

Aus der Klinik für Dermatologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Bernhard Homey

Infektionen der Samenwege und deren Einfluss
auf die Spermogrammqualität bei
Patienten mit unerfülltem Kinderwunsch

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Harm-Henning Lindhof

2021

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Bernhard Homey

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Jan-Steffen Krüssel

Zusammenfassung

Während der Bedarf an medizinischer Unterstützung für Paare mit unerfülltem Kinderwunsch steigt, rückt die Fertilitätsabklärung des Mannes zunehmend in den Fokus. Zu einem andrologischen Assessment gehört dabei auch das Screening des Ejakulats auf Infektionen. In der Annahme, dass diese die Spermienqualität senken und so zu einer Subfertilität führen, folgt auf den Nachweis von Bakterien in der Regel eine antibiotische Eradikation. Systematische Auswertungen zu dem Nutzen liegen bisher nur sehr begrenzt vor. Anhand von insgesamt 3464 Spermioogrammen nach WHO-Standard aus den Jahren 2016 bis 2019, davon 568 mit Keimnachweis, wurde untersucht, ob sich ein signifikanter Unterschied der Spermioogrammparameter bei Nachweis von *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* sowie insbesondere *Ureaplasma parvum* zeigt und ob sich eine Verbesserung ebendieser durch eine Behandlung mittels Doxycyclin erzielen lässt. In der untersuchten Kohorte bestand mit über 15% eine hohe Prävalenz an bakterieller Besiedelung des Urogenitaltrakts. Patienten mit Nachweis von *Ureaplasma parvum* zeigten in der Erstuntersuchung eine signifikante Volumenverminderung sowie eine erhöhte Konzentration und Gesamtzahl von Leukozyten im Ejakulat. Andere relevante Parameter wie die Spermatozoendichte und -motilität oder der Anteil normalgeformter Spermien waren jedoch vergleichbar zu einer altersgemachten Vergleichsgruppe mit unauffälliger mikrobiologischer Diagnostik. In der differenzierten Betrachtung der Probanden mit Abweichung von den WHO-Normwerten für Spermioogramme konnte eine erfolgreiche Behandlung jedoch zu einer signifikanten Reduktion der Leukozytenkonzentration sowie zu einer Verbesserung der fertilitätsassoziierten Parameter führen. Beachtenswerterweise ließen sich in einer Subgruppe von Patienten mit Azoospermie und Nachweis von *Ureaplasma parvum* nach der Eradikationsbehandlung Spermatozoen im Ejakulat nachweisen. Ihnen wurde so das Erreichen einer Schwangerschaft durch assistierte Reproduktionstechniken ermöglicht, ohne dass auf eine invasive testikuläre Spermienextraktion zurückgegriffen werden musste. Der Einfluss anderer Bakterien auf die Spermienqualität war im Vergleich größer und konnte teilweise durch eine antibiotische Therapie positiv beeinflusst werden. Aus dem alleinigen Nachweis von *Ureaplasma parvum* ergibt sich unseren Ergebnissen nach keine Indikation für eine antibiotische Behandlung mit dem Ziel einer Fertilitätssteigerung. Insbesondere Patienten mit verminderter Spermatozoendichte und/oder -motilität profitieren jedoch von einer Therapie. Ein Screening auf pathogene Bakterien im Ejakulat sollte nur bei erhöhten inflammatorischen oder verminderten fertilitätsassoziierten Parametern erfolgen. So können Ressourcen gespart und eine patientenwohlgefährdende Übertherapie vermieden werden. Im Hinblick auf die zunehmend herausfordernde Resistenzsituation, vor allem auch von Erregern sexuell übertragbarer Infektionen, ist eine strenge Indikationsstellung antibiotischer Therapien sinnvoll.

Abstract

While the demand for medical assistance for couples with unfulfilled desire to have children rises, the focus on fertility assessments of the male is increasing. The andrological work-up includes screening for bacteria in the ejaculate. Assuming that this infection reduces the sperm quality and leads to subfertility, the detection usually results in an antibiotic eradication. Systematic evaluations of the benefit have so far only been available to a limited extent. On basis of a total of 3464 spermiograms according to the WHO standard from the years 2016 to 2019, 568 of them with evidence of infection, we examined whether there was a significant difference in the spermiogram parameters when detecting *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* and in particular *Ureaplasma parvum* and whether an improvement could be achieved through treatment with doxycycline. In the cohort examined, there was a high prevalence of bacterial colonization of the urogenital tract at over 15%. Patients with evidence of *Ureaplasma parvum* showed a significant decrease in volume and a slightly increased concentration and total count of leukocytes in the ejaculate in the initial examination. In the other relevant parameters such as sperm density, motility or the proportion of normally formed sperm, however, there were no significant differences compared to an age-matched control group with negative microbiological results. In the differentiated analysis of the subjects deviating from the WHO standard values for spermiograms, successful treatment lead to a significant reduction in the leukocyte concentration and an improvement in fertility-associated parameters. Remarkably, spermatozoa were found in the ejaculate in a subgroup of patients with azoospermia and evidence of *Ureaplasma parvum* after treatment. This opened the possibility to achieve pregnancy through assisted reproductive techniques without the need for invasive testicular sperm extraction. In comparison, the influence of other bacteria on the sperm quality was greater and could be positively influenced by antibiotic therapy in some cases. According to our results, the sole detection of *Ureaplasma parvum* is not an indication for antibiotic treatment with the aim of increasing fertility. In particular, however, patients with reduced sperm density and/or motility benefit from a therapy. Screening for pathogenic bacteria in the ejaculate should only be carried out in the case of increased inflammatory or decreased fertility-associated parameters. By this, resources can be saved and overtreatment that could endanger patient's health can be avoided. The increasingly challenging resistance situation, especially of sexually transmittable pathogens, in sight, strict indications for antibiotic therapies are necessary.

Abkürzungen

µl	Mikroliter
CD	Cluster of differentiation
FSH	Follikel-stimulierendes Hormon
g	Gramm
GnRH	Gonadotropin-Releasing-Hormon
IL	Interleukin
LH	Luteinisierendes Hormon
MAP	Mitogen-activated protein
min	Minute(n)
Mio	Millionen
Mg	Milligramm
ml	Milliliter
n	Anzahl
PCR	Polymerase chain reaction
pH	Potentia hydrogenii
POX	Peroxidase-positive Leukozyten
QuaDeGA	Qualitätskontrollen der Deutschen Gesellschaft für Andrologie
RiliBäk	Richtlinie der Bundesärztekammer
s	Sekunde(n)
TGF	Tissue growth factor
TNF	Tumor necrosis factor
WHO	World Health Organization

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 Anatomie der Samenwege	2
1.2 Spermatogenese	3
1.4 Hormonelle Regulation der Spermatogenese.....	4
1.4 Spermogramm	5
1.5 Infektionen der Samenwege	5
1.5.1 Erregerspektrum	6
1.5.2 Immunreaktion und Auswirkungen auf die Spermiogenese	8
1.5.3 Auswirkungen auf die Fertilität	8
1.6 Ziele der Arbeit	9
2 Material und Methoden.....	11
2.1 Ein- und Ausschlusskriterien.....	11
2.2 Durchführung des Spermogramms	12
2.2.1 Gewinnung des Materials.....	12
2.2.2 Spermogramm	12
2.2.3 Behandlung einer nachgewiesenen Infektion	16
2.3 Auswahl der Daten und Erfassung.....	16
2.4 Statistische Auswertung der Daten	17
2.5 Ethikvotum.....	17
3 Ergebnisse	18
3.1 Charakteristika der Studienkohorte und Kontrollgruppe	18
3.1.1 Studienkohorte.....	18
3.1.2 Kontrollgruppe	21
3.2 Spermogrammparameter der Kontrollgruppe	21
3.3 Spermogrammparameter der Studienkohorte	23
3.3.1 Vergleich der Ausgangswerte	23
3.4 Subgruppenanalyse	24
3.4.1 <i>Ureaplasma parvum</i>	24
3.4.2 <i>Ureaplasma urealyticum</i>	30
3.4.3 <i>Mycoplasma hominis</i>	31
3.4.4 <i>Mycoplasma genitalium</i>	33
3.4.5 <i>Chlamydia trachomatis</i>	34
3.4.6 Subgruppe Azoospermie.....	35

3.4.7 Subgruppe Azoospermie und <i>Ureaplasma parvum</i>	36
3.4.8 Subgruppe Peroxidase-positive Leukozyten ≥ 1 Mio/ml	37
4 Diskussion	38
Literaturverzeichnis	43
Abbildungsverzeichnis	47
Tabellenverzeichnis	47

1 Einleitung

Der Bedarf an medizinischer Unterstützung von Paaren mit unerfülltem Kinderwunsch zeigt seit Jahren ein stetiges Wachstum (Blumenauer et al., 2019). Ein unerfüllter Kinderwunsch liegt vor, wenn nach einem Jahr regelmäßigen und ungeschützten Geschlechtsverkehrs keine Schwangerschaft eingetreten ist. Die Ursachensuche umfasst eine ausführliche Diagnostik auf Seiten beider Partner. In den letzten Jahren wird dabei immer mehr die männliche Seite in den Fokus der Infertilitätsdiagnostik gestellt (Sengupta et al., 2017). Ein Grund für eine männliche Sub- oder Infertilität kann dabei eine eingeschränkte Qualität des Spermias, z. B. durch Infektionen, sein (Gimenes et al., 2014). Dies äußert sich zum Beispiel in verminderter Spermienanzahl und -beweglichkeit und einem erniedrigten Anteil normal geformter Spermien (Izuka et al., 2020). Während in der Leitlinie zur Diagnostik und Therapie vor assistierten Reproduktionstechniken eine mikrobiologische Untersuchung erst ab einer Konzentration von über einer Million Peroxidase-positiver Zellen empfohlen wird (Toth et al., 2019), gehört dies, neben der Erstellung eines SpermioGRAMMS nach WHO-Standard, zur Routinediagnostik bei Männern mit unerfülltem Kinderwunsch in der Andrologie des Universitätsklinikums Düsseldorf. Es erfolgt regelhaft ein Screening des Ejakulats auf *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis* und *Mycoplasma genitalium* mittels PCR. Lässt sich eines dieser Bakterien nachweisen, erfolgt eine antibiotische Therapie mit Doxycyclin 200 mg für 14 Tage und eine anschließende Therapieerfolgskontrolle sowie ein erneutes SpermioGRAMM. Eine probatorische Mitbehandlung der Partnerin wird empfohlen, mindestens jedoch eine diagnostische Abklärung hinsichtlich einer Koinfektion.

Bisher liegen nur ungenügende Daten vor, wie häufig diese oft asymptomatisch verlaufenden Infektionen bei Männern mit unerfülltem Kinderwunsch bestehen, welchen Einfluss sie auf die Parameter des SpermioGRAMMS haben und ob eine Behandlung zu einer Verbesserung der Parameter führt. Dies gilt insbesondere für Infektionen mit *Ureaplasma parvum*. *Ureaplasma parvum* gilt allgemein als nicht pathogener und nicht behandlungsbedürftiger Kommensale des Urogenitaltrakts (Horner et al., 2018). Im Folgenden soll untersucht werden, ob eine bakterielle Infektion mit einem der oben genannten Erreger, insbesondere mit *Ureaplasma parvum*, zu einer Verschlechterung der SpermioGRAMMparameter führt und ob sich durch eine erfolgreiche Behandlung die Auswirkungen korrigieren lassen.

1.1 Anatomie der Samenwege

Die Spermatogenese findet in den Hoden statt. Die paarig angelegten Organe mit exokriner und endokriner Funktion haben ein durchschnittliches Volumen von 20-25 ml und sind von der *Tunica albuginea*, einer festen Bindegewebigen Kapsel, umhüllt. Die zahlreichen *Tubuli seminiferi contorti* sind der eigentliche Ort der Spermatogenese. Diese Kanälchen sind zu den *Lobuli testis*, die durch Bindegewebssepten, den *Septula testis*, abgegrenzt werden, angeordnet. Zwischen den *Lobuli* liegen die Leydig-Zellen, die unter anderem für die Testosteronproduktion verantwortlich sind (de Kretser et al., 1998).

Die *Tubuli seminiferi* sind mit dem Keimepithel ausgekleidet, das sich aus Sertoli-Zellen und Keimzellen zusammensetzt. Erstere sind verantwortlich für die Ausbildung der Blut-Hoden-Schranke und damit für die Immunprivilegien der Spermatozoen. Außerdem erfolgt durch die Sertoli-Zellen ein selektiver Transport von Substanzen aus dem Blut zu den Keimzellen. So wird ein spezielles, Keimzell-freundliches Milieu aufgebaut (Griswold, 1998).

Die Keimzellen befinden zwischen den stützenden Sertoli-Zellen. Innerhalb der *Tubuli seminiferi* befinden sich bei unbeeinträchtigter Spermatogenese zeitgleich Keimzellen in unterschiedlichem Ausreifungsgrad. Während der Maturation bewegen sich die Keimzellen in Richtung Tubuluslumen.

Die Tubuli drainieren in das *Rete testis*, welches wiederum über die *Ductuli efferentes* den Hoden mit dem Nebenhoden verbindet. Diese münden im Kopfbereich des Nebenhodens in den *Ductus epididymidis*. Die Gangepithelien resorbieren Flüssigkeit und sorgen für einen niedrigen Natriumgehalt und einen leicht sauren pH der luminalen Flüssigkeit, die daraus folgende Immotilität der Spermien wird durch einen aktiven Weitertransport über Kinozilien kompensiert. In der Caudaregion des Nebenhodens werden die ausgereiften Spermien gespeichert und gelangen von dort in den Samenleiter.

Während der Ejakulation findet über Kontraktionen der deutlich ausgeprägten glatten Muskulatur in der Wand des *Ductus deferens* der schnelle pulsatile Weitertransport statt. Im Verlauf drainiert in diesen die Bläschendrüse. Die *Glandula vesiculosa* sezerniert ein fruktosereiches, alkalisches Sekret, bevor der Samenleiter in der Prostata in die Urethra mündet. Die dort hinzugefügten Proteasen und Phosphatasen sorgen für eine

Verflüssigung des Ejakulats im weiblichen Genitaltrakt. Über das *Officium urethrae* tritt das Sperma schließlich aus dem Penis aus (Krause et al., 2011).

1.2 Spermatogenese

Die in Kontakt zur Basalmembran stehenden Spermatogonien besitzen die Funktion eines Stammzellreservoirs. Aus diesem differenziert sich eine Spermatogonie zum Typ A, welche sich mitotisch teilt. Während die ursprüngliche Typ A-Spermatogonie zum Stammzellvorrat zurückkehrt, beginnt die neu entstandene Typ B-Spermatogonie den Reifungsprozess. Sobald die Zelle in die Prophase der nun folgenden Meiose eintritt, wird sie als Spermatozyt I. Ordnung bezeichnet. Nach Abschluss der ersten Reifeteilung liegen zwei Spermatozyten II. Ordnung vor. Durch eine erneute Meiose werden aus diesen schlussendlich vier Spermatisden mit einem Chromosomensatz von $23xy$ $1n$ $1C$. Vor allem während der Meiose I und II kommt es dabei jedoch zu einem Verlust von fast 50% der sich ausdifferenzierenden Keimzellen (Krause et al., 2011).

In der weiteren Ausreifung der Spermatisden kommt es nun zur Kondensation des Zellkerns. Außerdem findet die Ausbildung der Akrosomregion statt. Dabei findet zunächst eine Ansammlung von primären Lysosomen statt, die sich zum akrosomalen Bläschen vereinigen. Nach Abflachung des Bläschens bildet sich das Akrosom über dem Zellkern, welches in der abschließenden Reifungsphase seine artspezifische Form erhält. Synchron dazu findet die Ausbildung der typischen Geißel statt (de Kretser et al., 1998).

Während des Transports durch den *Ductus epididymidis* finden weitere, durch Sekrete der Gangepithelien, vermittelte Reifungsprozesse statt. Die Spermien werden dabei unter anderem mit membranständigen Proteinaseinhibitoren benetzt, die sie vor proteolytischer und immunvermittelter Zerstörung schützen. Die Ausstattung mit Adhäsionsmolekülen ermöglicht den Spermien letztendlich die Fusion mit der Eizelle und damit die Befruchtung.

Der gesamte Prozess der Spermatogenese dauert 74 Tage. Hinzu kommen etwa 8 - 17 Tage für den Transport durch den Nebenhodengang (de Kretser et al., 1998; Krause et al., 2011).

1.4 Hormonelle Regulation der Spermatogenese

Die Spermatogenese wird durch eine Achse aus Hypothalamus, Hypophyse und Hoden reguliert (Handelsman, 2020).

Das für die Spermatogenese relevanteste Hormon des Hypothalamus ist das Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH). Das in der *Regio supraopticus* gebildete Peptidhormon gelangt in pulsatilem Rhythmus über den hypophysären Pfortaderkreislauf in den Hypophysenvorderlappen, wo es über einen G-Proteingekoppelten Rezeptor die Synthese der Gonadotropine LH (Luteinisierendes Hormon) und FSH (Follikelstimulierendes Hormon) in den β -Zellen anregt (Casarini & Crepieux, 2019; Shiraishi & Matsuyama, 2017). Beide gelangen über den Blutkreislauf zu ihren Zielzellen. Für LH sind dies die Leydigzellen, die über mitochondriale und endoplasmatische Enzyme aus Cholesterin Androgene herstellen. Leydigzellen besitzen darüber hinaus Rezeptoren für Östrogen und Prolaktin über die eine, teils autokrine, Hemmung der Testosteronsynthese vermittelt werden kann (Sengupta & Dutta, 2019). Die im Vergleich zur Peripherie vielfach höhere Konzentration der Androgene im Hodengewebe ist für die Spermio-genese von entscheidender Bedeutung. Die Wirkung des Testosterons als lipophiles Steroidhormon wird intrazellulär vermittelt. Dabei kommt es mittels einer kernmembranständigen 5α -Reduktase zur Umwandlung in Dihydrotestosteron, welches an intranukleäre Rezeptoren bindet und die Biosynthese spezifischer Proteine induziert (Smith & Walker, 2014). Intratestikulär sind insbesondere die Sertoli-Zellen mit einer hohen Konzentration von Androgenrezeptoren ausgestattet, aber auch Leydig-Zellen und peritubuläre Fibroblasten weisen diese auf. In den Sertoli-Zellen vermittelt Testosteron sowohl über den klassischen, durch intranukleäre Rezeptoren vermittelten, Weg als auch über durch einen nicht-klassischen, MAP-Kinasen-assoziierten Weg seine Wirkung (Griswold, 1998). Gemeinsam mit dem hypophysären FSH wird so die Spermatogenese reguliert. Neben Wachstumsfaktoren wie TGF- α und TGF- β wird von den Sertoli-Zellen FSH-abhängig Inhibin B sezerniert. Dieses Peptidhormon gilt als Surrogatparameter einer funktionierenden Spermatogenese. Inhibin B hemmt die weitere FSH-Synthese in der Hypophyse und sorgt so für eine Autoregulation (Oduwole et al., 2018).

1.4 Spermogramm

Neben der makroskopischen und mikrobiologischen Beurteilung des Ejakulats erfolgt im Rahmen der Infertilitätsdiagnostik eine mikroskopische Spermaanalyse. Durch die WHO sind die zu erfassenden Parameter standardisiert und Normwerte vorgegeben (Nieschlag et al., 2012). Die zum Zeitpunkt der Auswertung geltende Klassifikation ist in Tabelle 1 zusammengefasst.

Parameter	Normwert
Volumen	≥ 1,5 ml
pH-Wert	7,2 – 8,0
Leukozytenkonzentration	< 1, 0 x 10 ⁶ /ml
Konzentration der Spermien	≥ 15 x 10 ⁶ /ml
Gesamtzahl der Spermien	≥ 39 x 10 ⁶
Motilität	≥ 40% motile Spermien ≥ 32% progressive Motilität
Vitalität	≥ 58%
Morphologie	≥ 4% normal geformte Spermien

Tabelle 1: Durch die WHO festgelegte Parameter und Referenzwerte von Spermogrammen (nach Nieschlag et al., 2012).

Der genaue Ablauf der Analytik ist im Abschnitt 2.2. detailliert ausgeführt.

1.5 Infektionen der Samenwege

Infektion der Samenwege können durch Bakterien, Viren und Protozoen hervorgerufen werden. Für viele der Erreger konnte in bisherigen Studien ein negativer Einfluss auf die Fertilität nachgewiesen werden (Sengupta et al., 2020). Tabelle 2 listet die häufigsten Erreger von Samenwegsinfektionen auf.

Bakterien	Viren	Protozoen
<i>Chlamydia trachomatis</i>	HI-Virus	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Hepatitis B-Virus	
<i>Mycoplasma hominis</i>	Herpes-simplex-Virus	
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Cytomegalie-Virus	
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Humanes Papillomavirus	
<i>Ureaplasma parvum</i>		

Tabelle 2: Übersicht der häufigsten Erreger von Infektion der Samenwege, angelehnt an die S2k Leitlinie Sexuell übertragbare Infektionen – Beratung, Diagnostik und Therapie (Deutsche STI-Gesellschaft, 2019).

Im Rahmen der Untersuchung soll der Einfluss bakterieller Infektionen sowie deren Therapie auf die Parameter des SpermioGRAMMS untersucht werden.

1.5.1 Erregerspektrum

Ureaplasma parvum und *Ureaplasma urealyticum*

Ureaplasmen gehören zur Familie der *Mycoplasmataceae*. Sie gehören zu den zellwandlosen Bakterien und sind deshalb unempfindlich gegenüber Betalaktamantibiotika. Insgesamt unterscheidet man 14 Serovare, die in zwei Gruppen, *U. urealyticum* und *U. parvum*, eingeteilt werden. Als primäre Virulenzfaktoren wurden Oberflächenproteine und Lipoproteine identifiziert (Sprong et al., 2020).

In der Literatur werden Prävalenzen von 15,6% - 28,2% für *Ureaplasma urealyticum* und 2,9% für *Ureaplasma parvum* angegeben (Andrade-Rocha, 2003; Gdoura et al., 2008). Zeighami kommt 2009 in einem Vergleich von jeweils 100 gesunden und 100 infertilen Männern zu Prävalenzen von 1% bzw. 9% für *Ureaplasma urealyticum* und 2% bzw. 3% für *Ureaplasma parvum* (Zeighami et al., 2009).

Ureaplasmen sind gut an den humanen Wirt angepasst und lösen häufig keine Infektsymptomatik aus (Huang et al., 2015). Insbesondere *Ureaplasma parvum* wird daher mitunter auch als Kommensale des Urogenitaltrakts angesehen (Horner et al., 2018). Trotz fehlender Inflammation konnte eine Verschlechterung der Spermienmotilität und –morphologie (Nunez-Calonge et al., 1998; Zhang et al., 2011) sowie eine Zunahme der DNA-Fragmentation durch *U. urealyticum* beobachtet werden (Beeton et al., 2019;

Zhou et al., 2018). Sowohl *Ureaplasma urealyticum* als auch *Ureaplasma parvum* werden mit Chorioamnionitis und Frühgeburten in Verbindung gebracht (Sprong et al., 2020; Vallely et al., 2018).

In der Vergangenheit erfolgte häufig keine Unterscheidung von *Ureaplasma parvum* und *Ureaplasma urealyticum* im klinischen Alltag, da die zur Verfügung stehenden Untersuchungsmethoden keine Differenzierung zuließen oder von einer fehlenden Relevanz ausgegangen wurde. Die Datenlage, insbesondere spezifisch für *Ureaplasma parvum*, ist daher eingeschränkt und widersprüchlich (Zhou et al., 2018).

Mycoplasma hominis und *Mycoplasma genitalium*

In der Literatur wird eine Prävalenz für *Mycoplasma hominis* von 4,8%, für *Mycoplasma genitalium* von 9,6% angegeben (Gdoura et al., 2008). Es konnte gezeigt werden, dass Infektionen mit diesen Erregern einen negativen Einfluss auf Morphologie und Motilität als auch auf DNA-Integrität der Spermien haben (Gallegos et al., 2008). Durch eine antibiotische Therapie konnte dieser Effekt reduziert werden (Taylor-Robinson, 1996).

Chlamydia trachomatis

2012 wurde für *Chlamydia trachomatis* eine Prävalenz von 2,7% bei Männern und 4,2% bei Frauen berichtet (Newman et al., 2015). Die genaue Pathogenese wie Chlamydien bei Männern zu Infertilität führen können, ist bislang nicht geklärt. Sengupta et al. vermuten eine zytokinvermittelte Leukozytenrekrutierung, eine Interaktion der Lipide der Spermienmembran mit dem CD14-Protein auf Makrophagen und eine Bildung von Anti-Spermienantikörpern (Ooi et al., 2020; Sengupta et al., 2020).

Neisseria gonorrhoeae

Neisseria gonorrhoeae, ein gram-negatives Bakterium, gehört zu den häufigsten Auslösern einer bakteriellen Urethritis und Proktitis (Deutsche STI-Gesellschaft, 2019). Die weltweite Prävalenz wird aktuell mit 2.2% angegeben. Infektionen verlaufen in der Regel symptomatisch mit putridem Ausfluss und Dysurie (Henkel et al., 2021).

1.5.2 Immunreaktion und Auswirkungen auf die Spermiogenese

Bereits 1995 konnte Wolff Evidenz dafür finden, dass Leukozyten im Sperma die Funktion der Spermien unter anderem durch erhöhten oxidativen Stress beeinträchtigen können (Wolff, 1995).

Die bakterielle Kolonisation bzw. Infektion des Urogenitaltrakts führen zu einer inflammatorischen Reaktion, die insbesondere durch das angeborene Immunsystem vermittelt wird. Durch Makrophagen, aber auch infizierte Epithelien sowie Leydig- und Sertolizellen kommt es zu einer Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine wie $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ und IL-6 (Irez et al., 2020; Moretti et al., 2014), die zu einer vermehrten Einwanderung von Leukozyten und Makrophagen (Azenabor et al., 2015) und darüber zur vermehrten Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies führen (Agarwal et al., 2003; Darbandi et al., 2018), welche wiederum die Stabilität von DNA und RNA beeinträchtigen (Panner Selvam et al., 2020), die Funktion intra- und extrazellulärer Proteine und die Integrität der Plasmamembranen stören können (Agarwal et al., 2018; Dutta et al., 2019; Ramirez et al., 1992).

1.5.3 Auswirkungen auf die Fertilität

Vermeehrt anfallende reaktive Sauerstoffspezies verursachen in den Spermien und ihren Vorläuferzellen Deviationen in Form und Motilität sowie funktionelle Beeinträchtigung der Akrosomregion. Sie wirken aber auch auf die spermatogeneseregulierenden Leydig- und Sertolizellen. Es kommt zu einer Verschiebung des intratestikulären Mikromilieus, einer verminderten Testosteronsynthese und so zu einer Hemmung der Spermatogenese (Dutta et al., 2019). Unmittelbare Infektionen der Sertoli- und Leydigzellen können zur Apoptose derselben führen. Geschieht dies in starkem Ausmaß, wird die Spermiogenese irreparabel gestört (Kaur et al., 2014; Sengupta et al., 2020).

Das proinflammatorischen Zytokin IL-1 führt über ein *tissue remodeling* der Blut-Hoden-Schranke zu einer Verminderung des Immunprivilegs der Spermien. Durch IL-2 und IL-6 kommt es zu einer Herunterregulation der Testosteronbildung in den Leydig-Zellen (Ooi et al., 2020). Ob es neben den entzündungsfördernden Effekten auch direkte Auswirkungen auf die Spermatogenese durch die im Seminalplasma erhöhten Spiegel von IL-17 , IL-18 und IL-21 gibt, ist derzeit noch nicht geklärt. IL-4 spielt vermutlich für die Regulation der Inflammation eine Rolle und führt außerdem bei chronischen

Entzündungen über die Induktion von TGF- β zum fibrotischen Umbau des intratestikulären Gewebes (Irez et al., 2020). Auch für die beeinträchtigte Spermatogenese nach Covid-19 konnte ein Zusammenhang mit IL-4 gezeigt werden (Renu et al., 2020).

Im Rahmen der Infektion kann es aufgrund eines entzündlichen interstitiellen Ödems zu einer Verkleinerung des Lumens der *Tubuli seminiferi* kommen, so dass die Spermatozoen in ihrem Fortkommen gehindert werden. Sie erreichen letztendlich den Nebenhoden nicht oder nur in verminderter Anzahl und erscheinen nicht im Ejakulat (Darbandi et al., 2018).

Eine Beteiligung des Nebenhodens im Sinne einer Epididymitis führt zu mangelhafter Ausreifung der Spermien und kann durch postinflammatorische, fibrosierende Umbauprozesse in einer dauerhaften Infertilität münden (Krause et al., 2011).

Kommt es zu einer Infektion der Glandula vesiculosa, kann dadurch die Sekretion des alkalischen, fruktosereichen Sekrets gestört sein, was vor allem die Vitalität und Motilität der Spermien einschränkt. Eine, z. B. erregerbedingte, verminderte Menge proteolytischer Enzyme aus der Prostata kann zu Aggregation der Spermien führen und so die Wahrscheinlichkeit des Erreichens der Eizelle im weiblichen Genitaltrakt senken (Krause et al., 2011; Schuppe et al., 2017).

1.6 Ziele der Arbeit

Diese retrospektive Studie soll die Anzahl der Infektionen mit oben genannten Bakterien und insbesondere mit *Ureaplasma parvum* von Patienten der Andrologie des Uniklinikums Düsseldorf mit unerfülltem Kinderwunsch ermitteln. Es soll in einem Vergleich zu einer altersgematchten Vergleichsgruppe die Auswirkung der Infektion auf die SpermioGrammparameter dargestellt und weiterhin aufgezeigt werden, ob durch eine Behandlung mit Doxycyclin eine Verbesserung ebendieser Parameter erzielt werden kann. Unterschieden werden sollen dabei die Auswirkungen von Infektionen der Bakterien *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis* und *Mycoplasma genitalium*.

Wir vermuten einen Zusammenhang zwischen einer Infektion und einer geminderten Spermienqualität hinsichtlich Anzahl, Beweglichkeit und Morphologie. Weiterhin gehen wir davon aus, dass eine erfolgreiche Behandlung der Infektion zu einer Verbesserung

der genannten Parameter führt. Der Nachweis eines positiven Effekts unterstreicht dann eine Therapieindikation für Männer mit unerfülltem Kinderwunsch und nachgewiesener Infektion mit *Ureaplasma parvum*. Lässt sich kein Zusammenhang darstellen, könnte dadurch die Anzahl der antibiotischen Therapien in dieser Kohorte zukünftig reduziert werden.

2 Material und Methoden

Im Folgenden werden sowohl die Methoden der mikroskopischen und biochemischen Spermienanalyse als auch der Datenerfassung und Auswertung beschrieben.

2.1 Ein- und Ausschlusskriterien

Die Datenanalyse erfolgte auf Grundlage der Datenbank der andrologischen Ambulanz des Universitätsklinikums Düsseldorf. Eingeschlossen wurden Patienten mit unerfülltem Kinderwunsch aus den Jahren 2016 bis einschließlich 2019, bei denen im Rahmen der Erstuntersuchung eine Infektion mit *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis* oder *Mycoplasma genitalium* nachgewiesen wurde. Zusätzlich wurde eine altersgematchte Kontrollgruppe aus derselben Datenbank identifiziert, die eine unauffällige mikrobiologische Untersuchung aufwies.

Ausschlusskriterien umfassten dabei folgende Punkte:

- Abweichung von der WHO-empfohlenen Karenzzeit für SpermioGramme von zwei bis sieben Tagen
- Vorab bekannte Ursache für Infertilität wie
 - Z. n. keimzellschädigender Chemo- und/oder Radiotherapie
 - Hypogonadotroper Hypogonadismus

Der Zeitraum 2016 bis 2019 wurde gewählt, da für diesen eine einheitliche Erfassung der auszuwertenden Daten vorliegt.

Die Daten wurden in pseudonymisierter Form einer retrospektiven Auswertung unterzogen und umfassten:

- Alter des Patienten bei Untersuchung des SpermioGramms
- Karenzzeit
- Mikrobiologische Befunde der Ejakulatuntersuchung
- Parameter des SpermioGramms:
 - Volumen
 - Spermatozoendichte und -gesamtmenge

- Spermienmotilität
- Spermienmorphologie
- Leukozyten pro 100 Spermien
- Konzentration von Peroxidase-positiven Leukozyten

2.2 Durchführung des Spermioграмms

2.2.1 Gewinnung des Materials

Das Ejakulat wird in den Räumlichkeiten der andrologischen Ambulanz nach mindestens zweitägiger und maximal siebentägiger sexueller Karez in ein steriles, nichttoxisches Gefäß (Urinbecher, Fa. Sarstedt) durch Masturbation gewonnen. Bis zur zeitnahen Aufarbeitung wird die Probe in einem Brutschrank (37 °C) warmgehalten.

2.2.2 Spermioграмm

Das Spermioграмm nach WHO-Standard umfasst Angaben zu Volumen, pH-Wert, Spermienanzahl und -konzentration, -motilität und -morphologie. Zusätzlich erfolgt im andrologischen Labor des Universitätsklinikums Düsseldorf die Bestimmung von Peroxidase-positiven Leukozyten als Entzündungsmarker. Anschließend erfolgt eine mikrobiologische Diagnostik mittels PCR.

Volumen

Die gewonnene Probe wird in ein graduiertes Röhrchen überführt und das Volumen abgelesen.

pH-Wert

Der pH-Wert wird nach der Verflüssigung, vorzugsweise 30 Minuten, spätestens 60 Minuten nach Ejakulation, bestimmt. Die Probe wird gut gemischt, ein Tropfen wird gleichmäßig auf ein pH-Papier (pH 6,4 – 8,0 Fa. Merck) gestrichen. Nach etwa 30 Sekunden erfolgt die Ablesung mit Hilfe des Kalibrationsstreifens.

Spermienmotilität

Die Spermienmotilität wird so schnell wie möglich nach der Liquifizierung der Probe bestimmt, spätestens jedoch 60 Minuten nach der Ejakulation. Analysiert werden 10 µl des gut gemischten Nativejakulates. Das Präparat wird bei einer 400-fachen Vergrößerung untersucht. Es werden nur frei bewegliche Spermatozoen klassifiziert, d.h. agglutinierte Spermatozoen werden nicht berücksichtigt.

Die Motilität wird mit Hilfe eines Zählgeräts, Fa. Assistent Counter AC-15, in 4 verschiedene Kategorien (A, B, C, D) differenziert. Möglichst viele Gesichtsfelder sind anzusehen, da das Ejakulat als visköses Material eine ungleichmäßige Verteilung der Spermien aufweisen kann. Ausgezählt werden 200 Spermien pro Präparat (Doppelbestimmung) und die Mittelwerte werden in Prozentzahlen angegeben.

Klassifikation der Spermienmotilität

- A schnelle Vorwärtsbewegung, d. h. lineare, progressive Motilität
- B langsamere Vorwärtsbewegung, d. h. träge Motilität
- C keine progressive Beweglichkeit, d. h. nur lokale Motilität
- D keine Beweglichkeit, d. h. Immotilität

Die Klassifikation A + B werden nach aktuellen WHO-Referenzwerten zur Kategorie PR (progressive Motilität) zusammengefasst. Klassifikation C entspricht der Kategorie NP (nicht-progressive Motilität).

Spermatozoenkonzentration

Die Spermatozoenkonzentration wird nach der vollständigen Verflüssigung des Ejakulates bestimmt.

Je nach Spermiedichte im Nativpräparat wird das Ejakulat in einem Diluent verdünnt:

- 1:10 < 20 Spermien / Blickfeld
- 1:20 > 30 Spermien / Blickfeld
- 1:50 > 50 Spermien / Blickfeld
- 1:100 > 100 Spermien / Blickfeld

Der Diluent setzt sich wie folgt zusammen:

Formalin (35%ig)	10,0 ml
Natriumhydrogencarbonat	50,0 g
Aqua dest.	ad 1000 ml

Die verdünnte Probe wird gemischt, in die Zählkammern einer „Neubauer Kammer improved“ mit jeweils 10µl bestückt und ca. 5 Minuten sedimentieren gelassen. Anschließend werden alle 25 großen Quadrate auf beiden Seiten ausgezählt. Die Konzentration der Spermien wird in Million/ml angegeben. Die Gesamtzahl der Spermien errechnet sich aus der Konzentration multipliziert mit dem Volumen der Gesamtprobe. Im gleichen Untersuchungsschritt werden auch die Leukozyten im Ejakulat ausgezählt und anschließend auf eine Konzentration pro 100 Spermien heruntergerechnet.

Morphologie

Die Bestimmung der Morphologie nach WHO erfolgt anhand eines nach Papanicolaou gefärbten Ausstrichpräparats. Diese Methode erlaubt die Differenzierung der Spermatozoenköpfe.

Die Färbung der zuvor luftgetrockneten Ausstriche erfolgt schrittweise:

1. Fixierung in absolutem Ethanol 10 min
2. Ethanol 70%, 50% je ca. 10 s
3. Hämalaun nach Meyer 10 min
4. Leitungswasser bis zu 5 min fließend wässern
5. Ethanol 70%, 96% je ca. 10 s
6. Orange G- Lösung OG 6 2 - 5 min
7. Ethanol 96% 2 x 10 s
8. Polychrom-Lösung EA 50 1 -5 min
9. Ethanol 96% (2x) 2 x 10 s
10. Xylolersatz (2x) 2 x 10 s

Die Ausstrichpräparate eines Ejakulates bieten ein variables Bild. Auch bei normalfertilen Patienten zeigt sich ein Großteil der Spermien als von der nach WHO definierten Normalform abweichend.

Die Bewertung erfolgt lichtmikroskopisch. Es werden 100 Spermien differenziert und die Köpfe nach den WHO-Kriterien bewertet, zusätzlich erfolgt eine detaillierte Einteilung der Abweichung anhand der Düsseldorfer Klassifikation. Der Anteil der normalgeformten Spermien wird in Prozent angegeben. Die Untersuchung wird doppelt durchgeführt und anschließend Mittelwerte gebildet.

Gesamtleukozyten im Ejakulat

Die Bestimmung der Gesamtleukozyten im Ejakulat erfolgt während der Analyse der Spermatozoenkonzentration. Die Angabe erfolgt in Relation zu 100 Spermatozoen.

Peroxidase-positive Leukozyten

Für die Bestimmung der Peroxidase-positiven Leukozyten (kurz: POX), die sich vor allem aus neutrophilen Granulozyten zusammensetzen, werden 20 µl gut durchgemischtes Nativejakulat in 380 µl POX-H₂O₂-Lösung pipettiert und für mindestens 20 Minuten bei 37 °C inkubiert. Die Auszählung erfolgt in einer *Neubauer Kammer improved*. Die Kammer wird mit ca. 10 µl gut gemischter Lösung befüllt und für 5 Minuten sedimentiert. Peroxidase-positive Leukozyten weisen im Lichtmikroskop eine orange-bräunliche Färbung auf. Die Anzahl der angefärbten Zellen wird aufgrund der Verdünnung von 1:20 mit dem Faktor 0,2 multipliziert, und in x10⁶ / ml angegeben.

o-Toluidin-Stammlösung

150 µl ortho-Toluidin

in 100 ml 0,9% NaCl

POX-H₂O₂-Lösung:

20 µl H₂O₂

7 ml o-Toluidin-Stammlösung

Einen definierten Grenzwert für Peroxidase-positive Leukozyten gibt es nicht. Die WHO empfiehlt einen oberen Richtwert von 1x10⁶ / ml.

Mikrobiologische Untersuchung

Zur mikrobiologischen Untersuchung mittels *Realtime-Multiplex-PCR* wird etwa 100 µl der gut durchgemischten Nativprobe in einem sterilen Probengefäß an das akkreditierte Labor des Instituts für Mikrobiologie des Universitätsklinikums Düsseldorf verschickt. Die Untersuchungsmethode differenziert zwischen *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis* und *Mycoplasma genitalium*.

2.2.3 Behandlung einer nachgewiesenen Infektion

Die Behandlung einer nachgewiesenen Infektion erfolgte anhand der Leitlinien und Empfehlung der zuständigen Fachgesellschaften, insbesondere der Deutschen STI-Gesellschaft in der jeweils gültigen Fassung. Während *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* und *Ureaplasma parvum* sowie *Mycoplasma hominis* in der Regel sensibel gegenüber Doxycyclin sind, zeigt sich in den letzten Jahren eine zunehmende Resistenz von *Mycoplasma genitalium* gegen dieses Antibiotikum (Izuka et al., 2020). In der behandelten Kohorte war Doxycyclin in einer Dosierung von 200 mg täglich für 14 Tage für alle Keime Therapie der ersten Wahl. Allen Patienten wurde eine Untersuchung und ggf. synchrone Mitbehandlung der Partnerin dringend empfohlen. Es erfolgte regelhaft eine Erfolgskontrolle mittels erneuter PCR etwa zwei Wochen nach Therapieende. Ein erneutes Spermogramm wurde nach circa drei Monaten durchgeführt. Probanden, bei denen die mikrobiologische Kontrolle nach der Erstlinientherapie nicht negativ war, wurden von der Auswertung ausgeschlossen.

2.3 Auswahl der Daten und Erfassung

Die zu analysierenden Daten wurden anhand der oben genannten Ein- und Ausschlusskriterien ausgewählt. Bei fraglicher Plausibilität oder fehlenden Daten erfolgte ein manueller Abgleich mit der Patientenakte.

Die Spermogramme wurden von zwei langjährig erfahrenen medizinisch-technischen Assistentinnen durchgeführt. Das andrologische Labor unterliegt einer regelmäßigen internen und externen Qualitätssicherung durch die Qualitätskontrolle der Deutschen Gesellschaft für Andrologie (QuaDeGA). Alle Anforderung nach RiLiBÄK werden erfüllt.

Die Untersuchungen erfolgten aus Daten der Jahre 2016 – 2019. Für diesen Zeitraum liegt eine einheitliche und vollständige Erfassung vor. Die erhobenen Analysen wurden in einer laboreigenen Access-Datenbank dokumentiert.

Die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung sind im Krankenhausinformationssystem *medico* archiviert.

Alle relevanten Daten wurden pseudonymisiert und in einer Excel-Tabelle zusammengetragen.

2.4 Statistische Auswertung der Daten

Für die Auswertung wurde die Studienkohorte insgesamt und in Subgruppen betrachtet. Subgruppenanalysen fanden für die jeweiligen Erreger sowie für Patienten mit Azoospermie, erhöhter Leukozytenzahl sowie mit erhöhter Konzentration für Peroxidase-positive Leukozyten statt. Zur Auswertung wurden nur Spermioogramme herangezogen, bei denen ein Behandlungserfolg nachgewiesen wurde.

Die statistischen Analysen erfolgten über Microsoft Excel, NumPy und Pandas Python Data Analysis Library. Die Berechnung des Signifikanzniveaus erfolgte per t-Test oder, falls die Werte keine Normalverteilung aufwiesen, per Mann-Whitney-U-Test. p-Werte < 0,05 wurden als signifikant definiert.

Die Erstellung der Diagramme und Graphen erfolgten mit Microsoft Excel und OriginLab OriginPro 2021. Abbildung 7 wurde mit Adobe Indesign und Microsoft Powerpoint angefertigt.

2.5 Ethikvotum

Ein Ethikvotum der Ethikkommission an der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf wurde unter der Studiennummer 2020-991 vor Beginn der Untersuchung eingeholt.

3 Ergebnisse

In folgendem Kapitel werden die Ergebnisse der statistischen Auswertung dargestellt. Zu Beginn erfolgt die genauere Charakterisierung der Studienkohorte und der Kontrollgruppe.

3.1 Charakteristika der Studienkohorte und Kontrollgruppe

In den Jahren 2016 bis 2019 wurden in der andrologischen Ambulanz des Universitätsklinikums Düsseldorf 2427 Erst- und 1037 Zweitspermiogramme angefertigt. Unter diesen Spermiogrammen zeigte sich bei 371 Erstuntersuchten ein positiver mikrobiologischer Befund (15,3%).

Probanden mit positivem mikrobiologischem Befund wurden als Studienkohorte definiert, bei unauffälligem Ergebnis erfolgte die Zuordnung zur Kontrollgruppe.

Als Behandlungserfolg ist eine mikrobiologische Kontrolle nach antibiotischer Therapie definiert, in der sich keiner der vorher nachgewiesenen Bakterien mehr zeigt.

3.1.1 Studienkohorte

Das mittlere Alter betrug 36,96 Jahre, die durchschnittliche Karenzzeit vor Abgabe des Ejakulats 5,13 Tage. Zu den 371 Erstspermiogrammen liegen 197 Zweitspermiogramme (53%) vor, hierunter 158 (42%) mit mikrobiologisch überprüften Therapieerfolg. Das mittlere Intervall zwischen erstem und zweitem Spermiogramm betrug 109 Tage (Tabelle 3).

Spermiogramme gesamt	568
Erstspemiogramme	371
Zweitspemiogramme	197
Zweitspemiogramme & Behandlungserfolg	158
Mittleres Alter	36,96 Jahre
Mittlere Karenzzeit	5,13 Tage
Mittleres Intervall zwischen Erst- und Zweitspemiogramm	109 Tage

Tabelle 3: Deskriptive Statistik der Studienkohorte

Abbildung 1 zeigt die jeweilige Anzahl der Spermiogramme für die unterschiedlichen Bakterien auf. Am häufigsten (n=300) ließ sich *Ureaplasma parvum* gefolgt von *Ureaplasma urealyticum* (n=68) nachweisen; seltener *Mycoplasma hominis* (n=37), *Mycoplasma genitalium* (n=15) und *Chlamydia trachomatis* (n=4). In keinem Ejakulat wurde *Neisseria gonorrhoeae* nachgewiesen.

Für 53% der Erstspemiogramme liegt ein Folgespemiogramm vor, in 80% davon mit nachgewiesenem Behandlungserfolg bezüglich der Infektion.

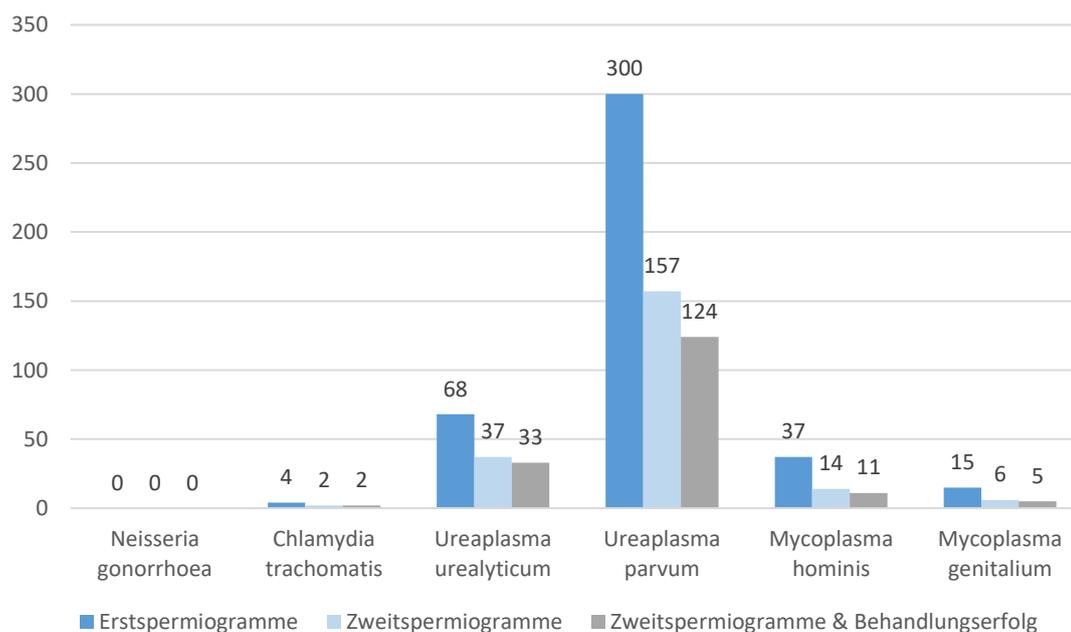


Abbildung 1: Anzahl der Spermiogramme je nach nachgewiesener bakterieller Infektion

Mehrfachinfektionen (Tabelle 4) zeigten sich bei 57 Probanden, am häufigsten lag dann eine Koinfektion von *Ureaplasma parvum* und *Mycoplasma hominis* (n=24) vor. Insgesamt drei Patienten zeigten eine Tripleinfektion: *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* und *Mycoplasma hominis*; *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* und *Mycoplasma genitalium* oder *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* und *Mycoplasma genitalium*.

	+ <i>Chlamydia trachomatis</i>	+ <i>Ureaplasma urealyticum</i>	+ <i>Ureaplasma parvum</i>	+ <i>Mycoplasma hominis</i>	+ <i>Mycoplasma genitalium</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	-	1	1	1	0
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1	-	5	13	3
<i>Ureaplasma parvum</i>	1	5	-	24	7
<i>Mycoplasma hominis</i>	1	13	24	-	2
<i>Mycoplasma genitalium</i>	0	3	7	2	-

Tabelle 4: Anzahl der Koinfektionen in der Studienkohorte

Anhand der Quote von Erstspermiogrammen mit nachgewiesenen bakteriellen Infektionen von der Gesamtzahl der Erstspermiogramme lässt sich eine Prävalenz im Patientenkollektiv der andrologischen Ambulanz für die Jahre 2016-2019 errechnen und ist in Abbildung 2 dargestellt.

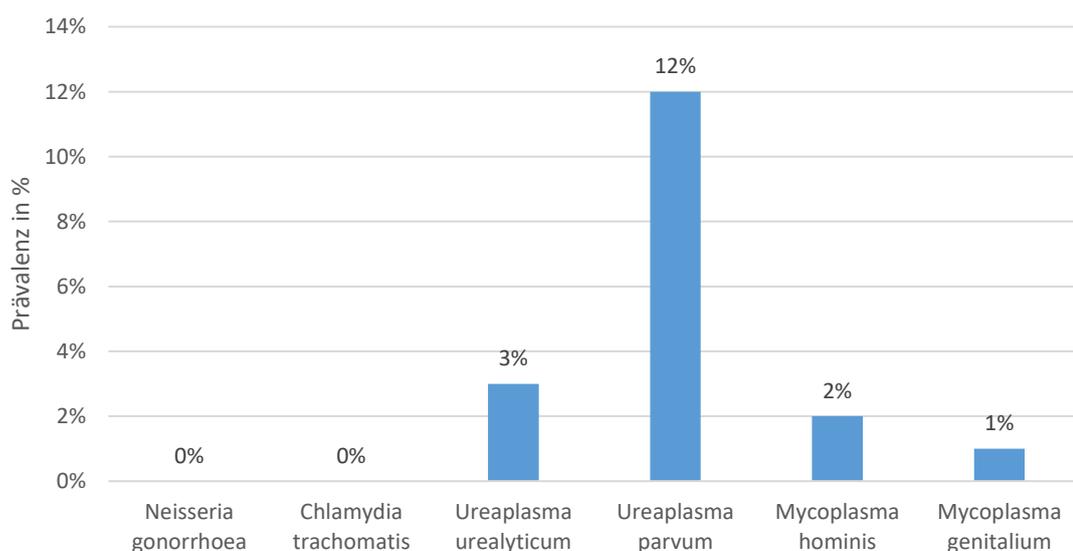


Abbildung 2: Prävalenzen der untersuchten Bakterien im Patientenkollektiv der andrologischen Ambulanz 2016-2019.

3.1.2 Kontrollgruppe

In die Kontrollgruppe (Tabelle 5) wurden alle Probanden aufgenommen, die ein unauffälliges mikrobiologisches Ergebnis hatten. Sie beinhaltet 2056 Erst- und 840 Zweitspermiogramme. Das mittlere Alter betrug 37,95 Jahre, die durchschnittliche Karenzzeit vor Abgabe des Spermas 5,44 Tage.

Spermiogramme gesamt	2896
Erstspemiogramme	2056
Zweitspermiogramme	840
Mittleres Alter	37,95 Jahre
Mittlere Karenzzeit	5,44 Tage
Mittleres Intervall zwischen Erst- und Zweitspermiogramm	106 Tage

Tabelle 5: Deskriptive Statistik der Kontrollgruppe

3.2 Spermiogrammparameter der Kontrollgruppe

Der in Tabelle 6 und Abbildung 3 dargestellte Vergleich der 2056 Erst- und 840 Zweitspermiogramme zeigt eine Erhöhung des Volumens, der Motilität, der Peroxidase-positiven Leukozyten und der Anzahl der Leukozyten bei gleichzeitiger Verminderung der Spermatozoendichte sowie des Anteils der normalgeformten Spermien bei der Zweituntersuchung. Die Unterschiede der Parameter Volumen, Spermatozoendichte und normalgeformte Spermien sind signifikant.

Kontrollgruppe 2016-2019	Erstspemiogramme (n=2056)		Zweitspermiogramme (n=840)		p-Wert
	M	SD	M	SD	
Volumen (ml)	3,45	1,79	3,61	1,85	0,04
Spermatozoendichte (Mio/ml)	48,6	61,6	36,46	35,99	<0,001
Motilität (%)	43,03	15,33	42,32	15,92	0,27
Norm (%)	1,25	1,60	1,02	1,31	<0,001
POX (Mio/ml)	0,18	0,58	0,20	0,53	0,39
Leukozyten (pro 100 Spermien)	2,24	7,62	2,56	8,38	0,34

Tabelle 6: Vergleich der Erst- und Zweitspermiogramme der Kontrollgruppe.
M= Mittelwert, SD= Standardabweichung

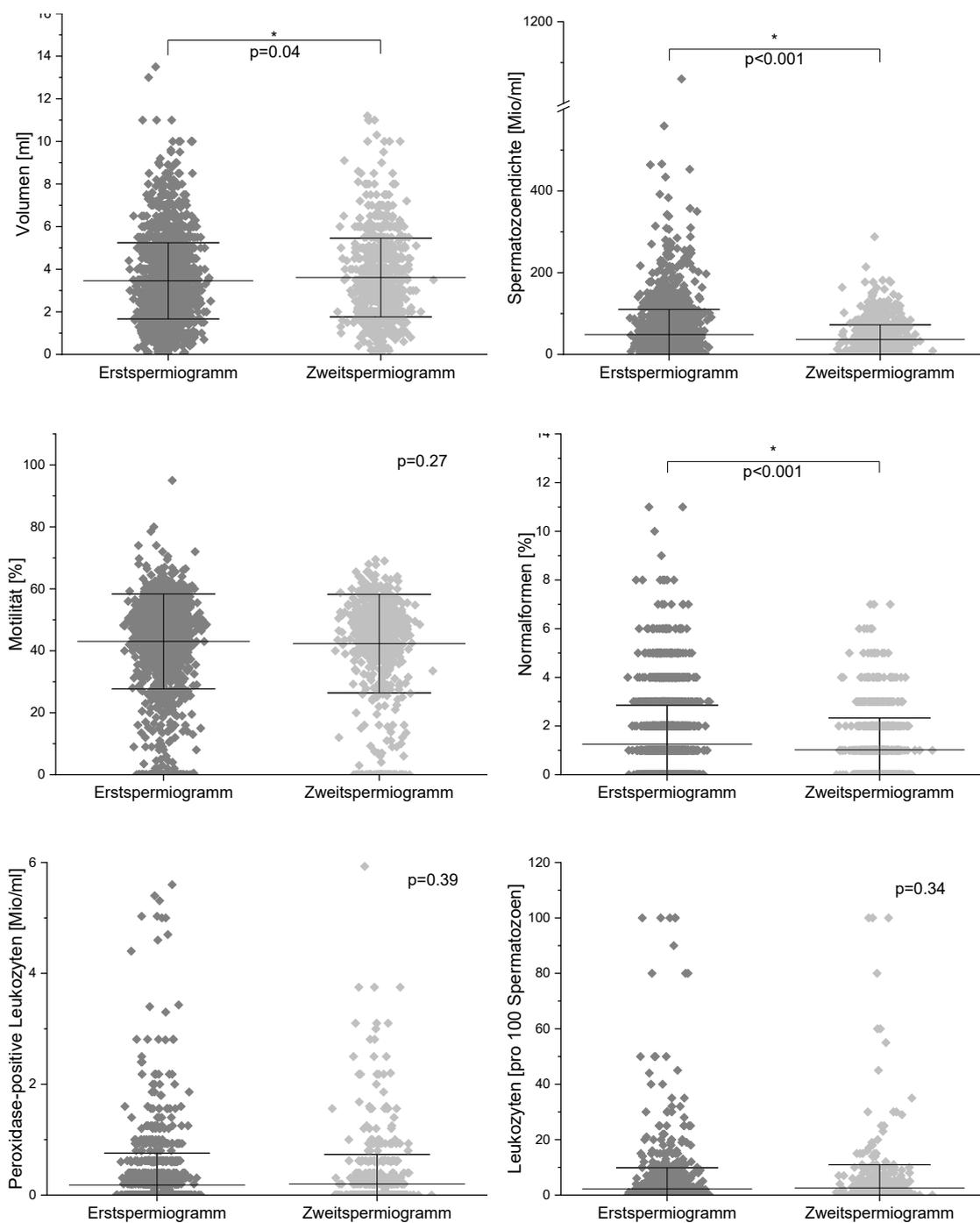


Abbildung 3: Vergleich der Erst- (n=2056) und Zweitspertiogramme (n=840) der Kontrollgruppe. Darstellung der Datenpunkte, Mittelwerte sowie Standardabweichungen

3.3 Spermogrammparameter der Studienkohorte

Insgesamt liegen je 158 Erst- und Zweitspermiogramme mit Infektion mindestens einer der oben genannten Bakterien sowie nachgewiesenem Behandlungserfolg vor.

Im Verlauf zeigt sich eine minimale Verminderung des Volumens sowie des Anteils normalgeformter Spermien. Deutlicher, jedoch statistisch nicht signifikant, ist die Reduktion der Gesamtleukozyten sowie der Peroxidase-positiven Leukozyten. Auch der geringfügige Anstieg der Spermatozoendichte und der Motilität erreicht kein ausreichendes Signifikanzniveau (Tabelle 7).

	Erstpermiogramme (n=158)		Zweitspermiogramme (n=158)		p-Wert
	M	SD	M	SD	
Volumen (ml)	3,24	1,54	3,18	1,55	0,56
Spermatozoendichte (Mio/ml)	42,03	49,02	42,49	47,53	0,86
Motilität (%)	42,17	17,2	43,52	15,67	0,13
Norm (%)	1,05	1,41	1,10	1,53	0,59
POX (Mio/ml)	0,29	0,61	0,20	0,37	0,06
Leukozyten (pro 100 Spermien)	3,19	7,74	2,63	8,92	0,52

Tabelle 7: Vergleich der Spermogramme vor und nach Therapie der Gesamtstudienkohorte. M= Mittelwert, SD= Standardabweichung

3.3.1 Vergleich der Ausgangswerte

Insgesamt lagen 371 Erstpermiogramme vor, bei denen mindestens einer der in dieser Studie relevanten Bakterien nachgewiesen wurde. Beim Vergleich der Erstpermiogrammparameter der Kontroll- und der Prüfgruppe zeigt sich in den Ausgangswerten ein Trend zu einer erhöhten Anzahl von Peroxidase-positiven Leukozyten und Gesamtleukozyten bei positivem Keimnachweis. Das reduzierte Ejakulatvolumen der Spermogramme mit Bakteriennachweis ist signifikant (Tabelle 8).

Erstpermiogramme	Kontrollgruppe (ohne Bakteriennachweis) (n=2056)		Studienkohorte (mit Bakteriennachweis) (n=371)		p-Wert
	M	SD	M	SD	
Volumen (ml)	3,45	1,79	3,13	1,45	<0,001
Spermatozoendichte (Mio/ml)	48,6	61,6	46,21	49,71	0,41
Motilität (%)	43,03	15,33	43,63	15,01	0,48
Norm (%)	1,25	1,60	1,25	1,61	0,98
POX (Mio/ml)	0,18	0,58	0,22	0,5	0,18
Leukozyten (pro 100 Spermien)	2,24	7,62	3,15	9,5	0,08

Tabelle 8: Vergleich der Erstpermiogramme der Kontrollgruppe und der Studienkohorte. M= Mittelwert, SD= Standardabweichung

3.4 Subgruppenanalyse

Die Studienkohorte wurde in Subgruppen je nach nachgewiesener Infektion unterteilt. Es erfolgte ein Vergleich der Ausgangswerte mit der Kontrollgruppe sowie der Werte vor und nach der therapeutischen Intervention. Auf Grund des besonderen Augenmerks auf *Ureaplasma parvum* erfolgte hier zusätzlich eine grafische Darstellung der Ergebnisse.

Für *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* und *Chlamydia trachomatis* lag nur eine geringe Anzahl von Spermigrammen und eine zum Teil sehr geringe Anzahl mit zusätzlich nachgewiesenem Behandlungserfolg vor. Die statistische Auswertung sollte vor diesem Hintergrund betrachtet werden. Da in keinem Fall *Neisseria gonorrhoeae* nachgewiesen wurde, erfolgte hier keine Auswertung.

3.4.1 *Ureaplasma parvum*

Infektion mit *Ureaplasma parvum* wurden in unserer Kohorte am häufigsten nachgewiesen. Die Ausgangswerte im Vergleich zur Kontrollgruppe sind in Abbildung 4 und Tabelle 9 dargestellt. Es lagen 300 Erstpermiogramme vor, in denen sich im Vergleich zur Kontrollgruppe eine höhere Konzentration an Peroxidase-positiven Leukozyten und Gesamtleukozyten zeigt. Die Verminderung des Ejakulatvolumens ist signifikant. In den restlichen Parametern zeigen nur geringe Unterschiede.

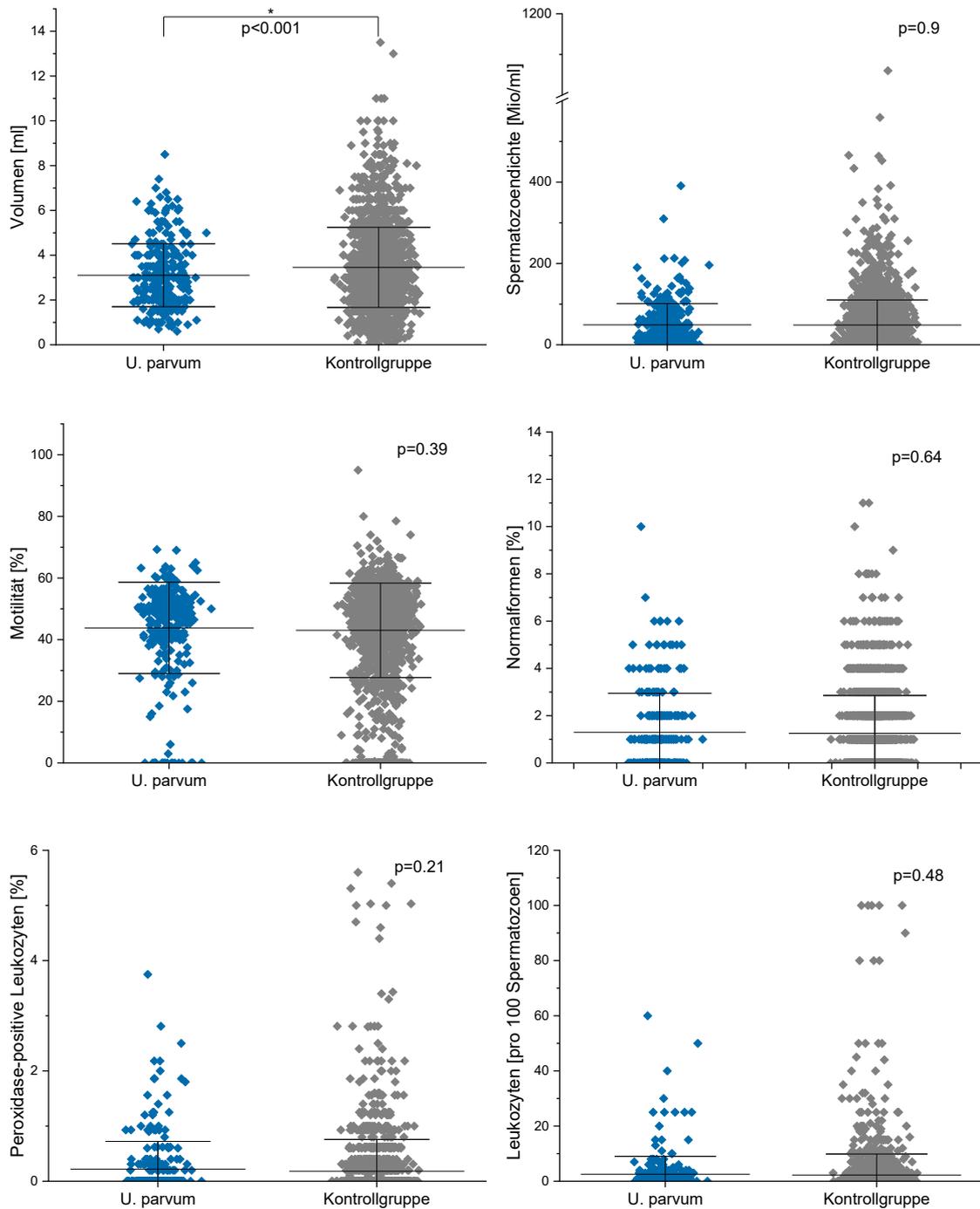


Abbildung 4: Vergleich der Erstspermiogramme bei Nachweis von *Ureaplasma parvum* (n=300) vs. Kontrollgruppe (n=2056). Darstellung der Datenpunkte, Mittelwerte sowie Standardabweichungen

Vergleich Erstspermiogramme	Ohne Bakteriennachweis (n=2056)		<i>Ureaplasma parvum</i> (n=300)		p-Wert
	M	SD	M	SD	
Volumen (ml)	3,45	1,79	3,10	1,41	<0,001
Spermatozoendichte (Mio/ml)	48,6	61,6	49,0	52,27	0,91
Motilität (%)	43,03	15,33	43,82	14,81	0,39
Norm (%)	1,25	1,60	1,30	1,65	0,64
POX (Mio/ml)	0,18	0,58	0,22	0,50	0,21
Leukozyten (pro 100 Spermien)	2,24	7,62	2,53	6,51	0,49

Tabelle 9: Vergleich der Erstspermiogramme der Kontrollgruppe vs. bei Nachweis von *Ureaplasma parvum*. M= Mittelwert, SD= Standardabweichung

Für 124 Probanden lag ein Erst- und Zweitspermiogramm nach erfolgreicher Behandlung vor. Während die Motilität und der Anteil normalgeformter Spermien leicht stieg, sanken die Werte für das Volumen, die Spermatozoendichte, Peroxidase-positive Leukozyten und Gesamtleukozyten. Es zeigte sich jedoch in keinem der untersuchten Parameter signifikante Änderungen. Abbildung 5 stellt die Datenpunkte als Scatterplot dar, die genauen Werte beinhaltet Tabelle 10.

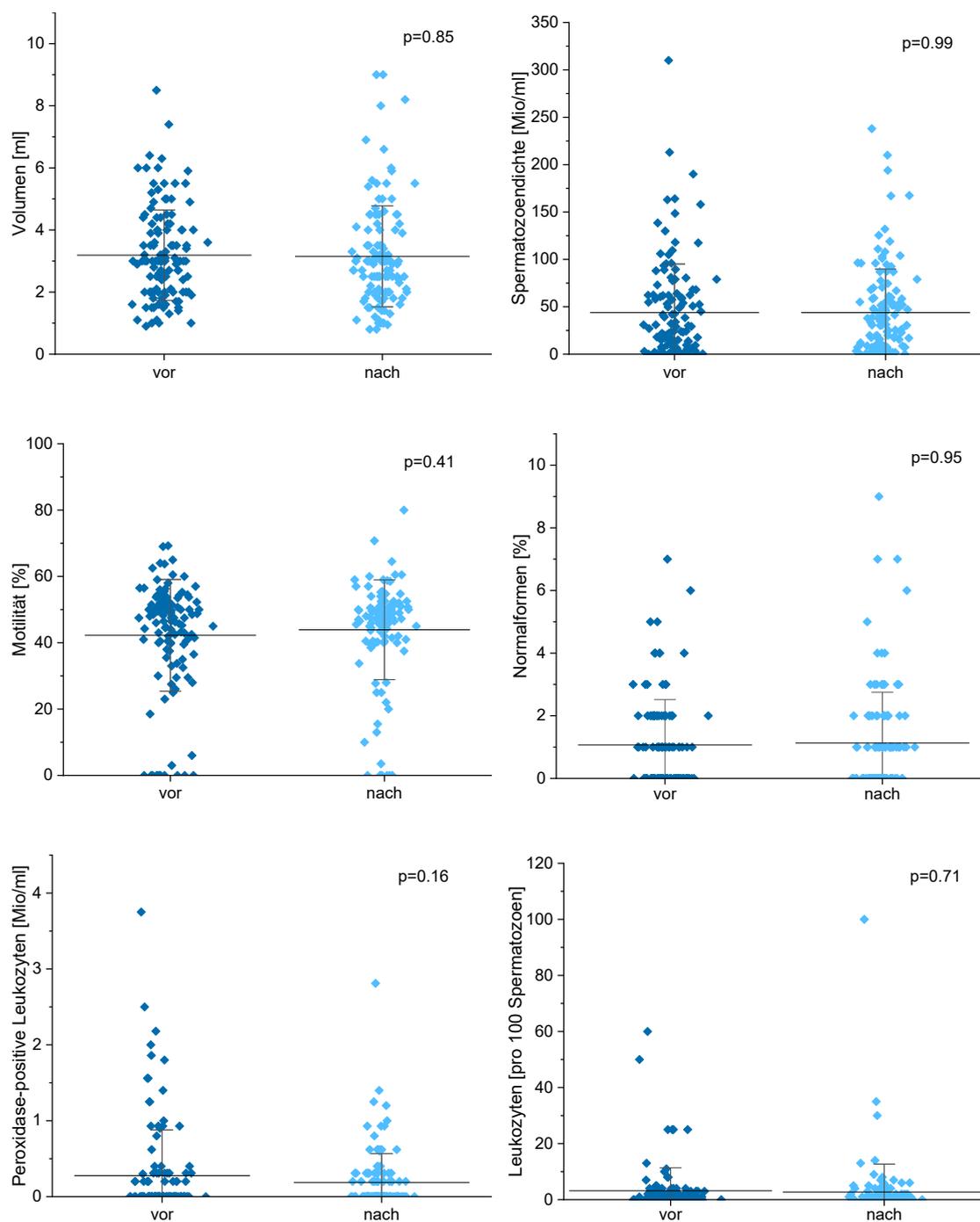


Abbildung 5: Vergleich der Spermigramme vor (n=124) und nach (n=124) Behandlung einer Infektion mit *Ureaplasma parvum*. Darstellung der Datenpunkte, Mittelwerte sowie Standardabweichung

	Erstspemmiogramme (n=124)		Zweitspemmiogramme (n=124)		p-Wert
	M	SD	M	SD	
Volumen (ml)	3,19	1,45	3,15	1,62	0,75
Spermatozoendichte (Mio/ml)	43,94	51,22	43,85	45,7	0,98
Motilität (%)	42,22	16,86	43,91	15,04	0,12
Norm (%)	1,08	1,46	1,15	1,64	0,56
POX (Mio/ml)	0,28	0,6	0,19	0,38	0,07
Leukozyten (pro 100 Spermien)	3,15	8,21	2,73	9,95	0,69

Tabelle 10: Vergleich der Spermiogramme bei Nachweis von *Ureaplasma parvum* vor und nach erfolgreicher Therapie. M= Mittelwert, SD= Standardabweichung

Betrachtet man nun für die einzelnen Spermiogrammparameter differenziert die Probanden, deren Ausgangswerte die von der WHO festgelegten Normwerte (vgl. Tabelle 1) unter- beziehungsweise überschreiten, zeigen sich für Volumen, Spermatozoendichte, Motilität, Gesamtleukozyten und Konzentration der Peroxidase-positiven Leukozyten signifikante Veränderungen nach der Behandlung mit Doxycyclin. Für die Anzahl der Leukozyten pro 100 Spermien gibt es keinen etablierten Normwert, die im klinischen Alltag verwendete Grenze von 3 pro 100 Spermien wurde daher hier übernommen. Tabelle 11 und Abbildung 6 stellen die Vergleiche vor und nach Therapie dar.

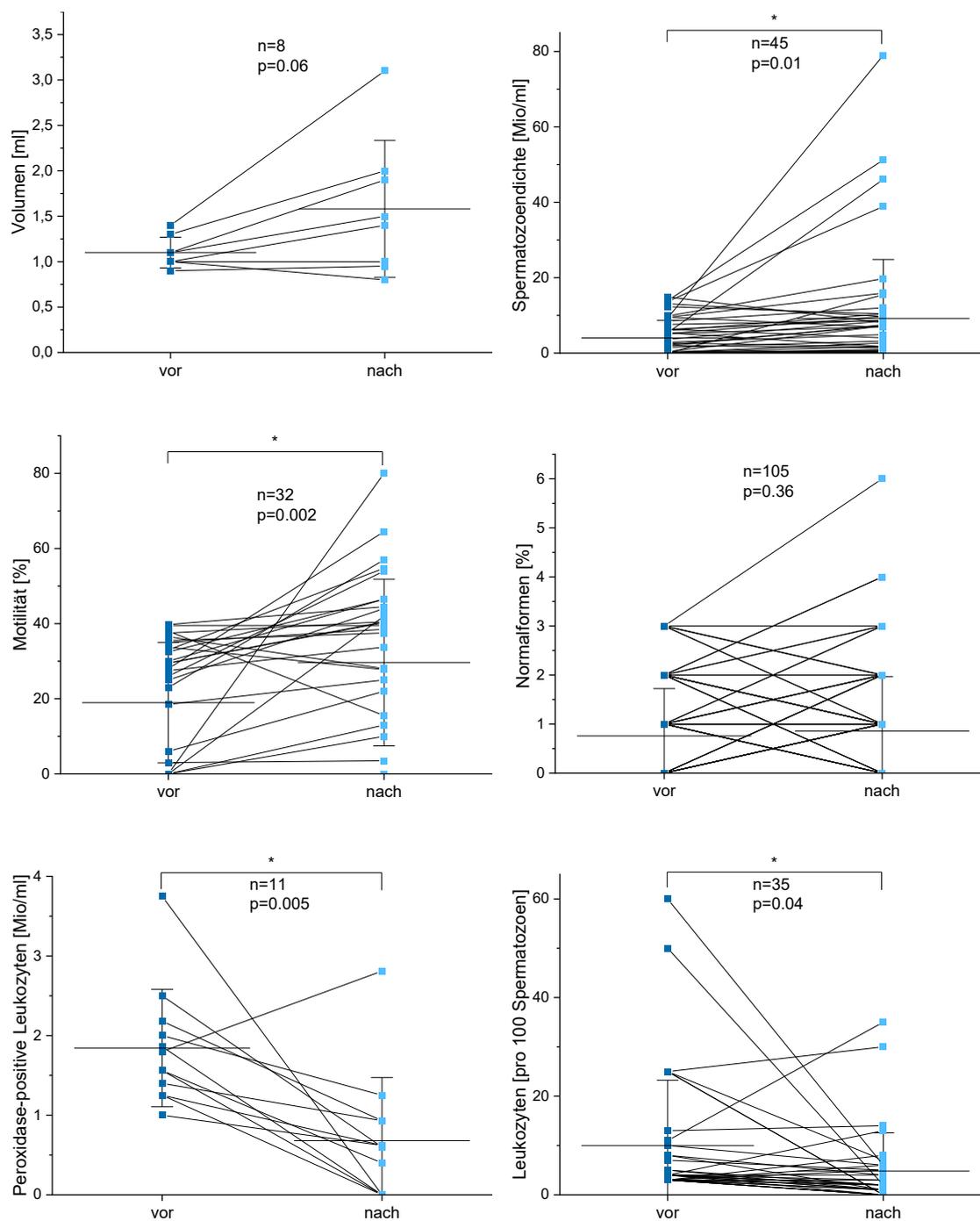


Abbildung 6: Vergleich der Parameter der Erst- und Zweitspermiogramme bei Abweichung von den jeweiligen Normwerten und Infektion mit *Ureaplasma parvum*. Darstellung der Datenpunkte, Mittelwerte sowie Standardabweichungen, Linien verbinden zusammengehörige Datenpaare.

	Erstspemmiogramme		Zweitspemmiogramme		p-Wert
	M	SD	M	SD	
Volumen <1,5 (ml) (n=8)	1,1	0,17	1,58	0,75	0,06
Spermatozoendichte <15 (Mio/ml) (n=45)	4,01	4,69	9,2	15,63	0,01
Motilität <40 (%) (n=32)	18,97	16,04	29,66	22,18	0,002
Norm <4 (%) (n=105)	0,77	0,97	0,86	1,11	0,36
POX ≥1 (Mio/ml) (n=11)	1,84	0,74	0,68	0,79	0,005
Leukozyten ≥3 (pro 100 Spermien) (n=35)	9,78	13,13	4,83	7,73	0,04

Tabelle 11: Vergleich der Parameter der Erst- und Zweitspemmiogramme bei Abweichung von den jeweiligen Normwerten und Infektion mit *Ureaplasma parvum*. M=Mittelwert, SD=Standardabweichung

3.4.2 *Ureaplasma urealyticum*

Die in Tabelle 12 aufgelisteten Mittelwerte der 68 Erstspemmiogramme mit Nachweis von *Ureaplasma urealyticum* zeigen eine signifikant niedrigere Spermatozoendichte und höhere Werte für die Konzentration Peroxidase-positiver Leukozyten und Gesamtleukozyten im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Vergleich Erstspemmiogramme	Ohne Bakteriennachweis (n=2056)		<i>Ureaplasma urealyticum</i> (n=60)		p-Wert
	M	SD	M	SD	
Volumen (ml)	3,45	1,79	3,12	1,39	0,12
Spermatozoendichte (Mio/ml)	48,63	61,6	36,31	36,41	0,01
Motilität (%)	43,03	15,33	43,30	15,07	0,88
Norm (%)	1,25	1,60	0,92	1,38	0,07
POX (Mio/ml)	0,18	0,58	0,27	0,53	0,17
Leukozyten (pro 100 Spermien)	2,24	7,62	5,84	17,21	0,09

Tabelle 12: Vergleich der Erstspemmiogramme der Kontrollgruppe vs. bei Nachweis von *Ureaplasma urealyticum*. M= Mittelwert, SD= Standardabweichung

Es lagen 33 Erst- und Zweitspermiogramme bei Infektionen mit *Ureaplasma urealyticum* vor. Aufgrund der Verteilung der Werte (Tabelle 13) erfolgte die Berechnung der Signifikanz mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests.

Sowohl für das Volumen, die Spermatozoendichte und die Motilität zeigte sich eine Steigerung der Werte. Der Anteil der normalgeformten Spermien ist im Zweitspermiogramm geringfügig niedriger. Die Anzahl der Leukozyten sowie die Konzentration Peroxidase-positiver Leukozyten ist in der Zweitkontrolle niedriger. Keiner der Werte erreicht ein ausreichendes Signifikanzniveau.

	Erstspermiogramme (n=33)		Zweitspermiogramme (n=33)		p-Wert
	M	SD	M	SD	
Volumen (ml)	3,06	1,41	3,15	1,26	0,3 (MW)
Spermatozoendichte (Mio/ml)	39,14	41,77	41,97	53,79	0,47 (MW)
Motilität (%)	42,92	17,02	42,36	16,02	0,2 (MW)
Norm (%)	1,24	1,52	1,21	1,47	0,48 (MW)
POX (Mio/ml)	0,37	0,67	0,21	0,32	0,24 (MW)
Leukozyten (pro 100 Spermien)	6,24	17,54	1,79	2,82	0,17

Tabelle 13: Vergleich der Spermiogramme bei Nachweis von *Ureaplasma urealyticum* vor und nach erfolgreicher Therapie. M= Mittelwert, SD= Standardabweichung, MW= Berechnung mittels Mann-Whitney-U-Test

3.4.3 *Mycoplasma hominis*

In den 37 Erstspermiogrammen mit Nachweis von *Mycoplasma hominis* zeigte sich vor allem eine deutlich erhöhte Anzahl von Leukozyten pro 100 Spermien. Der verminderte Anteil normalgeformter Spermien im Vergleich zur Kontrollgruppe geht mit einer niedrigeren Motilität und Spermatozoendichte einher, erreicht, wie Tabelle 14 zu entnehmen ist, jedoch keine Signifikanz.

Vergleich Erstspermiogramme	Ohne Bakteriennachweis (n=2056)		<i>Mycoplasma hominis</i> (n=37)		
	M	SD	M	SD	p-Wert
Volumen (ml)	3,45	1,79	3,09	1,59	0,17
Spermatozoendichte (Mio/ml)	48,63	61,62	35,61	66,99	0,25
Motilität (%)	43,03	15,33	41,62	15,08	0,58
Norm (%)	1,25	1,60	0,91	1,22	0,12
POX (Mio/ml)	0,18	0,58	0,26	0,51	0,35
Leukozyten (pro 100 Spermien)	2,24	7,62	7,03	17,98	0,11

Tabelle 14: Vergleich der Erstspermiogramme der Kontrollgruppe vs. bei Nachweis von *Mycoplasma hominis*. M= Mittelwert, SD= Standardabweichung

Auch für die 11 vorliegenden Erst- und Zweitspermiogramme bei nachgewiesener Infektion mit *Mycoplasma hominis* zeigt sich bei keinem der untersuchten Parameter eine signifikante Änderung vor und nach Therapie. Neben einem Anstieg der Spermatozoendichte, Motilität und des Anteils normalgeformter Spermien, zeigt sich ein Abfall des Volumens, der Peroxidase-positiven Leukozyten sowie der Leukozyten insgesamt (Tabelle 15).

	Erstspermiogramme (n=11)		Zweitspermiogramme (n=11)		p-Wert
	M	SD	M	SD	
Volumen (ml)	3,44	1,39	3,05	1,22	0,33 (MW)
Spermatozoendichte (Mio/ml)	36,49	35,82	60,39	75,44	0,24 (MW)
Motilität (%)	42,59	11,45	43,61	8,67	0,47 (MW)
Norm (%)	1,27	1,81	1,36	1,55	0,34 (MW)
POX (Mio/ml)	0,48	0,59	0,22	0,33	0,18 (MW)
Leukozyten (pro 100 Spermien)	3,82	7,06	1,82	2,08	0,37 (MW)

Tabelle 15: Vergleich der Spermiogramme bei Nachweis von *Mycoplasma hominis* vor und nach erfolgreicher Therapie. M= Mittelwert, SD= Standardabweichung, MW= Berechnung mittels Mann-Whitney-U-Test

3.4.4 *Mycoplasma genitalium*

Die 15 Spermioogramme mit Nachweis von *Mycoplasma genitalium* zeigen in vielen Parametern bessere Werte als die Probanden der Kontrollgruppe (Tabelle 16). So ist der Anteil der normalgeformten Spermien signifikant höher, die Spermatozoendichte und –motilität nicht signifikant erhöht.

Vergleich Erstspermiogramme	Ohne Bakteriennachweis (n=2056)		<i>Mycoplasma genitalium</i> (n=15)		
	M	SD	M	SD	p-Wert
Volumen (ml)	3,45	1,79	3,71	2,32	0,67
Spermatozoendichte (Mio/ml)	48,6	61,6	58,48	40,72	0,36
Motilität (%)	43,03	15,33	41,9	13,91	0,76
Norm (%)	1,25	1,60	2,29	2,05	0,08
POX (Mio/ml)	0,18	0,58	0,15	0,41	0,79
Leukozyten (pro 100 Spermien)	2,24	7,62	3,47	6,5	0,48

Tabelle 16: Vergleich der Erstspermiogramme der Kontrollgruppe vs. bei Nachweis von *Mycoplasma genitalium*. M= Mittelwert, SD= Standardabweichung

Die geringe Zahl von fünf prä- und posttherapeutischen Spermioogrammen für Infektionen mit *Mycoplasma genitalium* lässt eine Berechnung des Signifikanzniveaus nicht zu. Der Vollständigkeit halber sind die Mittelwerte in Tabelle 17 aufgeführt.

Während sich eine Steigerung von Motilität zeigt, sind alle anderen Parameter im zweiten Spermioogramm vermindert.

	Erstspemmiogramme (n=5)		Zweitspemmiogramme (n=5)		p-Wert
	M	SD	M	SD	
Volumen (ml)	5,12	2,81	3,12	1,84	N too small
Spermatozoendichte (Mio/ml)	33,08	43,49	25,98	35,49	N too small
Motilität (%)	29,8	18,81	38,7	22,25	N too small
Norm (%)	0,75	0,96	1	1,41	N too small
POX (Mio/ml)	0,39	0,68	0,23	0,40	N too small
Leukozyten (pro 100 Spermien)	5,6	10,43	4	3,1	N too small

Tabelle 17: Vergleich der Spermiogramme bei Nachweis von *Mycoplasma genitalium* vor und nach erfolgreicher Therapie. M= Mittelwert, SD= Standardabweichung

3.4.5 *Chlamydia trachomatis*

Im Vergleich zu den Erstspemmiogrammen der Vergleichskohorte zeigen sich deutlich erhöhte Werte für die Parameter Peroxidase-positive Leukozyten und Gesamtleukozyten (Tabelle 18).

Vergleich Erstspemmiogramme	Ohne Bakteriennachweis (n=2056)		<i>Chlamydia trachomatis</i> (n=4)		
	M	SD	M	SD	p-Wert
Volumen (ml)	3,45	1,79	2,78	1,98	N too small
Spermatozoendichte (Mio/ml)	48,6	61,6	25,94	27,13	N too small
Motilität (%)	43,03	15,33	53,63	7,8	N too small
Norm (%)	1,25	1,60	2	1,41	N too small
POX (Mio/ml)	0,18	0,58	0,52	0,55	N too small
Leukozyten (pro 100 Spermien)	2,24	7,62	6	9,52	N too small

Tabelle 18: Vergleich der Erstspemmiogramme der Kontrollgruppe vs. bei Nachweis von *Chlamydia trachomatis*. M= Mittelwert, SD= Standardabweichung

Insgesamt lagen je zwei Erst- und Zweitspemmiogramme mit Infektion durch *Chlamydia trachomatis* und nachgewiesenem Behandlungserfolg vor. Die Anzahl lässt keine

Berechnung des Signifikanzniveaus zu. Die statistischen Angaben sind dennoch der Vollständigkeit halber aufgeführt.

Nach Behandlung zeigt sich eine Verminderung des Volumens, der Spermatozoendichte und des Anteils normalgeformter Spermien. Jedoch zeigt sich auch eine Verminderung der Peroxidase-positiven Leukozyten sowie der Leukozytenzahl. Die Motilität ist im Zweitspermiogramm höher (Tabelle 19).

	Erstspermiogramme (n=2)		Zweitspermiogramme (n=2)		p-Wert
	M	SD	M	SD	
Volumen (ml)	3,7	2,55	3,3	1,13	N too small
Spermatozoendichte (Mio/ml)	5,03	0,53	2,28	1,31	N too small
Motilität (%)	58	9,19	67,25	5,3	N too small
Norm (%)	1	1,41	0,5	0,71	N too small
POX (Mio/ml)	0,73	0,74	0	0	N too small
Leukozyten (pro 100 Spermien)	12	11,31	4	2,83	N too small

Tabelle 19: Vergleich der Spermiogramme bei Nachweis von *Chlamydia trachomatis* vor und nach erfolgreicher Therapie. M= Mittelwert, SD= Standardabweichung

3.4.6 Subgruppe Azoospermie

Für die Subgruppe der Probanden mit Azoospermie, Infektion und nachgewiesenem Behandlungserfolg liegen 14 Spermiogramme vor.

Hier zeigt sich nach Behandlung ein Anstieg der Peroxidase-positiven Leukozyten bei gleichzeitigem Abfall der Leukozyten insgesamt. Nach Behandlung sind bei einem Teil der Probanden Spermatozoen nachweisbar (Tabelle 20).

	Erstpermiogramme (n=14)		Zweitpermiogramme (n=14)		p-Wert
	M	SD	M	SD	
Volumen (ml)	2,86	2,13	2,55	1,33	0,47 (MW)
Spermatozoendichte (Mio/ml)	0	0	1,15	4,13	0,32
Motilität (%)	0	0	9,64	23,26	0,14
Norm (%)	0	0	0	0	NaN
POX (Mio/ml)	0,21	0,53	0,44	0,51	0,12 (MW)
Leukozyten (pro 100 Spermien)	15,77	28,94	2,77	2,45	0,14

Tabelle 20: Vergleich der Spermiogramme zur Subgruppe Azoospermie vor und nach Therapie. M=Mittelwert, SD=Standardabweichung, NaN=Not a number, MW=Berechnung mittels Mann-Whitney-U-Test

3.4.7 Subgruppe Azoospermie und *Ureaplasma parvum*

Bei 10 der 14 im vorherigen Abschnitt beschriebenen Probanden lag eine Infektion mit *Ureaplasma parvum* vor. Nach erfolgreicher Behandlung zeigt sich ein Anstieg der mittleren Spermatozoendichte von 0 auf 1,62 Mio/ml, aufgrund der geringen Fallzahl jedoch ohne ausreichende statistische Signifikanz (Tabelle 21).

	Erstpermiogramme (n=10)		Zweitpermiogramme (n=10)		p-Wert
	M	SD	M	SD	
Volumen (ml)	2,06	1,01	2,41	1,22	0,31 (MW)
Spermatozoendichte (Mio/ml)	0	0	1,62	4,88	0,32
Motilität (%)	0	0	13,5	26,9	0,15
Norm (%)	0	0	0	0	NaN
POX (Mio/ml)	0,29	0,58	0,43	0,53	0,3 (MW)
Leukozyten (pro 100 Spermien)	9,3	16,02	2,3	2,16	0,19

Tabelle 21: Vergleich der Spermiogramme zur Subgruppe Azoospermie und *Ureaplasma parvum* vor und nach Therapie. M=Mittelwert, SD=Standardabweichung, MW=Berechnung mittels Mann-Whitney-U-Test

3.4.8 Subgruppe Peroxidase-positive Leukozyten ≥ 1 Mio/ml

Für 15 Probanden mit einer Konzentration der Peroxidase-positiven Leukozyten über dem von der WHO empfohlenen Richtwert von 1 Millionen pro Milliliter im Erstspermiogramm lag ein Zweitspermiogramm und ein Nachweis des Behandlungserfolgs vor. In dieser Gruppe zeigt sich nach Therapie eine signifikante Verminderung der POX-Konzentration, jedoch kein relevanter Einfluss auf die restlichen Spermiogrammparameter. (Tabelle 22).

	Erstspermiogramme (n=15)		Zweitspermiogramme (n=15)		p-Wert
	M	SD	M	SD	
Volumen (ml)	3,25	1,28	3,15	1,52	0,78
Spermatozoendichte (Mio/ml)	56,48	82,26	47,01	64,41	0,29
Motilität (%)	47,45	11,79	45,7	12,96	0,52
Norm (%)	0,86	1,03	0,93	1,33	0,78
POX (Mio/ml)	1,80	0,79	0,56	1,10	<0,0001
Leukozyten (pro 100 Spermien)	6,47	7,89	5,87	7,79	0,71

Tabelle 22: Statistik zur Subgruppe Azoospermie und *Ureaplasma parvum*.
M=Mittelwert, SD=Standardabweichung

4 Diskussion

In dieser retrospektiven Analyse wurde die Anzahl der Infektionen mit *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis* und *Mycoplasma genitalium* von Patienten der Andrologie des Universitätsklinikums Düsseldorf mit unerfülltem Kinderwunsch ermittelt. Anhand eines Vergleichs mit einer altersgematchten Vergleichsgruppe wurde die Auswirkung der Infektion auf die SpermioGrammparameter dargestellt und untersucht, ob durch eine Behandlung mit Doxycyclin eine Verbesserung ebendieser Parameter erzielt werden konnte.

Mit insgesamt 3464 SpermioGrammen stand zur Auswertung eine große Datenbasis zur Verfügung. Die Auswahl der Studienkohorte ergab sich aus den vorhandenen Daten der andrologischen Ambulanz. Die Charakteristika der Studien- und Kontrollgruppe sind vergleichbar hinsichtlich des mittleren Patientenalters, der Karenzzeit und des Intervalls zwischen Erst- und ZweitspermioGramm. Leider lag zu den 371 ErstspermioGrammen mit Erregernachweis nur für 53% eine Verlaufskontrolle und nur für 42,5% eine Verlaufskontrolle mit bestätigtem Behandlungserfolg in Form einer negativen PCR-Diagnostik vor. Durch eine prospektive Datenerhebung wäre gegebenenfalls eine bessere Nachverfolgung möglich gewesen und der Datensatz noch umfassender. Die Durchführung der Analysen der Ejakulate erfolgte während des gesamten untersuchten Zeitraums durch zwei langjährig erfahrene medizinisch-technische Assistentinnen. Die angewandten Methoden entsprechen den Standards der WHO. Das andrologische Labor führt interne sowie externe Qualitätskontrollen durch.

Die errechneten Prävalenzen liegen insbesondere für *Ureaplasma parvum* mit 12% deutlich höher als in der Literatur angegeben. Gdoura et al. erfassten die Prävalenz von *U. parvum* an einer tunesischen Kohorte (n=104) mit 2,9% (Gdoura et al., 2008). Dieser Unterschied könnte der erfassten Region geschuldet sein. Aber auch eine steigende Verbreitung von *U. parvum* könnte eine Ursache sein. Möglicherweise zeigt sich bei der vorselektierten Kohorte von Patienten mit unerfülltem Kinderwunsch eine höhere Prävalenz von *Ureaplasma parvum*. Um eine sichere Aussage dazu zu treffen, fehlen Daten zur Prävalenz von *Ureaplasma parvum* in der Allgemeinbevölkerung.

In unserer Kohorte fanden wir, im Gegensatz zu unserer Annahme, nur einen geringen Einfluss einer Samenwegsinfektion auf die SpermioGrammparameter bei

Erstuntersuchung. Die Werte unterschieden sich insgesamt nur geringfügig von den gesunden Probanden der Kontrollgruppe.

Parameter, die auf eine Inflammation hinweisen können, wie die Anzahl der Leukozyten und die Konzentration der Peroxidase-positiven Leukozyten, zeigen einen Trend zu höheren Werten bei Probanden mit Infektionen, erreichen jedoch keine statistische Signifikanz.

81% der 371 Spermioogramme mit Erregernachweis waren positiv für *Ureaplasma parvum*, so dass die Ergebnisse der zusammenfassenden statistischen Auswertung deutlich von dieser Subgruppe beeinflusst werden. Betrachtet man diese Gruppe einzeln, sind die Unterschiede zu Probanden ohne Infektion nochmals geringer, während sie bei den Mycoplasmen, *Ureaplasma urealyticum* und *Chlamydia trachomatis* stärker ausfallen. Daraus lässt sich schließen, dass der Spezies *Ureaplasma parvum* nur eine geringe proinflammatorische Aktivität zuzuschreiben ist. Die Auswirkungen auf die Spermioogrammparameter durch eine Infektion mit *Ureaplasma parvum* sind insgesamt gering.

Bei den 158 Spermioogrammen mit Infektion einer der relevanten Bakterien sowie nachgewiesenem Behandlungserfolg zeigt sich in keinem der analysierten Parameter eine signifikante Änderung zwischen Erst- und Zweitspermioogramm. Es zeigt sich jedoch ein Trend zur Reduktion der Gesamtleukozyten sowie der Peroxidase-positiven Leukozyten. Daraus lässt sich auf eine Reduktion der inflammatorischen Aktivität durch die Behandlung schließen.

Dieser Trend lässt sich auch in den Subgruppenanalysen darstellen. Für *Ureaplasma parvum* zeigt sich zwischen den 124 Erst- und Zweispermioogrammen die oben beschriebene Reduktion entzündungsabhängiger Parameter, jedoch keine signifikante Verbesserung der Spermienanzahl, -motilität oder -morphologie.

Betrachtet man allerdings die Probanden, deren Spermioogrammparameter von den Normwerten abweichen, so zeigt sich nach Behandlung mit Doxycyclin eine zum Teil deutliche, signifikante Verbesserung ebendieser Parameter mit Ausnahme der Anzahl der normalgeformten Spermien. Patienten mit einer nachgewiesenen Infektion mit *Ureaplasma parvum* und eine Oligo- und/oder Asthenoteratozoospermie profitieren also von einer Therapie.

Bemerkenswert war der Vergleich der Spermioogramme vor und nach Behandlung bei Probanden mit einer Azoospermie im Erstspermioogramm und Infektion mit *Ureaplasma parvum* (n=10). Dort zeigte sich im Zweitspermioogramm ein Anstieg der

durchschnittlichen Spermatozoendichte von 0 auf 1,62 Mio/ml bei einem mittleren Volumen von 2,41 ml (vorher 2,06 ml). Dies ist im klinischen Alltag von besonderer Relevanz: Liegt eine Azoospermie vor, besteht die Möglichkeit einer Spermengewinnung mittels testikulärer Extraktion; ein operativer Eingriff mit entsprechenden Risiken wie Infektion und Störung der endokrinen Funktion des Hodens. Die Erfolgchancen unterscheiden sich dabei je nach Ursache der Azoospermie sehr, gute prädiktive Parameter existieren nicht. Wenn auch eine Spermatozoendichte von 1,61 Mio/ml deutlich unter dem Normwert der WHO liegt, lässt diese Anzahl an Spermien jedoch eine assistierte Reproduktion zum Beispiel mittels intrazytoplasmatischer Spermieninjektion zu, ohne dass eine operative Gewinnung von Spermien erfolgen muss. In unserer Kohorte traf das für drei der zehn Patienten dieser Subgruppe zu.

Es fällt auf, dass die Spermatozoendichte nach der Behandlung einer Infektion mit *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* und *Ureaplasma parvum* abnimmt. Dies ist möglicherweise eine Folge der durch die behandelte Infektion gesteigerten Produktivität der akzessorischen Geschlechtsdrüsen. Durch den Anstieg der nicht-korpuskulären Anteile im Ejakulat kommt es konsekutiv zu einer Verminderung der Spermatozoendichte.

Die Verbesserung der Parameter nach der Therapie erreichen nicht das Niveau von gesunden Probanden. Das Zweitspermiogramm erfolgte durchschnittlich nach 109 Tagen. Eine antibiotische Therapie wurde kurzfristig nach Erhalt des mikrobiologischen Befundes eingeleitet. Gegebenenfalls ist das Intervall im Vergleich zur Dauer der Spermatogenese dennoch zu kurz. Eine Untersuchung nach zum Beispiel sechs und zwölf Monaten könnte zukünftig zeigen, ob der Therapieeffekt dann deutlicher ist.

Anhand unserer Daten ist davon auszugehen, dass *Ureaplasma parvum* nur eine untergeordnete Rolle bei dem Großteil der Patienten mit unerfülltem Kinderwunsch spielt. Eine Ausnahme bildet die Subgruppe der Männer mit Azoospermie und Keimnachweis. In dieser Population zeigte sich eine klinisch sehr relevante Verbesserung der Spermienanzahl durch eine antibiotische Therapie. Einschränkend muss aber die niedrige Fallzahl genannt werden. Zukünftig sollten die Ergebnisse bei weiteren Patienten verifiziert werden.

In der aktuell gültigen S2k-Leitlinie zu sexuell übertragbaren Infektionen findet *Ureaplasma parvum* keine gesonderte Erwähnung (Wagenlehner et al., 2016). Die Deutsche STI-Gesellschaft empfiehlt eine Eradikation von *U. parvum* nur, wenn dem Nachweis auch Symptome zugeordnet werden können. Da die meisten Infektionen

asymptomatisch sind, wird *Ureaplasma parvum* oft zufällig oder im Rahmen von Screenings, wie in unserer Kohorte, entdeckt.

Es gilt, die Patienten herauszufiltern, die von einer Doxycyclin-Therapie profitieren können. Dies trifft für Patienten zu, deren SpermioGrammparameter im Bereich der Spermatozoendichte und der Motilität die von der WHO festgelegten Normwerte unterschreiten. Für diese Parameter zeigte sich eine signifikante Verbesserung der pathologischen Ausgangswerte, jedoch gelingt nur für das Volumen eine Anhebung auf ein normales Niveau. Diese grundlegenden Ergebnisse sind in Abbildung 7 visuell zusammengefasst.

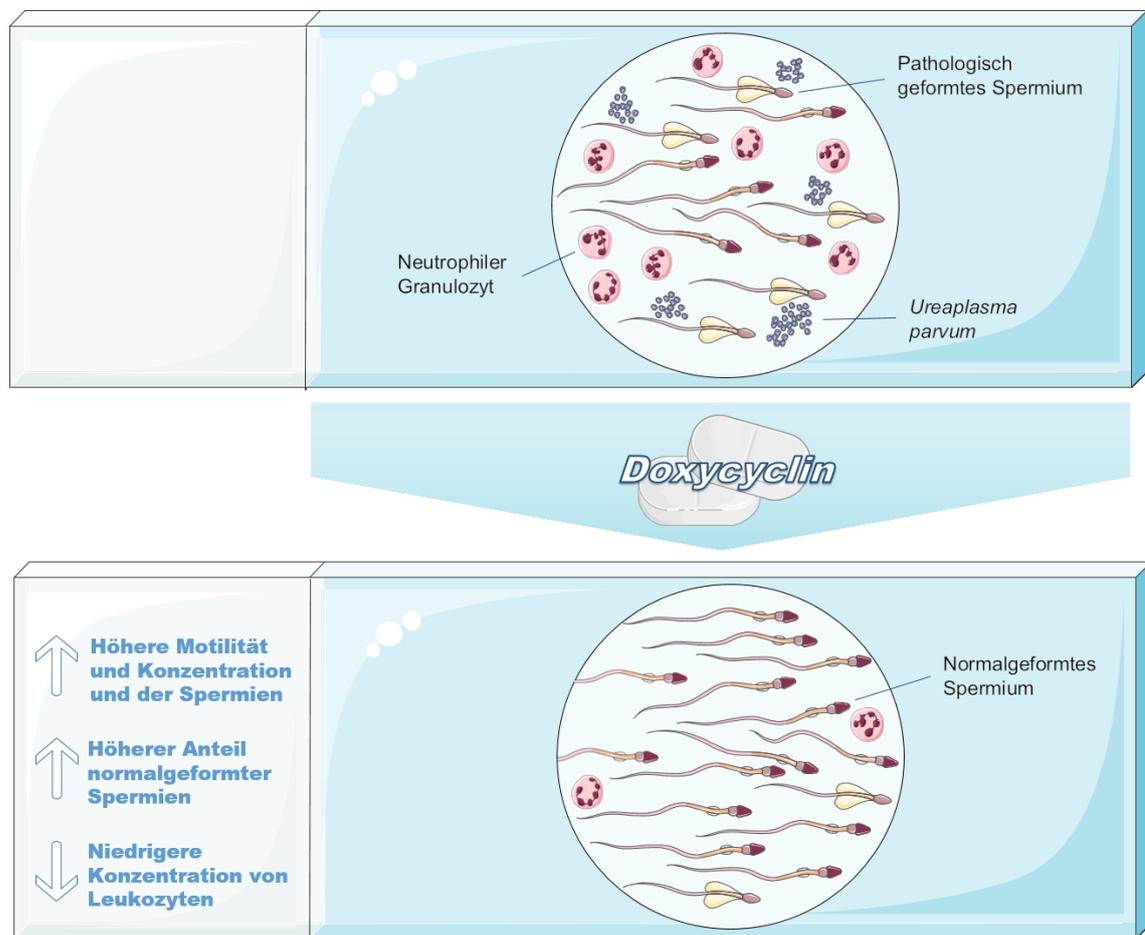


Abbildung 7: Visuell-schematische Darstellung der Studienergebnisse. Zwei Objektträger mit Ejakulat, jeweils mittig vergrößerter Blick durch das Mikroskop. Oben: Vor Therapie. Erhöhte Anzahl von Leukozyten, pathologisch geformter Spermien sowie Nachweis von *Ureaplasma parvum*. Unten: Befunde nach Therapie mit Doxycyclin. Reduzierte Anzahl von Leukozyten bei Erhöhung der Spermatozoendichte und -motilität sowie des Anteils normalgeformter Spermien. *Ureaplasma parvum* lässt sich nicht mehr nachweisen.

Quelle: Teile der Grafik von *Smart Servier medical art*, smart.servier.com. Lizenz: Creative Commons Attribution 3.0.

Aus dem alleinigen Nachweis von *Ureaplasma parvum* ergibt sich unseren Ergebnissen nach keine Indikation für eine antibiotische Behandlung mit dem Ziel einer Fertilitätssteigerung. Insbesondere Patienten mit verminderter Spermatozoendichte und/oder -motilität profitieren jedoch von einer Therapie. Ein Screening auf pathogene Bakterien im Ejakulat sollte nur bei erhöhten inflammatorischen oder verminderten fertilitätsassoziierten Parametern erfolgen. So können Ressourcen gespart und eine patientenwohlgefährdende Übertherapie vermieden werden. Im Hinblick auf die zunehmend herausfordernde Resistenzsituation, vor allem auch von Erregern sexuell übertragbarer Infektionen, ist eine strenge Indikationsstellung antibiotischer Therapien sinnvoll.

Literaturverzeichnis

- Agarwal, A., Rana, M., Qiu, E., AlBunni, H., Bui, A. D., & Henkel, R. (2018). Role of oxidative stress, infection and inflammation in male infertility. *Andrologia*, *50*(11), e13126. <https://doi.org/10.1111/and.13126>
- Agarwal, A., Saleg, R. A., & Bedaiwy, M. A. (2003). Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertility and Sterility*, *79*(4), 829-843. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(02\)04948-8](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(02)04948-8)
- Andrade-Rocha, F. T. (2003). Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis in men attending for routine semen analysis. *Urologia Internationalis*, *71*(4), 377-381. <https://doi.org/10.1159/000074089>
- Azenabor, A., Ekun, A. O., & Akinloye, O. (2015). Impact of inflammation on male reproductive tract. *J Reprod Infertil*, *3*, 123-129.
- Beeton, M. L., Payne, M. S., & Jones, L. (2019). The Role of Ureaplasma spp. in the Development of Nongonococcal Urethritis and Infertility among Men. *Clin Microbiol Rev*, *32*(4). <https://doi.org/10.1128/CMR.00137-18>
- Blumenauer, V., Czeromin, U., Fehr, D., Fiedler, K., Gnoth, C., Krüssel, J. S., Kupka, M. S., Ott, A., & Tandler-Schneider, A. (2019). Jahrbuch 2018, Deutsches IVF Register. *J Reproduktionsmed Endokrinol*, *16*(6).
- Casarini, L., & Crepieux, P. (2019). Molecular Mechanisms of Action of FSH. *Front Endocrinol (Lausanne)*, *10*, 305. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00305>
- Darbandi, M., Darbandi, S., Agarwal, A., Sengupta, P., Durairajanayagam, D., Henkel, R., & Sadeghi, M. R. (2018). Reactive oxygen species and male reproductive hormones. *Reprod Biol Endocrinol*, *16*(1), 87. <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0406-2>
- de Kretser, D. M., Loveland, K. L., Meinhardt, A., Simorangkir, D., & Wreford, N. (1998). Spermatogenesis. *Human Reproduction*, *13* Suppl 1, 1-8. https://doi.org/10.1093/humrep/13.suppl_1.1
- Deutsche STI-Gesellschaft. (2019). *Leitlinie Sexuell übertragbare Infektionen (STI) – Beratung, Diagnostik und Therapie*. Retrieved 22.04.2021 from https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/059-006l_S2k_Sexuell-uebertragbare-Infektionen-Beratung-Diagnostik-Therapie-STI_2019-09.pdf
- Dutta, A., Majzoub, A., & Agarwal, A. (2019). Oxidative stress and sperm function: A systematic review on evaluation and management. *Arab J Urol*, *17*(2), 87-97. <https://doi.org/10.1080/2090598X.2019.1599624>
- Gallegos, G., Ramos, B., Santiso, R., Goyanes, V., Gosalvez, J., & Fernandez, J. L. (2008). Sperm DNA fragmentation in infertile men with genitourinary infection by Chlamydia trachomatis and Mycoplasma. *Fertility and Sterility*, *90*(2), 328-334. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.06.035>
- Gdoura, R., Kchaeou, W., Ammar, L., Chakroun, N., Sellemi, A., & Znazen, A. (2008). Assessment of Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum, Ureaplasma

- parvum, mycoplasma hominis, and Mycoplasma genitalium in semen and first void urine specimens of asymptomatic male partners of infertile couples. *Journal of Andrology*, 29(2), 198-206. <https://doi.org/10.2164/jandrol.107.003566>
- Gimenes, F., Souza, R. P., Bento, J. C., Teixeira, J. J., Maria-Engler, S. S., & Bonini, M. G. (2014). Male infertility: a public health issue caused by sexually transmitted pathogens. *Nat Rev Urol*, 12, 672. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2014.285>
- Griswold, M. D. (1998). The central role of Sertoli cells in spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol*, 9(4), 411-416. <https://doi.org/10.1006/scdb.1998.0203>
- Handelsman, D. J. (2020). Testosterone, Spermatogenesis, and Unravelling the Mysteries of Puberty. *Endocrinology*, 161(9). <https://doi.org/10.1210/endocr/bqaa120>
- Henkel, R., Offor, U., & Fisher, D. (2021). The role of infections and leukocytes in male infertility. *Andrologia*, 53(1), e13743. <https://doi.org/10.1111/and.13743>
- Horner, P., Donders, G., Cusini, M., Gomberg, M., Jensen, J. S., & Unemo, M. (2018). Should we be testing for urogenital Mycoplasma hominis, Ureaplasma parvum and Ureaplasma urealyticum in men and women? - a position statement from the European STI Guidelines Editorial Board. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 32(11), 1845-1851. <https://doi.org/10.1111/jdv.15146>
- Huang, C., Zhu, H. L., Xu, K. R., Wang, S. Y., Fan, L. Q., & Zhu, W. B. (2015). Mycoplasma and ureaplasma infection and male infertility: a systematic review and meta-analysis. *Andrology*, 3, 809-816. <https://doi.org/10.1111/andr.12078>
- Irez, T., Bicer, S., Sahin, S., Dutta, S., & Sengupta, S. (2020). Cytokines and adipokines in the regulation of spermatogenesis and semen quality. *Chem Biol Lett*, 7(2), 131-139.
- Izuka, E., Menuba, I., Sengupta, P., Dutta, S., & Nwagaha, U. (2020). Antioxidants, anti-inflammatory drugs and antibiotics in the treatment of reproductive tract infections and their association with male infertility. *Chem Biol Lett*, 7(2), 156-165.
- Kaur, G., Thompson, L. A., & Dufour, J. M. (2014). Sertoli cells--immunological sentinels of spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol*, 30, 36-44. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2014.02.011>
- Krause, W., Weidner, W., Sperling, H., & Diemer, T. (2011). *Andrologie. Krankheiten der männlichen Geschlechtsorgane*. Thieme.
- Moretti, E., Collodel, G., Mazzi, L., Campagna, M., Iacoponi, F., & Figura, N. (2014). Resistin, interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, and human semen parameters in the presence of leukocytospermia, smoking habit, and varicocele. *Fertility and Sterility*, 102(2), 354-360. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.04.017>
- Newman, L., Rowley, J., Vander Hoorn, S., Wijesooriya, N. S., Unemo, M., Low, N., Stevens, G., Gottlieb, S., Kiarie, J., & Temmerman, M. (2015). Global Estimates of the Prevalence and Incidence of Four Curable Sexually Transmitted Infections in 2012 Based on Systematic Review and Global Reporting. *PloS One*, 10(12), e0143304. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143304>

- Nieschlag, E., Schlatt, S., Kliesch, S., & Behre, H. M. (2012). *WHO-Laborhandbuch zur Untersuchung und Aufarbeitung des menschlichen Ejakulates*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-21123-2>
- Nunez-Calonge, R., Caballero, P., Redondo, C., Baquero, F., Martinez-Ferrer, M., & Meseguer, M. (1998). Ureaplasma urealyticum reduces motility and induces membrane alterations in human spermatozoa. *Human Reproduction*, 13(10), 2756-2761. <https://doi.org/10.1093/humrep/13.10.2756>
- Oduwole, O. O., Peltoketo, H., & Huhtaniemi, I. T. (2018). Role of Follicle-Stimulating Hormone in Spermatogenesis. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 9, 763. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00763>
- Ooi, C. T., Sulagna, D., & Pallav, S. (2020). Role of leucocytes in reproductive tract infections and male infertility. *Chem Biol Lett*, 7(2), 124-130.
- Panner Selvam, M. K., Sengupta, P., & Agarwal, A. (2020). Sperm DNA Fragmentation and Male Infertility. In M. Arafa, H. Elbardisi, A. Majzoub, & A. Agarwal (Eds.), *Genetics of Male Infertility* (pp. 155-172). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-37972-8_9
- Ramirez, J., Carreras, A., & Mendoza, C. (1992). Sperm plasma membrane integrity in fertile and infertile men. *Andrologia*, 24(3), 141-144. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1992.tb02627.x>
- Renu, K., Subramaniam, M. D., Chakraborty, R., Myakala, H., Iyer, M., Bharathi, G., Siva, K., Vellingiri, B., & Valsala Gopalakrishnan, A. (2020). The role of Interleukin-4 in COVID-19 associated male infertility - A hypothesis. *J Reprod Immunol*, 142, 103213. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2020.103213>
- Schuppe, H. C., Pilatz, A., Hossain, H., Diemer, T., Wagenlehner, F., & Weidner, W. (2017). Urogenital Infection as a Risk Factor for Male Infertility. *Dtsch Arztebl Int*, 114(19), 339-346. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2017.0339>
- Sengupta, P., & Dutta, S. (2019). Hormones in male reproduction and fertility. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 8(5). <https://doi.org/10.4103/2305-0500.268131>
- Sengupta, P., Dutta, S., Alahma, A. T., & D'souza, U. J. A. (2020). Reproductive tract infection, inflammation and male infertility. *Chem Biol Lett*, 7(2), 75-84.
- Sengupta, P., Dutta, S., & Krajewska-Kulak, E. (2017). The disappearing sperms: analysis of reports published between 1980 and 2015. *Am J Mens Health*, 11(4), 1279-1304. <https://doi.org/10.1177/1557988316643383>
- Shiraishi, K., & Matsuyama, H. (2017). Gonadotropin actions on spermatogenesis and hormonal therapies for spermatogenic disorders. *Endocrine Journal*, 64(2), 123-131. <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ17-0001>
- Smith, L. B., & Walker, W. H. (2014). The regulation of spermatogenesis by androgens. *Semin Cell Dev Biol*, 30, 2-13. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2014.02.012>
- Sprong, K. E., Mabenge, M., Wright, C. A., & Govender, S. (2020). Ureaplasma species and preterm birth: current perspectives. *Crit Rev Microbiol*, 46(2), 169-181. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2020.1736986>

- Taylor-Robinson, D. (1996). Infections due to species of *Mycoplasma* and *Ureaplasma*: an update. *Clinical Infectious Diseases*, 671-682. <https://doi.org/10.1093/clinids/23.4.671>
- Toth, B., Baston-Bust, D. M., Behre, H. M., Bielfeld, A., Bohlmann, M., Buhling, K., Dittrich, R., Goeckenjan, M., Hancke, K., Kliesch, S., Kohn, F. M., Krussel, J., Kuon, R., Liebenthron, J., Nawroth, F., Nordhoff, V., Pinggera, G. M., Rogenhofer, N., Rudnik-Schoneborn, S., Schuppe, H. C., Schuring, A., Seifert-Klauss, V., Strowitzki, T., Tuttelmann, F., Vomstein, K., Wildt, L., Wischmann, T., Wunder, D., & Zschocke, J. (2019). Diagnosis and Treatment Before Assisted Reproductive Treatments. Guideline of the DGGG, OEGGG and SGGG (S2k Level, AWMF Register Number 015-085, February 2019) - Part 2, Hemostaseology, Andrology, Genetics and History of Malignant Disease. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 79(12), 1293-1308. <https://doi.org/10.1055/a-1017-3478>
- Vallely, L. M., Egli-Gany, D., Pomat, W., Homer, C. S., Guy, R., Wand, H., Silver, B., Rumbold, A. R., Kaldor, J. M., Low, N., & Vallely, A. J. (2018). Adverse pregnancy and neonatal outcomes associated with *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *M. hominis*, *Ureaplasma urealyticum* and *U. parvum*: a systematic review and meta-analysis protocol. *BMJ Open*, 8(11), e024175. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-024175>
- Wagenlehner, F. M., Brockmeyer, N. H., Discher, T., Friese, K., & Wichelhaus, T. A. (2016). The Presentation, Diagnosis, and Treatment of Sexually Transmitted Infections. *Dtsch Arztebl Int*, 113(1-02), 11-22. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2016.0011>
- Wolff, H. (1995). The biologic significance of white blood cells in semen. *Fertility and Sterility*, (63), 1143-1157. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)57588-8](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)57588-8)
- Zeighami, H., Peerayeh, S., Yazdi, R., & Sorouri, R. (2009). Prevalence of *Ureaplasma urealyticum* and *Ureaplasma parvum* in semen of infertile and healthy men. *Int J STD AIDS*, 20(6), 387-390. <https://doi.org/10.1258/ijsa.2008.008334>
- Zhang, Z. H., Zhang, H. G., Dong, Y., Han, R. R., Dai, R. L., & Liu, R. Z. (2011). *Ureaplasma urealyticum* in male infertility in Jilin Province, North-east China, and its relationship with sperm morphology. *J Int Med Res*, 39(1), 33-40. <https://doi.org/10.1177/147323001103900104>
- Zhou, Y. H., Ma, H. X., Shi, X. X., & Liu, Y. (2018). *Ureaplasma* spp. in male infertility and its relationship with semen quality and seminal plasma components. *J Microbiol Immunol Infect*, 51(6), 778-783. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2016.09.004>

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Anzahl der Spermioogramme je nach nachgewiesener bakterieller Infektion	19
Abbildung 2: Prävalenzen der untersuchten Bakterien im Patientenkollektiv der andrologischen Ambulanz 2016-2019.	20
Abbildung 3: Vergleich der Erst- (n=2056) und Zweitspermioogramme (n=840) der Kontrollgruppe. Darstellung der Datenpunkte, Mittelwerte sowie Standardabweichungen.....	22
Abbildung 4: Vergleich der Erstspermioogramme bei Nachweis von <i>Ureaplasma parvum</i> (n=300) vs. Kontrollgruppe (n=2056). Darstellung der Datenpunkte, Mittelwerte sowie Standardabweichungen.....	25
Abbildung 5: Vergleich der Spermioogramme vor (n=124) und nach (n=124) Behandlung einer Infektion mit <i>Ureaplasma parvum</i> . Darstellung der Datenpunkte, Mittelwerte sowie Standardabweichung.....	27
Abbildung 6: Vergleich der Parameter der Erst- und Zweitspermioogramme bei Abweichung von den jeweiligen Normwerten und Infektion mit <i>Ureaplasma parvum</i> . Darstellung der Datenpunkte, Mittelwerte sowie Standardabweichungen, Linien verbinden zusammengehörige Datenpaare.	29
Abbildung 7: Visuell-schematische Darstellung der Studienergebnisse. Zwei Objektträger mit Ejakulat, jeweils mittig vergrößerter Blick durch das Mikroskop. Oben: Vor Therapie. Erhöhte Anzahl von Leukozyten, pathologisch geformter Spermien sowie Nachweis von <i>Ureaplasma parvum</i> . Unten: Befunde nach Therapie mit Doxycyclin. Reduzierte Anzahl von Leukozyten bei Erhöhung der Spermatozoendichte und -motilität sowie des Anteils normalgeformter Spermien. <i>Ureaplasma parvum</i> lässt sich nicht mehr nachweisen. Quelle: Teile der Grafik von <i>Smart Servier medical art</i> , smart.servier.com. Lizenz: Creative Commons Attribution 3.0.....	41

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Durch die WHO festgelegte Parameter und Referenzwerte von Spermioogrammen (nach Nieschlag et al., 2012).....	5
Tabelle 2: Übersicht der häufigsten Erreger von Infektion der Samenwege, angelehnt an die S2k Leitlinie Sexuell übertragbare Infektionen – Beratung, Diagnostik und Therapie (Deutsche STI-Gesellschaft, 2019).....	6
Tabelle 3: Deskriptive Statistik der Studienkohorte	19
Tabelle 4: Anzahl der Koinfektionen in der Studienkohorte.....	20
Tabelle 5: Deskriptive Statistik der Kontrollgruppe.....	21
Tabelle 6: Vergleich der Erst- und Zweitspermioogramme der Kontrollgruppe.....	21
Tabelle 7: Vergleich der Spermioogramme vor und nach Therapie der Gesamtstudienkohorte. M= Mittelwert, SD= Standardabweichung	23

Tabelle 8: Vergleich der Erstspermiogramme der Kontrollgruppe und der Studienkohorte. M= Mittelwert, SD= Standardabweichung	24
Tabelle 9: Vergleich der Erstspermiogramme der Kontrollgruppe vs. bei Nachweis von <i>Ureaplasma parvum</i> . M= Mittelwert, SD= Standardabweichung	26
Tabelle 10: Vergleich der Spermiogramme bei Nachweis von <i>Ureaplasma parvum</i> vor und nach erfolgreicher Therapie. M= Mittelwert, SD= Standardabweichung.....	28
Tabelle 11: Vergleich der Parameter der Erst- und Zweitspermiogramme bei Abweichung von den jeweiligen Normwerten und Infektion mit <i>Ureaplasma parvum</i> . M=Mittelwert, SD=Standardabweichung.....	30
Tabelle 12: Vergleich der Erstspermiogramme der Kontrollgruppe vs. bei Nachweis von <i>Ureaplasma urealyticum</i> . M= Mittelwert, SD= Standardabweichung	30
Tabelle 13: Vergleich der Spermiogramme bei Nachweis von <i>Ureaplasma urealyticum</i> vor und nach erfolgreicher Therapie. M= Mittelwert, SD= Standardabweichung, MW= Berechnung mittels Mann-Whitney-U-Test	31
Tabelle 14: Vergleich der Erstspermiogramme der Kontrollgruppe vs. bei Nachweis von <i>Mycoplasma hominis</i> . M= Mittelwert, SD= Standardabweichung	32
Tabelle 15: Vergleich der Spermiogramme bei Nachweis von <i>Mycoplasma hominis</i> vor und nach erfolgreicher Therapie. M= Mittelwert, SD= Standardabweichung, MW= Berechnung mittels Mann-Whitney-U-Test	32
Tabelle 16: Vergleich der Erstspermiogramme der Kontrollgruppe vs. bei Nachweis von <i>Mycoplasma genitalium</i> . M= Mittelwert, SD= Standardabweichung	33
Tabelle 17: Vergleich der Spermiogramme bei Nachweis von <i>Mycoplasma genitalium</i> vor und nach erfolgreicher Therapie. M= Mittelwert, SD= Standardabweichung.....	34
Tabelle 18: Vergleich der Erstspermiogramme der Kontrollgruppe vs. bei Nachweis von <i>Chlamydia trachomatis</i> . M= Mittelwert, SD= Standardabweichung	34
Tabelle 19: Vergleich der Spermiogramme bei Nachweis von <i>Chlamydia trachomatis</i> vor und nach erfolgreicher Therapie. M= Mittelwert, SD= Standardabweichung.....	35
Tabelle 20: Vergleich der Spermiogramme zur Subgruppe Azoospermie vor und nach Therapie. M=Mittelwert, SD=Standardabweichung, NaN=Not a number, MW=Berechnung mittels Mann-Whitney-U-Test.....	36
Tabelle 21: Vergleich der Spermiogramme zur Subgruppe Azoospermie und <i>Ureaplasma parvum</i> vor und nach Therapie. M=Mittelwert, SD=Standardabweichung, MW=Berechnung mittels Mann-Whitney-U-Test.....	36
Tabelle 22: Statistik zur Subgruppe Azoospermie und <i>Ureaplasma parvum</i>	37