsraten decken sich mit den in der Literatur angegebenen Daten (z.B. Haag et al. 2003, S.152/157).

Bezüglich der Immunität gegen Toxoplasmose fiel hingegen auf, dass von 463 untersuchten Patientinnen 314 (67,8%) keinen Immunschutz aufwiesen. Dieser Wert liegt deutlich über den in der Literatur zu findenden 50% (Haag et al. 2003, S.154, Jaquier et al. 1995).

Nur eine in Cottbus durchgeführte Untersuchung konnte mit einer Antikörperprävalenz von 35,6% unser Ergebnis untermauern (Knaus 1991). Für die unterschiedlichen Resultate kann es verschiedene Gründe geben. Zum einen haben Studien gezeigt, dass die Prävalenz von Antikörpern gegen *Toxoplasma gondii* in den ärmeren sozialen Schichten höher ist als in den wohlhabenderen (Nissapatorn und Abdullah 2004), was durch die schlechteren hygienischen Verhältnisse und den engeren Kontakt zu Haustieren in der erstgenannten Gruppe erklärt werden kann. Auch wenn der finanzielle Status der an dieser Studie

teilnehmenden Paare nicht erhoben wurde, ist doch davon auszugehen, dass es sich bei Kinderwunschpaaren eher um sozial besser gestellte Personen handelt, da die finanziellen und intellektuellen Mittel, die für eine erfolgreiche Kinderwunschbehandlung notwendig sind, nicht zu unterschätzen sind. Zum anderen muss auch das Alter der untersuchten Frauen berücksichtigt werden, da mit zunehmendem Lebensalter auch die Prävalenz der Toxoplasmose-Antikörper steigt (Gross 2004, Fiedler et al. 1999). Die Kinderwunschpatientinnen in unserem Kollektiv sind mit einem durchschnittlichen Alter von 32 Jahren noch relativ jung. Hinzu kommt, dass Toxoplasmose-Antikörper häufiger bei Stadtbewohnern als bei auf dem Land Lebenden nachzuweisen sind (Knaus 1991) und unsere Studienteilnehmer eher im städtischen Umfeld zu finden sind.

#### **4.6 Stärken und Schwächen der Arbeit**

Zu den Stärken dieser Arbeit zählt vor allem die parallele Durchführung der verschiedenen Untersuchungsverfahren bei beiden Partnern. Insbesondere das cHSP60 wurde in einem solchen Setting bisher nicht untersucht. Die hier angewandte standardisierte Laboranalytik wird aktuellen wissenschaftlichen Anforderungen gerecht. Beispielsweise favorisieren Studien zur Chlamydiendiagnostik die Nukleinsäure-Amplifikationsverfahren als Gold-Standard (Jespersen et al. 2005, Niederhauser et al. 2000), mit einer zu erwartenden Spezifität von 95,3 bis 97,6% und einer Sensitivität von 88,1 bis 89,6% (Hadgu et al. 2005). Besonders bei Frauen mit einer niedrigen Wahrscheinlichkeit für eine Chlamydieninfektion kann durch die sog. NAATs (nucleic acid amplification test) der positive prädiktive Wert verbessert werden (Semeniuk et al. 2002).

Studien zur Chlamydiendiagnostik im Morgenurin ergaben sogar eine Sensitivität und Spezifität von 98,6% und 99,4% (Peng und Zeng 2004). Damit haben PCR und LCR eine höhere Sensitivität als das EIA und die Kultur aus Urethra-Abstrichen. Das EIA hat hier eine Sensitivität von 86% (Mason et al. 2000), die Kultur eine Sensitivität von nur 77,4% (Peng und Zeng 2004). In der Spezifität hingegen sind laut verschiedener Studien sowohl EIA mit 100% (Mason et al. 2000), als auch die Kultur mit 99,5% (Peng und Zeng 2004) den Nukleinsäure-Amplifikationsverfahren überlegen.

Der unter anderem von uns verwendete pELISA wird als gute Alternative zum Nachweis von Chlamydien-Antikörpern gesehen (Bax et al. 2003, Morre et al. 2002), nicht zuletzt wegen seiner leichteren Durchführbarkeit und geringerer Kosten. Als Screening-Methode bietet er zudem eine hohe Spezifität und einen hohen negativen prädiktiven Wert.

Eine Schwäche dieser Studie ist die niedrige Laparoskopierate. Nur bei 38% der Patientinnen wurde eine operative Tubenabklärung durchgeführt. Dies begründet sich darin, dass nur Patientinnen einer Laparoskopie zugeführt wurden, bei denen andere Gründe für einen unerfüllten Kinderwunsch wie PCOS, Hyperandrogenämie oder Ursachen männlicherseits ausgeschlossen werden konnte. Eine Laparoskopie zu rein wissenschaftlichen Zwecken ist bei einem auch stets vorhandenen gesundheitlichen Risiko aus unserer Sicht nicht zu rechtfertigen gewesen.

Die angestrebte Fallzahl konnte aus oben genannten Gründen ebenfalls nicht erreicht werden. Zudem hätte man für die Abstrichentnahme einen einheitlichen Zeitpunkt während des weiblichen Zyklus auswählen können.

Um den für eine Schwangerschaft relevanten Immunstatus zu komplettieren hätte neben Röteln, Varizellen und Toxoplasmose auch noch die Immunität gegen die häufig vorkommenden Zytomegalieviren und die Ringelröteln, die eine große Gefahr für den Fetus bergen, bestimmt werden können.

#### **4.7 Schlussfolgerungen/Ausblick in die Zukunft**

Interessanter als der Nachweis einer bestehenden oder abgelaufenen Chlamydieninfektion ist die Konsequenz für das weitere therapeutische und diagnostische Handeln. Bei einer akuten Infektion steht zweifelsfrei zunächst die antibiotische Therapie im Vordergrund. Abgelaufene Infektionen und ihre möglichen Folgeerkrankungen lassen sich hingegen in den meisten Fällen nicht mehr therapieren, so dass die Diagnostik in der Kinderwunschsprechstunde bereits zu spät kommt (Eggert-Kruse et al. 2003). Ein Antikörpernachweis könnte hier vielmehr als Entscheidungshilfe für eine diagnostische Laparoskopie mit Chromopertubation zur Funktionsprüfung der Tuben gegenüber einem zunächst nichtinvasiven Therapiekonzept wie der hormonellen Stimulation dienen.

Für eine möglichst sichere Diagnostik favorisieren wir hier die Bestimmung des cHSP60, statt wie üblich nur der IgG-Antikörper. Bei einem laparoskopisch nachgewiesenen Tubenverschluss war das cHSP60 in 43,8% der untersuchten Blutproben positiv. Dies ist deutlich häufiger als IgG-Antikörper, die nur in 31,7% der Fälle nachgewiesen werden konnten. Bei 25,3% der Patientinnen mit positivem cHSP60-Titer konnte auch ein Tubenverschluss gesichert werden, bei IgG-Antikörpernachweis war das bei 21,1% der Fall.

Die relativ niedrige Immunität gegen eine Toxoplasmoseinfektion in dem untersuchten Kollektiv wirft die Frage nach einem Impfstoff auf. 2002 wurden 18 Fälle von konnataler Toxoplasmose beim Robert-Koch-Institut gemeldet. Schätzungen gehen sogar von bis zu 280 symptomatischen Infektionen pro Jahr aus, wovon bei etwa 50% der Neugeborenen Spätschäden erwartet werden (Goerke et al. 2003, S.231). Die Möglichkeit zur Impfung seronegativer Frauen mit Kinderwunsch ist daher durchaus wünschenswert. Im Tierversuch konnte bereits eine Immunantwort auf einen rekombinanten Impfstoff erzielt werden (Caetano et al. 2006).

Mit Gardasil™ ist im Juni 2006 von der FDA erstmals eine Vakzine primär zur Prävention einer Krebserkrankung zugelassen worden. Diese HPV-Schutzimpfung soll 100-prozentigen Schutz vor zervikalen intraepithelialen Neoplasien (CIN III) bieten und ist zunächst für Mädchen und Frauen von 9 bis 26 Jahren zugelassen. Hier könnten sich in der Bekämpfung des Zervixkarzinoms ganz neue Möglichkeiten ergeben. Inwieweit dies auch einen positiven Effekt auf die Entstehung von Schwangerschaften außerhalb der Kinderwunschsprechstunde haben könnte, wird allerdings schwer zu evaluieren sein.

## 5. Zusammenfassung

Bei etwa 2 Millionen Paaren mit unerfülltem Kinderwunsch in Deutschland muss die Erarbeitung effizienter Therapiekonzepte stetig vorangetrieben werden. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit Infektionen als Ursache für die ungewollte Kinderlosigkeit bzw. begleitend dazu. Einen Schwerpunkt bildet dabei Chlamydia trachomatis. Neben der Prävalenz sollte die Frage nach einem diagnostisch sinnvollen Vorgehen geklärt werden. Da wir einen gesamt-infektiologischen Überblick gewinnen wollten, wurden die Patientinnen zusätzlich auf andere intravaginale pathogene Keime und den Immunstatus bezüglich Röteln, Varizellen und Toxoplasmose untersucht.

Studienpopulation sind im ersten Teil der mehrteiligen Untersuchung 163 Patientinnen, die sich zwischen dem 01.04. und 31.12.2003 in der Kinderwunschsprechstunde des ENDOKRINOLOGIKUM HAMBURG vorstellten. Neben anamnestischen und klinischen Daten wurde das Serum auf IgG- und IgA-Antikörper gegen C. trachomatis (ELISA), Zervixabstriche auf HPV (PCR) und Bakterienabstriche auf Gardnerella vaginalis, Ureaplasma urealyticum, B-Streptokokken, Darmkeime und Candida albicans untersucht. Außerdem wurden Röteln-, Varizellen- und Toxoplasmoseantikörper im Serum bestimmt, sofern ein adäquater Befund nicht bereits vorlag. Im zweiten Teil sind 391 Kinderwunschaare zwischen dem 02.07.2003 und dem 31.07. 2004 zusätzlich auf das chlamydial heat shock protein (cHSP) 60 und sekretorische C. trachomatis IgA-Antikörper im Seminalplasma (ELISA), C. trachomatis-Antigen im Zervixabstrich (EIA) und C. trachomatis in Zervixabstrich, Ejakulat und Urin (PCR) untersucht worden. Im Andrologielabor wurde durch makro- und mikroskopische Beurteilung des Ejakulats ein Spermogramm erstellt.

In den beiden prospektiv untersuchten Kollektiven zeigte sich ein sehr guter Immunstatus der Patientinnen bezüglich Röteln- und Varizellenschutz (97,7% bzw. 96,5%), der Toxoplasmoseschutz war dagegen mit 32,2% relativ niedrig. Der in Entwicklung befindliche Toxoplasmoseimpfstoff könnte bei seronegativen Frauen mit Kinderwunsch seine Anwendung finden, um Gesundheitsschäden durch Toxoplasmoseinfektionen während der Schwangerschaft in Zukunft zu vermeiden. Vaginale Infektionen wiesen eine hohe Prävalenz auf, z.B. konnte bei 28,8% der Patientinnen Gardnerella vaginalis nachgewiesen werden. Hier sollte besonders zur Vermeidung einer vorzeitigen Wehentätigkeit und den damit verbundenen Folgen rechtzeitig therapiert werden. Die Prävalenz von HPV-Infektionen war mit 23,2% positiven Proben deutlich erhöht.  $\frac{2}{3}$  der Typen waren dabei den High-Risk-Typen zuzuordnen. Inwieweit die Einführung der HPV-Schutzimpfung Gardasil™ einen positiven Einfluss auf die Entstehung von Schwangerschaften haben könnte, bleibt abzuwarten.

In der prospektiven, standardisierten Studie zu Chlamydieninfektionen ließen sich zwei Aspekte darstellen: zum einen ist offensichtlich die gleichzeitige Bestimmung von IgG-Antikörpern und cHSP60 im Serum anderen diagnostischen Verfahren überlegen, zum anderen fand sich eine relevante Prävalenz von Chlamydieninfektionen in 31,5% der Fälle, basierend auf dem Nachweis von IgG- und IgA-Antikörpern und cHSP60. Da sich die morphologischen Folgen abgelaufener Chlamydieninfektionen in der Regel nicht mehr therapieren lassen, könnte ein Antikörpernachweis in der Praxis als Entscheidungshilfe zwischen einer diagnostischen Laparoskopie und einem zunächst nicht invasiven Vorgehen dienen.

## Literaturverzeichnis

Acikgoz ZC, Ozturk Turhan N, Gamberzade S, Ark E, Gocer S. (2002): Retrospective microbiologic evaluation of vaginal cultures. Mikrobiyol Bul. 2002 Jan;36(1):23-9

Adad SJ, de Lima RV, Sawan ZT, Silva ML, de Souza MA, Saldanha JC, Falco VA, da Cunha AH, Murta EF (2001): Frequency of Trichomonas vaginalis, Candida sp and Gardnerella vaginalis in cervical-vaginal smears in four different decades. Sao Paulo Med J. 2001 Nov 1;119(6):200-5

Batschulat K, Clusmann C, Demirakca T, Klinga K, Petzoldt D, Eggert-Kruse W (2003): Relationship of chlamydial heat shock protein and antichlamydial antibodies in couples under infertility investigation. Abstract P-591 of the Annual Meeting of the ESHRE, Madrid, Spain

Bax CJ, Mutsaers JAEM, Jansen CL, Trimbos JB, Dörr PJ, Oostvogel PM (2003): Comparison of Serological Assays for Detection of Chlamydia trachomatis antibodies in Different Groups of Obstetrical and Gynecological patients. Clin Diagn Lab Immunol. 2003 Jan;10(1):174-176

Bendrat K, Neumann G, Niendorf A (2005): Molekularbiologische Diagnostik HPV-assoziiierter Genitalerkrankungen. Sonderdruck aus gyn (10) 2005, © OmniMed® Verlagsgesellschaft mbH, Hamburg

Bradshaw CS, Morton AN, Garland SM, Morris MB, Moss LM, Fairley CK (2005): Higher-risk behavioral practices associated with bacterial vaginosis compared with vaginal candidiasis. Obstet Gynecol. 2005 Jul;106(1):105-14

Caetano BC, Bruna-Romero O, Fux B, Mendes EA, Penido ML, Gazzinelli RT (2006): Vaccination with replication-deficient recombinant adenoviruses encoding the main surface antigens of toxoplasma gondii induces immune response and protection against infection in mice. Hum Gene Ther. 2006 Apr;17(4):415-26

Centurioni MG, Puppo A, Merlo DF, Pasciucco G, Cusimano ER, Sirito R, Gustavino CA (2005): Prevalence of human papillomavirus cervical infection in an Italian asymptomatic population. *BMC Infect Dis.* 2005 Sep 27;5:77

Di Bartolomeo S, Rodriguez Fermepin M, Sauka DH, Alberto de Torres H (2002): Prevalence of associated microorganisms in genital discharge, Argentina. *Rev Saude Publica* 2002 Oct; 36(5):545-52. Epub 2002 Dec 2

Eggert-Kruse W, Rohr G, Demirakca T, Rusu R, Näher H, Petzoldt D, Runnebaum B (1997): Chlamydial serology in 1303 asymptomatic subfertile couples. *Human Reproduction* Vol.12, No.7:1464-1475

Eggert-Kruse W, Neuer A, Clusmann C, Boit R, Geissler W, Rohr G, Strowitzki T (2002): Seminal antibodies to human 60kd heat shock protein (HSP60) in male partners of subfertile couples. *Human Reproduction* Vol.17, No.3:726-735

Eggert-Kruse W, Rohr G, Kunt B, Meyer A, Wondra J, Strowitzki T, Petzoldt D (2003): Prevalence of *Chlamydia trachomatis* in subfertile couples. *Fertility and Sterility* Vol.80, No.3:660-663

Elias M, Grzesko J, Siejkowski R, Nowicka J, Maczynska B, Goluda M, St Gabrys M (2005): The presence of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in the cervical canal of uterus. *Ginekol Pol.* 2005 Jan;76(1):28-32

Fenkci V, Yilmazer M, Aktepe OC (2002): Have *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* infections any significant effect on women fertility? *Infez Med.* 2002 Dec;10(4):220-3

Fiddellers AAA, Land JA, Voss G, Kessels AGH, Severens JL (2004): Cost-effectiveness of *Chlamydia* antibody tests in subfertile women. *Human Reproduction* Vol.20, No.2 pp. 425-432,2005

Fiedler K, Hulsse C, Straube W, Briese V (1999): Toxoplasmosis-antibody seroprevalence in Mecklenburg-Western Pomerania. Zentralbl Gynäkol. 1999;121(5):239-43.

Fowlkes DM, Doohar GB, O`Leary WM (1975): Evidence by scanning electron microscopy for an association between spermatozoa and T-mycoplasma in men of infertile marriage. Fertil Steril 26:1203-1211

Gijzen AP, Land JA, Goossens VJ, Leffers P, Bruggeman CA, Evers JLH (2001): Chlamydia pneumoniae and screening for tubal factor subfertility. Human Reproduction Vol.16, No.3 pp.487-491

Goerke K, Steller J, Valet A (2003): Klinikleitfaden Gynäkologie Geburtshilfe, 6. Auflage, Urban & Fischer Verlag

Gille G, Klapp C, Diedrich K, Schäfer A, Moter A, Griesinger G, Kirschner R (2005): Chlamydien – eine heimliche Epidemie unter Jugendlichen. Deutsches Ärzteblatt, Jg.102, Heft 28-29

Gross U (1999): Prevalence and public-health-aspects of toxoplasmosis. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 2004 Jul;47(7):692-7. Review.

Haag P, Hanhart N, Müller M (2003): Gynäkologie und Urologie für Studium und Praxis 2003/04. Medizinische Verlags- und Informationsdienste, Breisach

Hadgu A, Dendukuri N, Hilden J (2005): Evaluation of nucleic acid amplification tests in the absence of a perfect gold-standard test: a review of the statistical and epidemiologic issues. Epidemiology 2005 Sep;16(5):595-7

Häcker K (1999): Klinische Bedeutung der mikrobiellen Besiedlung des unteren Genitaltraktes bei asymptomatischen Paaren mit unerfülltem Kinderwunsch. Promotionsarbeit aus der Frauenklinik der Universität Heidelberg, Doktormutter: W. Eggert-Kruse

Hartog JE den, Land JA, Stassen FRM, Slobbe-van Drunen MEP, Kessels AGH, Bruggeman CA (2004): The role of chlamydia genus-specific and species-specific IgG antibody testing in predicting tubal disease in subfertile women. *Human Reproduction* Vol.19, No.6:1380-1384

Idahl A, Boman J, Kumlin U, Olofsson JI (2004): Demonstration of *Chlamydia trachomatis* IgG antibodies in the male partner of the infertile couple is correlated with a reduced likelihood of achieving pregnancy. *Human Reproduction* Vol.19, No.5 pp. 1121-1126

Jacquier P, Nadal D, Zuber P, Eckert J (1995): The status of infection with *Toxoplasma gondii* in the Swiss population: contribution of a seroepidemiologic study from the Zurich canton. *Schweiz Med Wochenschr Suppl.* 1995;65:23S-28S

Jespersen DJ, Flatten KS, Jones MF, Smith TF (2005): Prospective comparison of cell cultures and nucleic acid amplification tests for laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* Infections. *J Clin Microbiol.* 2005 Oct;43(10):5324-6

Karinen L, Pouta A, Hartikainen AL, Saikku P, Järvelin MR (2003): Antibodies to *Chlamydia trachomatis* heat shock proteins and subfertility in women. Abstract P-590 of the Annual Meeting of the ESHRE, Madrid, Spain

Knaus BU (1991): Epidemiological findings of *Toxoplasma gondii* infections of humans in the area of Cottbus. *Angew Parasitol.* 1991 Aug;32(3):159-64

Koch J, Kirschner W, Schäfer A: Bestimmung der Prävalenz genitaler HPV- und *Chlamydia-trachomatis*-Infektionen in einem repräsentativen Querschnitt der weiblichen Normalbevölkerung in Berlin. *Infektionsepidemiologische Forschung* II/1997;1-7

Land JA, Gijzen AP, Kessels AGH, Slobbe MEP, Bruggeman CA (2003): Performance of five serological chlamydia antibody tests in subfertile women. *Human Reproduction* Vol.18, No.12 pp.2621-2627

Lukaszuk K, Liss J, Zalewski J, Roter M, Brzoska B, Debniak J (2001): Estimation of HPV infection presence in cytological smears in a group of asymptomatic women. *Wiad Lek.* 2001;54(9-10):508-15

Mason PR, Gwanzura L, Gregson S, Katzenstein DA (2000): Chlamydia trachomatis in symptomatic and asymptomatic men: detection in urine by enzyme immunoassay. *Cent Afr J Med.* 2000 Mar;46(3):62-5

Morre SA, Munk C, Persson K, Kruger-Kjaer S, van Dijk R, Meijer CJ, van Den Brule AJ (2002): Comparison of three commercially available peptid-based immunoglobulin G (IgG) and IgA assays to microimmunofluorescence assay for detection of Chlamydia trachomatis antibodies. *J Clin Microbiol.* 2002 Feb;40(2):584-7

Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ, International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group (2003): Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. *N Engl J Med* 348, 518-527

Murta EF, Souza MA, Araujo Junior E, Adad SJ (2000): Incidence of Gardnerella vaginalis, Candida sp and human papilloma virus in cytological smears. *Sao Paulo Med J.* 2000 Jul 6; 118(4):105-8

Ness RB, Hillier S, Richter HE, Soper DE, Stamm C, Bass DC, Sweet RL, Rice P (2003): Can known risk factors explain racial differences in the occurrence of bacterial vaginosis? *J Natl Med Assoc.* 2003 Mar;95(3):201-12

Neuer A, Menton M (1995): Bacteriological findings in patients with cervical intra-epithelial neoplasia. *Zentralbl Gynakol.* 1995;117(8):435-8

Nicand E, Cavallo JD, Crenn Y, Meyran M (1994): Value of the score for Gram strains in the diagnosis of bacterial vaginosis. *Pathol Biol (Paris)* 1994 May;42(5):539-43

Niederhauser C, Honegger C, Kaempf L (2000): Screening of Chlamydia trachomatis: is the diagnosis efficacy good enough? Gynäkol Geburtshilfliche Rundsch. 2000;40(3-4):134-9

Nissapatorn V, Abdullah KA (2004): Review on human toxoplasmosis in Malaysia: the past, present and prospective future. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2004 Mar; 35(1):24-30. Review.

Nonnenmacher B, Breitenbach V, Villa LL, Prolla JC, Bozzetti MC (2002): Genital human papillomavirus infection identification by molecular biology among asymptomatic women. Rev Saude Publica. 2002 Feb;36(1):95-100

Nyari T, Cseh I, Woodward M, Szollosi J, Bak M, Deak J (2001): Screening for human papillomavirus infection in asymptomatic women in Hungary. Human Reproduction 2001 Oct; 16(10):2235-7

Peng XB, Zeng K (2004): Ligase chain reaction for Chlamydia trachomatis detection in urine specimens from symptomatic and asymptomatic men. Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao. 2004 May;24(5):485-8

Puolakkainen M, Hiltunen-Back E, Reunala T, Suhonen S, Lähteenmäki P, Lehtinen M, Paavonen J (1998): Comparison of Performances of Two Commercially Available Tests, a PCR Assay and a Ligase Chain Reaction Test, in Detection of Urogenital Chlamydia trachomatis Infection. Journal of Clinical Microbiology, June 1998, p. 1489-1493

Rodriguez R, Hernandez R, Fuster F, Torres A, Prieto P, Alberto J (2001): Genital infection and infertility. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2001 Jun-Jul;19(6):261-6

Semeniuk H, Zentner A, Read R, Church D (2002): Evaluation of sequential testing strategies using non-amplified and amplified methods for detection of Chlamydia trachomatis in endocervical and urine specimens from women. Diagn Microbiol Infect Dis. 2002 Jan; 42(1):43-51

Spandorfer S, Bongiovanni AM, Fasioulotis S, Rosenwaks Z, Ledger WJ, Witkin SS (2006): Prevalence of cervical human papillomavirus in women undergoing in vitro fertilization and association with outcome. *Fertility and Sterility*, Vol. 86, No. 3, September 2006

Steyaert SR, Leroux-Roels GG, Dhont M (2000): Infections in IVF: review and guidelines. *Human Reproduction Update*, Vol.6, No.5:432-441

VDGH-Verband der Diagnostica-Industrie e.V. (2004): Diagnostik im Gespräch 4/2004, S.2

de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H (2004) : Classification of papillomaviruses. *Virology* 324, 17-27

Weidner W, Kuipers J (2003): Chlamydien-Diagnostik bei andrologischen Patienten. *Reproduktionsmedizin* 2003, 19:161-163

## Danksagung

Ich möchte mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. Michael Ludwig für die Überlassung des Promotionsthemas und die geduldige Betreuung während der Erstellung dieser Arbeit bedanken. Ich bedanke mich für die Arbeitsmöglichkeiten, die Unterstützung bei der Durchführung der Studie und die vielen Anregungen, die mir geholfen haben, mein Promotionsvorhaben zu verwirklichen. Ohne seine freundliche und konsequente Art würde ich jetzt nicht diese Danksagung schreiben.

Den Firmen medac, artus und Qiagen danke ich für die finanzielle Unterstützung, ohne die die Durchführung dieser Studie nicht möglich gewesen wäre. Der Firma artus danke ich außerdem für die Durchführung der PCRs.

Den Gynäkologen und Gynäkologinnen des ENDOKRINOLOGIKUM HAMBURG Dr. med. G. Saager, Dr. med. A. Dangel, Dr. med. K. Bauer, Priv. Doz. Dr. med. F. Nawroth, Dr. med. C. Grave, Dr. med. E. Ruttmann, U. E. Hugo und Dr. med. K. Martens möchte ich für die Rekrutierung von PatientInnen danken. Ihren Arzthelferinnen danke ich für die Unterstützung bei der Beschaffung der erforderlichen Patientenakten.

Allen Mitarbeitern der Labore Lornsenstrasse, insbesondere der Leiterin der Serologie Frau Sandra Symanczyk, möchte ich für die Durchführung der Laboruntersuchungen herzlich danken.

Bei Herrn Prof. Dr. A. Niendorf und seinen Mitarbeitern bedanke ich mich für die Durchführung der HPV-Diagnostik.

Auch die IVF-Biologinnen Nicola Becker, Nicola Boldt und Catharina von Wangenheim standen mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite und dafür danke ich Ihnen.

Herzlich danke ich auch Herrn Priv. Doz. Dr. med. A. Katalinic, der mich bei der statistischen Auswertung unterstützt hat.

Schließlich danke ich meinem Bruder Hendrik für die vielen kleinen Hilfestellungen rund um diese Arbeit und meinen Eltern für Ihre beständige Unterstützung und dafür, dass sie mir dieses Studium ermöglicht haben.

# Lebenslauf

Name: Charlotte Bohne  
Geburtstag: 12.09.1978 in Bremen  
Familienstand: ledig

## Schulbildung

1985-1989 Grundschule Platjenwerbe  
1989-1998 Ökumenisches Gymnasium zu Bremen  
07/1998 Abitur

## Hochschulbildung

2000-2002 Studium der Humanmedizin (Vorklinischer Abschnitt) an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald  
2002-2006 Studium der Humanmedizin (Klinischer Abschnitt) an der Universität zu Lübeck

## Examina

09/2002 Ärztliche Vorprüfung  
08/2003 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
09/2005 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
10/2006 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

## Praktisches Jahr

10/2005-01/2006 Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe  
des Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck  
02-03/2006 Abteilung für Onkologie/Hämatologie der Medizinischen Klinik I  
des Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck  
04-05/2006 Internistische Notaufnahme des Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck  
05-09/2006 Abteilung für Allgemein- und Viszeralchirurgie, Sana-Kliniken Lübeck

## Famulaturen

02/2003 dreiwöchige Famulatur in der Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin des ZKH Bremen-Nord  
09-10/2003 jeweils dreiwöchige Famulaturen in der Frauen- und Kinderklinik des ZKH Bremen-Nord  
02-03/2004 jeweils zweiwöchige Famulaturen in zwei Kinderwunschpraxen:  
Prof. Dr. med. M. Ludwig, Endokrinologikum Hamburg u. Dr. med. A. von Stutterheim, Bremen  
08/2004 jeweils zweiwöchige Famulaturen in den Abteilungen für innere Medizin und Urologie in der Rudolfsstiftung in Wien