

**Prävalenz von sexuell und nicht sexuell übertragbaren  
bakteriellen Erregern und ihre Assoziation mit verschiedenen  
Ejakulatparametern bei andrologischen Patienten**

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
des Fachbereichs Medizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Falker, Anna-Maria  
aus Marburg

Gießen 2018

Aus der Klinik und Poliklinik für Urologie, Kinderurologie und Andrologie,  
unter der Leitung von Prof. Dr. Florian Wagenlehner,  
des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Hans-Christian Schuppe
2. Gutachter: Prof. Dr. Andreas Meinhardt

Tag der Disputation: 25.06.2019

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Hintergrund .....	1
1.1	Anatomie des Genitaltrakts .....	2
1.2	Physiologie der Ejakulation.....	4
1.3	Urogenitale Infektionen.....	6
1.3.1	Urethritis.....	6
1.3.2	Prostatitis.....	6
1.3.3	Epididymitis .....	7
1.3.4	Orchitis und Epididymo-Orchitis .....	8
1.4	„Male accessory gland infection“(MAGI) .....	9
1.5	Auswirkung urogenitaler Infektionen auf Ejakulatparameter und Fertilität ...	10
1.6	Ziel der Arbeit .....	13
2	Material und Methoden.....	14
2.1	Patienten .....	14
2.2	Ein- und Ausschlusskriterien.....	16
2.3	Durchführung der andrologischen Untersuchung.....	16
2.4	Ejakulatdiagnostik .....	17
2.4.1	Spermiogramm nach WHO .....	17
2.4.2	Gewinnung der Ejakulatproben.....	18
2.4.3	Makroskopische Untersuchung .....	19
2.4.4	Mikroskopische Untersuchung.....	19
2.4.5	Spermienmotilität .....	19
2.4.6	Spermienkonzentration.....	20
2.4.7	Agglutination, Aggregation.....	20
2.4.8	Vitalität.....	21
2.4.9	Spermienmorphologie .....	21
2.4.10	Nomenklatur der Ejakulatbefunde .....	22
2.4.11	Entzündungszellen .....	22
2.4.12	Spermienautoantikörper .....	23
2.4.13	Biochemische Marker .....	23
2.5	Weitere Labordiagnostik .....	24
2.6	Mikrobiologische Diagnostik .....	25
2.7	Dateneingabe und Datenschutz .....	26

2.8	Datenauswertung und statistische Methoden .....	26
2.9	Fehlersuche und interne Plausibilitätsprüfung .....	28
3	Ergebnisse .....	31
3.1	Patientenkollektiv .....	31
3.2	Jahreszeitliche Schwankungen der Ergebnisse.....	33
3.3	STI .....	36
3.3.1	Häufigkeit von STI im Gesamtpatientenkollektiv .....	36
3.3.2	Einfluss von STI auf Ejakulatparameter und Hormonspiegel im Serum ..	37
3.3.3	Prävalenz von STI bei Oligozoospermie.....	40
3.4	Bakterienkulturen .....	42
3.4.1	Definition und Prävalenz uropathogener Bakterien .....	44
3.4.2	Einfluss uropathogener Bakterien auf Ejakulatparameter.....	45
3.5	STI und Bakterienkultur im Gesamtpatientenkollektiv .....	49
3.6	Auswirkung einer antibiotischen Therapie auf mikrobiologischen..... Status und Ejakulatparameter .....	53
3.6.1	Keimstatus vor Antibiotikatherapie .....	53
3.6.2	Einfluss einer Antibiotikatherapie auf den mikrobiologischen Status .....	54
4	Diskussion.....	60
4.1	Patientenkollektiv .....	60
4.2	Prävalenz von STI .....	61
4.3	Einfluss von STI auf Ejakulatparameter.....	63
4.4	Einfluss uropathogener Bakterien auf Ejakulatparameter .....	67
4.5	Antibiotische Therapie urogenitaler Infektionen bei infertilen Männern.....	71
5	Zusammenfassung.....	76
6	Summary .....	78
7	Abkürzungsverzeichnis.....	80
8	Tabellenverzeichnis .....	82
9	Abbildungsverzeichnis.....	83
10	Literatur.....	85
11	Danksagung .....	96
12	Publikationsverzeichnis .....	97
13	Erklärungen zur Dissertation .....	98

## 1 Einleitung und Hintergrund

Urogenitale und sexuell übertragbare Erreger, welche zu Entzündungen des Genitaltrakts führen können, werden mit einer Prävalenz von ca. 8-15 % [1, 109, 116, 120, 128, 179] zu den häufigsten Ursachen männlicher Infertilität gezählt. Dabei gibt es erhebliche geografische und sozioökonomische Unterschiede in der Prävalenz von Infektionen. Somit sind in Industrieländern mit guter medizinischer Versorgung und Diagnostik etwa 6-9 % [22, 73] der Kinderwunschpatienten von Infektionen betroffen. In Ländern wie Asien oder Afrika ohne ausreichende medizinische Versorgung sind es hingegen 11-30 % [1, 4, 15, 22] der infertilen Männer, die an einer urogenitalen Infektion erkrankten. Unzureichende Diagnostik und folglich mangelnde Therapie der sexuell übertragbaren Infektionen scheinen demnach zu erhöhten Raten infektionsbedingter Infertilität zu führen [1, 128, 147]. Neben der ursprünglichen Bezeichnung für Erkrankungen durch sexuell übertragbare Erreger „sexually transmitted diseases“ (STD) wird heutzutage auch die Formulierung "sexuell übertragbare Infektionen" („sexually transmitted infections“ (STI) genutzt [62, 144]. Hierzu zählen neben den im Folgenden detaillierter betrachteten bakteriellen Infektionen mit Gonokokken, Chlamydien, Mykoplasmen, Ureaplasmen auch Syphilis, virale Infektionen mit humane Papillomviren (HPV) oder HIV und auch Parasiten bspw. Trichomonaden [166]. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) schätzte, dass in 2012 weltweit 357 Mio. Neuinfektionen von vier behandelbaren STI bei 15-49jährigen Personen auftraten, davon 131 Mio. Infektionen mit Chlamydien, 78 Mio. mit Gonokokken, 6. Mio. mit Syphilis und 142 Mio. mit Trichomonaden [114].

In den letzten 10 Jahren nahm die Meldezahl für STI weltweit zu. Hierfür verantwortlich scheinen im internationalen Kontext bspw. die zunehmende Landflucht, Arbeitsmigration und schlechten Zugang zur Gesundheitsversorgung oder in europäischen Ländern die Ausdehnung kommerzieller Sexarbeit und Sexualverhalten, insbesondere Männer, die Sex mit Männern haben (MSM) [67] zu sein.

Als Ursache einer Infertilität bleibt eine Infektion mit sexuell übertragbaren Erregern oder klassischen Erregern einer Harnwegsinfektion im Urogenitaltrakt häufig unerkannt [127, 147]. Hintergrund ist hier, dass die Mehrzahl der betroffenen Patienten asymptomatisch ist. Des Weiteren gibt es keine eindeutigen Diagnosekriterien, wodurch sich eine Infektion sicher erkennen und ggf. quantifizieren lässt. So korreliert ein mikrobiologisch positiver Befund mit einer Bakteriospermie von  $> 10^3$  Kolonie-bildenden Einheiten (KbE/ml)

nicht unbedingt mit einer Entzündung, da zu ca. 70 % apathogene Bakterien infolge einer Kontamination in der vorderen Urethra für derartige Befunde verantwortlich sind [138, 174]. Auch eine Leukozytospemie, mit  $10^6$  Peroxidase-positiven Leukozyten/ml Ejakulat, wie der Grenzwert von der WHO vorgegeben ist, wird bezüglich ihres Stellenwertes als diagnostischer Parameter für eine Infektion des männlichen Genitaltraktes kontrovers diskutiert [175, 17, 42]. Klinisch maßgeblich ist auch die Tatsache, dass eine Bakteriospermie ohne Entzündungszeichen bzw. eine Leukozytospemie ohne Erregernachweis im Ejakulat auftreten kann [53, 172]. Unabhängig von den diagnostischen Schwierigkeiten, zwischen Infektion und Entzündung differenzieren zu können, interessieren im klinischen Alltag vor allem die Prävalenz und der Einfluss im Ejakulat nachgewiesener Erreger auf wesentliche Spermien- bzw. Ejakulat-Parameter. Bei vielen Patienten fällt in der Routinediagnostik des Ejakulates eine bakterielle Infektion auf, welche besonders bei Kinderwunschpatienten eine mögliche Ursache für Infertilität darstellen kann. Vor diesem Hintergrund erscheint es praxisrelevant, in möglichst umfangreichen Patientenkollektiven den Einfluss von sexuell übertragbaren sowie anderen uropathogenen Erregern auf Spermogramm-Variablen und entsprechende Effekte einer Therapie zu beleuchten.

## 1.1 Anatomie des Genitaltrakts

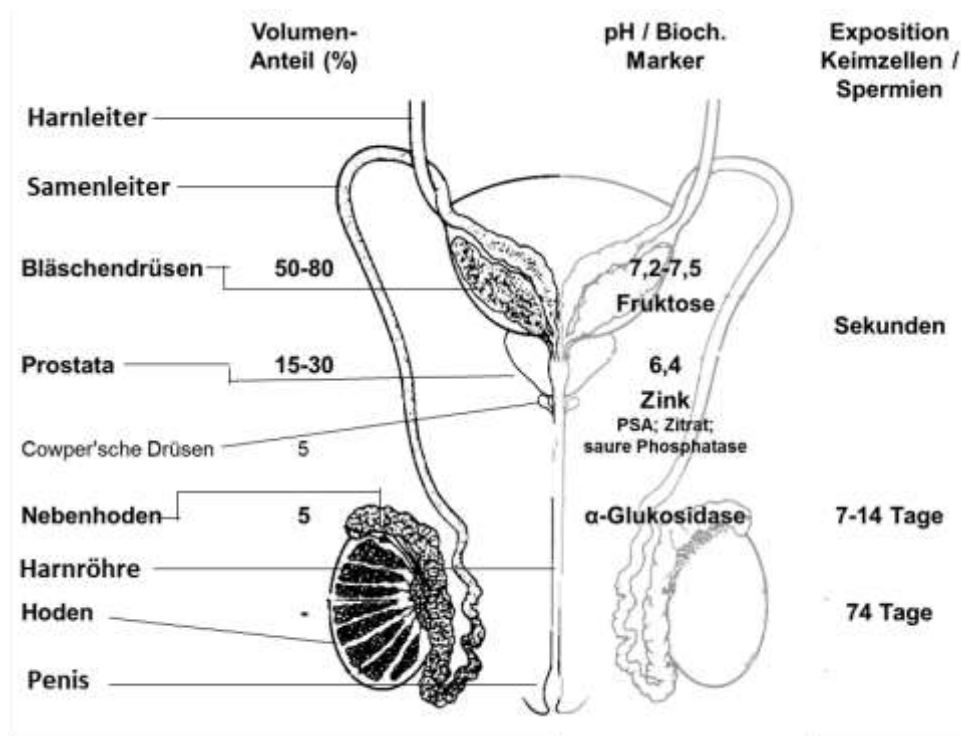
Der männliche Genitaltrakt lässt sich nach topografischen und funktionellen Aspekten einteilen. Zu den inneren Genitalorganen zählen Hoden (Testis), Nebenhoden (Epididymis), Samenleiter (Ductus deferens), Prostata, Bläschendrüse (Glandula (Gl.) vesiculosa) und Cowper'sche Drüse (Gl. bulbourethralis). Der Penis mit der Harnröhre (Urethra) und das Skrotum sind äußerlich sichtbare Genitalorgane. Der paarig angelegte Hoden erfährt in der Embryonalentwicklung einen Abstieg (Descensus) aus seiner abdominalen Anlage durch den Leistenkanal in das Skrotum. Die extra abdominale Lage ist Voraussetzung für eine ungestörte Spermatogenese aufgrund der gegenüber dem Körperinneren um ca.  $2-3^\circ\text{C}$  niedrigeren Temperaturen. Der Hoden besteht aus zahlreichen Hodenkanälchen (Tubuli seminiferi), welche durch Bindegewebssepten in rund 350 Lobuli testis [146] unterteilt werden. In den Hoden- oder Samenkanälchen findet die Spermatogenese statt. Zwischen diesen liegen die testosteronproduzierenden Leydigzellen im Interstitium. Die Hodenkanälchen gehen im Rete testis in 12 – 18 Ductuli efferentes [117, 146] über, welche in den Nebenhoden münden, der außerhalb der abdominalen Hülle dem Hoden dorsal im Skrotum aufsitzt. Im Nebenhoden reifen die Spermien zur vollständigen Funktionalität (Motilität, Fertilisationspotenzial) heran und verweilen für ca. 7 – 10

Tage; die Zeit für Neubildung und Reifung der Spermien insgesamt beträgt ca. 80 Tage [117]. Anatomisch wird der Nebenhoden in Caput, Corpus und Cauda unterteilt. Am Nebenhodenschwanz geht der Ductus epididymis in den Ductus deferens über. Dieser ist für den schnellen Transport der Samenzellen bei der Emission und Ejakulation verantwortlich. Hierfür besteht der Samenleiter aus glatter, dreidimensional angeordneter und dicht sympathisch innervierter Muskulatur. Der 40 cm lange Ductus deferens verläuft im Samenstrang (Funiculus spermaticus) durch den Leistenkanal zurück in die Bauchdecke. Nach Überkreuzung der Harnleiter vereinigt sich der Ductus deferens mit den Ausführungsgängen der Bläschendrüsen zum Ductus ejaculatorius. Die paarigen Bläschendrüsen sitzen am unteren, hinteren Rand der Harnblase und sezernieren ein leicht alkalisches, Fruktose reiches Sekret (siehe Abbildung 1). Der Ductus ejaculatorius durchzieht die Prostata und mündet schließlich in die Urethra. Die extraperitoneal liegende Prostata umfasst die Urethra und besteht aus zwei Seitenlappen, welche von ventral und dorsal durch den Isthmus prostatae und den Lobus medianus miteinander verbunden sind. Das Sekret der Prostata enthält wichtige Stoffe für die Spermienbeweglichkeit und mündet über viele kleine Ausführungsgänge in die Urethra. Die erbsgroßen paarigen Cowper'schen Drüsen liegen eingebettet im Musculus transversus perinei profundus und geben ihr Sekret über Ausführungsgänge ab, welche direkt in die Urethra münden. Die männliche Urethra ist somit gleichzeitig Harn- und Geschlechtsweg für das Ejakulat. Sie verläuft im wenig komprimierenden Corpus spongiosum penis, welcher auch bei Erektion eine Passage des Ejakulates ermöglicht. Die hauptsächlich für die Erektion verantwortlichen Schwellkörper (Corpora cavernosa) besitzen je eine Pudendusarterie und sind von einer derben Bindegewebskapsel umgeben [117, 146].

## 1.2 Physiologie der Ejakulation

Die sexuelle Reaktion besteht unter Kontrolle des autonomen Nervensystems aus zwei aufeinanderfolgenden Prozessen, der Erregungs- und Ejakulationsphase. Durch Stimulation des Genitales kommt es durch parasympathische Impulse über die Nervi (Nn.) splanchnici pelvici (S2 – 4) zur Vasodilatation der Pudendusarterien. Durch den vermehrten Bluteinstrom in die Copora cavernosa und das Corpus spongiosus entsteht eine Schwellung des Penis und folglich eine Erektion. Vor Beginn der Orgasmus Phase, welche aus Emission und Ejakulation besteht, kommt es zur Sekretion der urethralen und bulbourethralen Drüsen, um die Gleitfähigkeit der Urethra für das Ejakulat herzustellen [117, 146]. Die nächsten Schritte stehen unter Kontrolle des Sympathikus, dessen Fasern aus Höhe des ersten bis zweiten Lendenwirbelkörpers (L1 – L2) als Nn. splanchnici lumbales et sacrales verlaufen und die akzessorischen Genitaldrüsen, Samenleiter und Penis innervieren. Die sympathischen Impulse führen zur Freisetzung von Adrenalin und folglich zur Kontraktion von Epididymitis, Ductus deferens und Prostata, wodurch die Spermien in den prostatichen Teil der Urethra fortbewegt werden (Emission) [117]. Anschließend kommt es durch Reizung der Prostata zur reflektorischen Kontraktion der Beckenbodenmuskulatur und bulbokavernösen Muskulatur, wodurch die Samenflüssigkeit aus Prostata und Bläschendrüsen zusammen mit den Spermien aus der Urethra externa herausgeschleudert wird (Ejakulation) [117]. Das Ejakulat besteht folglich aus den zwei Komponenten, den Spermien und dem Seminalplasma, wobei das Seminalplasma den größten Anteil des Ejakulatvolumens ausmacht. Die nachfolgende Abbildung zeigt schematisch die Zusammensetzung des Ejakulats und die Sekretanteile der beteiligten Organe.





**Abbildung 1:** Übersicht Volumenanteil [%] der akzessorischen Drüsen am gesamten Ejakulat und die dazugehörigen biochemischen Marker zur Beurteilung der sekretorischen Funktion. Rechts: Organ-abhängige Exposition von Keimzellen bzw. Spermien gegenüber Erregern oder Erregerbestandteilen, sowie an Entzündungsprozessen beteiligten Zellen und ihre Mediatoren. Modifiziert nach Wolff 1995; Haidl u. Schuppe, 2011.

Das an Fruktose reiche Sekret der Bläschendrüsen macht den größten Volumenanteil am Gesamtejakulat aus (50 - 80 %). Das Prostatasekret ist dünnflüssig und leicht sauer (pH 6,4). Es enthält Zink, saure Phosphatase, Zitronensäure und einem Protein, dem prostata-spezifischen Antigen (PSA). Das PSA ist eine Serinprotease, welche das Protein Semino-gelin-1 aus den Bläschendrüsen spaltet, wodurch das Ejakulat flüssiger wird. Das vis-köse Sekret der Cowper'schen Drüsen (Gl. bulbourethrales) macht die Urethra gleitfähig für das Ejakulat. Der Nebenhoden produziert Carnitin, Glycerophosphocholin und vor allem  $\alpha$ -Glucosidase, welche als dessen Funktionsparameter zählt. Der jeweilige Anteil der genannten biochemischen Marker im Seminalplasma kann einen Hinweis auf die Funktion der verschiedenen akzessorischen Drüsen geben und evtl. Passagestörungen der Samenwege lokalisieren [92].

## 1.3 Urogenitale Infektionen

### 1.3.1 Urethritis

Die isolierte Entzündung der Harnröhre wird meistens durch sexuell übertragbare Erreger verursacht; vorrangig sind hier *C. trachomatis*, *N. gonorrhoea*, *Mycoplasmen* und *Ureaplasmen* zu nennen [142, 174]. Typische Symptome sind Urethralfluor, Dysurie, Brennen und/oder Juckreiz in der Harnröhre. Jedoch kann eine Infektion auch völlig asymptomatisch verlaufen [168, 174]. Zur Diagnostik einer Urethritis genügt der Nachweis von Granulozyten im Harnröhrenabstrich oder im Ersturin [36, 147]. Zur genaueren Erregerdiagnostik werden derzeit üblicherweise eine spezies-spezifische Polymerase-Kettenreaktions-(PCR-)Analyse und Kulturverfahren eingesetzt. Die Therapie richtet sich nach den Erregern, beispielsweise (bspw.) Gonokokken versus (vs.) nichtgonorrhoeische Urethritis (NGU) und beinhaltet eine antimikrobielle Therapie (z. B. nach CDC Leitlinien [32], EAU-Guidelines [126]). Eine Partnerbehandlung sollte durchgeführt werden. Durch Aszendierung der Erreger kann es bei Männern zur Entzündung von Prostata, Bläschendrüsen, Epididymitis und Epididymo-Orchitis kommen. Eine Chronifizierung kann zu Strikturen der Harnröhre und Ejakulationsstörungen führen, welche Ursache für eine eingeschränkte Fertilität sein können [68, 141].

### 1.3.2 Prostatitis

Die bakterielle Prostatitis wird meist durch ascendierende Infektionen gramnegativer Bakterien (insbesondere *E. coli*) verursacht. Nach der National Institutes of Health (NIH) Klassifikation unterscheidet man zwischen akuter bakterieller (NIH-Kategorie I), chronisch- bakterieller (NIH-Kategorie II) Prostatitis, dem chronischen Beckenschmerzsyndrom (CPPS) (NIH-Kategorie III) und der asymptomatischen Prostatitis (NIH-Kategorie IV) [169]. Typische Symptome einer akuten Infektion sind Fieber, Dysurie, perianale Schmerzen und Schmerzen bei der Defäkation. Bei der digital rektalen Untersuchung (DRU) ist die Prostata vergrößert und stark druckdolent. Eine Massage für die Gewinnung von Prostatasekret bzw. Exprimaturin ist hier wegen der Gefahr der Keimverschleppung kontraindiziert. Im Urinstatus findet man eine Leukozyturie und Mikrohämaturie, mikrobiologisch eine Bakteriurie. Laborchemisch zeigen sich reversibel ein erhöhtes PSA und Entzündungswerte. Zum Ausschluss eines Prostataabszesses wird ein transrektaler Ultraschall durchgeführt. Therapeutisch werden gut gewebeängige Antibiotika in der Regel für 2-4 Wochen eingesetzt, bei einem Abszess ist eine umgehende Abszessdrainage

notwendig [173]. Bestehen die Symptome mehr als drei Monate handelt es sich per Definition um einen chronischen Verlauf (z.B. NIH-Kategorie II). Ursächlich sind häufig rezidivierende Harnwegsinfekte bei Männern im mittleren Alter [167]. Diagnostisch wird vor allem die 4- bzw. 2- Gläserprobe zur fraktionierten Gewinnung urogenitaler Sekrete durchgeführt [147, 167]. Zur Diagnose einer Prostatitis muss die Keimzahl im Prosta-taexprimat bzw. im Exprimaturin um eine 10er Potenz höher sein als in der Urinprobe vor Prosstatamassage. Beim CPPS bestehen Symptome länger als drei Monate, ohne dass Erreger in Kultur nachgewiesen werden können [169]. Dabei wird noch unterschieden, ob Entzündungsparameter wie die Leukozytenzahl in Exprimaturin bzw. Ejakulat erhöht (NIH-Kategorie IIIa) oder keine Entzündungszeichen vorliegen (NIH-Kategorie IIIb). Eine Sonderrolle nimmt die asymptomatische Prostatitis (IV) ein, die typischerweise nur in operativ entferntem Prostatagewebe histologisch nachgewiesen werden kann. Die Stadien II und III nach NIH benötigen eine interdisziplinäre, oft multimodale -Therapie und können in der andrologischen Sprechstunde mit Sub-/Infertilität und Sexualstörungen assoziiert sein [145, 173].

### 1.3.3 Epididymitis

Die Entzündung des Nebenhodens ist in der Mehrzahl der Fälle durch eine Aszension bakterieller Erreger verursacht. Neben sexuell übertragbaren Erregern (*C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*) sind auch typische Harnwegsinfektionserreger (*E. coli* und andere *Enterobacteriaceae spp.*) verantwortlich. Entgegen der bisherigen Lehrmeinung, dass Männer unter 35 Jahren sexuell übertragbare Erreger und ältere Männer klassische Enterobakterien [102, 138, 142, 174] als ätiologische Ursache aufweisen, konnten aktuelle Studien zeigen, dass der Übergang ausgesprochen fließend verläuft und stets an beide Möglichkeiten gedacht werden muss [31]. Die Diagnose wird klinisch anhand der akuten, zumeist unilateralen Symptomatik mit schmerzhafter Schwellung, Rötung und Erwärmung des Skrotums gestellt. In zwei Drittel der Fälle ist der Hoden in Form einer Epididymoorchitis mit beteiligt (siehe Abschnitt 1.3.4; [36, 127]). In Studien konnte die negative Auswirkung einer Infektion auf die Spermienparameter direkt, bzw. auch sekundär durch Verschluss der Samenwege gezeigt werden [127]. Meist ist der Funktionsverlust und die damit einhergehende Abnahme der Spermienkonzentration im Verlauf reversibel, jedoch gibt es auch Studien, die zeigen, dass 10 % der Patienten dauerhaft eine Azoospermie und 30 % eine Oligozoospermie aufweisen [128, 138]. Die Behandlung erfolgt

erreger-/resistenzgerecht jeweils nach Empfehlungen aktueller Leitlinien [32, 126]. Liegt noch kein Erregernachweis vor, sollte mit einem gegen *Chlamydien* und Enterokokken wirksamen Antibiotikum begonnen werden. Daneben werden symptomatische Maßnahmen wie Kühlung, Hodenhochlagerung und analgetische Therapie empfohlen [68].

#### 1.3.4 Orchitis und Epididymo-Orchitis

Die akute Entzündung des Hodens geht mit akut einsetzender, schmerzhafter Schwellung und Rötung des Skrotums mit Fieber und Abgeschlagenheit einher [102, 129]. Ursächlich ist bei primär den Hoden betreffenden Entzündungen meist eine hämatogene Streuung von Viren (z.B. Mumps, Varizellen, Cocksackie)[148]. Wie oben dargestellt tritt bei bis zu 60 % der Patienten mit einer Epidyditis auch eine Beteiligung des Hodens infolge der Aszension uropathogener bzw. STI-Erreger auf (Epididymo-Orchitis) [36, 127]. Neben akuten Entzündungen gibt es auch chronisch-granulomatöse Orchitiden, welche zusammen mit systemischen Infektionen wie Tuberkulose, Syphilis oder Brucellose auftreten können, sowie nicht infektiös bedingte testikuläre Entzündungsreaktionen [50]. Therapeutisch kommen neben symptomatischen Maßnahmen wie Kühlung und Hochlagerung der Hoden, Antiphlogistika und evtl. Kortikosteroide zum Einsatz, bei bakterieller Genese zusätzlich eine erregergerechte Antibiose. Eine operative Freilegung bei einer Abszedierung ist nur in Ausnahmefällen erforderlich. Ein Fertilitätsverlust kommt besonders häufig nach Mumpsorchitis im Adoleszenten- bzw. Erwachsenenalter vor [128]. Studien konnten darüber hinaus zeigen, dass in Hodenbiopsien infertiler Männer häufig asymptomatische Entzündungsreaktionen vorliegen, welche auch mit Störungen der Spermatogenese einhergehen, obwohl nur ca. 2 % dieser Patienten eine (Epididymo-) Orchitis in der Vorgeschichte angaben [147].

#### 1.4 „Male accessory gland infection“ (MAGI)

Der Begriff wurde zur vereinfachten Beschreibung von Infektionen bzw. Entzündungen im männlichen Genitaltrakt erstmals von Comhaire et al. (1980) erwähnt und von der WHO übernommen (Rowe et al., 2000 [137]). Die nachfolgende Tabelle 1 zeigt die Diagnosekriterien für MAGI.

**Tabelle 1:** WHO-Kriterien zur Diagnose einer "Male Accessory Gland Infection" (MAGI) nach Rowe et al. 2000; Haidl und Schuppe 2011 [53, 137].

<b>Oligo- und/oder Astheno- und/oder Teratozoospermie plus 2 positive Befunde aus 3 Kategorien (A-C) oder 2 pathologische Ejakulatbefunde (C)</b>		
<b>A</b>	<i>Anamnese</i>	Harnwegsinfekt, Sexuell übertragbare Infektion (STD), Epididymitis
	<i>Klinischer Befund</i>	Nebenhoden verdickt, druckdolent; Samenstrang verdickt; Rektalbefund auffällig
<b>B</b>	<i>Urin n. Prostatamassage</i>	pathologisch (z.B. > 10 Leukozyten /HPF); Nachweis von <i>Chlamydia trachomatis</i>
<b>C</b>	<i>Ejakulat</i>	(Peroxidase-positive) Leukozyten > 10 <sup>6</sup> /ml Kultur mit signif. Wachstum pathog. Keime Nachweis von <i>Chlamydia trachomatis</i> Pathologisches Aussehen / Viskosität / pH / Biochemie des Seminalplasmas; erhöhte Entzündungsmarker, ROS

Hierbei wird weder zwischen Infektion und möglicher steriler Entzündung unterschieden, noch in welchem Organ des Genitaltrakts die pathologische Veränderung vorliegt, sondern Erkrankungen der akzessorischen Drüsen (Prostata, Bläschendrüsen, Cowper-Drüsen, Littre-Drüsen) und anatomisch inkorrekterweise auch der Nebenhoden unter dem Begriff MAGI zusammengefasst [93]. Des Weiteren wird von einigen Autoren die Urethritis ebenfalls unter diesem Begriff subsumiert [81]. Eine genaue Lokalisierung einer Infektion anhand der MAGI-Kriterien ist somit nicht möglich. Bisher gibt es kein geeignetes nichtinvasives Verfahren für eine Kompartiment-spezifische Diagnostik von Infektionen bzw. Entzündungen im Genitaltrakt [53, 147]. Mittels Hodenbiopsien können histologische Schäden infolge einer testikulären Entzündungsreaktion aufgezeigt und mit der Reduktion der Ejakulatqualität assoziiert werden, jedoch gehört dieses invasive Verfahren nicht zur Routinediagnostik [93, 148]. Die Diagnosen, wie z. B. Urethritis, Prostatitis, Prostatovesikulitis, Epididymitis, Epididymo-Orchitis oder Orchitis beruhen

demnach auf klinischen Symptomen (soweit vorhanden) und wenig spezifischen Laborbefunden wie positiver Mikrobiologie und/oder Entzündungszeichen im Spermiogramm. Besonders problematisch wird die Anwendung der MAGI-Definition bei chronischen Erkrankungen, die subklinisch verlaufen und potenziell die Fertilität negativ beeinflussen [34]. Insgesamt ist die MAGI-Definition der WHO für die klinische Anwendung zu unscharf und wird daher kontrovers diskutiert [172].

## 1.5 Auswirkung urogenitaler Infektionen auf Ejakulatparameter und Fertilität

In verschiedenen Studien wurde der negative Einfluss von urogenitalen Infektionen und Entzündungen auf Ejakulatparameter beschrieben [25, 94, 127, 138, 148, 174, 172]. Die nachfolgende Tabelle 2 zeigt eine Auswahl verfügbarer Studien zur Prävalenz von STI-Erregern und deren Einfluss auf Spermienparameter bzw. Ejakulatqualität.

**Tabelle 2:** Studienübersicht: Prävalenz von STI und deren Einfluss auf die Ejakulatqualität bei Männern aus andrologischen Sprechstunden.

Publikation	Art der Publikation	Anzahl Patienten	Prävalenz STI	Einfluss auf Ejakulatparameter
Bezold et al. 2007 [17]	Retrospektive, kontrollierte Studie	Infertile Pat., 132 mit Leukozytospermie und 109 asymptom. Pat. ohne Leukozytospermie	<i>C. trachomatis</i> 2,5 % , insgesamt mit sonstigen STI (CMV, HHV, EBV u.a.) 18,7%	Motilität ↓ α-Glucosidase ↓ Kein Zusammenhang mit Leukozytospermie
Gdoura et al. 2008 [56]	Studie	104 infertile Pat.	<i>C. trachomatis</i> 42,3 % , <i>U. urealyticum</i> 15,4 % , <i>Mycoplasma spp.</i> 14,4 %	Kein signifikanter Einfluss
Kokab et al. 2009 [88]	Studie	255 infertile Pat.	<i>C. trachomatis</i> 6,2 %	pH ↑, progressive Motilität ↓ , Leukozyten ↑, IL-8 ↑
Liu et al. 2014 [100]	Kontrollierte, prospektive Studie über 29 Monate	Insgesamt 1236 Pat., 621 Infertile, 615 Fertile	Kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen. Gesamt-Prävalenz STI 33,5 % , <i>C. trachomatis</i> 2,4 % , <i>U. urealyticum</i> 25,7 %	Volumen ↓, Spermienkonzentration ↓, Motilität ↓, Vitalität ↓ bei Infertilen gegenüber Fertilen
Marconi et al. 2009 [106]	Kontrollierte Studie	71 Pat. mit chron. bakt. Prostatitis, Epididymitis, Urethritis, 40 gesunde Kontrollen	<i>C. trachomatis</i> 5,6 % , <i>U. urealyticum</i> 1,4 % , <i>N. gonorrhoea</i> 11,3% , <i>Enterococcus</i> 14,2 % , <i>E. coli</i> 14,2%	Spermienkonzentration ↓, Motilität ↓, pH ↑, Fruktose ↓, α-Glucosidase ↓ , Zink ↓
Mazzoli et al. 2010 [110]	Studie	1161 Pat. mit chron. bakt. Prostatitis, Gruppe A) 707 Pat. mit uropath. Erregern, Gruppe B) 454 Pat. mit <i>C. trachomatis</i>	Gruppe A: <i>Enterococcus spp.</i> 5,2%, <i>E. coli</i> 2,5 % Gruppe B: <i>C. trachomatis</i> 39,1 % ,	Gruppe B) Spermienkonzentration ↓, Motilität ↓, normale Spermienmorphologie ↓

Generell lassen sich verschiedene Schädigungsmechanismen differenzieren, über die es zu männlichen Fertilitätsstörungen infolge urogenitaler Infektionen kommen kann [116, 147]:

1. direkte bzw. indirekte Störung der Spermatozoenfunktion durch den Erreger bzw. Erregerbestandteile
2. durch den Erreger ausgelöste Entzündungsreaktion (proinflammatorische Zytokine, reaktive Sauerstoffspezies (ROS))
3. entzündlich bedingter Verschluss der Samenwege
4. Fehlfunktion der akzessorischen Drüsen
5. Auslösung einer humoralen Immunantwort mit Bildung von Spermien-Autoantikörpern

In der Literatur finden sich einige Belege über die verschiedenen Schädigungsmechanismen [26, 50, 66, 172]. Beispielsweise wurden Einschränkungen der Spermatozoenfunktion durch die Erreger *Chlamydia (C.) trachomatis* und *E. coli* beschrieben. Hierbei verursacht *C. trachomatis* die Apoptose und die Fragmentierung der Desoxyribonukleinsäure (DNA) durch Polysaccharide, wodurch die Spermatozoenfunktion direkt geschädigt wird [7, 45, 46, 172].

*E. coli* beeinflusst nachweislich die Motilität der Spermatozoen durch Adhäsion der Spermatozoenmembran im Kopfbereich. Funktional ist hier die Akrosomenaktivität der Spermien lokalisiert. Durch Schädigung der Spermien auf zellulärer Ebene kommt es zur Bewegungseinschränkung der Spermien [11, 17, 39, 172, 177]. In weiteren Studien wird berichtet, dass eine akute Entzündung mit einer Erhöhung der Leukozyten-Elastase, Freisetzung von Zytokinen und Reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) aus peroxidase-positiven Leukozyten und Makrophagen einhergeht [48, 78, 172]. Die oxidative Schädigung der Spermien-DNA durch die ROS beeinträchtigt nachweislich die Spermienfunktion mit konsekutiv verminderter Fertilität [5, 64, 76]. Diese oxidative Wirkung führt sowohl in den Zellen als auch lokal im Gewebe zu DNA-Schäden [6, 172] und ist bspw. bei akuter Epididymitis für eine Reduzierung der Spermienkonzentration bei akut-unilateraler Entzündung mit einhergehender herabgesetzter Fertilität im Tiermodell beobachtet worden [97]. Auch klinisch führen Epididymitis bzw. Epididymoorchitis nachweislich zu einer verminderten Spermienkonzentration und Motilität [66] und können langfristig trotz Therapie einen Verschluss des Nebenhodenganges nach sich ziehen [129, 138, 153, 174].



Aufgrund der Zusammensetzung des Ejakulates können auch Entzündungen der akzessorischen Drüsen ebenfalls die Fertilität beeinflussen [25]. Die größte klinische Relevanz hat hier die Prostatitis [174]. Die Auswirkung auf die Spermienfunktion wurde in verschiedenen Studien mit unterschiedlichen Ergebnissen untersucht. Eine negative Beeinflussung der Spermienmotilität und Morphologie erscheint möglich [138]. Eine Infektion der akzessorischen Drüsen kann darüber hinaus zu einer Funktionseinschränkung führen, wodurch die physiologische Zusammensetzung des Seminalplasmas gestört wird.

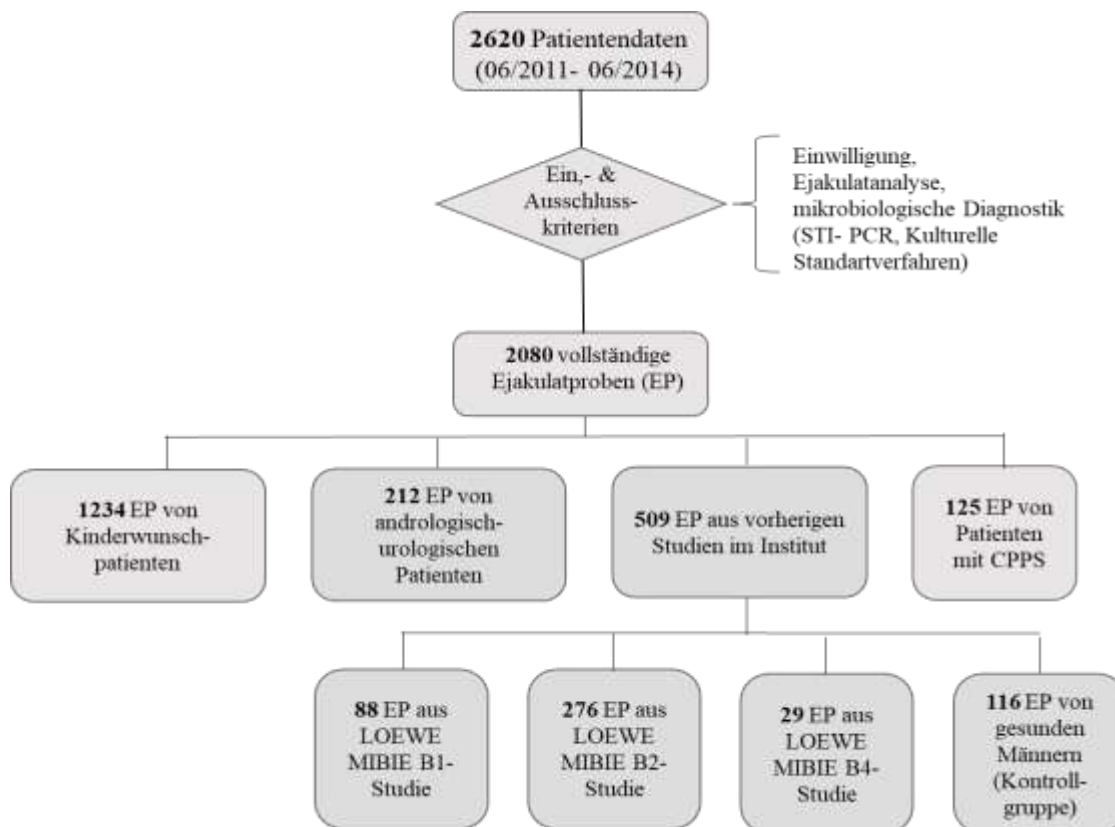
## 1.6 Ziel der Arbeit

- Erstes Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung der Prävalenz sexuell übertragbarer und nicht sexuell übertragbarer bakterieller Erreger im Ejakulat bei Patienten bzw. Probanden, bei denen im Rahmen der andrologischen Diagnostik eine Ejakulatanalyse durchgeführt wurde.
- Zweites Ziel ist die Untersuchung der Auswirkung der gefundenen Erreger auf die Ejakulatqualität.
- Das dritte Ziel stellt die Evaluation der antimikrobiellen Therapie bei Patienten bzw. Probanden mit positivem Nachweis sexuell übertragbarer Erreger hinsichtlich Veränderungen der vor und nach Therapie erhobenen Ejakulatparameter dar.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Patienten

Es wurden retrospektiv von Juni 2011 bis Juni 2014 zunächst 2620 Patienten bzw. Probanden identifiziert, die eine Ejakulatanalyse erhalten hatten, und die entsprechenden Ergebnisse in einer Excel-Datenbank strukturiert. Zur Vereinfachung wird aufgrund des begrenzten Anteils der Probanden (Kontrollgruppe) im Bezug auf die Auswertung von Ejakulatproben nachfolgend nur der Begriff „Patienten“ verwendet. Einen Überblick über die einbezogenen Kollektive andrologischer Patienten und Kontrollen gibt das nachfolgende Flow Chart (Abb. 2).



**Abbildung 2:** Patientenpopulation. EP= Ejakulatprobe, CPPS= Chronic pelvin pain syndrom, LOEWE MIBIE = Landes-Offensive zur Entwicklung Wissenschaftlich-ökonomischer Exzellenz - Schwerpunkt "Männliche Infertilität bei Infektion und Entzündung".

Aufgrund nicht durchgeführter mikrobiologischer Diagnostik reduzierte sich der Datensatz auf 2080 Ejakulatproben, die in die Auswertung eingeschlossen werden konnten. Das Alter der Patienten lag im Median bei 37 Jahren. Ein Teil der Daten konnte von bereits abgeschlossenen Studien übernommen werden, die in der Klinik und Poliklinik für Urologie, Kinderurologie und Andrologie des Universitätsklinikums Gießen im Rahmen des

Schwerpunktes "Männliche Infertilität bei Infektion und Entzündung (MIBIE)" der Landes-Offensive zur Entwicklung Wissenschaftlich-ökonomischer Exzellenz (LOEWE) durchgeführt wurden [104]. Aus der MIBIE-Studie B1 wurden 88 Ejakulate [9 (Jahr 2011), 33 (Jahr 2012), 24 (Jahr 2013), 22 (Jahr 2014)] von infertilen Männern mit testikulärer Azoospermie einbezogen. 276 Ejakulatproben [29 (Jahr 2011), 130 (Jahr 2012), 86 (Jahr 2013), 31 (Jahr 2014)] stammen aus der LOEWE MIBIE-Studie B2, in welcher Fertilitätsparameter von Patienten mit HIV-Infektion unter antiretroviraler Therapie untersucht wurden. In der MIBIE-Studie B4 wurden die Ergebnisse von 29 Patienten mit metabolischem Syndrom [12 (Jahr 2011), 14 (Jahr 2012), 3 (Jahr 2013)] in die Datenbank aufgenommen. Darüber hinaus standen 125 Ejakulatbefunde von Patienten mit chronischem Beckenschmerzsyndrom (Prostatitis der NIH-Kategorie III) (CPPS) aus der Urologischen Klinik zur Verfügung [40 (Jahr 2011), 68 (Jahr 2012), 17 (Jahr 2013)]. Aus der andrologischen Sprechstunde konnten insgesamt 1234 Ejakulatanalysen von Patienten mit „unerfülltem Kinderwunsch“ einbezogen werden. Hiervon gingen im Jahr 2011 insgesamt 259 Ejakulate, im Jahr 2012 insgesamt 414 Ejakulate, im Jahr 2013 insgesamt 335 Ejakulate und aus dem Jahr 2014 insgesamt 226 Ejakulate in die Auswertung ein. Aus der allgemeinen andrologisch-urologischen Sprechstunde wurden insgesamt 212 Ejakulate [30 (Jahr 2011), 65 (Jahr 2012), 116 (2013), 1 (Jahr 2014)] eingeschlossen. Die Aufnahme der Befunde aus den beiden zuletzt genannten Patientengruppen in die Datenbank erfolgte anhand von Aktendurchsicht. Die übrigen Ergebnisse konnten von noch nicht ausgewerteten Befunden in die Excel-Datenbank überführt werden. Weiterhin wurden insgesamt 116 Ejakulatproben [13 (Jahr 2011), 56 (Jahr 2012), 34 (Jahr 2013), 13 (Jahr 2014)] von gesunden Männern als Kontrollgruppe aus vorherigen Studien verwendet.

Aus dem Gesamtpatientenkollektiv konnten 68 Patienten mit positivem STI-Befund identifiziert werden, welche im Median zwei Monate nach antibiotischer Behandlung eine Kontrolluntersuchung erhielten.

Patienten und gesunde Männer, die im Rahmen des MIBIE-Projektes „Männliche Infertilität bei Infektion und Entzündung“ (2011 – 2014) sowie des Forschungsprogramms der urologischen Klinik zur chronischen Prostatitis prospektiv untersuchten Kohorten wurden über die jeweiligen Teilstudien ausführlich aufgeklärt. Die Patienten, die retrospektiv aus den andrologischen Sprechstunden der Klinik einbezogen wurden, hatten der Freigabe des Ejakulates bzw. entsprechender Probenaliquots und der Nutzung hieraus resultierender Daten für medizinische Forschungszwecke unter Gewährleistung des

Datenschutzes zugestimmt. Von sämtlichen einbezogenen Patienten bzw. Probanden liegen schriftliche Einwilligungserklärungen vor. Die Voten der Ethikkommission der Justus-Liebig-Universität Gießen finden sich unter den Aktenzeichen 26/11, 32/11, 45/11, 111/11 und 55/13.

## 2.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Voraussetzung für den Einschluss von Patienten in die retrospektive Studie war das Vorhandensein mindestens einer Ejakulatanalyse je Patient/Kontrollperson (standardisierte Auswertung nach WHO 2010 [175] im klinisch-andrologischen Labor der Klinik und Poliklinik für Urologie, Kinderurologie und Andrologie des Universitätsklinikums Gießen) inklusive der mikrobiologischen Diagnostik aus Standardkulturverfahren und kultur-unabhängiger STI-PCR für den spezifischen Nachweis von STI-Erregern (Institut für Medizinische Mikrobiologie des Universitätsklinikums Gießen und Marburg, Standort Gießen). Unvollständige Datensätze wurden von der Analyse ausgeschlossen.

## 2.3 Durchführung der andrologischen Untersuchung

Mit Ausnahme der Patienten aus den MIBIE-Studien B2 und B4 sowie der gesunden Kontrollpersonen erfolgte die Vorstellung der Patienten ausschließlich zu routinemäßig vorgesehenen andrologischen Untersuchungen. Zur andrologischen Basisdiagnostik gehört neben der Ejakulatdiagnostik (s. 2.4) zunächst eine ausführliche Anamnese. Diese beinhaltet sowohl die allgemeine Krankenvorgeschichte wie Kinderkrankheiten, Stoffwechselstörungen, Operationen, Traumata v.a. im Genital- und Beckenbereich u.v.m., als auch die gezielte andrologische Krankenvorgeschichte wie Pubertätsentwicklung, Hodenhochstand im Kindes- oder Jugendalter oder auch durchgemachte Geschlechtskrankheiten. Darüber hinaus beinhaltet die Anamnese sozioökonomische Fragen zum Arbeitsplatz, Stressfaktoren, chemische und physikalische Umwelteinflüsse, Medikamenten-Einnahme und Genussmittelkonsum (Zigaretten/Tabak, Alkohol, Drogen), aber auch Fragen zu Partnerschaft, Sexualität und Kinderwunsch. Bei jedem Patienten erfolgte eine körperliche Untersuchung mit Beurteilung von Körperbau, Behaarungsmuster, Inspektion und Untersuchung der Genitalien, Hodenlage,-größe und -konsistenz, Palpation von Nebenhoden und Samenstrang. Über Größe, Konsistenz und Druckschmerzhaftigkeit der Prostata gibt die digito-rektale Untersuchung Auskunft. Die Bläschendrüsen sind palpatorisch nicht zu

erfassen. Zur Routinediagnostik gehört ebenso die bildgebende Diagnostik mittels skrotaler und transrektaler Sonografie sowie Doppler- und farbkodierte Duplexsonografie.

Die Ergebnisse der klinisch-andrologischen Diagnostik bildeten u.a. die Grundlage für die Zuordnung der Patienten zu den verschiedenen Kohorten, wurden jedoch nicht detailliert in die Datenbasis der vorliegenden Arbeit aufgenommen. Der Schwerpunkt liegt hier auf der Labordiagnostik, insbesondere der Ejakulatanalyse, welche im Folgenden näher erläutert wird.

## 2.4 Ejakulatdiagnostik

### 2.4.1 Spermogramm nach WHO

Die Untersuchung des Ejakulates, das Spermogramm, gehört zur andrologischen Basisdiagnostik. Die Auswertung beinhaltet wichtige Parameter wie das Ejakulatvolumen, die Spermienkonzentration und -gesamtzahl, die Motilität und Morphologie der Spermien sowie biochemische Funktionsparameter der Samenwege (z. B. Fructose als Marker der Bläschendrüse,  $\alpha$ -Glucosidase als Marker für den Nebenhoden) [62, 116, 147]. Durchführung und Auswertung der Spermogramme erfolgt nach den Richtlinien der WHO, um die Qualität und Vergleichbarkeit zwischen verschiedenen Laboratorien zu gewährleisten. Mit Herausgabe der fünften Auflage des WHO-Laborhandbuchs zur Untersuchung und Aufarbeitung des menschlichen Ejakulates im Jahr 2010 haben sich vor allem die Referenzwerte für verschiedene Spermogramm-Variablen geändert. Die evidenzbasierten unteren Grenzwerte beziehen sich auf die 5. Perzentile der Resultate von ca. 2.000 fertilen Männern [175]. Die nachfolgenden Erläuterungen beziehen sich auf diese Ausgabe des WHO-Laborhandbuchs (WHO 2010; 5. deutschsprachige Auflage: Springer, 2012 [175]). Die früheren und derzeit gültigen Referenzwerte (unteren Grenzwerte) sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

**Tabelle 3:** Basisspermiogramm: Parameter und Referenzwerte nach WHO 1999 [118] und 2010 [175] im Vergleich.

	<b>WHO 2010</b> *Untere Grenzwerte (95% Konfidenzintervall)	<b>WHO 1999</b>
Verflüssigungszeit	< 60 min	< 60 min
Volumen	1,5 (1,4-1,7) ml*	≥ 2 ml
pH	≥ 7,2	≥ 7,2
Spermatozoenkonzentration	15 (12-16) x 10 <sup>6</sup> /ml*	≥ 20 x 10 <sup>6</sup> /ml
Gesamt-Spermatozoenzahl	39 (33-46) x 10 <sup>6</sup> *	≥ 40 x 10 <sup>6</sup>
Progressive Motilität	32 (31-34) % progressiv motile Spermien (PR; entspricht früheren Kategorien A+B)	≥ 50 % progressiv motile Spermien (Kategorien A+B)
Gesamtmotilität:	40 (38-42) % (frühere Kategorien A+B+C)	
Morphologie	4 (3-4) % erfüllen die Tygerberg-Kriterien („strict criteria“ für normal geformte Spermatozoen	≥ 15 % erfüllen die Tygerberg-Kriterien („strict criteria“ für normal geformte Spermatozoen
Vitalität (Eosin-Test)	58 (55-63) % lebende Spermatozoen	≥ 75 % lebende Spermatozoen
Leukozyten	< 1 x 10 <sup>6</sup> /ml	< 1 x 10 <sup>6</sup> /ml
Membrangebundene Spermatozoen-Antikörper (MAR-Test)	< 50 % motile Spermatozoen mit anhaftenden Partikeln	< 50 % motile Spermatozoen mit anhaftenden Partikeln

#### 2.4.2 Gewinnung der Ejakulatproben

Die Ejakulatabgabe erfolgte unter standardisierten Bedingungen in speziell dafür vorgesehenen Räumen mit Nähe zum klinisch-andrologischen Labor, da bereits die räumlichen Gegebenheiten sowie Probentransport Einfluss auf die Spermienqualität nehmen können. In Ausnahmefällen fand die Probengewinnung zu Hause statt. Dabei muss die Probe bei Körpertemperatur gelagert und innerhalb von einer Stunde in das Labor gebracht werden. Die Ejakulatabgabe erfolgte in der Regel gemäß WHO-Empfehlungen nach 2 bis 7 Tagen sexueller Abstinenz durch Masturbation in ein steriles Einweggefäß. Der Patient sollte sich vor der Masturbation sorgfältig Hände und Penis mit Seife waschen, um

Kontaminationen zu vermeiden. Die Probe wurde anschließend im klinisch-andrologischen Labor der Klinik und Poliklinik für Urologie, Kinderurologie und Andrologie des Universitätsklinikums in Gießen nach den aktuellen WHO-Richtlinien [175] ausgewertet.

#### 2.4.3 Makroskopische Untersuchung

Zunächst wird die Zeit der Verflüssigung (Liquifizierung) gemessen. Das gewonnene Ejakulat bildet anfangs ein Koagulum, da Seminogelin aus der Gl. vesiculosa die Spermatozoen unter Anwesenheit von Zink bindet. Nach 20 – 30 Minuten sollte es durch die proteolytische Funktion des PSA zur Verflüssigung kommen [175]. Normales Ejakulat ist grau-weißlich und homogen trüb. Verfärbungen können auf Entzündungszellen, Blutbeimengung, Urinbeimengung oder auf die Einnahme von Medikamenten oder Vitaminen hinweisen [116]. Das Volumen wird indirekt aus dem Gewicht der Probe berechnet, wobei eine Dichte von 1 g/ml angenommen wird. Der untere Grenzwert wurde von  $\leq 2$  ml auf 1,5 ml in der aktuellen WHO-Richtlinie herabgesetzt [175]. Der pH-Wert wird durch das alkalische Sekret der Bläschendrüsen und das saure Sekret der Prostata modifiziert und mittels Indikatorpapiers gemessen. Ein pH-Wert von  $\geq 7,2$  ist normal. Ein erhöhter pH-Wert kann ursächlich für eine Entzündung oder durch längeres Stehen der Probe bedingt sein [116].

#### 2.4.4 Mikroskopische Untersuchung

Das Ejakulat sollte vollständig verflüssigt und gut durchmischt sein; aufgrund der Viskosität werden Aliquots mit Hilfe einer geeigneten Pipette ("positive displacement"-Pipette) zur Untersuchung entnommen. Zur Analyse mit einem Phasenkontrastmikroskop bei 200- bzw. 400-facher Vergrößerung werden Präparate von 10  $\mu$ l nativem Ejakulat auf einem Objektträger unter 22 x 22 mm Deckgläschen angelegt. Neben einer Schätzung der Spermien-Konzentration werden die Spermienmotilität bewertet und Auffälligkeiten wie Epithelzellen, Agglutinationen oder Aggregationen von Spermien registriert.

#### 2.4.5 Spermienmotilität

Die Kriterien zur Differenzierung der Spermienmotilität haben sich in der aktuellen Ausgabe des WHO-Manuals geändert, weil die Auswertung als stark untersucherabhängig und damit zu unpräzise eingestuft wurde. Nach den früheren WHO-Richtlinien (1999; [118]) wurde die Motilität in a: schnell progressiv, b: langsam

progressiv, c: nichtprogressiv und d: immotil eingeteilt (vgl. Tabelle 2). Aktuell werden die Kriterien a und b als progressiv motile Spermien (PR) zusammengefasst, also diejenigen Spermien, welche eine gerichtete Vorwärtsbewegung aufweisen. Als Kategorie c werden nichtprogressiv motile Spermien (NP) bezeichnet, jene Spermien sind nur lokal bzw. auf der Stelle beweglich, und als Kategorie d immotile Spermien (IM) [116]. Der untere Grenzwert für PR beträgt 32 % und für die Gesamtmotilität (PR + NP) 40 % (Tab. 2; [175]). Die Bewertung der in die vorliegende Arbeit einbezogenen Proben erfolgte innerhalb einer Stunde bei 37°C.

#### 2.4.6 Spermienkonzentration

Um die Spermienkonzentration auszuwerten, wurde ein Aliquot des vollständig verflüssigten und gut durchmischten Ejakulats mit einer die Spermien immobilisierenden Lösung verdünnt und in eine spezielle Zählkammer (Neubauer-improved-Hämozytometer) pipettiert. Es wurden mindestens 200 Spermien mit Kopf und Flagellum ausgezählt. Isolierte Spermienköpfe oder sogenannte „Pinheads“ (nur Mittelstück und Flagellum ohne Kopfsegment), wurden nicht mitgezählt und gesondert notiert. Zur internen Qualitätskontrolle muss die Auszählung zweimal in verschiedenen Aliquots erfolgen. Die Spermienkonzentration wird als Parameter in der klinischen Routine oft verwendet; allerdings muss bedacht werden, dass die in beiden Hoden produzierte Spermienmenge bei der Ejakulation mit dem Seminalplasma aus den akzessorischen Drüsen verdünnt wird. Daher hat sich als wichtige Variable für die Einschätzung der männlichen Fertilität die Gesamtspermienzahl pro Ejakulat bewährt, welche sich aus Multiplikation von Volumen und Konzentration zusammensetzt. Der untere Grenzwert für die Spermienkonzentration liegt bei  $15 \times 10^6/\text{ml}$  und für die Spermiengesamtzahl bei  $39 \times 10^6/\text{ml}$  [175, 34, 118].

#### 2.4.7 Agglutination, Aggregation

Unter Aggregation (oder Agglomeration) wird das Aneinanderheften von immotilen Spermien in Verbindung mit Zellresten oder sonstigen Bestandteile des Ejakulats verstanden. Agglutination bezeichnet das Aneinanderheften von motilen Spermien [34]. Es werden Kopf-Kopf-, Kopf-Schwanz- und Schwanz-Schwanz-Agglutinationen differenziert. Diese können einen Hinweis auf eine sog. immunologische Infertilität geben und sollten daher im Mixed antiglobulin reaction (MAR)-Test dahingehend



abgeklärt werden, ob membrangebundene Autoantikörper gegen Spermien vorliegen [116].

#### 2.4.8 Vitalität

Zur Identifizierung von vitalen und toten Spermien kam routinemäßig der Eosin-Test zum Einsatz. Der Test beruht auf der Membranfunktion der Spermienköpfe. Die defekte Zellmembran toter Spermien nimmt den roten Eosin-Farbstoff auf. In der Auszählung können so in 400-facher Vergrößerung die roten (toten) und ungefärbten (vitalen) Spermien ausgezählt werden. Alternativ kann der HOS-Test (hypo- osmotischer Schwell-Test) angewendet werden. Hier wird die Integrität der semipermeablen Spermischwanzmembran getestet. Im hypo-osmotischen Milieu kommt es aufgrund des osmotischen Wassereinstroms bei intakter Spermienmembran zur Schwellung und Aufrollung des Flagellums [175].

#### 2.4.9 Spermienmorphologie

Für die Beurteilung der Spermienmorphologie wurden Ausstrichpräparate der Ejakulate angefertigt, luftgetrocknet und nach Shorr gefärbt (WHO Manual [175]). Bei 1000-facher Vergrößerung unter Ölimmersion wurden jeweils 2 x 200 Spermien differenziert. Die Bewertung der Spermienmorphologie beruht auf der Annahme, dass nur normal geformte Spermatozoen zur Befruchtung einer Eizelle fähig sind [55, 171]. Solch normal geformte Spermatozoen besitzen einen gleichförmig ovalen Kopf mit einem schlanken Mittelstück und einem gleichmäßig konturierten Flagellum [116]. Das Akrosom, welches wichtige proteolytische Enzyme für die Penetration der Eihülle enthält, sollte 40 – 70 % der Kopffläche betragen [115]. Das Zytoplasma im Halsbereich, das auch als residuales Zytoplasma oder Zytoplasmotropfen bezeichnet wird, sollte weniger als 30 % der Kopffläche einnehmen. In den vergangenen Jahren wurde anhand der sog. strikten Kriterien (auch als "Tygerberg-Kriterien" bezeichnet) für normal geformte Spermatozoen der untere Grenzwert korrigiert; dieser liegt aktuell bei 4 % [175]. Der Anteil kompetenter, befruchtungsfähiger Spermien ist somit bei einem gesunden Mann relativ gering. Abweichungen werden als Kopf-, Mittelstück-, Schwanzdefekte oder Zytoplasmaresiduen angegeben.

#### 2.4.10 Nomenklatur der Ejakulatbefunde

Die vielfach zur Einteilung von Spermigrammbefunden verwendeten Begriffe sind in Tabelle 4 dargestellt. "Normozoospermie" oder "Oligozoospermie" sind keine Diagnosen im engeren Sinne, sondern erleichtern lediglich die Befundbeschreibung gemäß WHO in der täglichen Praxis (WHO 2010 [175]).

**Tabelle 4:** Beschreibung von Ejakulatbefunden nach WHO 2010 [175].

Normozoospermie	Gesamtzahl (oder Konzentration), Prozentsatz progressiv motiler und morphologisch normaler Spermien gleich oder über jeweiligem Referenzwert
Oligozoospermie	Gesamtzahl (oder Konzentration) Spermien unterhalb des unteres Referenzwertes
Asthenozoospermie	Prozentsatz progressiv motiler Spermien unterhalb des unteren Referenzwertes
Teratozoospermie	Prozentsatz morphologisch normaler Spermien unterhalb des unteren Referenzwertes
Oligoasthenoteratozoospermie (OAT)	Kombination der zuvor genannten Störungen
Kryptozoospermie	Keine Spermien im Nativpräparat, jedoch im zentrifugierten Pellet
Azoospermie	Keine Spermien im Ejakulat
Hämospermie/Hämatospermie	Nachweis von Erythrozyten im Ejakulat
Leukospermie/Leukozytospermie	Nachweis von Leukozyten im Ejakulat oberhalb des Grenzwertes

#### 2.4.11 Entzündungszellen

Der Nachweis von Leukozyten erfolgte mit einer Färbung zur Darstellung der Peroxidase-Aktivität und anschließenden Auszählung in der Zählkammer [175]. Ein Überblick kann bereits in gefärbten Ausstrichpräparaten gewonnen werden, wo sich Leukozyten (neutrophile Granulozyten, Makrophagen) von unreifen Keimzellen unterscheiden lassen. Es gibt noch weitere, darüber hinaus gehende, sensitivere Analysen (Immunzytochemische Färbung, Flowzytometrie [134]), die jedoch von der WHO derzeit noch als fakultativ bzw. experimentell eingestuft werden. Der von der WHO vorgeschlagene untere Grenzwert für Leukozyten beträgt  $< 1 \times 10^6/\text{ml}$  Ejakulat [175].

#### 2.4.12 Spermienautoantikörper

Werden im Nativpräparat Agglutinationen verzeichnet, sollte z. B. durch den MAR-Test das Vorhandensein membrangebundener Autoantikörper bestätigt werden. Anti-Spermien-Antikörper (ASA) gehören zu den Immunglobulinklassen (Ig) A und Ig G. Für den MAR-Test wurden im klinisch-andrologischen Labor der Urologischen Klinik dem Ejakulat mit motilen Spermien Ig G- bzw. Ig A-beladene Latexpartikel hinzugegeben. Besitzen die motilen Spermien auf ihrer Zelloberfläche Antikörper, binden sie nach Zugabe eines Sekundärantikörpers (anti-human-IgG bzw. -IgA) die Partikel und werden in ihrer Beweglichkeit eingeschränkt. Das Ergebnis wurde routinemäßig nach drei und zehn Minuten abgelesen. Binden > 50 % der Spermien die Partikel und sind hierdurch immobilisiert, gilt der Test als positiv. Eine signifikante Einschränkung der Fertilität bei > 50 % antikörpertragenden Spermien ist wahrscheinlich und wird als immunologische Infertilität bezeichnet [175].

#### 2.4.13 Biochemische Marker

Für die Diagnostik des Seminalplasmas, welches zum größten Teil aus dem Bereich der akzessorischen Drüsen stammt (siehe Abbildung 1), stehen verschiedene Untersuchungsverfahren zur Verfügung. Untersucht wurden routinemäßig Produkte aus Bläschendrüsen (Fruktose; Referenzwert  $\geq 13 \mu\text{mol/Ejakulat}$ ), Prostata (Zink; Referenzwert  $\geq 2,4 \mu\text{mol/Ejakulat}$ ) und Nebenhoden ( $\alpha$ -Glucosidase; Referenzwert  $\geq 20 \text{ mU/Ejakulat}$ ) [175]. Die Konzentrationsbestimmung für die Fruktose erfolgte anhand einer photometrischen Reaktion. Fruktose bildet im sauren Milieu und unter Wärme einen Farbkomplex mit Indol [175]. Die im Labor verwendete photometrische Bestimmung von Zink beruht auf einer Komplexbildung mit einem speziellen Reagenz (2-(5-Bromo-2-Pyridylazo-)-5(N-propyl-N-Sulfopropylamino-)Phenol), der Farbumschlag wird bei einer Wellenlänge von 560 nm gemessen (Fujifilm Wako Chemicals Europe GmbH, Neuss). Für die Bestimmung der neutralen  $\alpha$ -Glucosidase als Funktionsparameter des Nebenhodens ist zu beachten, dass es auch ein saures Isoenzym gibt, welches von der Prostata gebildet wird. Zur Differenzierung wird das saure Isoenzym mittels SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) inhibiert. In dem hier eingesetzten Assay zur Bestimmung der  $\alpha$ -Glucosidase wird die enzymatische Eigenschaft ausgenutzt. Glucosidase wandelt das synthetische Glucopyranosid-Substrat zu p-Nitrophenol um, welches durch Zugabe von Natriumbikarbonat eine Gelbfärbung annimmt und Licht der Wellenlänge 405 nm mittels

Mikrotiterplatte (EAR 400 ATC) absorbiert [175, 75]. Die Granulozyten-Elastase ist eine von neutrophilen Granulozyten gebildete Serinprotease, welche eine wichtige Rolle bei der Lyse phagozytierter Partikel im Rahmen der angeborenen Immunität spielt und bei überschießender Aktivität auch umgebendes Gewebe schädigen kann [90]. Die Elastase korreliert mit dem Nachweis von Leukozyten im Ejakulat und wird als Marker der Granulozytenaktivität im Rahmen einer Entzündung mittels PMN- Elastase- ELISA (Demeditec Diagnostics GmbH, Kiel) bestimmt. Der Grenzwert im Ejakulat beträgt 280 ng/ml. Werte zwischen 280 und 1000 ng/ml zeigen eine Entzündung an, über 1000 ng/ml ist von einer massiven Entzündung auszugehen [74].

## 2.5 Weitere Labordiagnostik

Zur Funktionsbeurteilung der Geschlechtsorgane gehört auch die Bestimmung der Sexualhormone Testosteron, FSH und LH. Zum endokrinen Regelkreis gehören Hypothalamus, Hypophyse und die Gonaden. Im Hypothalamus wird pulsatil etwa alle 90 – 120 Minuten das Gonadotropin-freisetzende Hormon (GnRH) freigesetzt, welches im Hypophysenvorderlappen die Produktion und Sekretion der Gonadotropine luteininsinierendes Hormon (LH) und follikelstimulierende Hormon (FSH) veranlasst. FSH und LH gelangen über die Blutbahn zu den Sertoli-, bzw. Leydigzellen des Hodens und bewirken über spezifische Rezeptoren die Produktion von Spermien sowie die Freisetzung von Testosteron. Testosteron liegt größtenteils gebunden an das sexualhormonbindende Globulin (SHBG) und an Albumin vor, nur ca. 2 % sind biologisch frei verfügbares Testosteron. Im peripheren Gewebe wird Testosteron durch die 5  $\alpha$ - Reduktase zu dem biologisch aktiven Dehydrotestosteron reduziert. Die Laborbestimmungen erfolgten nach standardisierter Abnahme (vormittags) im Zentrallabor des Universitätsklinikums Gießen. Die Referenzwerte für die Hormon-Parameter lauten; Testosteron 300-1000 ng/dl , FSH 1-10 mU/ml und LH 1,9-9 mU/ml. Abweichungen von den Referenzwerten erlauben Rückschlüsse auf Funktionsstörungen im Regelkreis. Im Bedarfsfall können weitere Hormonparameter wie Prolaktin oder Estradiol bestimmt werden, die Auswertungen in der vorliegenden Arbeit beschränken sich jedoch auf Testosteron, FSH und LH als Parameter der andrologischen Basisdiagnostik.

## 2.6 Mikrobiologische Diagnostik

Die mikrobiologische Diagnostik fand im Institut für Medizinische Mikrobiologie des Universitätsklinikums Gießen unter der Leitung von Dr. H. Hossain statt. Nach Ejakulation wie unter 2.4.2 beschrieben, wurde ein Aliquot der nativen Spermaprobe noch im andologischen Labor im Verhältnis 1:10 in Transportmedium (PPLO-Broth) aufgenommen und am gleichen Tag zur mikrobiologischen Untersuchung ins Institut für Medizinische Mikrobiologie weitergeschickt. Hier erfolgte nach Registrierung der Proben zunächst die Aufarbeitung. Dabei wurden 16,8 g PPLO-Broth in 800 ml Wasser für 15 min lang gelöst. Ein pH-Wert von 6,5 eingestellt und anschließend für 15 Minuten bei 121°C autoklaviert. Danach erfolgte das Abfüllen von je 1 ml in sterile Röhrchen (aliquotieren). Zum Nachweis von STI (*C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium*, *M. hominis*, *U. urealyticum*) wird die erregerspezifische 16S-rDNA in PCR und anschließender reverser Hybridisierung mittels „enzyme-linked immunosorbent assay“ (ELISA) genutzt. Für die Spezies-spezifische PCR wurde die DNA zunächst aus 200 µl der verdünnten Spermienprobe mit Hilfe des Maxwell® 16 Tissue LEV Total DNA Purification Kit (Promega GmbH, Mannheim) gemäß den Hersteller-Informationen isoliert und aufgereinigt. Nach Extraktion der DNA konnte diese direkt im PCR hyplex® STD System (AMplex BioSystems GmbH, Gießen, Germany) eingesetzt werden. Die Testung dauert 1,5 Stunden. Es werden neben den Proben auch positiv und negativ Kontrollen untersucht. Anschließend erfolgte die Hybridisierung mittels ELISA Automaten Radim PeeLab. Stimmen Positiv- und Negativ-Kontrolle mit dem zu erwartenden Ergebnis überein, gilt der Lauf als valide. Jeder positive Nachweis wird mit einer erneuten DNA-Extraktion aus der Probe neu angesetzt und überprüft. Sind beide Extrakte positiv, gilt der Befund als positiv und wird im Ergebnis als „positive STI“ aufgeführt.

Der Nachweis von urogenitalen Erregern in Standardkultur erfolgte in verschiedenen Kulturmedien nach Hersteller-Informationen. Diese sind im Einzelnen Blutagar, Cystine Lactose Electrolyte Deficient-Agar (= CLED-Agar), MacConkey und Saborough. Nach Probeneingang des Ejakulats im Transportmedium erfolgte ebenfalls zunächst die Registrierung und Probenaufarbeitung nach oben genanntem Schema. Anschließend wurden je 10 µl des fraktionierten Aliquot auf den Platten ausgestrichen. Bei CLED-Agar-Platten erfolgte eine Teilung, d.h. auf die Eine Hälfte wurden 10 µl, auf die Andere 1 µl des fraktionierten Aliquot ausgestrichen, um eine quantitative Auszählung zu erleichtern. Zur Anzucht der aeroben und fakultativ anaeroben Erreger wurden die verschiedenen

Kulturmedien bei 37 °C für 24 Stunden bebrütet. Die auf diese Art bewachsenen Kulturen mit mindestens  $10^3$  KBE/ml Ejakulat werden im Folgenden als „positiver Bakterienwuchs in Standardkultur“ bezeichnet.

## 2.7 Dateneingabe und Datenschutz

Die Daten wurden nach dem Zusammenfügen von Ejakulatbefunden, mikrobiologischer Analyse und weiteren Laborbefunden pseudonymisiert und tabellarisch in einer Datenbank (Excel 2010) zusammengetragen. Insgesamt wurden in 59 Spalten das Basis-Spermogramm, die biochemischen Marker und Entzündungsparameter im Ejakulat ( $\alpha$ -Glucosidase, Zink, Fruktose, Elastase), der mikrobiologische Befund der Standardkultur nach Keimzahl und Keimart differenziert und das STI-PCR-Ergebnis von *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. hominis et genitalium* und *U. urealyticum* eingetragen, ebenso die Hormonwerte im Serum (Testosteron, FSH, LH).

Kenntnis über personenbezogene, der ärztlichen Schweigepflicht unterliegende Daten haben nur die an der Studie beteiligten Mitarbeiter der urologischen Klinik und des Instituts für Medizinische Mikrobiologie.

## 2.8 Datenauswertung und statistische Methoden

Die statistische Analyse erfolgte unter Gebrauch des IBM SPSS Statistik 22.0. (SPSS) Programms. So wurden zunächst die Häufigkeit einzelner Parameter, wie beispielsweise das Vorkommen von STI, mittels deskriptiver Statistik und grafischer Darstellung im Balkendiagramm aufgezeigt. Um einen Überblick über den Zusammenhang der verschiedenen Parameter untereinander zu bekommen, wurde die Spearman-Korrelation verwendet, da es sich größtenteils um nicht normalverteilte Daten handelt (Hormonkonzentration, Volumen etc.). Die hieraus erhaltenen negativen und positiven Korrelationen und signifikanten Zusammenhänge konnten mittels Streudiagramm zur internen Plausibilitätsprüfung verwendet werden. Hieraus ergab sich nicht automatisch ein Wirkungszusammenhang, da die Parameter auch durch eine andere, nicht untersuchte Variable voneinander abhängig sein können. Die Häufigkeitsverteilung der einzelnen Parameter im Gesamtpatientenkollektiv wurde durch Anfertigung von Balken- oder Tortendiagrammen veranschaulicht. Um den Einfluss einer STI auf nicht normalverteilte Parameter im Basispermogramm analysieren zu können, wurde der Kruskal-Wallis-Test für

unabhängige Stichproben angewendet, ebenso zur Überprüfung möglicher Effekte der jahreszeitlich unterschiedlichen Zeitpunkte der Ejakulat-Abgabe.

Für die Ergebnisse wurde ein Signifikanz- Niveau von 5 % festgelegt. Die Ergebnisse wurden gemeinsam mit Median, 25. und 75. Perzentile (Interquartilsabstand) der einzelnen Parameter in der explorativen Datenanalyse in einer Excel-Tabelle zusammengetragen. Zur Veranschaulichung und Hervorhebung einzelner Zusammenhänge wurden hieraus zur grafischen Darstellung Boxplots entwickelt. Durch Einteilen der Spermienkonzentration in verschiedene Gruppen und somit Definition einer neuen Variablen konnte mittels Kreuztabelle der Zusammenhang mit einzelnen Spermienparametern (Volumen, STI etc.) dargestellt werden. Zur Bestätigung des Zusammenhangs und der Aussagekraft für die Allgemeinheit wurde der Chi-Quadrat-Test angewendet.

Für den Vergleich einer STI (PCR- Analyse) in Kombination mit einem Erregernachweis in Standardkultur und deren Unterteilung in "keine/sonstige Bakterien" und "uropathogene Bakterien" wurden zunächst mittels deskriptiver Statistik der Median und Interquartilsabstand jeder Gruppe mit jedem Parameter bestimmt. Da die Variablen nicht normalverteilt sind und die Stichprobe in den vier Gruppen ("keine/sonstige Bakterien", "uropathogene Bakterien", "STI" + "keine/sonstige Bakterien", "STI" + "uropathogene Bakterien") teilweise gering ist, wurde jede mit jeder Gruppe mit dem Mann-Whitney-Test verglichen. Die signifikanten Zusammenhänge wurden in einer Excel-Tabelle mit kleinen Buchstaben markiert. Zur Vereinfachung und Überprüfung diente hier auch die einfaktorielle ANOVA nach Kruskal-Wallis mit paarweisen Vergleichen der Gruppen.

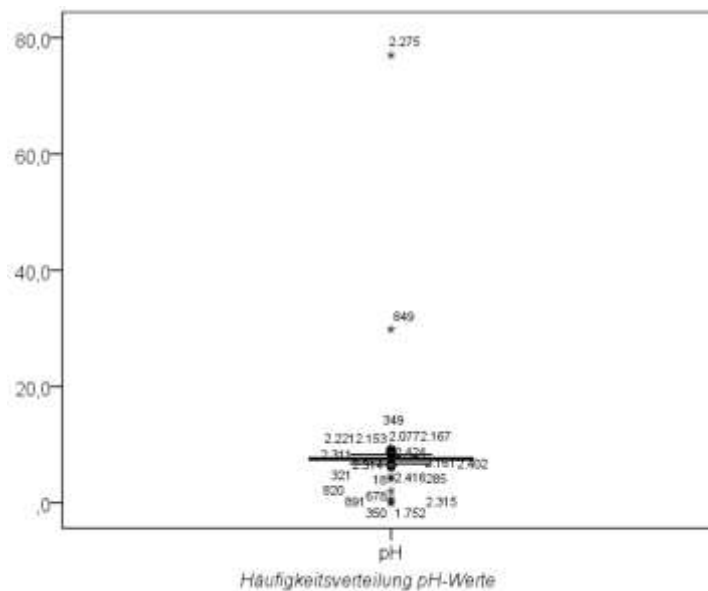
Zum Vergleich der Ejakulate vor und nach antibiotischer Behandlung der nichtparametrischen, abhängigen Stichproben wurde der Wilcoxon-Test verwendet und die Daten in einer Excel Tabelle zum Vergleich zusammengetragen.

## 2.9 Fehlersuche und interne Plausibilitätsprüfung

Nach Vervollständigung der Daten durch das Heraussuchen fehlender Untersuchungsergebnisse in Akten bzw. dem krankenhausinternen Informationssystem konnte die Excel-Tabelle in das Statistikprogramm SPSS überführt werden.

Zunächst erfolgte die Aufzeichnung der Häufigkeiten und der oberen und unteren Extremwerte aller Parameter. Durch Identifizierung der Extremwerte anhand der Pseudonummern konnten evtl. Eingabefehler aufgezeigt und durch Kontrolle in den Akten bzw. dem krankenhausinternen Informationssystem behoben werden.

So konnte hier im Beispiel unter der Pseudonummer 2275 (s. Abb. 3) die falsche Eingabe des pH-Wertes durch Korrektur des Kommas behoben werden.

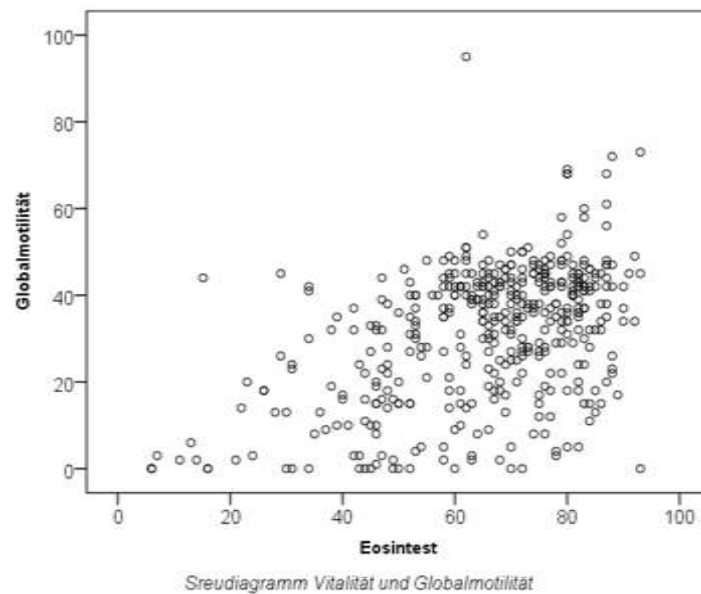


**Abbildung 3:** Fehlerbehebung am Beispiel des pH-Wertes. Aufzeichnung der pH-Wert Verteilung und Extremwerte in der Gesamtpopulation und Identifizierung der fraglichen Werte anhand der Pseudonummern.

Durch Prüfung jedes einzelnen Parameters auf diese Weise konnte die fehlerhafte Eingabe von Daten korrigiert werden. Anschließend erfolgte die Plausibilitätsprüfung einzelner Parameter anhand verschiedener Korrelationsvergleiche und Übereinstimmungen.



In Form eines Streudiagramms lässt sich die Korrelation verschiedener Parameter einfach darstellen. So ist in Abbildung 4 die Korrelation zwischen Prozentsatz vitaler Spermien im Eosintest auf der X-Achse [unterer Grenzwert fertiler Männer für Vitalität bei 58 (55-63) %] und der Globalmotilität = Gesamtmotilität auf der Y-Achse [unterer Grenzwert fertiler Männer bei 40 (38-42) %] zu sehen.

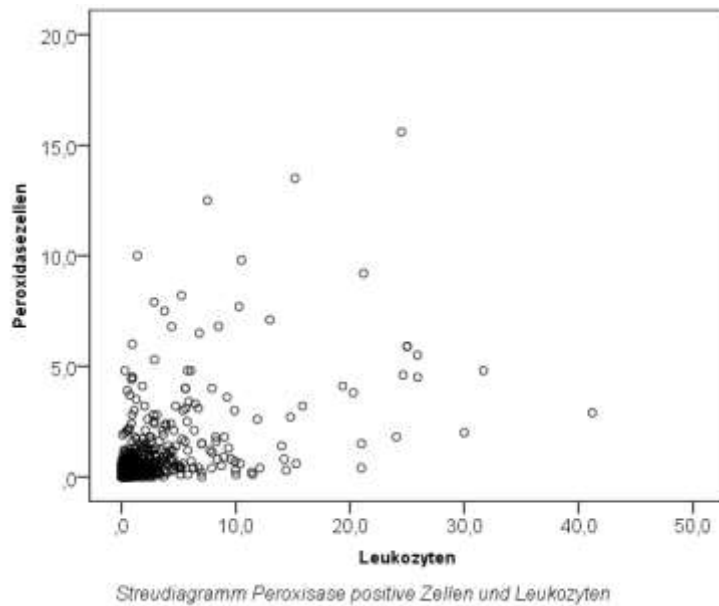


**Abbildung 4:** Korrelation von Vitalität (X-Achse; [%]) und Globalmotilität (Y-Achse; [%]) der Spermien im Ejakulat zur internen Plausibilitätskontrolle.

Vitale Spermien besitzen eine intakte Membran, werden folglich im Eosintest nicht angefärbt und zeigen eine gute Motilität, soweit keine Mittelstück- bzw. Flagellumdefekte vorliegen.

Der Parameter Gesamtmotilität wurde zusätzlich in SPSS in Form einer neuen Variablen (Globalmotilität = Motilität a + Motilität b + Motilität c) berechnet und mit dem aus dem Spermioagrammbogen vom andrologischen Labor übernommenen Wert für den Parameter „Globalmotilität“ verglichen.

Ein weiteres Beispiel zur internen Plausibilitätskontrolle ist der Vergleich vom Leukozyten in unterschiedlichen Nachweismethoden.



**Abbildung 5:** Korrelation von Peroxidase-positiven Zellen (Mio./ml) auf der Y-Achse mit Leukozyten (Mio./ml) auf der X-Achse im Streudiagramm.

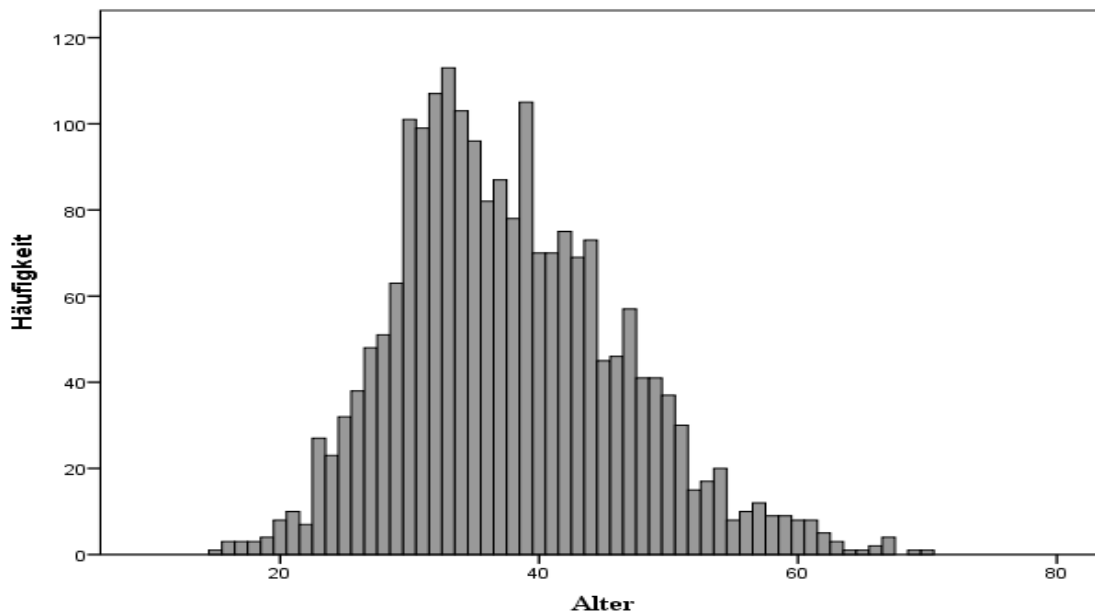
Die auf der Y- Achse dargestellten Rundzellen bzw. peroxidasepositiven Zellen korrelieren mit den im gefärbten Ausstrichpräparat ausgezählten Leukozyten auf der X-Achse. Peroxidase-positive Zellen können Leukozyten oder unreife Keimzellen beinhalten [117]. Die Korrelationen zeigen, dass die mit unterschiedlichen Nachweismethoden erhobenen Befunde für Peroxidase-positive Zellen im Nativejakulat und in der zytomorphologischen Auswertung erfasste Leukozyten gut übereinstimmen.

Bei nicht plausiblen mikrobiologischen Befunden konnten durch telefonische Rücksprache mit dem STI-Labor des Instituts für Medizinische Mikrobiologie bestehende Eingabefehler behoben werden. Beispielsweise konnte in einer Ejakulatprobe im Kulturnachweis von koagulase-negativen Staphylokokken die Keimzahl „1: 20“ in 20 Kolonien bildende Einheiten korrigiert werden. Auf diese Art und Weise konnte die Überprüfung der Fehler umfassend durchgeführt werden.

### 3 Ergebnisse

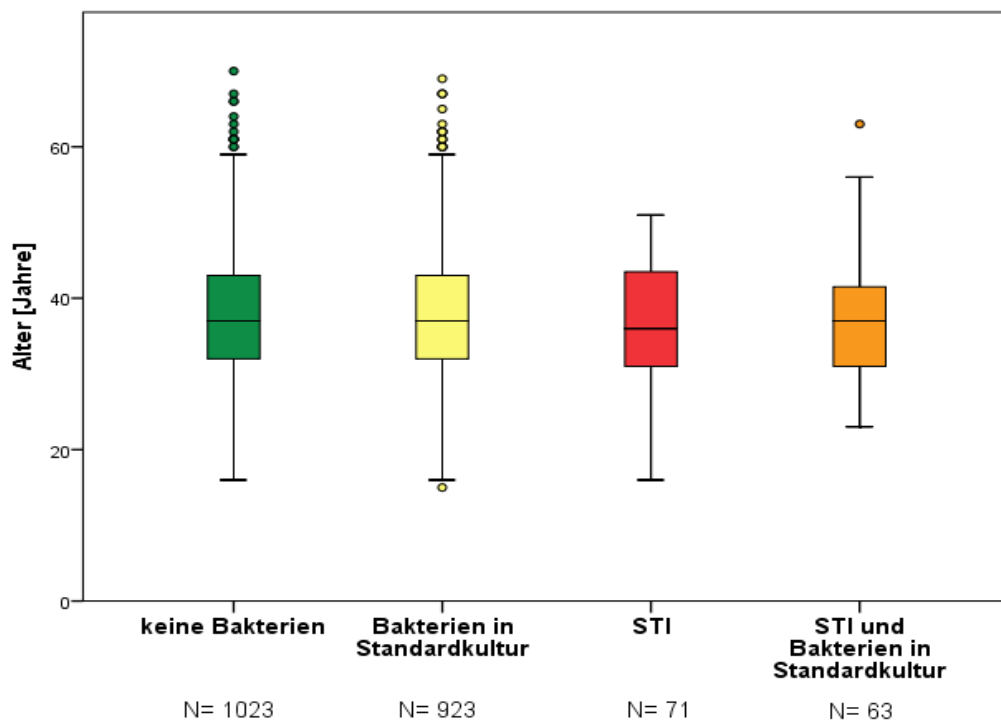
#### 3.1 Patientenkollektiv

Die 2080 untersuchten Ejakulate stammen von Patienten bzw. Männern einer Kontrollgruppe im Alter zwischen 15 und 70 Jahren bei einem medianen Alter von 37 Jahren (Abb. 6).



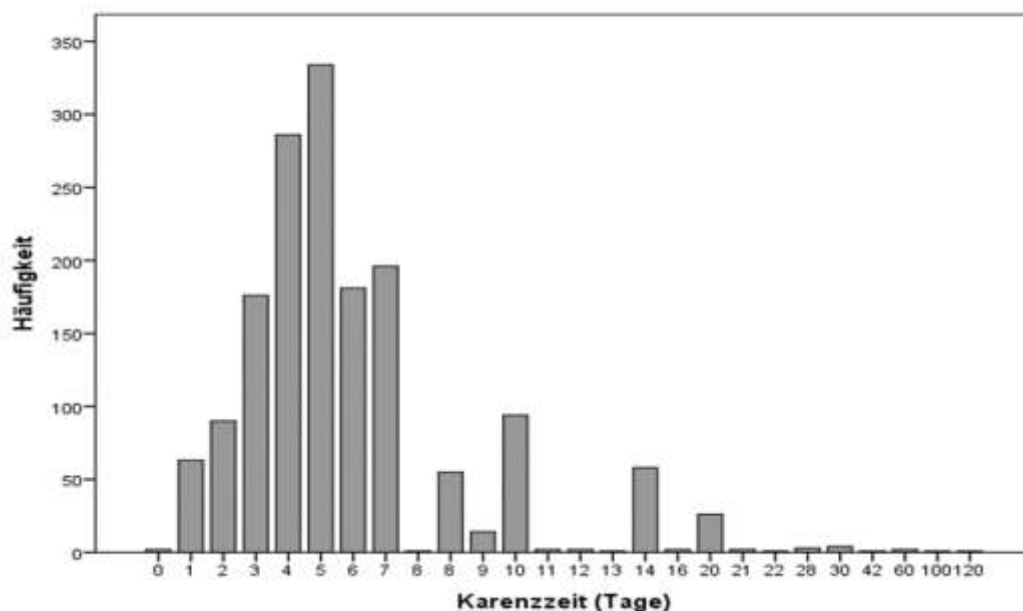
**Abbildung 6:** Altersverteilung der 2080 Patienten/Kontrollen. Median 37 Jahre, Altersspanne 55 Jahre.

Das mediane Alter der Patienten bzw. Männer der Kontrollgruppe von 37 Jahren ist unabhängig vom Nachweis von STI mittels PCR- Analyse bzw. einem positiven Bakterienwachstum in Standardkultur. Auch eine Kombination aus STI und Bakterien in Standardkultur kommt im medianen Alter von 37 Jahren bei den Patienten vor (s. Abb. 7).



**Abbildung 7:** Altersverteilung der Patienten/Kontrollen in den Ejakulatproben-Untergruppen ohne Keimwachstum (keine Bakterien) in der Standardkultur ("keine Pathogenität") versus positive Bakterienkulturen, sowie positiver STI und zusätzlichem Nachweis von Bakterien in Standardkultur.  $p=0,7$

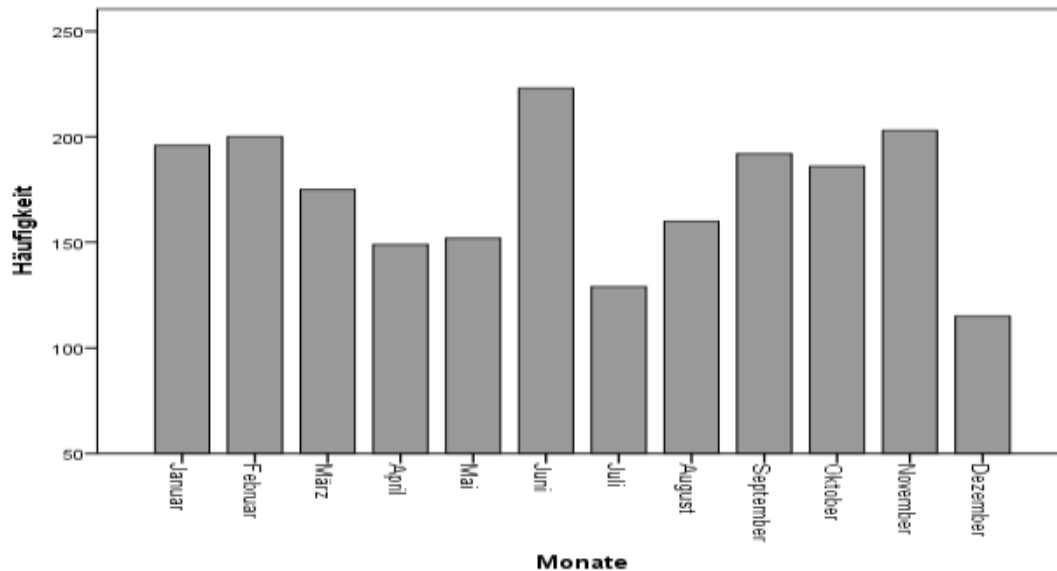
Die sexuelle Karenzzeit vor der Ejakulatabgabe betrug zwischen Null und maximal 120 Tagen bei einer medianen Karenzzeit von fünf Tagen (Abb. 8).



**Abbildung 8:** Sexuelle Karenzzeit der Patienten/Kontrollen vor Ejakulatabgabe.  $N= 1599$ . Median 5 Tage, Spannweite 120 Tage.

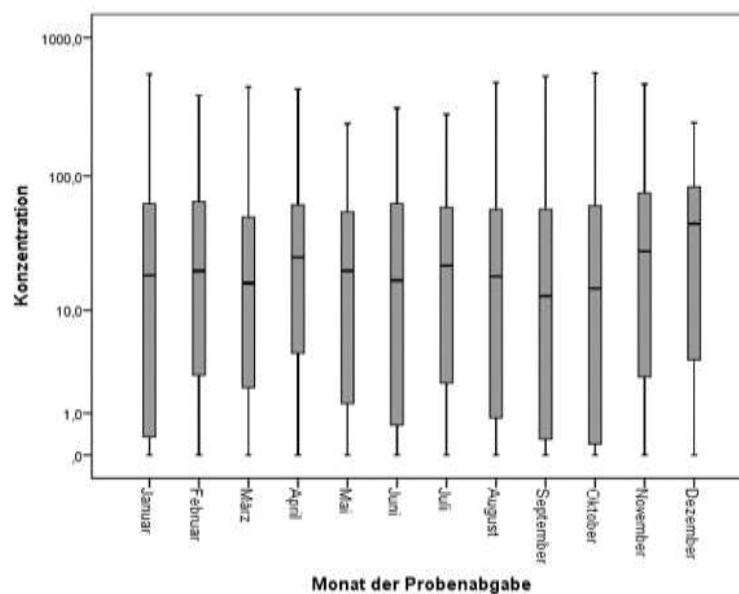
### 3.2 Jahreszeitliche Schwankungen der Ergebnisse

Wird der Zeitpunkt der Ejakulatabgaben im Jahresverlauf betrachtet, so findet sich die höchste Rate im Juni mit insgesamt N = 223 untersuchten Ejakulaten (Abb. 10). Am wenigsten untersuchte Ejakulate fanden sich im Dezember (N = 115).



**Abbildung 9:** Verteilung der untersuchten Ejakulatproben (N= 2080) auf die Monate im Jahr. Gesamtzeitraum 06/2011 bis 06/2014. Spannweite Proben (Juni (N=223) bis Dezember (N=115)).

Inwieweit die Ejakulatqualität von der Jahreszeit abhängig ist, wurde mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Tests untersucht.

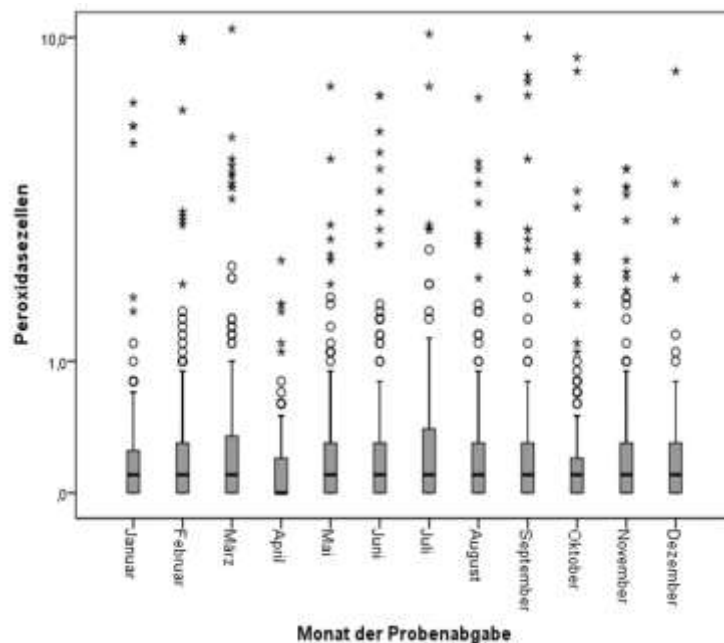


**Abbildung 10:** Jahreszeitabhängige Schwankungen der Spermienkonzentration (Mio./ml) in Ejakulatproben (N= 2080).  $p= 0,041$  im Kruskal- Wallis-Test.

Hier zeigten sich signifikante Zusammenhänge ( $p < 0,05$ ) zwischen pH-Wert, Spermienkonzentration, Progressiv-Motilität, Gesamtmotilität, Anzahl Peroxidase-positiver Zellen, Fruktose im Ejakulat, Serum-Testosteron und den Monaten der Ejakulatabgabe.

Jedoch fand sich kein Zusammenhang der einzelnen Monate für einen jahreszeitabhängigen Trend (Winter, Frühjahr, Sommer, Herbst). So erkennt man in Abb. 10 die jahreszeitabhängigen Schwankungen der Spermienkonzentration ( $p = 0,041$  im Kruskal-Wallis-Test). Die Spermienkonzentration ist im Median im Dezember am höchsten, insgesamt lässt sich jedoch kein systematischer Zusammenhang zwischen Spermienkonzentration und Jahreszeit beobachten.

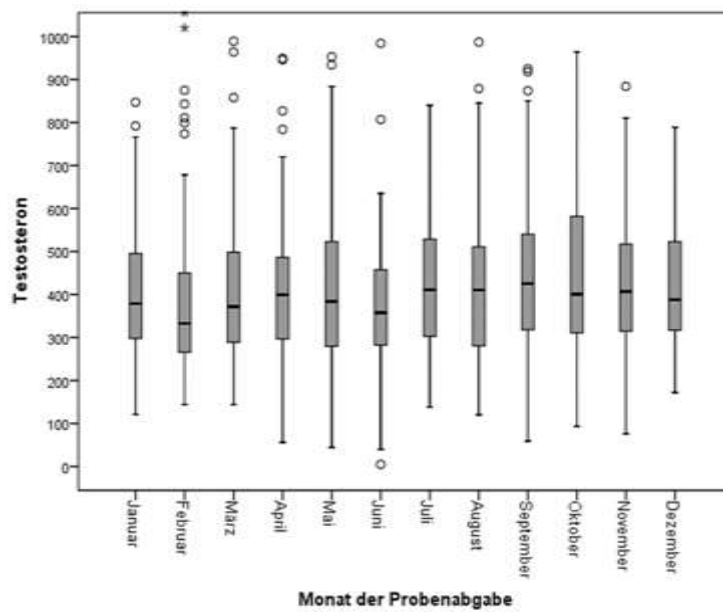
Ebenso zeigten sich für die Anzahl Peroxidase-positiver Zellen als Entzündungsparameter im Ejakulat signifikante Zusammenhänge mit den Zeiträumen der Ejakulatabgabe, jedoch ohne jahreszeitabhängigen Trend (Abb. 11).



**Abbildung 11:** Jahreszeitabhängige Schwankungen der Konzentration Peroxidase-positiver Zellen (Mio./ml) im Ejakulat von Patienten (N= 2079).  $p = 0,004$  im Kruskal- Wallis-Test.

Gleiches gilt für die jahreszeitabhängigen Schwankungen der Testosteronkonzentration im Serum als Ausdruck der endokrinen Hodenfunktion (Abb. 12)

Jedoch wurden an dieser Stelle keine spezifischen Berechnungen angestellt, ob die jahreszeitenabhängige Schwankung nicht auch von einer anderen, nicht untersuchten Variabel (bspw. Alter). abhängig sein kann, da die Testosteronkonzentration im Alter abnimmt.



**Abbildung 12:** Jahreszeitabhängige Schwankung der Testosteronkonzentration (ng/dl) im Serum von Patienten (N= 1554). p= 0,001 im Kruskal- Wallis-Test.

### 3.3 STI

#### 3.3.1 Häufigkeit von STI im Gesamtpatientenkollektiv

In der speziesspezifischen PCR-Analyse konnten von 2080 Ejakulatproben insgesamt 134 (6,4 %) positive STI- und 1946 (93,6 %) negative STI-Befunde nachgewiesen werden (Abb. 13).

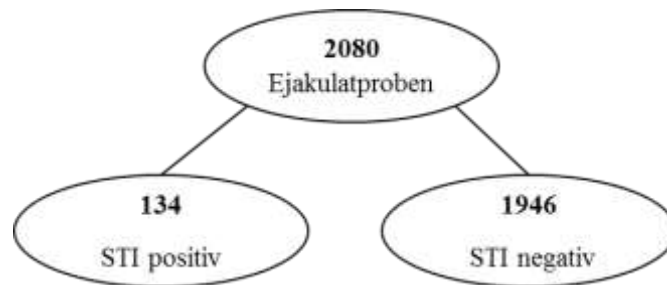


Abbildung 13: Ergebnisse der STI-PCR-Analyse.

Die positiven STI-Befunde setzten sich wie folgt zusammen: 7x *N. gonorrhoeae*, 6 x *C. trachomatis*, 19 x Mykoplasmen (*M. hominis* et. *M. genitalum*), 94 x *U. urealyticum*, 8 x Mischinfektionen (7 x Mykoplasmen & *U. urealyticum*, 1x *N. gonorrhoeae* & *C. trachomatis*). Den weitaus größten Anteil der STI mit > 70 % macht *U. urealyticum* aus (Abb. 14).

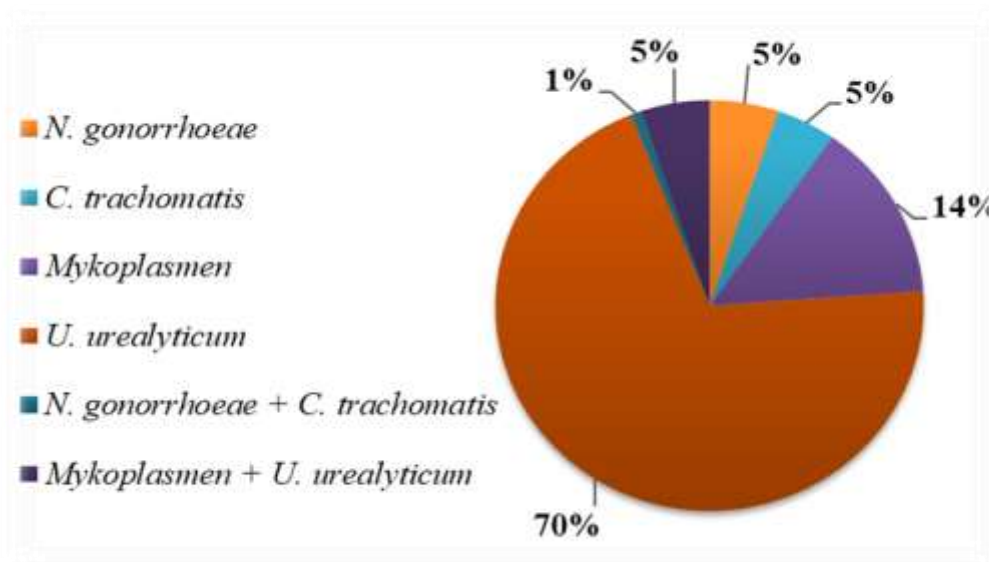


Abbildung 14: Verteilung der positiven STI- PCR Befunde, Angaben in Prozent.

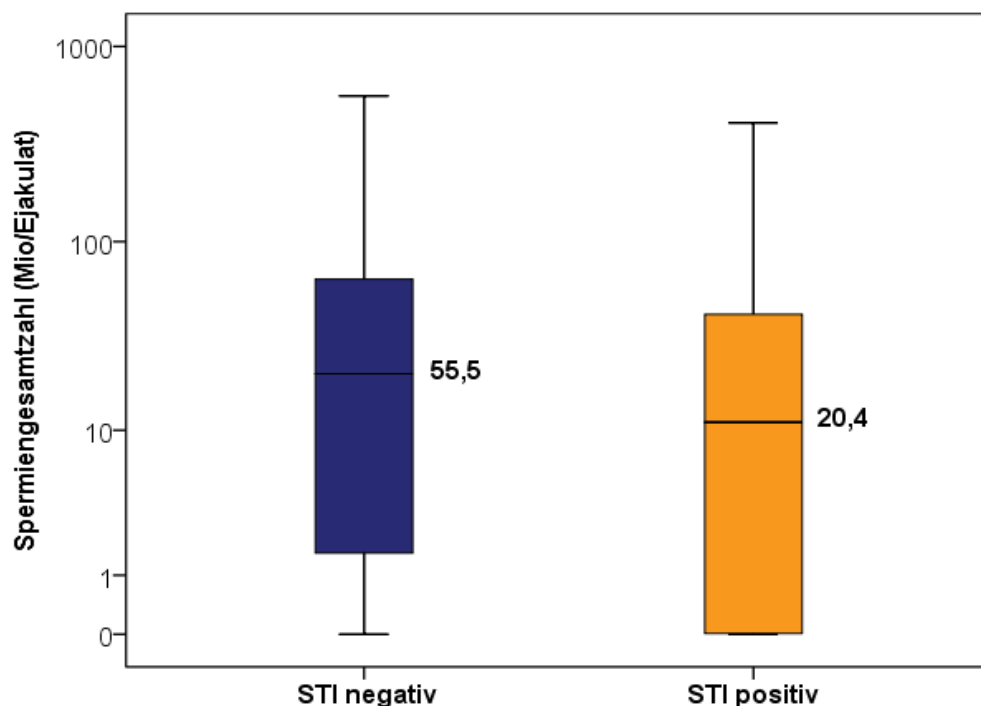


Eine Betrachtung der einzelnen Erreger erscheint aufgrund der relativ geringen Fallzahl nicht sinnvoll. Daher erfolgt die weitere Auswertung lediglich mit der Variablen „STI positiv“ bzw. „STI negativ“.

### 3.3.2 Einfluss von STI auf Ejakulatparameter und Hormonspiegel im Serum

Im Folgenden wird der Einfluss eines positiven STI-Befundes auf die Ejakulatparameter im Basis-Spermiogramm, die Funktion der akzessorischen Geschlechtsdrüsen und auf die zur Beurteilung der Hodenfunktion relevanten Hormone dargestellt.

Ein positiver STI-Nachweis im Ejakulat ist mit einer signifikanten Verringerung der Spermienkonzentration und folglich auch der Spermiengesamtzahl (Produkt aus Volumen [ml] x Spermienkonzentration [Mio./ml]) assoziiert. Liegt entsprechend der PCR-Analyse keine STI vor, beträgt die mediane Spermiengesamtzahl 55,5 Mio./Ejakulat (Abb. 15; Tabelle 5).



**Abbildung 15:** Spermiengesamtzahl in logarithmischer Darstellung in Abhängigkeit von STI-negativen (n=1946) und STI-positiven (n=134) PCR-Befunden. Einfacher Boxplot mit Median und Interquartilsabstand.  $p = 0,002$  im Kruskal-Wallis Test.

Im Zusammenhang mit einer Infektion reduziert sich die Gesamtzahl um 45,6 % und liegt im Median bei 20,4 Mio./Ejakulat, also unterhalb des unteren Grenzwertes gemäß WHO (WHO 2010 [175]).

Das Volumen wird durch eine Infektion nicht wesentlich beeinflusst (Tab. 5), sodass die Veränderungen der Gesamtspermienzahl vor allem durch die Spermienkonzentration bedingt sind.

Die nachfolgende Tabelle 5 zeigt alle untersuchten Ejakulat- und Hormonparameter in der Gegenüberstellung von Ergebnissen der Patienten mit negativem bzw. positivem STI-PCR-Befund.

**Tabelle 5:** Einfluss von STI auf verschiedene Variablen im Basisspermiogramm, Funktionsparameter der akzessorischen Drüsen/Nebenhoden im Ejakulat und Hormonspiegel im peripheren Blut. Referenzwerte\* = unterer Grenzwert bzw. konsensus-basierte Referenzwerte fertiler Männer nach WHO 2010 [175]. p § im Kruskal- Wallis Test. Angabe von Median und Interquartilsabstand.

<b>Parameter [Referenzwert*]</b>	<b>STI negativ</b>	<b>Anzahl (N)</b>	<b>STI positiv</b>	<b>Anzahl (N)</b>	<b>p§</b>
Volumen [1,5 ml]	3 (2 – 4,2)	1946	2,8 (1,8 – 4)	134	0,221
pH [ $\geq$ 7,2]	7,5 (7,3 – 7,7)	1946	7,5 (7,3 – 7,7)	134	0,287
Spermien-Konzentration [15 Mio./ml]	20,4 (1,6 – 64)	1946	11,1 (0,01 – 42,7)	134	0,002
Gesamtspermienzahl [39 Mio.]	55,5 (4,1 – 189)	1946	20,4 (0,05 – 110,6)	134	0,002
Progressiv-Motilität [32 %]	44 (28 – 55)	1600	39 (21,8 – 53)	98	0,056
Gesamtmotilität [40 %]	57 (42 - 65)	1600	53,5 (34,5 - 63,3)	98	0,099
Morphologie [4 % Normalformen]	6 (3 – 10)	1486	6 (2 – 9)	89	0,441
Vitalität [58 %]	74 (62 - 82)	685	69,5 (60,3 - 80,8)	44	0,319
Peroxidase- positive Zellen [ $< 1 \times 10^6$ /ml]	0,1 (0 – 0,3)	1945	0,1 (0 – 0,4)	134	0,407
MAR-Test [ $< 50$ %]	12 (3 - 31)	363	12 (3 - 35)	17	0,872
$\alpha$ -Glucosidase [ $\geq 20$ mU/Ejakulat]	41,4 (22,4- 71,8)	1128	37,5 (15- 63,7)	71	0,092
Fruktose [ $\geq 13$ $\mu$ mol/Ejakulat]	10,6 (6,2 - 15,9)	1622	11,2 (6,3 - 14)	105	0,909
Zink [ $\geq 2,4$ $\mu$ mol/Ejakulat]	3,2 (1,7 - 5,43)	774	3,8 (1,5 - 5,4)	30	0,69
Elastase [ $< 280$ ng/ml]	58 (18 - 194)	1840	79,55 (20 - 256,25)	122	0,102
Testosteron [ng/dl]	389 (295 - 514)	1446	361 (278,3 - 487,3)	108	0,067
FSH [mU/ml]	5,7 (3,7 - 9,3)	1370	6 (3,55 - 11,3)	105	0,341
LH [mU/ml]	4 (2,8 - 5,9)	1381	4 (3,15 - 6,5)	105	0,152

Ein negativer Trend, aber keine signifikante Assoziation findet sich mit  $p = 0,056$  für den Zusammenhang zwischen dem Prozentsatz progressiv motiler Spermien und STI-Nachweis im Ejakulat. Ein positiver STI-PCR-Befund führt zur Reduktion der Progressiv-Motilität um 5 % im Vergleich zu STI-negativen Proben. Beide Medianwerte, 44 % (STI negativ) und 39 % (STI positiv), liegen innerhalb des WHO-Referenzbereiches für fertile Männer (unterer Grenzwert 39 %; Tab. 5). Die übrigen Parameter im Basis-Spermio-gramm wie pH-Wert, Spermien-Morphologie, Spermien-Vitalität, Anzahl Peroxidase-positiver Zellen und Nachweis membrangebundener Spermien-Autoantikörper werden durch einen positiven STI-PCR-Nachweis nur unwesentlich beeinflusst. Auch die bio-chemischen Marker als Funktionsparameter der akzessorischen Drüsen und der Neben-hoden werden durch die Anwesenheit von STI-Bakterien insgesamt nicht beeinflusst. Die  $\alpha$ -Glucosidase ( $p = 0,092$ ) wird nachfolgend in einem anderen Zusammenhang noch ein-mal betrachtet.

Ebenso wenig kommt es offenbar zu einer Beeinflussung der Hypophysen-Gonadenachse im Zusammenhang mit dem Nachweis von STI im Ejakulat. Die Mediane für Testosteron, FSH und LH unterscheiden sich in beiden Gruppen nur geringfügig.

### 3.3.3 Prävalenz von STI bei Oligozoospermie

Auf eine getrennte Betrachtung der Häufigkeit von STI in den verschiedenen Patienten-kohorten (siehe Abschnitt 2.1, Abb. 2) wurde aufgrund der insgesamt geringen Anzahl positiver STI-PCR-Befunde verzichtet. Stattdessen erfolgte eine Differenzierung der Ge-samtpopulation anhand der Spermienkonzentration im Spermio-gramm. Wie oben erläu-tert, stellte sich die Spermienkonzentration als eine der wichtigsten Einflussgrößen im Zusammenhang mit einer Infektion heraus. Es wurden drei Konzentrationsgruppen un-terschieden – in Gruppe I alle Ejakulate mit einer Konzentration  $\leq 0,1$  Mio./ml, Gruppe II  $> 0,1 - 15$  Mio./ml und Gruppe III mit  $> 15$  Mio./ml. Die nachfolgende Tabelle 6 zeigt die Verteilung der STI-Befunde in den jeweiligen Gruppen.

**Tabelle 6:** Prävalenz von STI in Abhängigkeit von der Spermienkonzentration. Kreuztabelle mit Pearson- Chi- Quadrat Test,  $p=0,006$ .

<b>Gruppeneinteilung nach Spermienkonzentration</b>	<b>STI negativ</b>	<b>STI positiv</b>	<b>Anzahl (N)</b>
<b>I</b> ( $\leq 0,1$ Mio./ml)	365 (90,6 %)	38 (9,4 %)	403
<b>II</b> ( $> 0,1 - 15$ Mio./ml)	501 (97,8 %)	39 (7,2 %)	540
<b>III</b> ( $> 15$ Mio./ml)	1080 (95 %)	57 (5 %)	1137

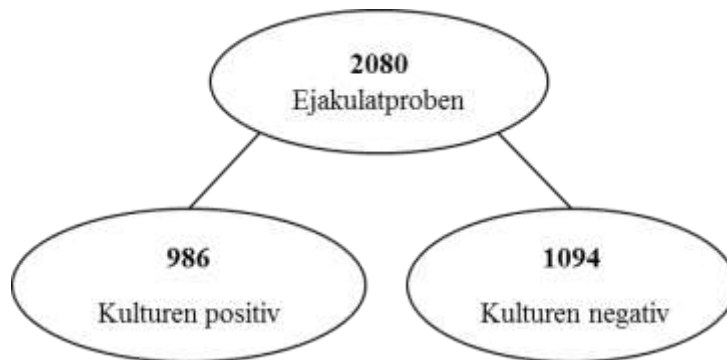
In der statistischen Auswertung mit Hilfe des Pearson-Chi-Quadrat-Tests ergibt sich eine signifikante Assoziation zwischen der Spermienkonzentration und dem Vorhandensein von STI ( $p = 0,006$ ). Obwohl die Gruppen eine unterschiedliche Größe aufweisen, ist eine hochgradig eingeschränkte Ejakulatqualität im Vergleich zu den anderen Gruppen übermäßig häufig in Gruppe 1 mit einem positiven STI-PCR-Befund assoziiert. Nach Definition gemäß WHO liegt bei einer Spermienkonzentration  $< 15$  Mio./ml eine Oligozoospermie vor (WHO 2010 [175]). Patienten mit einer Oligozoospermie haben folglich häufiger positive STI-Befunde oder umgekehrt führt das Vorliegen einer STI möglicherweise zu einer Beeinträchtigung der Spermienkonzentration.

Auf der Suche nach einer Erklärung für die Verringerung der Spermienkonzentration und -gesamtzahl fiel in Anbetracht der physiologischen Zusammensetzung des Ejakulats das Augenmerk auf mögliche Störungen des Samentransports, insbesondere im Bereich der Nebenhoden. Die  $\alpha$ -Glucosidase ist ein biochemischer Marker zur Beurteilung der Funktion des Nebenhodens. Wie in Tabelle 5 ersichtlich, führt ein positiver STI-Nachweis zu einer Reduktion der  $\alpha$ -Glucosidase um 4 mU/Ejakulat. Die Werte beider Patientengruppen (STI-negativ versus STI-positiv) liegen jedoch im Normbereich und erwiesen sich im Kruskal-Wallis-Test als nicht signifikant unterschiedlich. Zur Überprüfung eines möglichen Zusammenhangs erfolgte deshalb die Berechnung im multivariaten Modell. Unter der abhängigen Variablen  $\alpha$ - Glucosidase und den unabhängigen Variablen Alter, STI (positiv/negativ) und in der Standardkultur erfassten Bakterien (keine & sonstige Bakterien/uropathogene Bakterien) zeigte sich für die  $\alpha$ -Glucosidase eine signifikante Einflussgröße mit  $p = 0,037$ . Somit könnte eine Verringerung der Spermienzahl im Ejakulat möglicherweise durch eine Fehlfunktion der Nebenhoden, gemessen anhand der  $\alpha$ -Glucosidase, bedingt sein. Eine Betrachtung der anderen biochemischen Marker im

multivariaten Modell erfolgte nicht, da bereits ein relevanter Zusammenhang im univariaten Modell ausgeschlossen werden konnte.

### 3.4 Bakterienkulturen

Von den 2080 Proben zur mikrobiologischen Diagnostik mittels Standardkulturverfahren waren 1094 Kulturen negativ und 986 Kulturen positiv bewachsen. Für ein positives Kulturwachstum mussten mindestens  $10^3$  KbE/ml Ejakulat nachweisbar sein.



**Abbildung 16:** Ergebnis der mikrobiologischen Standardkulturdiagnostik.

Es erfolgte eine Identifizierung von insgesamt 31 verschiedenen Erregern in der Gesamtpatientenpopulation. Bei Nachweis von Erregern der gleichen Ordnung bzw. Familie wurden diese zusammengeführt. Pilzinfektionen wurden nicht berücksichtigt. Aufgrund des breiten Erregerspektrums fand eine Differenzierung von insgesamt 20 verschiedenen Erregern in pathogene Keime ( $n = 290$ ) und sonstige Keime ( $n = 696$ ) statt (Tab.

**Tabelle 7:** Übersicht der verschiedenen Erreger in der mikrobiologischen Standardkulturdiagnostik von Ejakulatproben; Identifizierung mehrerer Erreger pro untersuchtem Ejakulat möglich, Auflistung der Koinfektionen im Text.

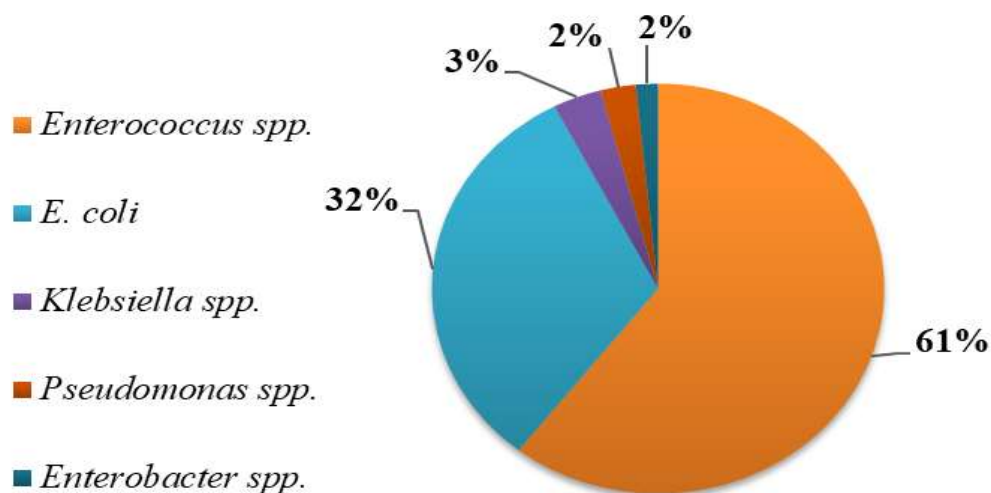
Erreger	Anzahl Ejakulatproben	Gruppe	Erreger	Anzahl Ejakulatproben	Gruppe
<i>Enterococcus faecalis</i>	188	Uropathogene Keime	<i>Koagulase-neg. Staphylokokken</i>	586	Sonstige Keime
<i>Enterococcus faecium</i>	4		<i>Vergrünende Streptokokken</i>	343	
<i>E. coli</i>	101		<i>Hämoysierende Streptokokken. Gr. B</i>	64	
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3		<i>Nicht hämolysierende Streptokokken</i>	18	
<i>Enterobacter cloacae</i>	2		<i>Cornynebacterium spp.</i>	18	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	5		<i>Morganella morgani</i>	17	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6		<i>Proteus spp.</i>	16	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8		<i>Streptococcus agalactiae</i>	11	
			<i>Citrobacter coseri</i>	8	
			<i>Neisseria spp.</i>	7	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	6		
		<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	5		

Nicht aufgeführt sind: *Candida albicans*, Lactobacillen, *Streptococcus angiosus*, *Streptococcus salivarius*, *Aerococcus urinae*, *Arthrobacter cumminsii*, *Bacillus subtilis*, *Gemanella heamolysis*, *Neisseria flava*, *Citrobacter diversus*, Diverse Keime der Coligruppe

Zur Kategorie „sonstige Keime“ werden Bakterien der physiologischen Haut- und Urethralflora gezählt. Am häufigsten kamen *koagulase-negative Staphylokokken*, *vergrünende Streptokokken* und *hämolyisierende Streptokokken der Gruppe B* vor. Diese wurden als Verunreinigungen im Ejakulat angesehen. Pro Ejakulat konnten bis zu vier verschiedene Erreger differenziert werden, so dass auch Mischinfektionen pathogener und sonstiger Bakterien vorkamen. Von den 290 Ejakulaten mit positivem Nachweis von Uropathogenen waren 186 rein mit pathogenen Bakterien besiedelt (178 x 1, 18 x 2 Erreger) und 94 Ejakulate mit Mischinfektionen (1 x pathogene + 1 x sonstige (n = 68), 1 x pathogene + 2 x sonstige (n = 16), 1 x pathogene + 3 x sonstige (n = 1), 2 x pathogene + 1 x sonstige (n = 8), 2 x pathogene + 2 x sonstige Erreger (n = 1)). Eine andersartige Differenzierung beispielsweise in grampositiv/gramnegativ wurde in Betracht gezogen, allerdings im Hinblick auf die fragliche klinische Relevanz hier nicht weiter berücksichtigt.

### 3.4.1 Definition und Prävalenz uropathogener Bakterien

In Kooperation mit Prof. Dr. H. Hossain, ehemals ärztlicher Leiter am Institut für Mikrobiologie der JLU- Gießen, wurden die Erreger in klassische uropathogene Bakterien und eher nicht relevante Erreger eingeteilt. Zu den als pathogen bezeichneten Erregern zählen *Enterococcus spp.*, *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas spp.* und *Enterobacter spp.* Die nachfolgende Grafik zeigt die Häufigkeitsverteilung der uropathogenen Bakterien.



**Abbildung 17:** Häufigkeitsverteilung uropathogener Bakterien (n= 290), Angaben in Prozent.



Den größten Anteil der uropathogenen Bakterien macht die Gruppe der *Enterococcus spp.* mit *Enterococcus faecalis* (n = 188) und *Enterococcus faecium* (n = 4) aus. Die Gruppe der *Klebsiella spp.* setzt sich aus *Klebsiella oxytoca* (n = 5) und *Klebsiella pneumoniae* (n = 6) zusammen. Die *Enterobacter spp.* besteht aus *Enterobacter aerogenes* (n = 3) und *Enterobacter cloacae* (n = 2), wobei in 263 Fällen die uropathogenen Bakterien in Monokultur vorkommen und in 54 Fällen Mischkulturen verschiedener pathogener Bakterien vorliegen.

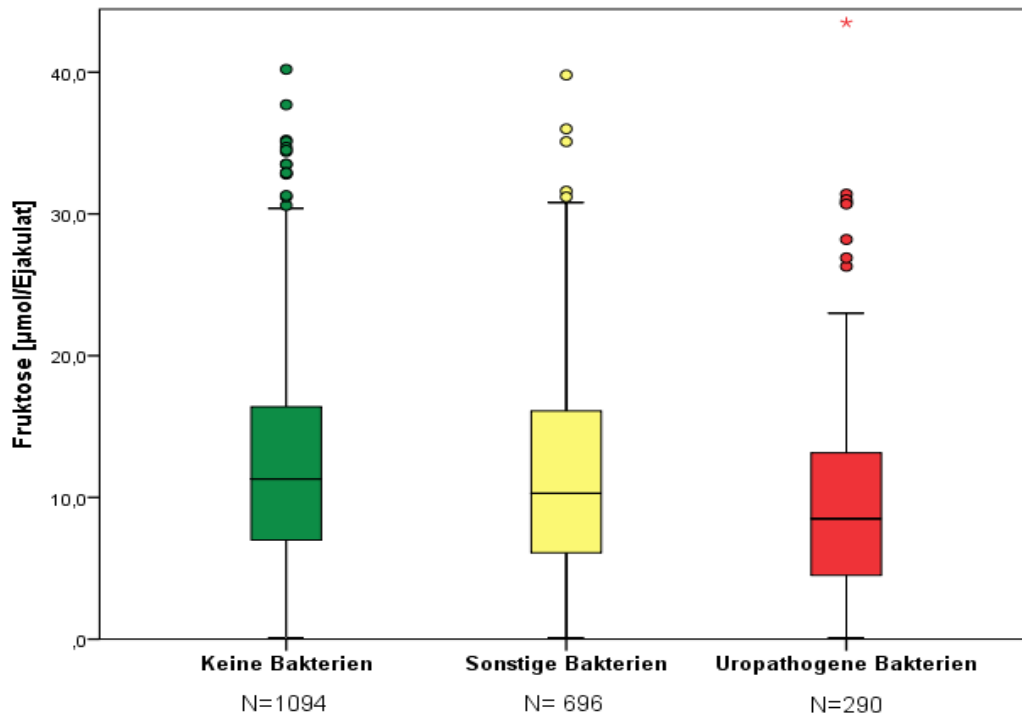
#### 3.4.2 Einfluss uropathogener Bakterien auf Ejakulatparameter

Die Auswirkungen der verschieden klassifizierten Bakterienkulturen auf die Parameter im Basisspermiogramm, die Funktion akzessorischer Drüsen und gonadotroper Hormone sind in Tabelle 8 abgebildet.

**Tabelle 8:** Einfluss uropathogener Bakterien auf verschiedene Variablen im Basisspermiogramm, Funktionsparameter akzessorischer Drüsen/Nebenhoden im Ejakulat und Hormone im peripheren Blut. Referenzwert\* = unterer Grenzwert bzw. konsensus-basierte Referenzwerte fertiler Männer nach WHO 2010 [175]. p § im Kruskal- Wallis Test. Angaben im Median und Interquartilsabstand.

Parameter [Referenzwert*]	Keine/ sonstige Bakterien	Anzahl (N)	Uropathogene Bakterien	Anzahl (N)	p §
Volumen [1,5 ml]	3 (2 - 4,2)	1790	2,6 (1,8- 3,6)	290	0,000
pH [ $\geq 7,2$ ]	7,5 (7,3 – 7,7)	1790	7,6 (7,4 - 7,8)	290	0,039
Konzentration [15 Mio./ml]	19,6 (1,5- 62,4)	1790	18,4 (0,6-66,6)	290	0,984
Gesamtspermienzahl [39 Mio.(Ejakulat)]	53,3 (3,8-188,3)	1790	47,2 (1,4-181,6)	290	0,334
Progressiv-Motilität [32 %]	44 (28-55)	1465	44 (28-54)	233	0,495
Gesamtmotilität [40 %]	57 (42-65)	1465	57 (41-65)	233	0,723
Morphologie [4 % Normalformen]	6 (2-10)	1363	6,5 (3-10)	212	0,551
Vitalität [58 %]	74 (61,8-82)	634	73 (62-81)	95	0,809
Peroxidase- positive Zellen [ $< 1 \times 10^6$ /ml]	0,1 (0-0,3)	1789	0,1 (0-0,4)	290	0,096
MAR-Test [ $< 50$ %]	11 (3-30,5)	317	13 (6-34)	63	0,490
$\alpha$ -Glucosidase [ $\geq 20$ mU/Ejakulat]	42,5 (22,5-71,6)	1011	35,1 (19,8-65,7)	188	0,035
Fruktose [ $\geq 13$ $\mu$ mol/Ejakulat]	11 (6,5-16,2)	1484	8,5 (4,5-13,2)	243	0,000
Zink [ $\geq 2,4$ $\mu$ mol/Ejakulat]	3,3 (1,8-5,4)	665	2,9 (1,3-5,8)	139	0,232
Elastase [ $< 280$ ng/ml]	62 (18-204)	1693	48 (18,5-156,2)	269	0,221
Testosteron [ng/dl]	388 (295-525)	1394	377 (285,5-497)	205	0,406
FSH [mU/ml]	5,7 (3,7-9,6)	1289	5,7 (3,4-8,1)	186	0,244
LH [mU/ml]	4,1 (2,9-6)	1293	3,8 (2,6-5,4)	193	0,088

Anhand des Vergleichs der beiden Gruppen, d.h. Ejakulaten ohne bzw. mit positiver Kultur uropathogener Bakterien, lässt sich keine signifikante Beeinflussung der Spermienkonzentration, -motilität, und -morphologie durch uropathogene Erreger feststellen. Die Ergebnisse für Ejakulatvolumen, pH-Wert,  $\alpha$ -Glucosidase und Fruktose sind allerdings signifikant verschieden. Der pH-Wert ist bei Nachweis uropathogener Bakterien im Vergleich zur Gruppe "keine/sonstige Bakterien" minimal erhöht (um 0,1). Das Volumen sowie die biochemischen Marker Fruktose, als Funktionsparameter der Bläschendrüsen, und  $\alpha$ -Glucosidase, als Funktionsparameter des Nebenhodens, sind beim Nachweis uropathogener Bakterien im Ejakulat reduziert. Im Zusammenhang mit uropathogenen Bakterien findet sich eine Reduktion des Ejakulat-Volumens um 0,4 ml. Dies führt allerdings nicht zum Unterschreiten des Grenzwertes gemäß WHO (Tab. 8). Die Verringerung der  $\alpha$ -Glucosidase von 42,5 mU/Ejakulat im Median auf 35,1 mU/Ejakulat bleibt ebenfalls im Referenzbereich. Die Fruktose liegt dagegen im Median in beiden Gruppen unterhalb des Referenzwertes von  $\geq 13 \mu\text{mol/Ejakulat}$ . Bei Nachweis uropathogener Bakterien ist die Fruktose signifikant reduziert auf  $8,5 \mu\text{mol/Ejakulat}$ . Um den Einfluss einer bakteriellen Besiedlung des Genitaltrakts auf den Fruktosegehalt im Ejakulat genauer differenzieren zu können, wurde die Variable "keine/sonstige Bakterien" nochmals separat analysiert. In 1094 Fällen liegen keine Bakterien in Kultur vor und in 969 Fällen sonstige Bakterien der normalen Haut- und Urethralflora. In der nachfolgenden Abbildung 18 ist ein deutlicher Trend für den Fruktosegehalt im Ejakulat in Abhängigkeit vom Nachweis "sonstiger" oder uropathogener Bakterien zu sehen. Die einzelnen Werte sind in der Tabelle 9 aufgeführt.



**Abbildung 18:** Abnahme der Fruktose im Ejakulat in Abhängigkeit vom Ergebnis der Bakterienkulturen. Auf der Y- Achse ist die Fruktosekonzentration linear abgebildet (Referenzwert für Fruktose  $\geq 13 \mu\text{mol/Ejakulat}$ ).

**Tabelle 9:** Fruktosegehalt im Ejakulat in Abhängigkeit vom Ergebnis der Bakterienkulturen. Angaben im Median und Interquartilsabstand.  $p=0,000$  im Kruskal- Wallis Test.

	<b>Keine Bakterien</b>	<b>Sonstige Bakterien</b>	<b>Uropathogene Bakterien</b>	<b>p</b> Kruskal- Wallis- Test	<b>p</b> lineare Re- gression
<b>Fruktose</b> [ $\mu\text{mol/Ejakulat}$ ]	11,3 (7-16,4)	10,3 (6,1-16,1)	8,5 (4,5-13,2)	$p=0,000$	$p=0,000$
<b>Anzahl</b>	1094	696	290		

Auch im multivariaten Modell, bei Einschluss der abhängigen Variablen Fruktose und der unabhängigen Variablen Alter, Ejakulatvolumen und Bakterienstatus zeigt sich ein signifikanter Zusammenhang ( $p=0,000$ ). Dies lässt sich durch den großen Volumenanteil (50 – 80 %) der Bläschendrüsen, gemessen anhand der Fruktose, am Gesamtejakulatvolumen erklären.

### 3.5 STI und Bakterienkultur im Gesamtpatientenkollektiv

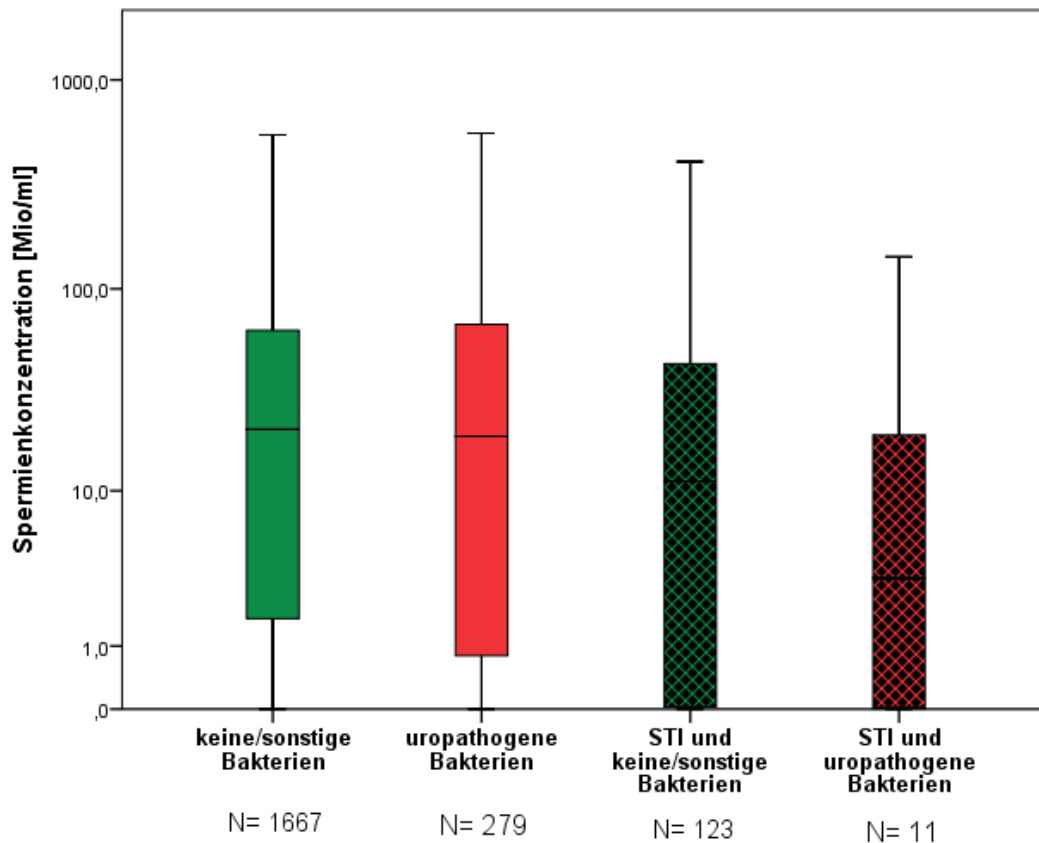
Wird das Gesamtpatientenkollektiv nach positiver STI-PCR und Bakterien-Nachweis in Standardkultur in insgesamt 4 Gruppe unterteilt, lassen sich die jeweiligen Auswirkungen auf die Ejakulatparameter gut vergleichen. Es erfolgte die Differenzierung in Gruppe 1= „keine/sonstige Bakterien“, Gruppe 2= „uropathogene Bakterien“, Gruppe 3= „STI positiv und keine/sonstige Bakterien“ und Gruppe 4= „STI positiv und uropathogene Bakterien“.

Signifikante Unterschiede ( $< 0,05$  im Mann-Whitney-U-Test) sind in der nachfolgenden Tabelle 10 markiert. Hier zeigt sich, dass sich der Nachweis uropathogener Bakterien im Ejakulat, im Vergleich zu einer bakteriellen Kontamination (Gruppe 1), sich signifikant negativ auf Ejakulatvolumen,  $\alpha$ -Glucosidase, Fruktose und signifikant positiv auf den pH-Wert auswirkt.

**Tabelle 10:** Auswirkung des STI-PCR-/Bakterienkultur-Status (Gruppe 1= „keine/sonstige Bakterien“, 2= „uropathogene Bakterien“, 3= „STI positiv und keine/sonstige Bakterien“, 4= „STI positiv und uropathogene Bakterien“) auf verschiedene Variablen im Basisspermiogramm, Funktionsparameter akzessorischer Drüsen/Nebenhoden im Ejakulat und Hormone im peripheren Blut. Referenzwert\* = unterer Grenzwert bzw. konsensus-basierte Referenzwerte fertiler Männer nach WHO 2010 [175]. Werte im Median und Interquartilsabstand. Hochgestellte Buchstaben <sup>a-k</sup> geben signifikanten Zusammenhang (p<0,05) im Mann-Whitney- U Test zwischen Gruppen an.

Parameter [Referenzwert*]	Gruppe 1:	N=	Gruppe 2:	N=	Gruppe 3:	N=	Gruppe 4:	N=
Volumen [1,5 ml]	3 (2-4,2) <sup>a</sup>	1667	2,6 (1,8-3,7) <sup>a</sup>	279	3 (1,8-4)	123	2 (1,5-3)	11
pH [ $\geq 7,2$ ]	7,5 (7,3-7,7) <sup>a</sup>	1667	7,6 (7,4-7,8) <sup>ab</sup>	279	7,5 (7,3-7,7)	123	7,4 (7-7,6) <sup>b</sup>	11
Konzentration [15 Mio./ml]	20,6 (1,7-63) <sup>c</sup>	1667	19 (0,8-67,9)	279	11,2 (0,02-44,7) <sup>c</sup>	123	3,2 (0-20,5)	11
Gesamtspermienzahl [39 Mio.]	56,6 (4,2-189,41) <sup>c</sup>	1667	49,05 (2-182,4)	279	21,2 (0,05-112,5) <sup>c</sup>	123	0,64 (0-88,15)	11
Progressiv-Motilität [32 %]	45 (28-55) <sup>c</sup>	1374	44 (28-54)	226	38 (22-52) <sup>c</sup>	91	42 (1-60)	7
Gesamtmotilität [40 %]	57 (42-65)	1374	56 (41-65)	226	52 (35-63)	91	65 (5-67)	7
Morphologie [4% Normalformen]	6 (3-10)	1280	6 (2,75-10)	206	6 (2-8)	83	10,5 (7-11,75)	6
Vitalität [58 %]	74 (62-82)	590	73 (62-81)	95	69,5 (60,25-80,75)	44	-	0
Peroxidase- positive Zellen [ $< 1 \times 10^6$ /ml]	0,1 (0-0,3)	1666	0,1 (0-0,4)	279	0,1 (0-0,4)	123	0,1 (0-0,6)	11
MAR-Test [ $< 50$ %]	11 (3-30,5)	301	12,5 (5,75-34,5)	62	9,5 (2-37,7)	16	-	1
$\alpha$ -Glucosidase [ $\geq 20$ mU/Ejakulat]	43 (22,9-72,3) <sup>a</sup>	945	34,8 (19,9-65,8) <sup>a</sup>	183	36,8 (15,7-63,9)	66	47,4 (13,7-85)	5
Fruktose [ $\geq 13$ $\mu$ mol/Ejakulat]	11 (6,6-16,4) <sup>a</sup>	1387	8,4 (4,5-13,1) <sup>ab</sup>	235	10,5 (6,1-13,8)	97	13,1 (8,3-27,5) <sup>b</sup>	8
Zink [ $\geq 2,4$ $\mu$ mol/Ejakulat]	3,2 (1,8-5,4)	637	2,9 (1,3-5,8)	137	3,8 (1,6-5,5)	28	3,1 (1- )	2
Elastase [ $< 280$ ng/ml]	61 (18-200)	1581	47 (18-156)	259	80,1 (20-760,3)	112	66,5 (18,8-501,5)	10
Testosteron [ng/dl]	389 (296-516)	1251	384 (287-500)	195	366 (278,75-492,25)	98	328 (256,75-419,5)	10
FSH [mU/ml]	5,7 (3,7-9,4)	1193	5,7 (3,5-8,2)	177	6,6 (3,8-12) <sup>d</sup>	96	3,5 (2,7-5,6) <sup>d</sup>	9
LH [mU/ml]	4,1 (2,9-5,9)	1197	3,9 (2,6-5,6)	184	4,2 (3,2-6,5) <sup>d</sup>	96	2,8 (2,6-3,8) <sup>d</sup>	9

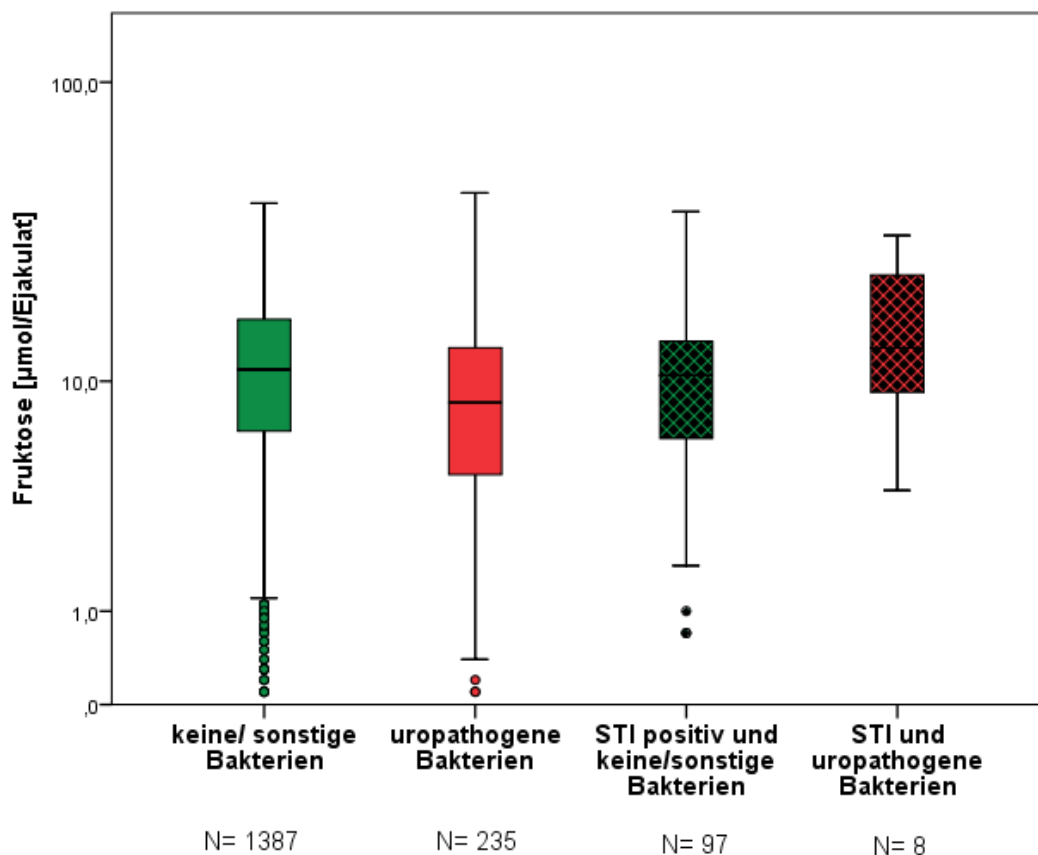
Bei Vorliegen einer STI in Kombination mit dem Status "keine/sonstige Bakterien" (Gruppe 3) im Vergleich zu "keine/sonstige Bakterien" allein (Gruppe 1) bewirkt die STI eine deutliche Verringerung der Spermienkonzentration, Spermiengesamtzahl und progressiven Motilität. So ist die positive STI-PCR im Ejakulatbefund mit einer Reduktion der Spermienkonzentration (20,6 Mio./ml in Gruppe 1 auf 11,2 Mio./ml in Gruppe 3,  $p^c = 0,005$ ) und Spermiengesamtzahl (56,6 Mio. in Gruppe 1 auf 21,2 Mio. in Gruppe 3,  $p^c = 0,004$ ) mit einer Oligozoospermie assoziiert. Die progressive Motilität verringert sich bei STI von 45 % auf 38 % im Median, jedoch liegen beide Werte oberhalb des WHO-Grenzwertes (Tab. 10, Abb. 19).



**Abbildung 19:** Spermienkonzentration in Abhängigkeit vom STI-/Bakterienkultur-Status im Ejakulat. N= Anzahl der Fälle. Median und Interquartilsabstand. Im Mann-Whitney-Test zwischen grünen Gruppen  $d = 0,005$ , zwischen roten Gruppen  $p = 0,118$ .

Bei zusätzlicher STI kommt es zur deutlichen Verringerung der Spermienkonzentration und folglich auch der Spermien-Gesamtzahl (Konzentration x Volumen). Ein signifikanter Unterschied im Mann-Whitney-Test und in der Einfaktoriellen ANOVA nach Kruskal- Wallis-Test mit paarweisem Vergleich zeigte sich nur zwischen den hier grün unterlegten Balken der Gruppen 1 und 3. Die Kombination aus uropathogenen Bakterien und STI führt zu einer nicht signifikanten Verringerung der medianen Konzentration von 19 Mio./ml auf 3,2 Mio./ml. Zu beachten ist hier die geringe Fallanzahl in Gruppe 4 (N = 11).

Die Fruktosekonzentration zeigt signifikante Unterschiede zwischen Gruppe 1 und 2 und zwischen Gruppe 2 und 4. Die mediane Fruktosekonzentration ist in Gruppe 2 (8,4  $\mu\text{mol}/\text{Ejakulat}$ ) geringer als in Gruppe 1 (11  $\mu\text{mol}/\text{Ejakulat}$ ). Hingegen liegt die Fruktosekonzentration bei zusätzlicher STI in Gruppe 4 höher (13,1  $\mu\text{mol}/\text{Ejakulat}$ ) als in Gruppe 2 (siehe Abbildung 20).



**Abbildung 20:** Fruktose im Ejakulat in Abhängigkeit vom STI-/ Bakterienkultur-Status. N= Anzahl der Fälle. Median und Interquartilsabstand. Im Mann-Whitney-Test für Gruppe 1/Gruppe 2 a =0,000 und für Gruppe 2/Gruppe 4 b= 0,046 (siehe Tab.10).



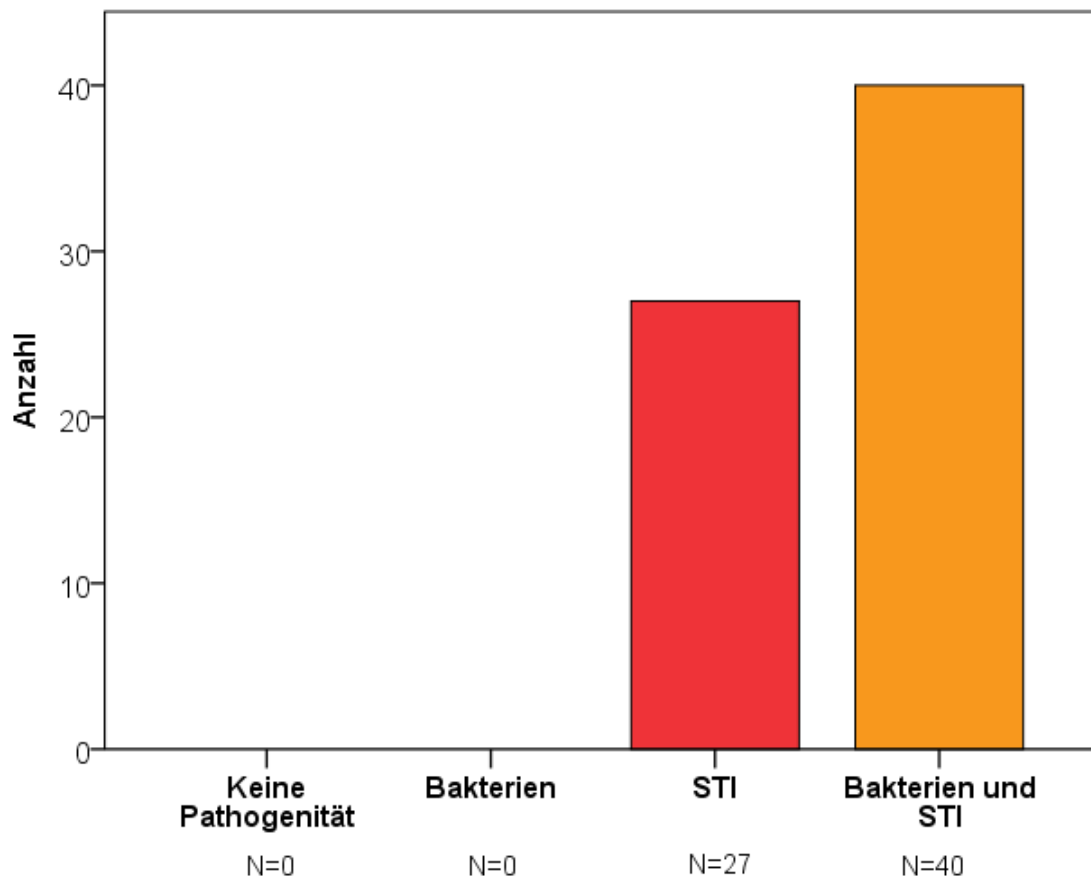
Weiterhin zeigt sich ein signifikanter Einfluss auf die Serumspiegel der Hormone FSH und LH zwischen den Gruppen 3 und 4 (Tab. 10). So liegen die medianen Konzentrationen bei Nachweis uropathogener Bakterien in Kombination mit STI (Gruppe 4) deutlich unter den Konzentrationen in Gruppe 3 (FSH: 3,5 mU/ml (Gruppe 4) / 6,6 mU/ml (Gruppe 3), LH: 2,8 mU/ml (Gruppe 4) / 4,2 6 mU/ml (Gruppe 3)).

### 3.6 Auswirkung einer antibiotischen Therapie auf mikrobiologischen Status und Ejakulatparameter

Aus dem Gesamtpatientenkollektiv konnten 67 Patienten mit einem positiven STI-Befund im PCR-Panel identifiziert werden, bei welchen nach einer antibiotischen Behandlung ein Kontrollspermiogramm durchgeführt wurde. Das Kontrollspermiogramm wurde im Zeitraum von einem bis maximal acht Monaten mit einem Median von zwei Monaten nach Therapie erstellt. Eine weitere Kontrolle zu einem späteren Zeitpunkt erfolgte nicht regelhaft. Die Patienten stammen zum größten Teil aus der Kinderwunschsprechstunde (N = 59) und in geringer Zahl aus der MIBIE-Studie B2 (N = 8). Das mittlere Alter der Patienten liegt bei 37 Jahren (Minimum 24 Jahre, Maximum 52 Jahre).

#### 3.6.1 Keimstatus vor Antibiotikatherapie

Von den 67 Ejakulaten liegt in 27 Fällen eine isolierte STI vor und in 40 Fällen ein kombinierter Nachweis von STI und Bakterien in Standardkultur (siehe Abbildung 21). Die positiven STI-PCR-Befunde setzen sich wie folgt zusammen: 54 x *U. urealyticum*, 8 x *Mykoplasmen* (*M. hominis* et *M. genitalum*), 2 x *U. urealyticum* und *Mykoplasmen*, 2 x *N. gonorrhoeae* und 1 x *N. gonorrhoeae* + *C. trachomatis*). In den Standardkulturen kamen Mehrfachnachweise von Bakterien vor, so dass insgesamt 59 x "sonstige bzw. keine Bakterien" und 8x uropathogenen Bakterien (5 x *Enterococcus faecalis* und 3 x *E. coli*) nachgewiesen werden konnten.

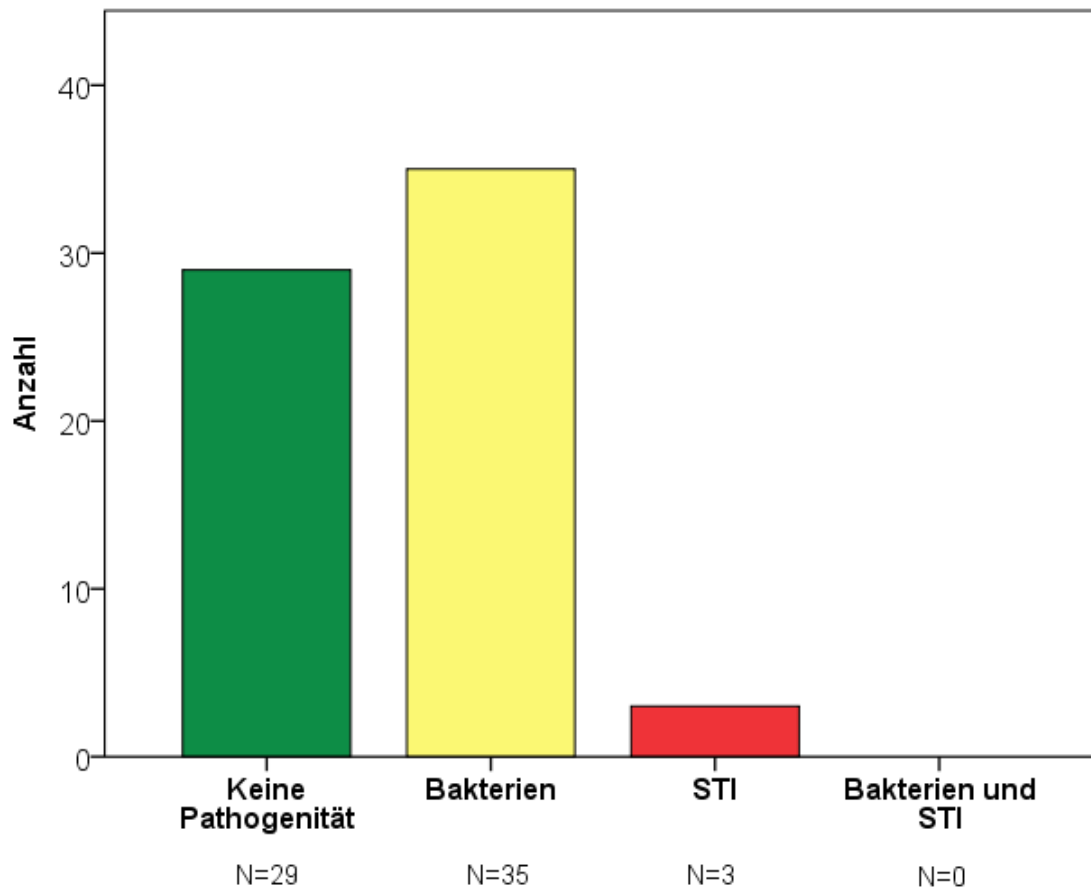


**Abbildung 21:** Verteilung des Erregerstatus im Ejakulat der 67 Patienten vor einer antibiotischen Behandlung. Erregerstatus unterteilt in "keine Pathogenität", kulturell nachgewiesene "Bakterien", positiver Nachweis von "STI"-Erregern (PCR) und das Vorliegen von kulturell nachgewiesenen Bakterien in Kombination mit STI.

### 3.6.2 Einfluss einer Antibiotikatherapie auf den mikrobiologischen Status

Die Patienten wurden bei positivem Erregernachweis im STI-PCR-Panel nach CDC-Leitlinien [178] und EAU-Empfehlungen [126] mit Antibiotika behandelt. Der Großteil (N = 54) der Patienten erhielt das bakteriostatisch wirkende Tetracyclin Doxycyclin. Andere eingesetzte Antibiotika waren Azithromycin (Makrolid; einmalig 1 g (N = 4), 500 mg für drei Tage (N = 6), einmalig 2 g (N = 1)), Cefixim 400 mg für sieben Tage (N = 1) oder die Kombination aus Ceftriaxon (1 g) mit Azithromycin (1 g) (N = 1). Nach der Behandlung erfolgte im Median nach zwei Monaten ein Kontrollspermiogramm. Bei 64 der insgesamt 67 Patienten war das PCR-Ergebnis für STI im Ejakulat negativ. Lediglich in drei Fällen führte die antibiotische Behandlung nicht zu einer Eliminierung der STI. Hier persistierte der Nachweis von *U. urealyticum* im Kontrollspermiogramm. Insgesamt zeigte sich die antibiotische Behandlung als effektiv und führte in über 95 % der Fälle zur Eliminierung der STI.

Im Vergleich zum Erregerstatus vor der antibiotischen Behandlung änderte sich die Aufteilung des Erregerstatus nach der Behandlung wie folgt:



**Abbildung 22:** Erregerstatus im Ejakulat nach antibiotischer Behandlung. Erregerstatus unterteilt in "keine Pathogenität", kulturell nachgewiesene "Bakterien", positiver Nachweis von "STI"-Erregern (PCR) und das Vorliegen von Bakterien in Kultur in Kombination mit STI.

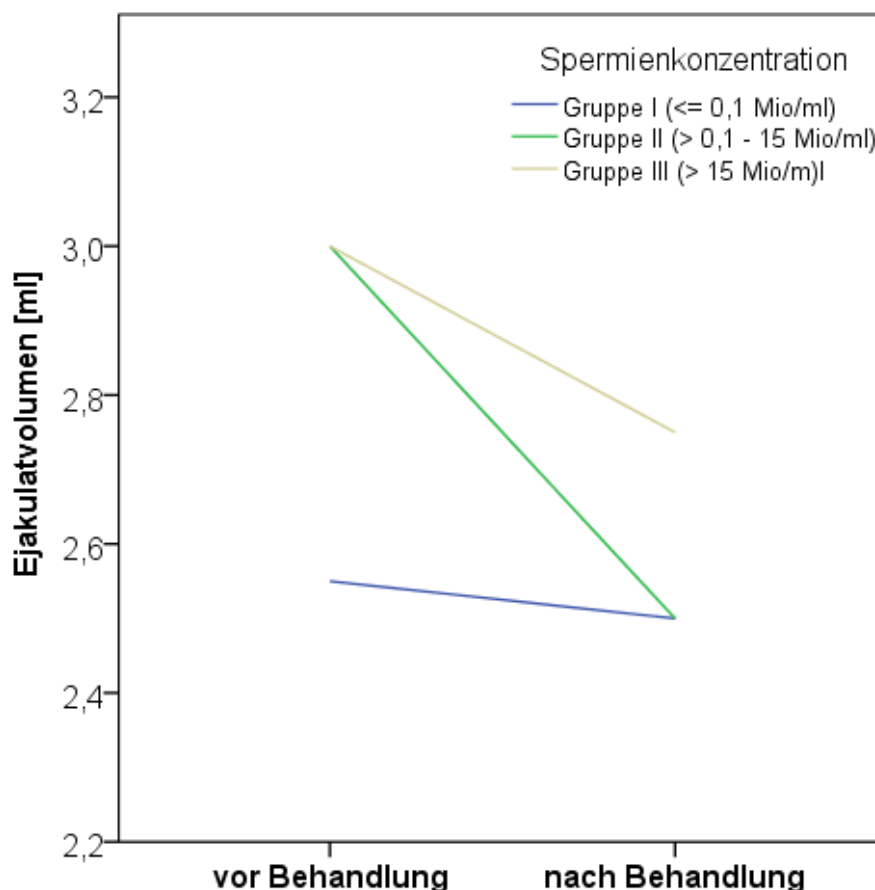
Die breite bakteriostatische Wirkung der Antibiotika zeigt sich nicht nur in der Eliminierung der STI, sondern auch in der Eliminierung der in Kultur anzüchtbaren Bakterien. So sind in fast der Hälfte der Ejakulate keine Bakterien mehr in Kultur anzüchtbar gewesen (keine Pathogenität bei N= 29, siehe Abbildung 22). Allerdings sind unter den positiven Bakterienkulturen (N = 35) mehr uropathogene Bakterien (N =10) nachweisbar als vor der Behandlung (N = 8). In fünf Fällen konnten die uropathogenen Bakterien in der Kontrolle nicht mehr nachgewiesen werden (3 x *Enterococcus faecalis*, 2 x *E. coli*). In sieben Fällen konnten im ersten Ejakulat keine Bakterien nachgewiesen werden, in der Kontrolle dagegen 4 x *Enterococcus faecalis*, 2 x *E. coli* und 1 x Koinfektion von *E. coli* und *Enterococcus faecalis*. In drei Fällen änderte sich der Erregerstatus vor und nach antibiotischer Behandlung nicht (2 x *Enterococcus faecalis* und 1 x *E. coli*). Inwieweit die

Eliminierung der STI durch die antibiotische Behandlung eine Auswirkung auf die Ejakulatqualität hat, kann durch den Vergleich der Spermioogramme vor und nach der Therapie in der folgenden Tabelle 11 gezeigt werden. Die Auswertung beruht auf der Verwendung des Wilcoxon-Tests, indem zwei verbundene Stichproben (vor/nach antibiotischer Behandlung), die nicht normal verteilt sind, miteinander verglichen wurden.

**Tabelle 11:** Einfluss einer antibiotischen Behandlung von STI auf verschiedene Variablen im Basisspermiogramm, Funktionsparameter akzessorischer Drüsen/Nebenhoden im Ejakulat und Hormone im peripheren Blut. Referenzwert\* = unterer Grenzwert bzw. konsensus-basierte Referenzwerte fertiler Männer nach WHO 2010 [175]. Werte im Median und Interquartilsabstand. p<sup>§</sup> nach Wilcoxon Test.

<b>Parameter [Referenzwert*]</b>	<b>Vor Behandlung</b>	<b>Nach Behandlung</b>	<b>Anzahl [N]</b>	<b>p<sup>§</sup></b>
Volumen [1,5 ml]	3 (2-5)	2,6 (1,8-4,3)	67	0,002
pH [ $\geq 7,2$ ]	7,4 (7,2-7,7)	7,6 (7,3-7,8)	67	0,138
Konzentration [15 Mio./ml]	12,5 (0,1-45,8)	12,2 (0,1-31)	67	0,541
Gesamtspermienzahl [39 Mio.]	37,3 (0,2-140)	22,4 (0,1-103,5)	67	0,020
Eosintest [58 %]	69 (55,5-82,3)	67 (56-74)	21	0,209
Gesamtmotilität [40%]	56 (35-65)	54,5 (39,2-64)	48	0,909
Progressive Motilität [32%]	40 (25-53)	44 (27-55)	48	0,335
Peroxidasezellen [ $< 1 \times 10^6$ /ml]	0 (0-0,3)	0,1 (0-0,3)	66	0,627
Normalformen [4%]	6 (2-8)	5 (2,8-8,3)	46	0,624
Testosteron [ng/dl]	329 (266-473,5)	355 (239,5-554)	64	0,814
FSH [mU/ml]	5,4 (3,4-10,8)	6,4 (3,7-11,7)	62	0,735
LH (mU/ml)	3,8 (3,2-6,3)	3,6 (2,7-7,2)	62	0,574
$\alpha$ -Glucosidase [ $\geq 20$ mU/Ejakulat]	49,8 (21,3-66,5)	47,4 (15,9-81,1)	31	0,638
Fruktose [ $\geq 13$ $\mu$ mol/Ejakulat]	11,4 (7,7-14,3)	7,6 (5,2-10,3)	55	0,944
Zink [ $\geq 2,4$ $\mu$ mol/Ejakulat]	3,9 (1,8-5,4)	6 (1,6-10,9)	8	0,753
Elastase [ $< 280$ ng/ml]	67,5 (20-214,3)	61,5 (19,8-155,8)	60	0,995

Auffällig ist, dass sowohl das Volumen als auch die Spermienkonzentration nach der Behandlung signifikant verschlechtert waren ( $p < 0,05$ ). Die Spermienkonzentration im Ejakulat, das Produkt aus den beiden Faktoren Volumen und Spermienkonzentration, ist durch die antibiotische Behandlung deutlich gesunken. Vor der Therapie liegt die mediane Gesamtzahl bei 37,3 Mio. Spermien und reduziert sich nach der Therapie auf 22,4 Mio. Spermien pro Ejakulat. Hierbei scheint das Volumen ( $p = 0,002$ ) die wesentliche Einflussgröße zu sein, da die Spermienkonzentration nur geringfügig verringert ist. Ein Einfluss der Antibiotikatherapie auf Motilität, Morphologie und Vitalität der Spermien konnte nicht gezeigt werden ( $p > 0,05$ ). Ebenfalls konnte keine signifikante Veränderung bei der Funktion der akzessorischen Drüsen bzw. Nebenhoden belegt werden. Werden die Ejakulate entsprechend der Spermienkonzentration verschiedenen Gruppen zugeordnet (siehe Kapitel 3.3.3), so lässt sich die Reduktion des Ejakulatvolumens weiter analysieren.



**Abbildung 23:** Einfluss antibiotischer Behandlung auf das mediane Ejakulat-Volumen in Subgruppen mit unterschiedlicher Spermienkonzentration. X-Achse: Ejakulatvolumen (ml) im Median, Y-Achse: Vor und nach Antibiotikabehandlung, Anzahl  $N=67$ ,  $p = 0,002$  im Wilcoxon-Test.

In den Ejakulaten mit normaler Spermienkonzentration (Gruppe III) kommt es durch antibiotische Behandlung zu einer Volumenreduktion von im Mittelwert 3 ml vor auf 2,8 ml nach Therapie. Bei Oligozoospermie (Gruppe II) reduziert sich das Volumen von im Mittelwert 3 ml vor antibiotischer Behandlung auf 2,5 ml nach antibiotischer Behandlung. Die Therapie führt in Gruppe I mit hochgradig eingeschränkter Spermienkonzentration zu keiner wesentlichen Veränderung. Allerdings liegen alle Gruppen mit dem jeweiligen Ejakulatvolumen vor und nach Therapie oberhalb des Grenzwertes von 1,5 ml (nach WHO 2010; [175]).

## 4 Diskussion

### 4.1 Patientenkollektiv

Für die nachfolgenden Betrachtungen ist von großer Relevanz, dass die in die Untersuchung einbezogenen Patienten aus urologisch-andrologischen Sprechstunden nicht an akuten Infektionen litten und somit keine Symptome einer akuten Orchitis, Epididymitis, Prostatitis oder Urethritis zeigten. Es handelt sich ausschließlich um asymptomatische Patienten bzw. solche mit chronischen Beschwerden im Urogenitaltrakt wie z.B. einem chronischen Beckenschmerzsyndrom (CPPS), bei denen zu diagnostischen Zwecken ein Screening auf STI und andere urogenitale Infektionen durchgeführt wurde.

Im Vergleich zur allgemeinen Annahme, dass STI vor allem junge Menschen im Alter zwischen 15 und 35 Jahren betreffen [67], liegt das Alter der hier untersuchten Patienten zwischen 15 und 70 Jahren, mit einem Median von 37 Jahren, unabhängig von STI und Bakterienwachstum in Standardkultur. Ein höheres Alter schließt das Vorkommen von STI also nicht aus. So zeigten Pilatz et al. [129], dass unter den Patienten mit einer akuten Epididymitis infolge einer STI nicht nur jüngere Männer (< 35 Jahre) zu finden sind.

Trotz der hohen Zahl von insgesamt über 2000 untersuchten Ejakulatproben konnten die Patienten aus den einzelnen Kohorten in der Auswertung aufgrund der geringen Prävalenz von STI und uropathogenen Bakterien nicht separat betrachtet werden.

Die überwiegend gleichmäßige Verteilung der Probenabgaben auf die Monate im Jahr zeigt, dass das Aufsuchen der andrologischen Sprechstunden homogen verteilt ist. Die verminderte Anzahl der untersuchten Ejakulate im Dezember und Juni lässt sich durch Feiertage und Ferienzeit erklären. Die signifikanten Zusammenhänge zwischen Probenabgabemonat und Ejakulatparametern wurden hier nicht weiter statistisch untersucht, da die Prävalenz von STI insgesamt und damit auch positive Proben in den entsprechenden Untergruppen zu gering war. Die Auswertungen bezgl. jahreszeitenabhängiger Unterschiede der Ejakulatparametern (Abb. 10-12) erbrachten keine Hinweise wie sie vergleichsweise in anderen Studien gezeigt werden konnten [74, 75, 91, 99, 154], bspw. verminderte Spermienkonzentration [79] oder erhöhte Testosteronkonzentrationen [162] im Herbst. Eine Analyse möglicher altersabhängiger Veränderungen der Testosteronkonzentration [49, 77] erfolgte hier nicht.



## 4.2 Prävalenz von STI

Das Vorkommen von STI unterliegt erheblichen geografischen, kulturellen und gesellschaftlichen Schwankungen [61, 67]. So treten STI in westlichen Ländern seltener auf als beispielsweise in Asien oder Afrika [119]. Des Weiteren stellt der Übertragungsweg der Erreger, beispielsweise durch Geschlechtsverkehr innerhalb von Risikogruppen wie homosexuellen Männern, Prostituierten oder auch durch Sexualpraktiken wie oralen Geschlechtsverkehr, ein erhebliches Ausbreitungsrisiko dar. In diesem Zusammenhang werden in den letzten Jahren international steigende Meldezahlen für STI, im Fokus der vorliegenden Arbeit speziell *N. gonorrhoeae* und *C. trachomatis*, verzeichnet [67, 93, 103, 166]. Im Jahr 2016 verzeichnet die USA 497 Infektionen/100 000 Einwohner mit *C. trachomatis* und 146 Infektionen/ 100 000 Einwohner mit *N. gonorrhoeae*, welches von der CDC als Rekordhoch bezeichnet und notwendige Präventionsmaßnahmen eingeleitet wurden [24]. In Deutschland ist seit Einführung des Infektionsschutzgesetz 2001 HIV und Syphilis meldepflichtig. Nur in Sachsen besteht eine nichtnamentliche Meldepflicht auch für *C. trachomatis* und *N. gonorrhoeae* [67]. Daher muss mit hohen Dunkelziffern gerechnet werden. Um dennoch einen Überblick über STIs in Deutschland zu erhalten, wurde deutschlandweit im Zeitraum von 2003 bis 2008 ein STI-Sentinel durchgeführt, in welchem aus 247 verschiedenen Institutionen (Gesundheitsämtern, Fachambulanzen und Praxen niedergelassener Ärzte) freiwillig Patientendaten gesammelt und vom Robert-Koch-Institut (RKI) ausgewertet wurden [135]. Hier zeigte sich, dass *C. trachomatis* gefolgt von *N. gonorrhoeae* abgesehen von HPV-Infektionen in Deutschland die häufigsten STI sind. Dies zeigt beispielsweise die Problematik in der genaueren Erfassung von STI, aber auch der mikrobiologische Erregernachweis in urogenitalen Sekreten weist unterschiedliche Methoden auf, wobei sich eine Kombination aus Kultur und Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT) etablierte. So können schnell wachsende Bakterien mittels kultureller Verfahren angezüchtet und nachgewiesen werden, wohingegen sich schwer kultivierbare Bakterien mittels kulturunabhängiger NAT nachweisen lassen; beispielsweise gilt die PCR-Diagnostik für *C. trachomatis* als Goldstandard [85, 131]. Mittlerweile hat sich eine Multiplex-PCR als hocheffiziente Methode zum Nachweis verschiedener STI-Erreger im Ejakulat etabliert [131]. Darüber hinaus kann bei fehlendem Erregernachweis das universell in allen Bakterien vorkommende 16S rDNA-Gen benutzt werden [59, 129].

Unsere Auswertung der STI-PCR für den spezifischen Nachweis von STI-Erregern ergibt aus insgesamt 2080 Ejakulatproben für 6,4 % ein positives Ergebnis (N = 134).

Im Einzelnen stellt *U. urealyticum* (N = 94) den größten Anteil von 70 % an nachgewiesenen STIs dar. Zweitgrößten Anteil mit 15 % haben *Mycoplasma spp.* (= *M. genitalium* und *M. hominis*) (N= 19), 5,2 % *N. gonorrhoeae* (N = 7) und 4,5 % *C. trachomatis* (N = 6).

Dies korreliert mit anderen Studien nur bedingt (s. Tabelle 2). In einer Studie aus dem Jahr 2007 aus München wurden 241 asymptomatische, infertile Männer auf STI untersucht [17]. Hier wurde die Prävalenz von *C. trachomatis* mit nur 2,5 % angegeben. Andererseits variiert die Häufigkeit von *C. trachomatis*-Infektionen in anderen Studie zwischen 6,2 % und 39,1 % [103, 110]. Die weite Spannbreite zwischen 2 und fast 40 % spiegelt neben differierenden Patientenkollektiven wahrscheinlich die oben genannten regionalen Unterschiede in der Prävalenz von STI insgesamt wider [20].

Das hier vorliegende Studienergebnis liegt unterhalb des nach den Daten des RKI zu erwartenden Anteils dieser Erreger am STI-Vorkommen in Deutschland. So wurden im Sentinal- System von 2002 – 2004 ein Anteil von 11% Infektionen mit *C. trachomatis* und 7,5 % mit *N. gonorrhoeae* unter den Männern verzeichnet [166]. In diesem Zusammenhang ist zu beachten, dass die im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Patienten im Durchschnitt 37 Jahre alt sind, keine Krankheitssymptome aufweisen und größtenteils in einer festen Beziehung leben (siehe Patienten-Kohorte mit unerfülltem Kinderwunsch), während die Ergebnisse im STI- Sentinal aus Akutsprechstunden bzw. STI-Beratungsstellen von Gesundheitsämtern, Kliniken (Fachambulanzen) und Praxen (Urologie, Dermatologie) stammen.

Die Prävalenz von *U. urealyticum* bei asymptomatischen Männern aus Fertilitätssprechstunden variiert in der Literatur zwischen 10 und 40 % [40, 56]. Auch hier ist die Häufigkeit in der vorliegenden Auswertung geringer, im Unterschied zu anderen Studien fällt jedoch ein besonders hoher Anteil von 70 % *U. urealyticum* an STI-positiven Proben insgesamt auf. *U. parvum* gilt als kommensal und im Hinblick auf urogenitale Infektionen/ Entzündungen als nicht pathogen [83]; der Erreger wurde mit der hier verwendeten Multiplex-PCR nicht erfasst.

Ebenso wird *M. hominis* nicht einheitlich zu den klinisch relevanten STI gezählt und demnach nicht standardmäßig mittels molekularbiologischer Methoden (NAT) erfasst. Dagegen zählt *M. genitalium* allgemein anerkannt zu den STI. In der vorliegenden Auswertung wurden *M. genitalium* und *M. hominis* zusammen als *Mycoplasma spp.*

betrachtet und machen mit insgesamt 15 % der STI-positiven Ejakulate einen erheblichen Anteil aus. Das Ergebnis ist vergleichbar mit einer tunesischen Studie an 104 infertilen Männern mit PCR-basiertem Nachweis von *Mycoplasma* spp. bei 14 % (N=15) [56]. Eine Differenzierung der STI in die speziellen Erreger, *C. trachomatis*, *N. gonorrhoe*, *U. urealyticum* oder *Mycoplasma* spp. und deren Auswirkung auf Variablen des Spermio-gramms, konnte leider aufgrund der geringen Fallzahlen nicht herausgearbeitet werden. Daher werden diese Erreger im Folgenden zusammengefasst betrachtet

### 4.3 Einfluss von STI auf Ejakulatparameter

Die standardisierte Untersuchung von Ejakulatproben nach WHO-Empfehlungen gehört zur Basisdiagnostik von Infektionen und Entzündungen im männlichen Genitaltrakt [147, 175]. Jedoch sind Veränderungen der einzelnen Variablen wie Volumen, pH, Spermienkonzentration bzw. -gesamtzahl, Motilität und die Morphologie keinesfalls spezifisch für Infektionen und/oder Entzündungen. Die Bestimmung von Leukozyten im Ejakulat durch Nachweis peroxidase-positiver Granulozyten kann dagegen einen diagnostischen Hinweis auf eine Entzündung im Genitaltrakt geben. Unterstützend liefern die biochemischen Marker wie Fruktose oder  $\alpha$ -Glucosidase Anhaltspunkte für eine gestörte Funktion akzessorischer Drüsen infolge einer Infektion und/oder Entzündung [106, 147].

Infektionen mit *C. trachomatis* können eine Urethritis, Prostatitis und Epididymitis bzw. Epididymoorchitis verursachen, die in ca. 50 % der Fälle asymptomatisch verlaufen [40, 152]. Der Einfluss einer Chlamydieninfektion auf die männliche Fertilität ist allerdings nicht eindeutig belegt. So gibt es experimentelle und klinische Studien, die eine Verminderung der Spermienmotilität, -vitalität und des Ejakulatvolumens, aber auch die direkte Schädigung der Spermien beschreiben [9, 29, 40, 45, 46, 60]. In anderen Studien fand sich dagegen kein Zusammenhang zwischen *C. trachomatis*-Nachweis im Genitaltrakt und Beeinflussung der Ejakulatqualität [43, 44]. Eine Infektion mit *N. gonorrhoe* kann eine Urethritis, Epididymitis, Epididymoorchitis verursachen und zu infektiös bedingten Obstruktionen der Samenwege führen [18, 152], welche häufig asymptomatisch verlaufen. Eine direkte Spermieninteraktion durch Haftung an Lipooligosacchariden (LOS) an spezifische Rezeptoren der Spermien wurde beschrieben [70].

Der Einfluss von kommensal vorkommenden Mykoplasmen im Urogenitaltrakt sexuell aktiver Männer auf die Fertilität wird kontrovers diskutiert. So wird in einigen Studien gezeigt, dass das Vorkommen von *U. urealyticum* im Ejakulat bei infertilen Männern

nicht nur signifikant häufiger als bei fertilen Männern ist [98, 132], sondern auch zur Reduktion der Spermienkonzentration, -motilität und -vitalität führt [9, 86, 161, 170]. Darüber hinaus wurden höhere Konzentrationen von ROS unabhängig vom Vorkommen von Leukozyten im Ejakulat bei infertilen Männern nachgewiesen [132]. Jedoch wurde in einer tunesischen Studie auch ein negativer Zusammenhang zwischen *U. urealyticum* und Spermienparametern beschrieben [58]. Unter den Mykoplasmen, die Erreger einer NGU sein können [58, 156], muss zwischen dem als sicher pathogen eingestuften *M. genitalium* einerseits und *M. hominis* andererseits unterschieden werden, dessen Pathogenität kontrovers diskutiert wird [33, 63]. Verschiedene Studien zeigten einen negativen Einfluss von *Mycoplasma spp.* auf Spermienkonzentration, Motilität und Morphologie [83, 98, 139].

Rybar et al. [139] schlussfolgern aus ihren Daten, dass der negative Einfluss auf die Spermienqualität im Vergleich sogar größer sei als derjenige von *C. trachomatis* oder *U. urealyticum*.

In der vorliegenden Auswertung ist der Nachweis von STI im Ejakulat mit einer signifikanten Reduktion der Spermienkonzentration und -gesamtzahl assoziiert (vgl. detaillierte Angaben in Tabelle 5). Im Zusammenhang mit einer Infektion verringert sich die von Schwankungen des Ejakulatvolumens unabhängige Spermiengesamtzahl um mehr als die Hälfte von 55,5 Mio./Ejakulat auf 20,4 Mio./Ejakulat. Des Weiteren liegt eine Tendenz zur Verringerung der progressiven Motilität im Zusammenhang mit einer Infektion vor ( $p = 0,056$ ). Alle anderen Parameter, insbesondere Spermien-Morphologie und Anzahl peroxidase-positiver Zellen im Ejakulat, werden durch einen positiven STI-Nachweis nicht signifikant beeinflusst. Diese Ergebnisse stimmen mit denjenigen einer tunesischen Studie mit 104 asymptomatischen Kinderwunschpatienten überein [56]. Auch hier führte eine mittels PCR im Ejakulat nachgewiesene Infektion, vorrangig mit *U. urealyticum* (Häufigkeit = 15,4 %), zu einer Reduktion des Ejakulatvolumens, der Spermienkonzentration und der progressiven Motilität, bei fehlendem Einfluss auf Vitalität, Morphologie und Leukozytenzahl. Eine neuere Studie aus China vergleicht 621 infertile Patienten mit 615 fertilen Männern aus einer andrologischen Sprechstunde [100](vgl. Tabelle 2). Auch hier zeigte sich, dass *U. urealyticum* einen signifikant negativen Einfluss auf Spermienkonzentration und -vitalität hat und neben *C. trachomatis* und *M. hominis* am häufigsten vorkam. Die Prävalenz von *U. urealyticum* ist in beiden Gruppen etwa gleich (26,6 % der infertilen Patienten und 24,9 % bei fertilen Patienten). Auch Huang et. al. [83] zeigten in

einer großen Metaanalyse, dass *U. urealyticum* und *M. hominis* signifikant häufiger bei infertilen Männern vorkommen.

Sowohl die eigenen Ergebnisse als auch die o.g. Studien anderer Autoren sprechen für einen negativen Einfluss von *U. urealyticum* auf die männliche Fertilität. In dieser Hinsicht ist das häufige Vorkommen von Oligozoospermie und Azoospermie bei den betroffenen Patienten auffällig. So sind laut WHO-Grenzwerten [175] in der vorliegenden Auswertung 64 % der Ejakulate mit STI oligozoosperm (N = 86/134) und in 27 % der Fälle liegt eine Azoospermie im Befund vor (N = 36/134). Eine im Zusammenhang mit STI derart herabgesetzte Ejakulatqualität findet sich auch in der o.g. tunesischen Studie wieder (Oligozoospermie 32,3 %, Azoospermie 10,6 % [56]). Zur Frage, welche Gründe möglicherweise zur Verringerung der Spermiengesamtzahl führen, müssen die biochemischen Parameter zur Beurteilung der Funktion der akzessorischen Drüsen betrachtet werden. Hier fiel auf, dass bei positivem STI-Nachweis tendenziell die  $\alpha$ -Glucosidase als Funktionsparameter des Nebenhodens reduziert ist ( $p = 0,092$ ). Mittels Überprüfung dieses Zusammenhangs im multivariaten Modell bestätigte sich die  $\alpha$ -Glucosidase als signifikante Einflussgröße mit  $p = 0,037$ . Eine Korrelation zwischen  $\alpha$ -Glucosidase, Ejakulatvolumen und Spermienkonzentration wurde bereits von Henkel et al. [75] beschrieben. In dieser Studie wurden zusätzlich jahreszeitabhängige Schwankungen der  $\alpha$ -Glucosidasekonzentration im Ejakulat berichtet, welche im Frühjahr signifikant höher lag als im Herbst. Eine solche jahreszeitabhängige Beeinflussung von Spermogramm-Variablen konnte hier allerdings nicht beobachtet werden ( $\alpha$  Glucosidase  $p = 0,697$ , Spermienkonzentration  $p = 0,041$ ).

Die  $\alpha$ -Glucosidase ist ein sinnvoller Parameter zur Differenzialdiagnose der obstruktiven und der nichtobstruktiven, testikulär bedingten Azoospermie [158]. Obwohl in die hier vorgelegte Auswertung keine Patienten mit akuter Epididymitis eingegangen sind, könnte bei den Patienten mit Azoospermie und positivem STI-Nachweis eine entzündliche Obstruktion des Ductus epididymidis ursächlich sein [127, 147]. Andere, seltenere Ursachen einer obstruktiven Azoospermie sind Prostatitis, Prostataabszesse, Vesikulitis und Urethritis posterior oder Verschlüsse der Ductus ejaculatorii sein [35, 147].

Auch ein Einfluss von STI auf die Hodenfunktion ist nicht auszuschließen [50]. Neben dem dargestellten Zusammenhang zwischen STI und Spermiengesamtzahl (Spermatogenese) war ein positiver STI-Nachweis tendenziell mit einer Verminderung der Serum-Testosteronkonzentration im Median von 389 ng/dl (STI negativ) auf 361 ng/dl (STI positiv) assoziiert ( $p = 0,067$ ). Gegen eine gravierende Hodenschädigung spricht, dass die

FSH-Konzentration im Serum von einer STI unbeeinflusst blieb ( $p = 0,341$ ). Da Hodenbiopsien bei Azoospermie primär zu therapeutischen Zwecken durchgeführt werden und die Anzahl entsprechender Patienten mit positivem STI-Befund hier zu gering war, kann an dieser Stelle keine detailliertere Aussage bezüglich Art und Ausmaß einer Hodenbeteiligung getroffen werden.

Zu den verschiedenen Pathomechanismen, welche bei Infektionen im männlichen Genitaltrakt zur Einschränkung der Fertilität führen können, zählen neben der aufgeführten Fehlfunktion der akzessorischen Drüsen oder anatomischen Veränderungen (Obstruktion) auch die Einwirkung inflammatorischer Prozesse auf die Spermatozoen selbst. Die Studienlage, welche Marker geeignet sind, um ein mit Infektionen einhergehendes entzündliches Geschehen aufzuzeigen, ist allerdings nicht eindeutig. So wird nicht nur der Stellenwert einer Leukozytospemie als Indikator für eine Bakteriospermie bzw. Vorliegen einer STI [17, 42, 66, 95, 96] kontrovers beurteilt, sondern auch der von der WHO vorgeschlagene Cut-off-Wert von 1 Mio. Leukozyten pro ml Ejakulat [175, 78, 176]. Mittlerweile gibt es über die standardisierte Peroxidase-Methode zum Nachweis von Leukozyten, noch sensitivere Verfahren wie die Flowzytometrie, mit welcher auch Subpopulationen (neutrophile Granulozyten, Makrophagen, Lymphozyten) differenziert werden können [48, 134]. Dabei machen Makrophagen neben neutrophilen Granulozyten den größten Anteil aus. Die Makrophagen im Ejakulat stammen vornehmlich aus dem Hoden und Nebenhoden und können dort die Spermienreifung beeinflussen [48, 53, 123]. In einer australischen Studie wurde die Aktivität von Makrophagen im Ejakulat anhand des von ihnen freigesetzten Neopterin gemessen, welches eine Rolle bei der Leukozytenstimulation spielt [157]. Weitere Botenstoffe, die von Makrophagen sezerniert werden und eine wichtige Rolle bei der Kommunikation und Differenzierung von Entzündungszellen spielen, sind Interleukine (insbesondere Il-6, Il-8). Jedoch lässt sich bisher kein spezifischer Zusammenhang zwischen Interleukinen im Ejakulat und der Spermienqualität darstellen [130]. Zwar zeigten einige Studien eine Korrelation zwischen Interleukinen und Spermienparametern, jedoch sind die Ergebnisse aufgrund geringer Fallzahlen nicht ausreichend validiert [14, 121]. Auch die Elastase-Konzentration im Ejakulat, die sich altersabhängig verändert [74] und die Aktivität neutrophiler Granulozyten anzeigt, kann einen Hinweis auf Entzündungen im Genitaltrakt geben und zur Differenzierung des Schweregrades beitragen. Ein Einfluss auf Vitalität, Motilität und Morphologie konnte bereits dargestellt werden [90]. Auch die Bildung membrangebundener Spermien-Autoantikörper (IgA, IgG) geben keinen spezifischen Hinweis auf eine Entzündung im Genitaltrakt

[107, 105]. Andererseits wurde ein Zusammenhang zwischen Antikörpern (IgA) gegen *C. trachomatis* und männlichen Fertilitätsstörungen aufgrund einer Schädigung der Spermienmembran beschrieben [150].

Durch Infektionen des männlichen Genitaltrakts werden proinflammatorische Prozesse wie die Aktivierung von Makrophagen und anderen Leukozyten durch Zytokine in Gang gesetzt [101, 108], welche durch Phagozytose und andere Mechanismen zur Eliminierung von Bakterien und defekten Spermien führen [124]. Diese Kontrolle der Spermienqualität kann einerseits die Fertilität erhöhen [6, 13, 125, 151], andererseits führt ein Überwiegen proinflammatorischer Faktoren zu gravierenden Schäden [13]. Beispielsweise ist der Einfluss durch ROS in den letzten Jahren untersucht worden. Diese kurzlebigen Sauerstoffradikale, welche zum einen von Spermien selbst, andererseits in tausendfach höherer Konzentration von Leukozyten produziert werden, stehen unter physiologischen Bedingungen im Gleichgewicht mit antioxidativen Faktoren [80]. Bei infertilen Männern bzw. bei eingeschränkter Ejakulatqualität konnten erhöhte ROS-Spiegel nachgewiesen werden [3, 2]. Mehrere Studien haben belegt, dass erhöhte ROS-Spiegel mit einer verminderten Spermienmotilität, einer direkten DNA-Schädigung sowie erhöhten Apoptoserate assoziiert sind [47, 76, 80, 157]. Dabei reichen bereits Leukozytenkonzentrationen unterhalb des WHO-Grenzwertes von  $10^6/\text{ml}$  aus, um die Fertilität negativ beeinflussen zu können [134].

Zusammenfassend könnte die Verringerung der Spermiengesamtzahl bei positivem STI-Nachweis auf eine Funktionsstörung des Nebenhodens und/oder einen entzündlichen (Teil-)Verschluss der ableitenden Samenwege, gemessen anhand der reduzierten  $\alpha$ -Glucosidase, hinweisen. Zwar ließen sich in der vorliegenden Studie keine Assoziationen zwischen Entzündungszellen (peroxidase-positive neutrophile Granulozyten, Makrophagen) im Ejakulat und Spermienqualität nachweisen, doch sind mögliche pathologische Effekte infolge einer Infektion mit STI-Erregern und dadurch verursachte Entzündungsreaktionen nicht auszuschließen. Des Weiteren handelt es sich bei unseren Patienten, wie unter 4.1. erläutert, um keine akuten Infektionen mit positivem Erregernachweis, so dass hier eher von einer chronischen Beeinflussung und daraus resultierender reduzierter Fertilität auszugehen ist.

#### 4.4 Einfluss uropathogener Bakterien auf Ejakulatparameter

Im Zusammenhang mit dem Nachweis uropathogener Bakterien im Ejakulat sollte zunächst auf die Problematik der mikrobiologischen Probengewinnung sowie die

Differenzierung der Begriffe Kolonisation und Infektion eingegangen werden. Das Ejakulat muss unter strenger Einhaltung der Hygienevorschriften gewonnen werden, da bei Passage des Ejakulates durch die Urethra die physiologische Keimflora mitgenommen wird [28, 30, 172]. Hierbei sind besonders die Keimart und Keimzahl zu berücksichtigen, da auch bei gesunden Männern nur etwa 10 % der urogenitalen Proben keimfrei sind [172].

Die Kolonisation kann in physiologische und pathologische Kolonisation unterteilt werden [65]. Bei der physiologischen Kolonisation handelt es sich um kommensal vorkommende Bakterien, die den Wirtsorganismus nicht schädigen. Kommensale Bakterien sind Mikroorganismen, die ein bestimmtes Mikrobiotop des Wirtes besiedeln und als Normalflora bezeichnet werden. Sie bilden beispielsweise ein bestimmtes Milieu aus und schützen den Körper. So gehören zum Beispiel zur Standortflora der männlichen Urethra: *koagulasenegative Staphylokokken* (*S. epidermidis*, *S. haemolyticus*), *Gardnerella vaginalis*, *Corynebacterium spp.* [19, 72]. Das Keimspektrum unterliegt dabei individuellen Hygiene- und Sexualgewohnheiten, aber auch anatomischen Gegebenheiten, z. B. bei Zustand nach Zirkumzision [72]. Der Nachweis physiologisch vorkommender Bakterien in einer Ejakulatprobe unterscheidet sich nicht wesentlich zwischen infertilen und gesunden Männern [82]. Unter pathologischer Kolonisation wird die Besiedlung mit fakultativ pathogenen Keimen verstanden, die jedoch primär keine Infektions- oder Entzündungsreaktion auslösen. Hierzu zählen Enterobakterien, wie *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.* oder Enterokokken [147]. Die Besiedlung kann vorübergehend, aber auch dauerhaft sein. Kommt es aufgrund einer Schwäche des Immunsystems oder aufgrund einer geeigneten ökologischen Nische zur starken Vermehrung der fakultativ pathogenen Keime mit Verdrängung der Standortflora wird von einer Infektion gesprochen [19]. Eine Infektion beinhaltet somit die Vermehrung der Keime mit nachfolgender Abwehr- oder geweblicher Schädigungsreaktion, die auch asymptomatisch verlaufen kann [113].

Zu den sicher uropathogenen Bakterien zählen *E. coli* und *Enterococcus faecalis* [37, 42, 106, 152, 172]. Sie besitzen verschiedene Virulenzfaktoren zur Adhäsion an Zellen im Urogenitaltrakt, Transportmechanismen zur Aufnahme in Zellen, Toxinbildung zur Zerstörung der Wirtszellen und viele weitere [41, 133]. Auf welche Weise die verschiedenen Bakterien Einfluss auf die Spermienqualität nehmen, wurde experimentell untersucht. So ist *E. coli* in vitro für eine verringerte Spermienmotilität [84], durch Adhäsion an die Spermienmembran im Bereich des Akrosoms verantwortlich [37, 38]. In-vitro-Experimente zeigten, dass Enterokokken wie *E. faecalis* die Spermienmembran durch Hämolysin



schädigen können [133]. Auch in klinischen Studien wurde der Nachweis von *E. faecalis* mit einer signifikanten Verringerung der Spermienkonzentration und -morphologie assoziiert [111, 136], der Nachweis von *E. coli* mit einer verringerten Spermienkonzentration und -motilität sowie Abnahme des Ejakulatvolumens [113]. Andererseits gibt es auch Studienergebnisse, nach denen fakultativ pathogene Erreger die Ejakulatqualität nicht beeinflussen [16, 164].

Neben dem Nachweis von Erregern ist die Bestimmung der Keimzahl hilfreich, um den klinisch-pathologischen Stellenwert einordnen zu können. Eine Keimzahl von  $> 10^3$  KbE/ml Ejakulat wird per Definition als Bakteriospermie bezeichnet [175, 172]. Dem zur Folge ist eine Keimzahl  $< 10^3$  KbE/ml als bakterielle Kontamination anzusehen. Eine Bakteriospermie spricht per se jedoch nicht für eine Infektion. Es muss aufgrund der oben aufgeführten Erläuterungen zwischen den Erregern unterschieden werden [28, 131]. Außerdem korreliert eine Bakteriospermie nicht unbedingt mit einer Leukozytospemie als möglichem Hinweis auf eine Infektion [57]. Es bleibt insgesamt unklar, ob bereits der Nachweis uropathogener Erreger, eine signifikante Keimzahl, die Dauer der Infektion und die potenzielle Expositionszeit von Keimzellen bzw. Spermien oder die individuelle Entzündungsreaktion, die durch die Erreger im männlichen Genitaltrakt ausgelöst wird, ursächlich für die Verminderung der Spermienqualität und damit der Fertilität sind.

In der bisher größten publizierten Studie aus Kanada mit über 7000 untersuchten Ejakulaten von rund 4935 Kinderwunschpatienten konnte eine Bakteriospermie bei insgesamt 15 % (1200/7852 Ejakulaten) nachgewiesen werden. Die am häufigsten vorkommenden Bakterien waren *E. faecalis* (56 %), und *E. coli* (16 %), gefolgt von *Streptokokken der Gruppe B* (13 %). Insgesamt konnten 22 verschiedene Bakterien in Kultur angezüchtet werden, STI wurden nicht erfasst [42]. Im Vergleich zu dieser Studie liegt in der hier vorgestellten Analyse die Anzahl der Ejakulate mit Bakteriospermie im Gesamtpatientenkollektiv mit 47,4 % deutlich höher (986/2080 Ejakulaten). Jedoch konnten von den insgesamt 31 verschiedenen Erregerkulturen 696 Kulturen als "sonstige Bakterien" der physiologischen Urethralflora, am häufigsten mit *Koagulase-negativen Staphylokokken* und *vergrünenden Streptokokken*, und 290 Kulturen zu den uropathogenen Bakterien zugeordnet werden. Ebenso wie in der Studie von Domes et al. [42] kommen *Enterococcus spec.* (n = 192/290) und *E. coli* (n = 101/290) weitaus am häufigsten vor, gefolgt von *Klebsiella spec.* (n = 11/290), *Pseudomonas aeruginosa* (n = 8/290) und *Enterobacter spec.* (n = 5/290). Erklärung für die hohe Zahl an positiv gewachsenen Bakterienkulturen im Vergleich zu anderen Studien könnten die nach dem Gießener Konzept optimierte

mikrobiologische Aufarbeitung der Ejakulatproben [147], aber auch eine hygienisch nicht optimale Ejakulatgewinnung gewesen sein, da hierfür lediglich eine mündliche Aufklärung erfolgte.

Auf mögliche Pathomechanismen einer Entzündung im männlichen Genitaltrakt infolge einer bakteriellen Infektion wurde bereits im Zusammenhang mit STI eingegangen. Die Aktivierung des Immunsystems, die Freisetzung von Zytokinen, ROS usw. als Antwort auf verschiedene Erreger laufen jeweils vergleichbar ab. In einer In-vitro-Studie konnte gezeigt werden, dass Bakterien (*E. coli*, *Staphylococcus heamoliticus*, *Bacteroides ureolyticum*) die Spermienmembran schädigen, vermehrte Fragmentation der Spermien-DNA bewirken, die Motilität senken und somit erheblichen Einfluss auf die Fertilität nehmen können [37, 42, 51, 133]. Eine vergleichbare Einschränkung fertilitätsrelevanter Spermienparameter wird auch durch Anwesenheit von Leukozyten bewirkt [42, 180]. In der bereits erwähnten kanadischen Studie mit über 7000 Ejakulaten wurde ermittelt, dass eine Leukozytospemie mit einer signifikanten Verringerung der Spermienkonzentration, -motilität und -morphologie assoziiert ist [42]. Jedoch entspricht hierbei die Einteilung der Leukospemie ( $\geq 1$  PMN/100 Spermien im Ausstrichpräparat) nicht der WHO-Definition ( $\geq 10^6$  Mio./ml, z.B. peroxidase-positive PMN im Nativejakulat) [175]. Eine Kombination aus Bakterien und Leukozyten führte zu keiner zusätzlichen Verschlechterung der Spermienparameter [51]. Andere Studien dagegen zeigten keinen Zusammenhang zwischen Leukozytospemie und Bakteriospermie [23, 165].

In der hier vorgestellten Auswertung konnte ebenfalls kein Zusammenhang zwischen Entzündungszellen (peroxidase-positive Zellen) und uropathogenen Erregern im Ejakulat gefunden werden ( $p = 0,096$ ). Ebenso zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen Bakteriospermie und Spermienkonzentration, Motilität und Morphologie im Basispermogramm. Die DNA-Fragmentation ist nicht Bestandteil der Routineuntersuchung des Ejakulates und konnte somit hier nicht einbezogen werden.

Andererseits fanden sich bei Nachweis uropathogener Bakterien im Vergleich zur Kategorie "keine/sonstigen Bakterien" eine Verringerung der Fruktose-Konzentration im Ejakulat, des Volumens, der  $\alpha$ -Glucosidase und ein erhöhter pH-Wert. Diese Beobachtung steht in guter Übereinstimmung mit einer früheren, in Gießen durchgeführten Studie (Marconi et al., 2009, [106]). Das Ejakulatvolumen und die Fruktose-Konzentration sind Funktionsparameter der Bläschendrüsen, wobei das Volumen ein besserer Marker sein soll als die Fruktose [27]. Aufgrund des häufigen Vorkommens von Ejakulaten mit Azoospermie (19,7 %; N = 57/290) in der vorliegenden Studie sind Verschlüsse der

Samenwege infolge einer Infektion mit uropathogenen Bakterien als Ursache in Betracht zu ziehen. Andererseits ist eine direkte Funktionsstörung der Bläschendrüsen möglich [106]. Eine bevorzugte Besiedlung der Bläschendrüsen durch Enterokokken und Ureaplasmen kommt ebenfalls in Betracht, wie es bereits in einer Studie beschrieben wurde [12]. Darüber hinaus dient Fruktose sowohl den Spermatozoen als auch den Bakterien als Energielieferant. In der vorliegenden Untersuchung konnte gezeigt werden, dass es einen Unterschied in der Fruktosekonzentration zwischen Ejakulaten mit physiologisch vorkommenden und solchen mit uropathogenen Bakterien gibt (vgl. Tabelle 8, Abb. 19, Tabelle 9 und Abb.20).

Auch die anderen Ejakulat-Parameter, Verringerung der  $\alpha$ -Glucosidase und erhöhter pH-Wert, deuten auf eine Fehlfunktion der akzessorischen Drüsen aufgrund einer Infektion mit uropathogenen Bakterien hin. Eine Erhöhung des pH-Wertes bei Urogenitalinfektionen wurde in der Literatur beschrieben und auf eine Dysfunktion der Prostata zurückgeführt [106]. Die  $\alpha$ -Glucosidase als Funktionsparameter des Nebenhodens ist bei Infektionen mit uropathogenen Bakterien im Vergleich zur Kategorie "keine/sonstigen Bakterien" allerdings nur geringfügig niedriger. Dies spricht eher gegen einen vollständigen, beidseitigen Verschluss der Samenwege distal der Nebenhoden bei Patienten mit signifikanter Bakteriospermie und Azoospermie (vgl. Abb. 1).

In der vorliegenden Auswertung wurde die Prävalenz von STI allein und die Koinfektion mit in Standardkultur nachweisbaren Bakterien bei asymptomatischen Patienten aufgezeigt. Die retrospektive Analyse erlaubte zwar keine speziellen Fragestellungen, wie sie an kleinen Patientenkollektiven für einzelne Erreger in anderen Studien durchgeführt wurden, gibt jedoch einen Überblick über Koinfektionen und deren möglichen Einfluss auf die Ejakulatqualität. Ein großer Anteil von pathogenen *E. coli* und *E. faecalis* unter den nachgewiesenen *Enterokokken spp.* unterstreichen die Bedeutung dieser Erreger bei männlichen Genitalinfektionen.

#### 4.5 Antibiotische Therapie urogenitaler Infektionen bei infertilen Männern

Mit einer Prävalenz von 6-15 % sind urogenitale Infektionen ursächlich für männliche Fertilitätsstörungen [122, 147]. Eine Infektion mit STI und, oder uropathogenen Bakterien, welche meist asymptomatisch verläuft, führt nachweislich zur Verschlechterung einzelner Spermogramm-Variablen, wie dies auch in den hier vorliegenden Ergebnissen gezeigt werden konnte. Unabhängig von den bereits unter 1.5 erläuterten

Schädigungsmechanismen reproduktiver Funktionen des Mannes, ist bei Vorliegen einer STI auch bei asymptomatischen Patienten eine Therapie indiziert [24]. Mögliche Effekte einer antibiotischen Therapie auf Spermienparameter wurden in der vorliegenden Arbeit entsprechend mituntersucht.

Zu den Zielen einer Antibiotikabehandlung urogenitaler Infektionen gehören einerseits die Reduktion bzw. Eradikation pathogener Keime im Ejakulat, andererseits aber auch die Verbesserung der eingeschränkten Spermienparameter. Bei Nachweis von STI bei asymptomatischen Patienten erfolgt die antibiotische Therapie nach möglicher Zuordnung der Genitaltraktinfektion bzw. des entsprechenden Krankheitsbildes nach aktuellen CDC-Leitlinien [178] und Empfehlungen der EAU [52, 126] sowie der Deutschen STI-Gesellschaft (DSTIG) [32]. Dabei ist unbedingt auch die Mitbehandlung der Sexualpartnerin notwendig [24, 168]. Die Therapie von Genitalinfektionen mit uropathogenen Bakterien wie z.B. *E. faecalis* oder *E. coli* konnte in der vorliegenden retrospektiven Studie aufgrund fehlender Datensätze zum Therapieverlauf nicht weiter untersucht werden.

Nach den hier analysierten Daten konnte das Therapieziel einer Eradikation von STI-Erregern in über 95 % der Fälle erreicht werden, d.h. in den im Median nach zwei Monaten durchgeführten Ejakulatanalysen waren keine STI-Erreger mehr nachweisbar. Lediglich in drei Fällen gelang die Eradikation von *U. urealyticum* nicht. Das Keimspektrum der STI im PCR-Panel bestand ebenso wie im Gesamtkollektiv STI-positiver Proben größtenteils aus *U. urealyticum* (N = 54), *Mykoplasmen* (*M. genitalium*, *M. hominis*) (N = 8) und entsprechenden Mischinfektionen (N = 2). In den Standard Bakterienkulturen der 67 Spermienproben konnten uropathogene Bakterien wie *Enterococcus faecalis* (N = 5) und *E. coli* (N = 3) nachgewiesen werden. Die Eradikation der Erreger führte jedoch zumindest kurzfristig zu keiner wesentlichen Verbesserung der Spermienparameter. Im Mittel waren Ejakulatvolumen ( $p = 0,002$ ) und Spermiengesamtzahl ( $p = 0,02$ ) nach der Behandlung sogar signifikant reduziert. Auch das zweite Ziel, die Verbesserung der Spermigrammparameter, konnte nicht erreicht werden. Als mögliche Ursache hierfür kommt ein direkter Einfluss der Antibiotika auf die Spermien in Betracht. So wurde in einer in-vitro-Studie der negative Einfluss verschiedener Antibiotika auf die Spermienmotilität und -konzentration untersucht [69]. Hier zeigte sich, dass Amoxicillin die geringste Beeinträchtigung der Spermienfunktion verursacht, wohingegen Trimethoprim plus Sulfamethoxazol (Cotrimoxazol), Erythromycin, Tetracyclin und Chloroquin die Motilität und Vitalität reduzieren und somit die Spermatozoen irreversibel schädigen können. Die Verwendung von Doxycyclin, aus der Gruppe der Tetracycline, führte in der

eigenen Studie jedoch zu keiner signifikanten Verringerung der Motilität und Vitalität. Unter der Annahme, dass der potenzielle negative Einfluss von Antibiotika auf die Spermienparameter reversibel ist, wurden bislang keine langfristigen, irreversiblen Therapiefolgen beschrieben [140].

Für eine genauere und langfristige Beurteilung ist die Nachbeobachtungszeit in der vorliegenden Untersuchung mit Durchführung eines Kontrollspermiogramms im Median nach zwei Monaten nicht ausreichend, ebenso wie der Umfang der verfügbaren Datensätze. Es gibt nur wenige Studien zur Behandlung von STI bzw. uropathogenen Bakterien und deren Auswirkung auf die Ejakulatqualität, welche jedoch aufgrund verschiedener Nachweismethoden (PCR und Bakterienkultur) nicht unbedingt miteinander vergleichbar sind. Die verfügbaren Daten weisen auf eine Verbesserung der Ejakulatparameter hin, insbesondere eine signifikante Steigerung der Spermienkonzentration, -vitalität und -motilität durch antibiotische Therapie im Vergleich zur Kontrollgruppe, welche keine antibiotische Therapie erhielt [21, 163]. Daha et al. [30] untersuchten 160 Patienten mit unerfülltem Kinderwunsch auf Keime im Ejakulat. In 83 Fällen waren die konventionellen Kulturen positiv (Keimwachstum  $> 10^3$  KBE/ml), darunter hauptsächlich singuläre Keime (N = 53), aber auch Mischkulturen (N = 30). Die restlichen Ejakulate waren kontaminiert (Keimzahl  $< 10^3$  KBE/ml) (N = 65) oder steril (N = 12). Häufigste Keime waren *Ureaplasmen* und *Mykoplasmen* (N = 22) und *E. faecalis* (N = 16). 21 Patienten mit singulärem Keimnachweis im Ejakulat und Leukozytospemie wurden nach Antibiogramm über einen Zeitraum von 4 Wochen, vorrangig Doxycyclin 100 mg p. o. zweimal täglich behandelt. Die Eradikation von *Ureaplasmen* und *Mykoplasmen* gelang in 14 Fällen (67 %). Bei fünf Patienten waren posttherapeutisch diese Erreger in der Kultur noch nachweisbar und lediglich zwei Ejakultatkulturen waren steril. Die Auswirkung auf die Spermiogrammparameter wurde in dieser Studie allerdings nicht analysiert.

Im Vergleich hierzu konnten wir bei unseren 67 Patienten eine deutlich höhere Eliminationsrate (95 %) von *Mycoplasmen* und *Ureaplasmen* verzeichnen. In den drei Fällen des Therapieversagens in unserer Studie, bei denen nach leitliniengerechter Therapie noch *U. urealyticum* im Ejakulat nachgewiesen werden konnte, sind verschiedene Ursachen möglich. Einerseits könnte eine erneute Reinfektion des Patienten, z. B. bei fraglicher Mitbehandlung der Partnerin oder wechselnden Geschlechtspartnern, ursächlich sein. Eventuell lagen in diesen Fällen rezidivierende STI vor, bei welchen gemäß CDC-Leitlinien [178] der alternative Einsatz von Azithromycin 1 g einmalig p. o. indiziert wäre. Andererseits könnte auch eine Resistenz der Keime gegenüber Antibiotika vorliegen. Diese nehmen

weltweit zu, insbesondere Gonokokken [8] sind zunehmend resistent gegenüber Breitbandantibiotika [67, 143, 155, 159, 160]

Die leitliniengerechte antimikrobielle Therapie von *U. urealyticum* sieht standartmäßig die Verwendung von Doxycyclin 100 mg für 7 Tage vor. Alternativ kann auch Azithromycin 1 – 1,5 g als Einmalgabe erfolgen [52, 178]. Einige Studien untersuchten die Wirksamkeit von Doxycyclin im Vergleich zu Azithromycin. Allerdings beruhen diese Studien auf dem Keimnachweis mittels PCR- Analyse im Urin bei symptomatischen Patienten im Sinne einer Urethritis mit vorrangig *M. genitalium* als Erreger einer Nicht-Gonokokken-Urethritis (NGU). Hier zeigte sich, dass bei *M. genitalium* Infektionen Azithromycin wirksamer ist als Doxycyclin [10, 112, 149].

Hinweise auf eine schlechtere Wirksamkeit von Doxycyclin gegenüber Azithromycin bei der Behandlung von *Mykoplasma spp.* (*M. genitalium* et *M. hominis*) fanden sich in der vorliegenden Auswertung nicht. Von den vor antibiotischer Behandlung nachweislich 8 x *Mykoplasmen spp.* und 2x Koinfektion mit *U. urealyticum* und *Mykoplasmen spp.* konnten nach Therapie in 4 Fällen mit Azithromycin und in 6 Fällen mit Doxycyclin keine *Mykoplasmen spp.* in PCR- Analyse mehr nachgewiesen. Durch den überwiegenden Einsatz von Doxycyclin (54/67 Fällen) konnte zumindest in den Ejakulatproben *U. urealyticum* erfolgreich eliminiert werden. Problematisch ist allerdings der unmittelbare Vergleich mit den o.g. Studien anderer Autoren, da bei den hier einbezogenen Patienten keine symptomatische Urethritis vorlag, eine asymptomatische NGU aber nicht ausgeschlossen werden kann. Geht man bei primär chronischen Verläufen oder solchen mit unbekannter Aktivität von einer Aszension der Erreger aus, lassen die Therapieergebnisse auf eine ausreichende Gewebegängigkeit von Doxycyclin im gesamten Genitaltrakt schließen [89].

Zur Verbesserung der Spermienparameter ist neben der Eradikation von STI durch geeignete antimikrobielle Therapie, auch die Minimierung erregerbedingter Entzündungsprozesse im Genitaltrakt durch Induktion zellulärer und humoraler Immunantworten [71] anzustreben. Daher kann bei vorliegenden Entzündungszeichen (Leukozytospemie), auch unabhängig vom Erregernachweis, die Gabe von nichtsteroidalen Antiphlogistika in Erwägung gezogen werden. Einige Studien zeigten hier unter Verminderung der Leukozytenzahl eine Verbesserung der Spermienparameter [54, 96].

Es stellt sich die Frage, inwieweit asymptomatische Männer mit Kinderwunsch von einer antibiotischen Behandlung profitieren. In unserer Studie zeigten sich neben den drei Fällen der fraglichen Reinfektionen oder Persistenz der *Ureaplasmen* nach

Antibiotikabehandlung auch Neuinfektionen (N=7) mit uropathogenen Bakterien im Kontrollspermiogramm. Mögliche Effekte einer längeren Therapiedauer [87, 163] sowie die Bedeutung der Elimination kommensal vorkommender, physiologischer Bakterien konnten hier aufgrund des retrospektiven Ansatzes der Untersuchung und der geringen Fallzahlen nicht näher analysiert werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass eine Infektion mit STI oder uropathogenen Bakterien zur Einschränkung der Spermienqualität führt. Die Infektion verläuft meist asymptomatisch, so dass sie bei Kinderwunschpatienten in der Regel ein Zufallsbefund ist. Die antibiotische Behandlung stützt sich auf den Erregernachweis und bewirkt zwar die Eliminierung der Bakterien, jedoch verbessert sie kurzfristig nicht die Spermienqualität. Eine Behandlung erscheint dennoch sinnvoll, damit keine weiteren Schäden direkt durch die Erreger oder über post-infektiöse entzündliche Prozesse entstehen können. Idealerweise regeneriert sich die Funktion der akzessorischen Drüsen und verbessert somit die Spermienqualität langfristig. Optimaler Endpunkt einer Studie über die langfristige Auswirkung einer Antibiotikabehandlung wäre die Schwangerschaftsrate bzw. Lebendgeburten bei infertilen Paaren, weil das Spermiogramm zwar einen Hinweis auf die Fertilität liefert, aber die Ergebnisse nicht mit der Fertilität gleichzusetzen sind.

## 5 Zusammenfassung

### **Einleitung**

Infektionen des Genitaltraktes zählen zu den häufigsten Ursachen männlicher Infertilität. Dabei können die Erreger selbst direkte Spermenschäden verursachen und/oder eine Entzündungsreaktion des Wirtsorganismus auslösen, so dass es zur Funktionsstörung der beteiligten Organe des Reproduktionstrakts oder strukturellen Schäden (Obstruktion der Samenwege) kommen kann. Ursächlich hierfür sind ascendierende Infektionen mit STI-Erregern oder typischen Uropathogenen, die sowohl symptomatisch als auch asymptomatisch verlaufen können. Bei asymptomatischen Verläufen handelt es sich oft um einen Zufallsbefund, insbesondere bei der diagnostischen Abklärung der männlichen Fertilität. Die Auswirkungen der bakteriellen Erreger auf den männlichen Urogenitaltrakt, die Ejakulatqualität und damit auch die männliche Fertilität werden allerdings kontrovers beurteilt.

Ziele der vorliegenden Arbeit sind daher die Ermittlung der Prävalenz von STI und nicht sexuell übertragbaren bakteriellen Erregern bei andrologischen Patienten sowie deren Einfluss auf verschiedene Ejakulatparameter und die Veränderung der Ejakulatparameter nach antibiotischer Therapie.

### **Material und Methoden**

Retrospektiv wurden alle Ejakulate im Zeitraum von Juni 2011 bis Juni 2014 hinsichtlich des Vorhandenseins der kompletten mikrobiologischen Diagnostik überprüft und 2080 Ejakulate von Patienten mit einem medianen Alter von 37 Jahren identifiziert. Dabei handelt es sich um verschiedene andrologische Patientenkollektive der Klinik und Poliklinik für Kinderurologie und Andrologie in Gießen, vorwiegend solche mit unerfülltem Kinderwunsch. Spermioграмme wurden standardisiert nach WHO 2010 erstellt und durch biochemische Parameter ergänzt. Die molekularbiologische Identifizierung der Erreger erfolgte mittels Spezies-spezifischer PCR-Analyse klassischer STI und des kulturellen Nachweises typischer Harnwegsinfektionserreger. Zusätzlich konnten 67 Patienten aus dem Gesamtpatientenkollektiv identifiziert werden, bei welchen vor und nach antibiotischer Behandlung bei positivem STI-PCR-Ergebnis ein Spermioграмm vorlag. Die pseudonymisierten Daten wurden in einer Excel-Tabelle zusammengefasst und mit dem Statistikprogramm SPSS (Statistics 22) ausgewertet.



## **Ergebnisse**

In 134 Fällen zeigte sich ein positiver Befund im STI-Panel (94 x *U. urealyticum*, 7 x *N. gonorrhoeae*, 6 x *C. trachomatis*, 19 x *Mycoplasmen* (*M. hominis* und *M. genitalum*), 8 x Mischinfektionen). Der Nachweis einer STI wirkte sich signifikant negativ ( $p < 0,01$ ) auf die Spermienkonzentration und -gesamtzahl aus. Andere Spermien-, Entzündungs- (Leukozyten, Elastase) oder Sekretionsparameter (Fruktose,  $\alpha$ -Glucosidase) blieben von einer STI unbeeinflusst.

In den Erregerkulturen fanden sich 290 Kulturen mit pathogenen Bakterien (am häufigsten *Enterococcus spp.* (N = 192) und *E. coli* (N = 101)). Diese wirkten sich signifikant negativ ( $p < 0,01$ ) auf das Volumen und die Fruktose-Konzentration aus.

Posttherapeutisch zeigte sich im Follow-up in 65/68 Fällen eine erfolgreiche Eradikation der STI (> 95 %). Allerdings ergab sich kurzfristig keine signifikante Verbesserung der Ejakulatqualität nach antibiotischer Behandlung.

## **Diskussion**

Der negative Einfluss von STI auf die Spermienkonzentration und die damit verbundene Oligozoospermie bei asymptomatischen Patienten zeigt die klinische Relevanz dieser Erreger im Hinblick auf die männliche Fertilität. Eine Subgruppen-Analyse der verschiedenen STI-Erreger war aufgrund geringer Fallzahlen nicht möglich. Jedoch belegt der hohe Anteil an *U. urealyticum* (> 70 %) unter den STI den klinischen Stellenwert dieses Erregers, wenngleich ursächliche Schädigungsmechanismen nicht aus den vorliegenden Daten abgeleitet werden können. Der negative Einfluss uropathogener Bakterien auf Ejakulatvolumen und Fruktose-Konzentration ist möglicherweise auf eine Funktionseinschränkung der Bläschendrüsen oder postentzündliche Obstruktion der Samenwege zurückzuführen. Die antibiotische Therapie von STI zeigte sich in der Eradikation hoch effektiv. Die ausbleibende Verbesserung der Ejakulatqualität geht möglicherweise auf die Berücksichtigung nur einer frühzeitigen Follow-up-Untersuchung zurück.

## 6 Summary

### Introduction

Urogenital infections are among the most prevalent causes of male infertility. The pathogens can either directly cause sperm damage, or elicit an inflammatory reaction of the host, resulting in impaired function or structural damage of male reproductive organs. Responsible for the ascending infections are STIs or uropathogenic bacteria. The infection can be symptomatic, yet is frequently asymptomatic. In asymptomatic patients, the diagnosis is mostly discovered incidentally during andrological diagnostic work-up for infertility. The impact of the pathogens on the male urogenital tract, semen quality and fertility are a matter of controversy. Therefore, this retrospective study aims to investigate the prevalence of STIs and non-sexually transmitted bacterial pathogens in andrological patients, their impact on semen quality and respective changes after antibiotic therapy.

### Material and Methods

A total of 2080 ejaculate samples from male patients (median age 37) who suffered infertility or other andrological disorders without any symptoms of acute genital tract infections could be included. All patients had been screened for sexually transmitted infections in the Department of Urology, Pediatric Urology and Andrology in Giessen between June 2010 and June 2014. Standardized semen analysis was performed according to the recommendations of the World Health Organisation (WHO 2010), extended by biochemical parameters. Microbiological work-up of semen samples included a species-specific multiplex PCR assay for selected STIs and standard culture of urogenital bacteria. We could separate 67 patients with positive STI-PCR results who underwent antibiotic treatment and had a follow up semen sample. All pseudonymized data were collected in an excel spreadsheet and statistical analysis was performed using SPSS Statistics 22.

### Results

In 134 cases, PCR analysis revealed positive results for STI (94x *U. urealyticum*, 7x *N. gonorrhoeae*, 6x *C. trachomatis*, 19x *Mycoplasmen* (*M. hominis* and *M. genitalum*), 8x mixed infections). The sperm concentration and total sperm count were significantly lower in patients who were positive for STIs ( $p < 0,01$ ). Other semen variables concerning sperm parameters, inflammatory markers (leukocyte count, PMN elastase), or seminal fluid composition (fructose,  $\alpha$ -glucosidase) were not significantly related to STI. Among

the standard cultures of semen samples, 290 were positive with pathogenic bacteria (most prevalent species: *Enterococcus spp.* (N=192) and *E. coli* (N=101)). These showed a significant negative effect on semen volume and fructose concentration ( $p < 0,01$ ). After antibiotic treatment of STI, the elimination of the resp. bacteria was successful in 65/68 cases (>95 %). However, the follow-up semen analyses showed no significant improvement of the sperm parameters after antibiotic treatment.

## **Discussion**

The negative impact of STI on sperm concentration and the related oligozoospermia in asymptomatic patients underlines the clinical importance of these pathogens with regard to male infertility. A subgroup analysis of different STIs was not possible due to the low number of cases. However, the high proportion of *U. urealyticum* (>70%) among the STIs identified provides suggestive evidence for the clinical significance of this pathogen. On the other hand, the available data do not allow for deciphering the mechanisms underlying infection-related damage of male reproductive function. The negative impact of uropathogenic bacteria on semen volume and fructose concentration might reflect impaired function of the Gl. vesiculosa or postinfectious obstruction along the excurrent ductal system. Although the cure rate of STIs after antibiotic therapy was high, semen quality did not improve. This could be due to the fact, that only one follow-up examination at short-term after treatment was available for this study.

## 7 Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
° C	Grad Celsius
µl	Mikroliter
µmol	Mikromol
Abb.	Abbildung, Abbildung
ASA	Anti-Spermien-Antikörper
bezgl	bezüglich
bspw.	beispielsweise
C. trachomatis	Chlamydia trachomatis
C.L.E.D.	Cysteine Lactose Electrolyte Deficient Agar
ca.	circa
CDC	Centers for Disease Control
cm	Zentimeter
CPPS	Chronic pelvin pain syndrom, chronischen Beckenschmerzsyndrom
d.h	das heißt
dl	Deziliter
DNA	Desoxyribonukleinsäure
Dr. med.	Doktor der Medizin
DRU	digital rektalen Untersuchung
E.	Enterococcus
E. coli	Echerischia coli
EAU	European Association of Urology
EP	Ejakulatproben
et al	und andere
etc.	et cetera
evtl.	eventuell
FSH	follikelstimulierende Hormon
g/ml	Gramm/Milliliter
Gl.	Glandula
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
GnRH	Gonadotropinfreisetzende Hormon
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HOS-Test	hypo- osmotischer Schwell-Test
HPV	Humane Papillomviren
Ig	Immunglobulinklasse
IM	immotile Spermien
JLU	Justus-Liebig- Universität
KbE/ml	Kolonie-bildende- Einheit
L	Lendenwirbelkörper
LH	luteininsierendes Hormon
LOEWE	Landes-Offensive zur Entwicklung Wissenschaftlich-ökonomischer Exzellenz
M.	Mykoplasma
MAGI	Male Accessory Gland Infection
MAR	Mixed antiglobulin reaction
MIBIE	Männliche Infertilität bei Infektion und

	..... Entzündung
Mio.	..... Millionen
ml	..... Milliliter
mm	..... Millimeter
MSM	..... Männer, die Sex mit Männern haben
mU	..... Mikro Unit, Miliunits
N	..... Anzahl
N. gonorrhoea	..... Neisseria gonorrhoea
ng	..... Nanogramm
NGU	..... Nicht-Gonokokken-Urethritis, ..... nichtgonorrhoeische Urethritis
NIH	..... National Institutes of Health
nm	..... Nanometer
Nn.	..... Nervi
NP	..... nichtprogressiv motile Spermien
p	..... Signifikanzniveau
PCR	..... Polymerase-Kettenreaktion
pH-	..... potentia hydrogenia (negativer dekadischer ..... Logarithmus der H <sup>+</sup> -Ionen Konzentration)
PPLO	..... pleuropneumonia-like organisms
PR	..... progressiv motile Spermien
Prof.	..... Professor
PSA	..... Prostata-spezifische-Antigen
ROS	..... reaktive Sauerstoffspezies
S	..... Sakralwirbel
s. Abb.	..... siehe Abbildung
SDS	..... Sodium Dodecyl Sulfate
SHBG	..... sexualhormonbindende Globulin,
spp.	..... Species
STD	..... sexually transmitted diseases
STI	..... sexually transmitted infection
Tab.	..... Tabelle
U.	..... Ureaplasma
vgl.	..... vergleiche
vs.	..... versus
WHO	..... Weltgesundheitsorganisation
z. B.	..... zum Beispiel

## 8 Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> WHO-Kriterien zur Diagnose einer "Male Accessory Gland Infection" .....	9
<b>Tabelle 2:</b> Studienübersicht: Prävalenz von STI und deren Einfluss auf die Ejakulatqualität bei Männern aus andrologischen Sprechstunden. ....	11
<b>Tabelle 3:</b> Basisspermiogramm: Parameter und Referenzwerte nach WHO 1999 und 2010 im Vergleich.....	18
<b>Tabelle 4:</b> Beschreibung von Ejakulatbefunden nach WHO 2010.....	22
<b>Tabelle 5:</b> Einfluss von STI auf verschiedene Variablen im Basisspermiogramm .....	39
<b>Tabelle 6:</b> Prävalenz von STI in Abhängigkeit von der Spermienkonzentration.....	41
<b>Tabelle 7:</b> Übersicht der verschiedenen Erreger in der mikrobiologischen Standardkulturdiagnostik von Ejakulatproben .....	43
<b>Tabelle 8:</b> Einfluss uropathogener Bakterien auf verschiedene Variablen im Basisspermiogramm .....	46
<b>Tabelle 9:</b> Fruktosegehalt im Ejakulat in Abhängigkeit vom Ergebnis der Bakterienkulturen .....	48
<b>Tabelle 10:</b> Auswirkung des STI-PCR-/Bakterienkultur-Status auf verschiedene Variablen im Basisspermiogramm .....	50
<b>Tabelle 11:</b> Einfluss einer antibiotischen Behandlung von STI auf verschiedene Variablen im Basisspermiogramm .....	57

## 9 Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Übersicht Volumenanteil der akzessorischen Drüsen am gesamten Ejakulat.....	5
<b>Abbildung 2:</b> Patientenpopulation .....	14
<b>Abbildung 3:</b> Fehlerbehebung am Beispiel des pH-Wertes.....	28
<b>Abbildung 4:</b> Korrelation von Vitalität und Globalmotilität der Spermien im Ejakulat zur internen Plausibilitätskontrolle.....	29
<b>Abbildung 5:</b> Korrelation von Peroxidase-positiven Zellen mit Leukozyten im Streudiagramm .....	30
<b>Abbildung 6:</b> Altersverteilung der 2080 Patienten/Kontrollen.....	31
<b>Abbildung 7:</b> Altersverteilung der Patienten/Kontrollen in den Ejakulatproben-Untergruppen ohne Keimwachstum (keine Bakterien) in der Standardkultur ("keine Pathogenität") versus positive Bakterienkulturen, sowie positiver STI und zusätzlichem Nachweis von Bakterien.....	32
<b>Abbildung 8:</b> Sexuelle Karenzzeit der Patienten/Kontrollen vor Ejakulatabgabe.....	32
<b>Abbildung 9:</b> Verteilung der untersuchten Ejakulatproben auf die Monate im Jahr. ....	33
<b>Abbildung 10:</b> Jahreszeitabhängige Schwankungen der Spermienkonzentration .....	33
<b>Abbildung 11:</b> Jahreszeitabhängige Schwankungen der Konzentration Peroxidase-positiver Zellen.....	34
<b>Abbildung 12:</b> Jahreszeitabhängige Schwankung der Testosteronkonzentration.....	35
<b>Abbildung 13:</b> Ergebnisse der STI-PCR-Analyse. ....	36
<b>Abbildung 14:</b> Verteilung der positiven STI- PCR Befunde .....	36
<b>Abbildung 15:</b> Spermiengesamtzahl in Abhängigkeit von STI- negativen und STI-positiven PCR-Befunden.....	37
<b>Abbildung 16:</b> Ergebnis der mikrobiologischen Standardkulturdiagnostik.....	42
<b>Abbildung 17:</b> Häufigkeitsverteilung uropathogener Bakterien.....	44
<b>Abbildung 18:</b> Abnahme der Fruktose im Ejakulat in Abhängigkeit vom Ergebnis der Bakterienkulturen .....	48

<b>Abbildung 19:</b> Spermienkonzentration in Abhängigkeit vom STI-/Bakterienkultur-Status im Ejakulat.....	51
<b>Abbildung 20:</b> Fruktosekonzentration im Ejakulat in Abhängigkeit vom STI-/Bakterienkultur-Status.....	52
<b>Abbildung 21:</b> Verteilung des Erregerstatus im Ejakulat vor einer antibiotischen Behandlung.....	54
<b>Abbildung 22:</b> Erregerstatus im Ejakulat nach antibiotischer Behandlung .....	55
<b>Abbildung 23:</b> Einfluss antibiotischer Behandlung auf das mediane Ejakulat-Volumen in Subgruppen mit unterschiedlicher Spermienkonzentration. ....	58



## 10 Literatur

- 1 Agarwal A, Mulgund A, Hamada A *et al.* A unique view on male infertility around the globe. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2015; 13: 37
- 2 Agarwal A, Tvrda E, Sharma R. Relationship amongst teratozoospermia, seminal oxidative stress and male infertility. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2014; 12: 45
- 3 Agarwal A, Nallella KP, Allamaneni, Shyam S R *et al.* Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reproductive Biomedicine Online* 2004; 8: 616–627
- 4 Ahmed A, Bello A, Mbibu NH *et al.* Epidemiological and aetiological factors of male infertility in northern Nigeria. *Nigerian Journal of Clinical Practice* 2010; 13: 205–209
- 5 Aitken RJ. Reactive oxygen species as mediators of sperm capacitation and pathological damage. *Molecular Reproduction and Development* 2017; 84: 1039–1052
- 6 Aitken RJ, Baker MA. Oxidative stress, spermatozoa and leukocytic infiltration: relationships forged by the opposing forces of microbial invasion and the search for perfection. *Journal of Reproductive Immunology* 2013; 100: 11–19
- 7 Akande V, Turner C, Horner P *et al.* Impact of Chlamydia trachomatis in the reproductive setting: British Fertility Society Guidelines for practice. *Human Fertility* 2010; 13: 115–125
- 8 Akasaka S, Muratani T, Yamada Y *et al.* Emergence of cephem- and aztreonam-high-resistant Neisseria gonorrhoeae that does not produce beta-lactamase. *Journal of Infection and Chemotherapy : official journal of the Japan Society of Chemotherapy* 2001; 7: 49–50
- 9 Al-Sweih NA, Al-Fadli AH, Omu AE *et al.* Prevalence of Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis, Mycoplasma genitalium, and Ureaplasma urealyticum infections and seminal quality in infertile and fertile men in Kuwait. *Journal of Andrology* 2012; 33: 1323–1329
- 10 Anagrius C, Loré B, Jensen JS. Treatment of Mycoplasma genitalium. Observations from a Swedish STD clinic. *PLOS ONE* 2013; 8: e61481
- 11 Auroux MR, Jacques L, Mathieu D *et al.* Is the sperm bacterial ratio a determining factor in impairment of sperm motility: an in-vitro study in man with Escherichia coli. *International Journal of Andrology* 1991; 14: 264–270
- 12 Balmelli T, Stamm J, Dolina-Giudici M *et al.* Bacteroides ureolyticus in men consulting for infertility. *Andrologia* 1994; 26: 35–38
- 13 Barraud-Lange V, Pont J-C, Ziyat A *et al.* Seminal leukocytes are Good Samaritans for spermatozoa. *Fertility and Sterility* 2011; 96: 1315–1319
- 14 Basu S, Aballa TC, Ferrell SM *et al.* Inflammatory Cytokine Concentrations Are Elevated in Seminal Plasma of Men With Spinal Cord Injuries. *Journal of Andrology* 2004; 25: 250–254
- 15 Bayasgalan G, Naranbat D, Radnaabazar J *et al.* Male infertility: risk factors in Mongolian men. *Asian Journal of Andrology* 2004; 6: 305–311
- 16 Berktas M, Aydin S, Yilmaz Y *et al.* Sperm motility changes after coincubation with various uropathogenic microorganisms: an in vitro experimental study. *International Urology and Nephrology* 2008; 40: 383–389

- 17 *Bezold G, Politch JA, Kiviat NB et al.* Prevalence of sexually transmissible pathogens in semen from asymptomatic male infertility patients with and without leukocytospermia. *Fertility and Sterility* 2007; 87: 1087–1097
- 18 *Brookings C, Goldmeier D, Sadeghi-Nejad H.* Sexually transmitted infections and sexual function in relation to male fertility. *Korean Journal of Urology* 2013; 54: 149–156
- 19 *Burkhardt F, Dahouk Sa.* Mikrobiologische Diagnostik. Bakteriologie, Mykologie, Virologie, Parasitologie ; 288 Tabellen. 2. Aufl. Stuttgart [u.a.]: Thieme; 2009
- 20 *Cai T, Wagenlehner, Florian M E, Mazzoli S et al.* Semen quality in patients with Chlamydia trachomatis genital infection treated concurrently with prulifloxacin and a phytotherapeutic agent. *Journal of Andrology* 2012; 33: 615–623
- 21 *Cardoso EM, Santoianni JE, De Paulis, A N et al.* Improvement of semen quality in infected asymptomatic infertile male after bacteriological cure. *Medicina* 1998; 58: 160–164
- 22 *Cates W, Farley TM, Rowe PJ.* Worldwide patterns of infertility. Is Africa different? *Lancet* 1985; 2: 596–598
- 23 *Cavagna M, Oliveira JBA, Petersen CG et al.* The influence of leukocytospermia on the outcomes of assisted reproductive technology. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2012; 10: 44
- 24 *CDC- Centers for Disease Control and Prevention.* Sexually Transmitted Diseases Surveillance 2016
- 25 *Comhaire FH, Mahmoud AM, Depuydt CE et al.* Mechanisms and effects of male genital tract infection on sperm quality and fertilizing potential: the andrologist's viewpoint. *Human Reproduction Update* 1999; 5: 393–398
- 26 *Comhaire FH, Mahmoud AM, Depuydt CE et al.* Mechanisms and effects of male genital tract infection on sperm quality and fertilizing potential: the andrologist's viewpoint. *Human Reproduction Update* 1999; 5: 393–398
- 27 *Comhaire FH, Vermeulen L, Pieters O.* Study of the accuracy of physical and biochemical markers in semen to detect infectious dysfunction of the accessory sex glands. *Journal of Andrology* 1989; 10: 50–53
- 28 *Cottell E, Harrison RF, McCaffrey M et al.* Are seminal fluid microorganisms of significance or merely contaminants? *Fertility and Sterility* 2000; 74: 465–470
- 29 *Cunningham KA, Beagley KW.* Male genital tract chlamydial infection: implications for pathology and infertility. *Biology of Reproduction* 2008; 79: 180–189
- 30 *Daha LK, Pflüger H, Plas E, Rauch B, Riedl CR.* Keimspektrum von Ejakulatkulturen bei infertilen Patienten. *Journal für Urologie und Urogynäkologie* 2000: 6–8
- 31 *Deguchi T, Yasuda M, Ito S.* Re: Adrian Pilatz, Hamid Hossain, Rolf Kaiser, et al. Acute epididymitis revisited: impact of molecular diagnostics on etiology and contemporary guideline recommendations. *Eur Urol* 2015;68:428-35. *European Urology* 2015; 68: e59-60
- 32 *Deutsche STI Gesellschaft.* Leitfaden STI Therapie. Hinweise zur Therapie ausgewählter sexuell übertragbarer Infektionen (STI) der Deutschen STI-Gesellschaft zur Förderung der sexuellen Gesundheit; 2. Auflage 05/2014
- 33 *Díaz-García FJ, Herrera-Mendoza AP, Giono-Cerezo S et al.* Mycoplasma hominis attaches to and locates intracellularly in human spermatozoa. *Human Reproduction Update* 2006; 21: 1591–1598

- 34 *Diedrich K, Ludwig M, Griesinger G, Hrsg.* Reproduktionsmedizin. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2013
- 35 *Diemer T, Hauptmann A, Weidner W.* Therapie der Azoospermie. Operative Spermengewinnung (MESA, TESE, Mikro-TESE). *Der Urologe. Ausg. A* 2011; 50: 38–46
- 36 *Diemer T, Gralla O.* Adnexitis beim Mann. *Der Urologe. Ausg. A* 2008; 47: 1573–1578
- 37 *Diemer T, Huwe P, Ludwig M et al.* Urogenital infection and sperm motility. *Andrologia* 2003; 35: 283–287
- 38 *Diemer T, Huwe P, Michelmann HW et al.* Escherichia coli-induced alterations of human spermatozoa. An electron microscopy analysis. *International Journal of Andrology* 2000; 23: 178–186
- 39 *Diemer T, Ludwig M, Huwe P et al.* Influence of urogenital infection on sperm function. *Current Opinion in Urology* 2000; 10: 39–44
- 40 *Dieterle S.* Urogenital infections in reproductive medicine. *Andrologia* 2008; 40: 117–119
- 41 *Dobrindt U.* Virulenzfaktoren uropathogener Erreger. *Der Urologe. Ausg. A* 2010; 49: 598–605
- 42 *Domes T, Lo KC, Grober ED et al.* The incidence and effect of bacteriospermia and elevated seminal leukocytes on semen parameters. *Fertility and Sterility* 2012; 97: 1050–1055
- 43 *Eggert-Kruse W, Batschulat K, Demirakca T et al.* Male immunity to the chlamydial 60 kDa heat shock protein (HSP 60) - associated with semen quality? *Andrologia* 2015; 47: 66–76
- 44 *Eggert-Kruse W, Zimmermann K, Geissler W et al.* Clinical relevance of polymorphonuclear (PMN-) elastase determination in semen and serum during infertility investigation. *International Journal of Andrology* 2009; 32: 317–329
- 45 *Eley A, Hosseinzadeh S, Hakimi H et al.* Apoptosis of ejaculated human sperm is induced by co-incubation with Chlamydia trachomatis lipopolysaccharide. *Human Reproduction Update* 2005; 20: 2601–2607
- 46 *Eley A, Pacey AA, Galdiero M et al.* Can Chlamydia trachomatis directly damage your sperm? *The Lancet Infectious Diseases* 2005; 5: 53–57
- 47 *Erenpreiss J, Hlevicka S, Zalkalns J et al.* Effect of leukocytospermia on sperm DNA integrity. A negative effect in abnormal semen samples. *Journal of Andrology* 2002; 23: 717–723
- 48 *Fathy A, Chen SJ, Novak N et al.* Differential leucocyte detection by flow cytometry improves the diagnosis of genital tract inflammation and identifies macrophages as proinflammatory cytokine-producing cells in human semen. *Andrologia* 2014; 46: 1004–1012
- 49 *Feldman HA, Longcope C, Derby CA et al.* Age trends in the level of serum testosterone and other hormones in middle-aged men: longitudinal results from the Massachusetts male aging study. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2002; 87: 589–598
- 50 *Fijak M, Pilatz A, Hedger MP et al.* Infectious, inflammatory and 'autoimmune' male factor infertility: how do rodent models inform clinical practice? *Human Reproduction Update* 2018; 24: 416–441

- 51 *Fraczek M, Wiland E, Piasecka M et al.* Fertilizing potential of ejaculated human spermatozoa during in vitro semen bacterial infection. *Fertility and Sterility* 2014; 102: 711-719.e1
- 52 *G. Bonkat, R. Pickard, R. Bartoletti et. al., Hrsg.* European Association of Urology (EAU). Guidelines on Urological Infections, 2017; 2017
- 53 *G. Haidl und H-C. Schuppe.* Infektionen und Entzündungen des männlichen Genitaltrakts. In: Krause W, Weidner W, Sperling H, Diemer T, Hrsg. *Andrologie. Krankheiten der männlichen Geschlechtsorgane.* 4. Aufl. s.l.: Georg Thieme Verlag KG; 2011
- 54 *Gambera L, Serafini F, Morgante G et al.* Sperm quality and pregnancy rate after COX-2 inhibitor therapy of infertile males with abacterial leukocytospermia. *Human Reproduction Update* 2007; 22: 1047–1051
- 55 *Garrett C, Liu DY, Clarke GN et al.* Automated semen analysis: 'zona pellucida preferred' sperm morphometry and straight-line velocity are related to pregnancy rate in subfertile couples. *Human Reproduction Update* 2003; 18: 1643–1649
- 56 *Gdoura R, Kchaou W, Ammar-Keskes L et al.* 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* 2008; 29: 198–206
- 57 *Gdoura R, Kchaou W, Znazen A et al.* Screening for bacterial pathogens in semen samples from infertile men with and without leukocytospermia. *Andrologia* 2008; 40: 209–218
- 58 *Gdoura R, Kchaou W, Chaari C et al.* Ureaplasma urealyticum, Ureaplasma parvum, Mycoplasma hominis and Mycoplasma genitalium infections and semen quality of infertile men. *BMC Infectious Diseases* 2007; 7: 129
- 59 *Gimenes F, Medina FS, Abreu ALPd et al.* Sensitive simultaneous detection of seven sexually transmitted agents in semen by multiplex-PCR and of HPV by single PCR. *PIOS ONE* 2014; 9: e98862
- 60 *Gonzales GF, Munoz G, Sanchez R et al.* Update on the impact of Chlamydia trachomatis infection on male fertility. *Andrologia* 2004; 36: 1–23
- 61 *Gottlieb SL, Low N, Newman LM et al.* Toward global prevention of sexually transmitted infections (STIs): the need for STI vaccines. *Vaccine* 2014; 32: 1527–1535
- 62 *Gross G, Rasokat H.* Sexuell übertragbare Infektionen 2012. *Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete* 2012; 63: 8–9
- 63 *Günyeli I, Abike F, Dünder I et al.* Chlamydia, Mycoplasma and Ureaplasma infections in infertile couples and effects of these infections on fertility. *Archives of gynecology and obstetrics* 2011; 283: 379–385
- 64 *Guz J, Gackowski D, Foksinski M et al.* Comparison of oxidative stress/DNA damage in semen and blood of fertile and infertile men. *PIOS ONE* 2013; 8: e68490
- 65 *Hahn H, Hrsg.* Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. Mit 157 Tabellen. 6. Aufl. Heidelberg: Springer; 2009
- 66 *Haidl G, Allam JP, Schuppe H-C.* Chronic epididymitis: impact on semen parameters and therapeutic options. *Andrologia* 2008; 40: 92–96
- 67 *Hamouda O, Bremer V, Marcus U et al.* Epidemiologische Entwicklung bei ausgewählten sexuell übertragbaren Infektionen (STI) in Deutschland. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz* 2013; 56: 1600–1608

- 68 *Harald Genzwürker, Jochen Hinkelbein, Jürgen Keil, Gisela Zimmer.* AllEx. Alles fürs Examen. 2. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2014
- 69 *Hargreaves CA, Rogers S, Hills F et al.* Effects of co-trimoxazole, erythromycin, amoxicillin, tetracycline and chloroquine on sperm function in vitro. *Human Reproduction Update* 1998; 13: 1878–1886
- 70 *Harvey HA, Porat N, Campbell CA et al.* Gonococcal lipooligosaccharide is a ligand for the asialoglycoprotein receptor on human sperm. *Molecular Microbiology* 2000; 36: 1059–1070
- 71 *Hedger MP.* Immunophysiology and pathology of inflammation in the testis and epididymis. *Journal of Andrology* 2011; 32: 625–640
- 72 *Heinrich K. Geiss.* Körpereigene Flora des Menschen. Normalflora des Menschen. In: Neumeister B, Hrsg. *Mikrobiologische Diagnostik. Bakteriologie, Mykologie, Virologie, Parasitologie* ; 288 Tabellen. 2. Aufl. Stuttgart [u.a.]: Thieme; 2009
- 73 *Hellwig B.* Reproduktionsmedizinische epidemiologische Untersuchungen auf der Basis eines Integrierten Andrologischen Informationsmanagementsystems. Justus-Liebig-Universität, Gießen; 2008
- 74 *Henkel R, Maass G, Jung A et al.* Age-related changes in seminal polymorphonuclear elastase in men with asymptomatic inflammation of the genital tract. *Asian Journal of Andrology* 2007; 9: 299–304
- 75 *Henkel R, Maass G, Schuppe H-C et al.* Seasonal changes of neutral alpha-glucosidase activity in human semen. *Journal of Andrology* 2006; 27: 34–39
- 76 *Henkel R, Kierspel E, Stalf T et al.* Effect of reactive oxygen species produced by spermatozoa and leukocytes on sperm functions in non-leukocytospermic patients. *Fertility and Sterility* 2005; 83: 635–642
- 77 *Henkel R, Maass G, Schuppe H-C et al.* Molecular aspects of declining sperm motility in older men. *Fertility and Sterility* 2005; 84: 1430–1437
- 78 *Henkel R, Maaß G, Hajimohammad M et al.* Urogenital inflammation. Changes of leucocytes and ROS. *Andrologia* 2003; 35: 309–313
- 79 *Henkel R, Menkveld R, Kleinhappl M et al.* Seasonal Changes in Human Sperm Chromatin Condensation. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 2001; 18: 371–377
- 80 *Henkel RR.* Leukocytes and oxidative stress: dilemma for sperm function and male fertility. *Asian Journal of Andrology* 2011; 13: 43–52
- 81 *Hochreiter WW.* Male accessory gland infection: standardization of inflammatory parameters including cytokines. *Andrologia* 2003; 35: 300–303
- 82 *Hou D, Zhou X, Zhong X et al.* Microbiota of the seminal fluid from healthy and infertile men. *Fertility and Sterility* 2013; 100: 1261–1269
- 83 *Huang C, Zhu HL, Xu KR et al.* Mycoplasma and ureaplasma infection and male infertility: a systematic review and meta-analysis. *Andrologia* 2015; 3: 809–816
- 84 *Huwe P, Diemer T, Ludwig M et al.* Influence of different uropathogenic microorganisms on human sperm motility parameters in an in vitro experiment. *Andrologia* 1998; 30: 55–59
- 85 *John R. Papp, Julius Schachter, Charlotte A. Gaydos, and Barbara Van Der Pol.* Recommendations for the laboratory-based detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*--2014. *MMWR. Recommendations and Reports : Morbidity and mortality weekly report. Recommendations and reports* 2014; 63: 1–19

- 86 *Jong Z de, Pontonnier F, Plante P et al.* Comparison of the incidence of *Ureaplasma urealyticum* in infertile men and in donors of semen. *European Urology* 1990; 18: 127–131
- 87 *Kalinina SN, Tiktinskiĭ OL.* [Treatment of chronic prostatitis caused by chlamydial and ureaplasmic infection and complicated with male infertility]. *Urologiia* (Moscow, Russia : 1999) 2010; 52–57
- 88 *Kokab A, Akhondi MM, Sadeghi MR et al.* Raised inflammatory markers in semen from men with asymptomatic chlamydial infection. *Journal of Andrology* 2010; 31: 114–120
- 89 *Kong FYS, Tabrizi SN, Law M et al.* Azithromycin versus doxycycline for the treatment of genital chlamydia infection. A meta-analysis of randomized controlled trials. *Clinical Infectious Diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2014; 59: 193–205
- 90 *Kopa Z, Wenzel J, Papp GK et al.* Role of granulocyte elastase and interleukin-6 in the diagnosis of male genital tract inflammation. *Andrologia* 2005; 37: 188–194
- 91 *Krause A, Krause W.* Seasonal variations in human seminal parameters. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology* 2002; 101: 175–178
- 92 *Krause W, Weidner W, Sperling H, Diemer T, Hrsg.* *Andrologie. Krankheiten der männlichen Geschlechtsorgane.* 4. Aufl. s.l.: Georg Thieme Verlag KG; 2011
- 93 *Krause W.* Male accessory gland infection. *Andrologia* 2008; 40: 113–116
- 94 *Krause W, Bohring C.* Male infertility and genital chlamydial infection: victim or perpetrator? *Andrologia* 2003; 35: 209–216
- 95 *Lackner JE, Agarwal A, Mahfouz R et al.* The association between leukocytes and sperm quality is concentration dependent. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2010; 8: 12
- 96 *Lackner JE, Herwig R, Schmidbauer J et al.* Correlation of leukocytospermia with clinical infection and the positive effect of antiinflammatory treatment on semen quality. *Fertility and Sterility* 2006; 86: 601–605
- 97 *Lang T, Dechant M, Sanchez V et al.* Structural and functional integrity of spermatozoa is compromised as a consequence of acute uropathogenic *E. coli*-associated epididymitis. *Biology of Reproduction* 2013; 89: 59
- 98 *Lee JS, Kim KT, Lee HS et al.* Concordance of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in infertile couples: impact on semen parameters. *Urology* 2013; 81: 1219–1224
- 99 *Levine RJ, Mathew RM, Chenault CB et al.* Differences in the quality of semen in outdoor workers during summer and winter. *New Engl J Med* 1990; 323: 12–16
- 100 *Liu J, Wang Q, Ji X et al.* Prevalence of *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis* infections, and semen quality in infertile and fertile men in China. *Urology* 2014; 83: 795–799
- 101 *Lotti F, Maggi M.* Interleukin 8 and the male genital tract. *Journal of Reproductive Immunology* 2013; 100: 54–65
- 102 *Ludwig M.* Diagnosis and therapy of acute prostatitis, epididymitis and orchitis. *Andrologia* 2008; 40: 76–80
- 103 *Mackern-Oberti JP, Motrich RD, Breser ML et al.* *Chlamydia trachomatis* infection of the male genital tract: an update. *Journal of Reproductive Immunology* 2013; 100: 37–53

- 104 Männliche Infertilität bei Infektion & Entzündung. Bericht zur Ergebnisevaluierung des LOEWE-Schwerpunkts "Männliche Infertilität bei Infektion und Entzündung - MIBIE"
- 105 *Marconi M, Pilatz A, Wagenlehner F et al.* Are antisperm antibodies really associated with proven chronic inflammatory and infectious diseases of the male reproductive tract? *European Urology* 2009; 56: 708–715
- 106 *Marconi M, Pilatz A, Wagenlehner F et al.* Impact of infection on the secretory capacity of the male accessory glands. *International Brazilian Journal Urology : official journal of the Brazilian Society of Urology* 2009; 35: 299-308
- 107 *Marconi M, Nowotny A, Pantke P et al.* Antisperm antibodies detected by mixed agglutination reaction and immunobead test are not associated with chronic inflammation and infection of the seminal tract. *Andrologia* 2008; 40: 227–234
- 108 *Martínez-Prado E, Camejo Bermúdez, María Isabel.* Expression of IL-6, IL-8, TNF-alpha, IL-10, HSP-60, anti-HSP-60 antibodies, and anti-sperm antibodies, in semen of men with leukocytes and/or bacteria. *AJRI* 2010; 63: 233–243
- 109 *Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma T et al.* National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. *PLOS Medicine* 2012; 9: e1001356
- 110 *Mazzoli S, Cai T, Addonisio P et al.* Chlamydia trachomatis infection is related to poor semen quality in young prostatitis patients. *European Urology* 2010; 57: 708–714
- 111 *Mehta RH, Sridhar H, Vijay Kumar, B R et al.* High incidence of oligozoospermia and teratozoospermia in human semen infected with the aerobic bacterium *Streptococcus faecalis*. *Reproductive Biomedicine Online* 2002; 5: 17–21
- 112 *Mena LA, Mroczkowski TF, Nsuami M et al.* A randomized comparison of azithromycin and doxycycline for the treatment of *Mycoplasma genitalium*-positive urethritis in men. *Clinical Infectious Diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2009; 48: 1649–1654
- 113 *Moretti E, Capitani S, Figura N et al.* The presence of bacteria species in semen and sperm quality. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 2009; 26: 47–56
- 114 *Newman L, Rowley J, Vander Hoorn S et al.* Global Estimates of the Prevalence and Incidence of Four Curable Sexually Transmitted Infections in 2012 Based on Systematic Review and Global Reporting. *PLoS ONE* 2015; 10: e0143304
- 115 *Nieschlag E, Schlatt S, Kliesch S, Behre HM.* WHO Laborhandbuch. Zur Untersuchung und Aufarbeitung des menschlichen Ejakulates. 5. Aufl. s.l.: Springer-Verlag; 2012
- 116 *Nieschlag E, Behre HM, Nieschlag S.* Andrologie. Grundlagen und Klinik der reproduktiven Gesundheit des Mannes. 3. Aufl. s.l.: Springer-Verlag; 2009
- 117 *Nieschlag E, Behre HM, Hrsg.* Andrologie. Grundlagen und Klinik der reproduktiven Gesundheit des Mannes. 2. Aufl. Berlin, Heidelberg, s.l.: Springer Berlin Heidelberg; 2000
- 118 *Nieschlag E.* WHO-Laborhandbuch zur Untersuchung des menschlichen Ejakulates und der Spermien-Zervikalschleim-Interaktion. 4. Aufl. Berlin u.a: Springer; 1999
- 119 *Ochsendorf FR.* Sexually transmitted infections: impact on male fertility. *Andrologia* 2008; 40: 72–75

- 120 Olesen IA, Andersson A-M, Aksglaede L et al. Clinical, genetic, biochemical, and testicular biopsy findings among 1,213 men evaluated for infertility. *Fertility and Sterility* 2017; 107: 74-82.e7
- 121 Paradisi R, Mancini R, Bellavia E et al. T-Helper 2 Type Cytokine and Soluble Interleukin-2 Receptor Levels in Seminal Plasma of Infertile Men. *AJRI* 1997; 38: 94–99
- 122 Pellati D, Mylonakis I, Bertoloni G et al. Genital tract infections and infertility. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology* 2008; 140: 3–11
- 123 Pelliccione F, D'Angeli A, Cordeschi G et al. Seminal macrophages in ejaculates from men with couple infertility. *International Journal of Andrology* 2009; 32: 623–628
- 124 Penna G, Mondaini N, Amuchastegui S et al. Seminal plasma cytokines and chemokines in prostate inflammation: interleukin 8 as a predictive biomarker in chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome and benign prostatic hyperplasia. *European Urology* 2007; 51: 524-33; discussion 533
- 125 Piasecka M, Fraczek M, Gaczarzewicz D et al. Novel morphological findings of human sperm removal by leukocytes in in vivo and in vitro conditions: preliminary study. *AJRI* 2014; 72: 348–358
- 126 Pickard R, Bartoletti R, Bjerklund-Johansen TE, et al. European Association of Urology (EAU) guidelines on urological infections 2016
- 127 Pilatz A, Boecker M, Schuppe H-C et al. Aktuelle Aspekte der Epididymo-Orchitis. *Aktuelle Urologie* 2016; 47: 237–242
- 128 Pilatz A, Boecker M, Schuppe H-C et al. Infektionen und Infertilität. *Der Urologe. Ausg. A* 2016; 55: 883–889
- 129 Pilatz A, Hossain H, Kaiser R et al. Acute epididymitis revisited: impact of molecular diagnostics on etiology and contemporary guideline recommendations. *European Urology* 2015; 68: 428–435
- 130 Pilatz A, Hudemann C, Wagenlehner F et al. Zytokine im Ejakulat. Ist die Bestimmung bei urogenitalen Erkrankungen sinnvoll? *Der Urologe. Ausg. A* 2013; 52: 359–366
- 131 Podbielski A, Herrmann M, Kniehl E, Mauch H, Hrsg. MiQ: Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik. MiQ Grundwerk Heft 1-29. München: Urban & Fischer in Elsevier; 2007
- 132 Potts JM, Sharma R, Pasqualotto F et al. Association of ureaplasma urealyticum with abnormal reactive oxygen species levels and absence of leukocytospermia. *The Journal of Urology* 2000; 163: 1775–1778
- 133 Qiang H, Jiang M-S, Lin J-Y et al. Influence of enterococci on human sperm membrane in vitro. *Asian Journal of Andrology* 2007; 9: 77–81
- 134 Ricci G, Perticarari S, Boscolo R et al. Leukocytospermia and sperm preparation--a flow cytometric study. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2009; 7: 128
- 135 Robert Koch-Institut. Sechs Jahre STD-Sentinel-Surveillance in Deutschland – Zahlen und Fakten. Aktuelle Daten und Informationen zu Infektionskrankheiten und Public Health. *Epidemiologische Bullentin* 2010: 20–27
- 136 Rodin DM, Larone D, Goldstein M. Relationship between semen cultures, leukospermia, and semen analysis in men undergoing fertility evaluation. *Fertility and Sterility* 2003; 79: 1555–1558



- 137 Rowe PJ. WHO manual for the standardized investigation, diagnosis, and management of the infertile male. Cambridge, U.K., New York: Published on behalf of the World Health Organization by Cambridge University Press; 2000
- 138 Rusz A, Pilatz A, Wagenlehner F *et al.* Influence of urogenital infections and inflammation on semen quality and male fertility. *World J Urol* 2012; 30: 23–30
- 139 Rybar R, Prinosilova P, Kopecka V *et al.* The effect of bacterial contamination of semen on sperm chromatin integrity and standard semen parameters in men from infertile couples. *Andrologia* 2012; 44 Suppl 1: 410–418
- 140 Samplaski MK, Nangia AK. Adverse effects of common medications on male fertility. *Nature Reviews Urology* 2015; 12: 401–413
- 141 Schanz S, Fierlbeck G. Für die andrologische Diagnostik relevante sexuell übertragbare Infektionen. *Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete* 2009; 60: 477–482
- 142 Schiefer HG. Microbiology of male urethroadnexitis: diagnostic procedures and criteria for aetiologic classification. *Andrologia* 1998; 30 Suppl 1: 7–13
- 143 Schneede P, Weidner W. Gonokokken- und Chlamydieninfektionen der Harnröhre. Die neuen Urethritisleitlinien. *Der Urologe. Ausg. A* 2014; 53: 1444–1451
- 144 Schneede P, Hofstetter AG, Naber KG *et al.* Synoptische Leitlinie der sexuell übertragbaren Erkrankungen (STD) mit Primärsymptomen im männlichen Genitale (S1). Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Urologie. *Der Urologe. Ausg. A* 2003; 42: 104–112
- 145 Schultheiss D. Urogenital infections and male sexuality: effects on ejaculation and erection. *Andrologia* 2008; 40: 125–129
- 146 Schünke M, Schulte E, Schumacher U. Prometheus - LernAtlas der Anatomie. 3. Aufl. Stuttgart, New York: Thieme; 2012
- 147 Schuppe H-C, Pilatz A, Hossain H *et al.* Urogenital Infection as a Risk Factor for Male Infertility. *Deutsches Ärzteblatt international* 2017; 114: 339–346
- 148 Schuppe H-C, Meinhardt A, Allam JP *et al.* Chronic orchitis: a neglected cause of male infertility? *Andrologia* 2008; 40: 84–91
- 149 Schwebke JR, Rompalo A, Taylor S *et al.* Re-evaluating the treatment of nongonococcal urethritis: emphasizing emerging pathogens--a randomized clinical trial. *Clinical Infectious Diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2011; 52: 163–170
- 150 Segnini A, Camejo MI, Proverbio F. Chlamydia trachomatis and sperm lipid peroxidation in infertile men. *Asian Journal of Andrology* 2003; 5: 47–49
- 151 Seshadri S, Flanagan B, Vince G *et al.* Leucocyte subpopulations in the seminal plasma and their effects on fertilisation rates in an IVF cycle. *Andrologia* 2012; 44: 396–400
- 152 Solomon M, Henkel R. Semen culture and the assessment of genitourinary tract infections. *Indian J Urol* 2017; 33: 188–193
- 153 Stammeler A, Hau T, Bhushan S *et al.* Epididymitis: ascending infection restricted by segmental boundaries. *Human Reproduction Update* 2015; 30: 1557–1565
- 154 Stolwijk AM, Reuvers MJ, Hamilton CJ *et al.* Seasonality in the results of in-vitro fertilization. *Human Reproduction Update* 1994; 9: 2300–2305
- 155 Tapsall JW. Neisseria gonorrhoeae and emerging resistance to extended spectrum cephalosporins. *Current Opinion in Infectious Diseases* 2009; 22: 87–91

- 156 *Taylor-Robinson D.* Mycoplasma genitalium -- an up-date. *International Journal of STD & AIDS* 2002; 13: 145–151
- 157 *Tremellen K, Tunc O.* Macrophage activity in semen is significantly correlated with sperm quality in infertile men. *International Journal of Andrology* 2010; 33: 823–831
- 158 *Tüttelmann F, Werny F, Cooper TG et al.* Clinical experience with azoospermia. Aetiology and chances for spermatozoa detection upon biopsy. *International Journal of Andrology* 2011; 34: 291–298
- 159 *Unemo M, Golparian D, Stary A et al.* First Neisseria gonorrhoeae strain with resistance to cefixime causing gonorrhoea treatment failure in Austria, 2011. *Euro Surveillance : bulletin Européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 2011; 16
- 160 *Unemo M, Golparian D, Syversen G et al.* Two cases of verified clinical failures using internationally recommended first-line cefixime for gonorrhoea treatment, Norway, 2010. *Euro Surveillance : bulletin Européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 2010; 15
- 161 *Upadhyaya M, Hibbard BM, Walker SM.* The effect of Ureaplasma urealyticum on semen characteristics. *Fertility and Sterility* 1984; 41: 304–308
- 162 *van Anders SM, Hampson E, Watson NV.* Seasonality, waist-to-hip ratio, and salivary testosterone. *Psychoneuroendocrinology* 2006; 31: 895–899
- 163 *Vicari E.* Effectiveness and limits of antimicrobial treatment on seminal leukocyte concentration and related reactive oxygen species production in patients with male accessory gland infection. *Human Reproduction Update* 2000; 15: 2536–2544
- 164 *Vilvanathan S, Kandasamy B, Jayachandran AL et al.* Bacteriospermia and Its Impact on Basic Semen Parameters among Infertile Men. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases* 2016; 2016: 2614692
- 165 *Virecoulon F, Wallet F, Fruchart-Flamenbaum A et al.* Bacterial flora of the low male genital tract in patients consulting for infertility. *Andrologia* 2005; 37: 160–165
- 166 *Viviane Bremer, Ulrich Marcus, Osamah Hamouda.* Sexuell übertragbare Erkrankungen in Deutschland – die stille Epidemie. *Deutsches Ärzteblatt international* 2005; 102: A 2400- 2403
- 167 *Wagenlehner FME, Diemer T, Naber KG et al.* Chronic bacterial prostatitis (NIH type II): diagnosis, therapy and influence on the fertility status. *Andrologia* 2008; 40: 100–104
- 168 *Wagenlehner FME, Brockmeyer NH, Discher T et al.* The Presentation, Diagnosis, and Treatment of Sexually Transmitted Infections. *Deutsches Ärzteblatt international* 2016; 113: 11–22
- 169 *Wagenlehner FME, Naber KG, Bschleipfer T et al.* Prostatitis and male pelvic pain syndrome: diagnosis and treatment. *Deutsches Ärzteblatt international* 2009; 106: 175–183
- 170 *Wang Y, Liang C-L, Wu J-Q et al.* Do Ureaplasma urealyticum infections in the genital tract affect semen quality? *Asian Journal of Andrology* 2006; 8: 562–568
- 171 *Weberschock T, Valipour A, Ochsendorf F.* Spermiogramm bei unerfülltem Kinderwunsch. Was sagt es aus? *Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete* 2015; 66: 924–932

- 172 Weidner W, Pilatz A, Diemer T *et al.* Male urogenital infections: impact of infection and inflammation on ejaculate parameters. *World J Urol* 2013; 31: 717–723
- 173 Weidner W, Wagenlehner FME, Marconi M *et al.* Acute bacterial prostatitis and chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome: andrological implications. *Andrologia* 2008; 40: 105–112
- 174 Weidner W, Krause W, Ludwig M. Relevance of male accessory gland infection for subsequent fertility with special focus on prostatitis. *Human Reproduction Update* 1999; 5: 421–432
- 175 WHO-Laborhandbuch zur Untersuchung und Aufarbeitung des menschlichen Ejakulates. 5. Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2012
- 176 Wolff H. The biologic significance of white blood cells in semen. *Fertility and Sterility* 1995; 63: 1143–1157
- 177 Wolff H, Panhans A, Stolz W *et al.* Adherence of *Escherichia coli* to sperm: a mannose mediated phenomenon leading to agglutination of sperm and *E. coli*. *Fertility and Sterility* 1993; 60: 154–158
- 178 Workowski KA, Bolan GA. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. *MMWR. Recommendations and Reports : Morbidity and mortality weekly report. Recommendations and reports* 2015; 64: 1–137
- 179 World Health Organization. Towards more objectivity in diagnosis and management of male fertility. Results of a World Health Organization multicenter study.; 1987
- 180 Yanushpolsky EH, Politch JA, Hill JA *et al.* Is leukocytospermia clinically relevant? *Fertility and Sterility* 1996; 66: 822–825

## 11 Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Florian Wagenlehner, Direktor der Klinik für Urologie, Kinderurologie und Andrologie des Universitätsklinikums Gießen, und Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang Weidner, dem ehemaligen Direktor, für die Möglichkeit der Durchführung der vorliegenden Arbeit in deren Abteilung.

Herrn Prof. Dr. Hans-Christian Schuppe, Oberarzt der Klinik für Urologie, Kinderurologie und Andrologie des Universitätsklinikums Gießen und Leiter des andrologischen Labors, gilt mein herzlicher Dank für die Möglichkeit der Promotion, die Überlassung dieses Themas sowie die kontinuierliche Betreuung und besonders die Unterstützung und Hilfestellung in der Endphase.

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. Adrian Pilatz, Oberarzt der Klinik für Urologie, Kinderurologie und Andrologie des Universitätsklinikums Gießen, für seine hervorragende Unterstützung, seinen unermüdlichen Einsatz beim Erlernen der statistischen Ausarbeitungen und Hilfestellung bei der öffentlichen Präsentation am 67. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Urologie in Hamburg.

Des Weiteren möchte ich mich bei Frau Marijana Blasevic vom Sekretariat der andrologischen Ambulanz und Frau Julia Wolf, Studienkoordinatorin der Klinik für Urologie, Kinderurologie und Andrologie des Universitätsklinikums Gießen, für ihre stetige Hilfsbereitschaft bei der Erhebung der Daten und die freundliche Arbeitsatmosphäre danken. Dank gilt auch den anderen Mitarbeiterinnen/Mitarbeitern des Labors für Andrologie für die Auswertung der Spermioogramme und ihre freundliche Unterstützung.

Ganz besonders bedanken möchte ich mich bei meinen Eltern, meiner Familie und meinen besten Freunden, die mich stets unterstützt, motiviert und gefördert haben.

## 12 Publikationsverzeichnis

### **Abstract**

**A-M. Falker**, H. Hossain, T. Diemer, F. Wagenlehner, W. Weidner, H-C. Schuppe, A. Pilatz. Nachweis von sexuell übertragbaren Erregern im Ejakulat- ein Fertilitätsrisiko? Der Urologe. Ausg. A 2015; 54 (Suppl 1): 29

### **Vortrag**

**A-M. Falker**, H. Hossain, T. Diemer, F. Wagenlehner, W. Weidner, H-C. Schuppe, A. Pilatz. Nachweis von sexuell übertragbaren Erregern im Ejakulat- ein Fertilitätsrisiko? 67. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Urologie, Hamburg, September 2015

### **Poster**

**A-M. Falker**, A. Pilatz, H. Hossain, T. Diemer, F. Wagenlehner, W. Weidner, H.-C. Schuppe. Sexually transmissible pathogens in human semen – a risk factor for male infertility? 11<sup>th</sup> International Congress of Andrology, Kopenhagen, 6.-9. Mai 2017

## 13 Erklärungen zur Dissertation

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Gießen, den 09.11.2018

---

Ort, Datum

---

Unterschrift